

virus, serait vraisemblablement actif contre tous les virus humains de la grippe, y compris ceux qui passent directement de l'animal à l'homme.

La mise au point des inhibiteurs de neuraminidase se fonde sur une découverte fortuite. Vers la fin des années 1970, l'un de nous (G. Laver) étudiait la molécule N2 du virus qui a provoqué la pandémie de grippe de Hongkong en 1968 (H3N2). Cette neuraminidase provenait-elle de la souche responsable de la pandémie de grippe asiatique de 1957 (H2N2)? Il voulait comparer les séquences d'acides aminés des deux molécules et, d'abord, isoler et concentrer les «têtes» des molécules de neuraminidase présentes à la surface des virus.

Après avoir isolé ces têtes à partir de virus purifiés et après les avoir concentrées par centrifugation, G. Laver constata avec surprise que le précipité obtenu n'était pas amorphe, comme les protéines le sont d'habitude, mais qu'il formait des cristaux. Or, les cristaux, qui sont des réseaux ordonnés de molécules, permettent l'analyse de la structure tridimensionnelle des grosses protéines!

En Australie, Peter Colman et ses collègues effectuèrent cette détermination en 1983 : les spicules des virus de la grippe sont constitués de quatre molécules identiques, ou monomères. Le tétramère résultant ressemble à un groupe de quatre ballons carrés disposés à l'extrémité d'une tige qui est fichée dans la membrane virale. Puis l'équipe de P. Colman découvrit bientôt que chacun des monomères de neuraminidase présente à sa surface un

profond sillon central. De surcroît, malgré les variations des molécules de neuraminidase, la même séquence d'acides aminés tapisse la paroi du sillon de tous les variants viraux connus, qu'il s'agisse des types A ou B.

Quand certaines régions d'une molécule sont ainsi invariantes, elles sont généralement indispensables à la fonction de la molécule. Dans le cas présent, le sillon semblait être le site actif de la neuraminidase, celui où l'acide sialique est clivé, et les acides aminés conservés du sillon paraissaient indispensables à la fonction catalytique. Cette hypothèse fut confirmée par la suite.

Comme les virus de la grippe ne se transmettent pas facilement d'une cellule à l'autre sans la neuraminidase, un médicament capable de bloquer le sillon devrait inhiber la neuraminidase de tous les virus de grippe.

L'obstruction du sillon

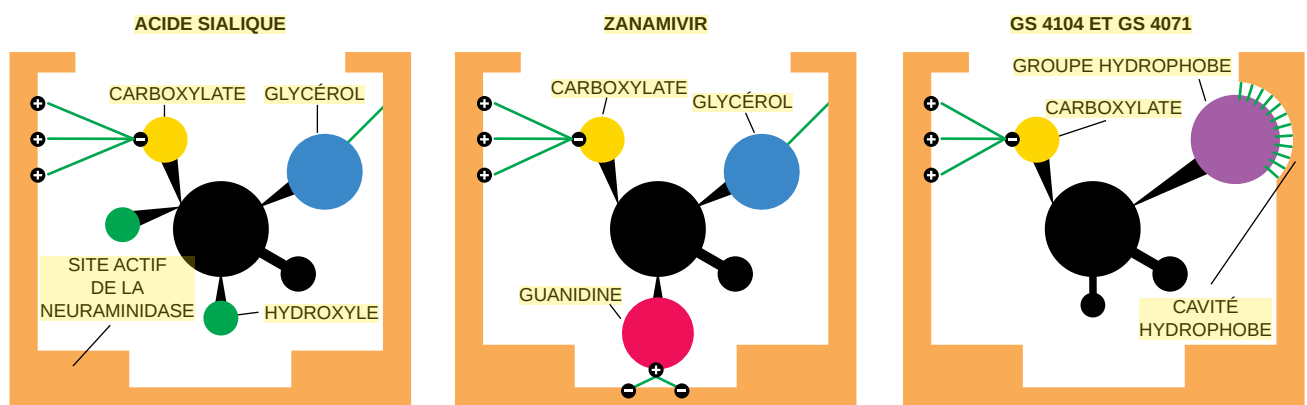
L'équipe de P. Colman identifia alors, dans le site actif, les acides aminés qui clivent l'acide sialique. Elle rechercha également les acides aminés qui, dans le sillon, ne se lient pas à l'acide sialique, mais où pourrait se fixer le futur médicament. Ainsi, ces biologistes identifièrent trois acides aminés chargés positivement, qui se liaient à un groupe chargé négativement (le groupe carboxylate -COO-) de l'acide sialique.

Ils repérèrent aussi, au fond du sillon, une petite cavité où apparaissaient deux acides aminés chargés négativement. Ces acides aminés (des groupes glutamate) n'établissaient

aucun contact avec l'acide sialique, mais ils étaient présents dans toutes les molécules de neuraminidase virale. Un groupe hydroxyle (-OH) de l'acide sialique était orienté vers le bas, vers cette cavité, mais ne l'atteignait jamais.

En remplaçant ce groupe hydroxyle par un groupe plus gros et chargé positivement, obtiendrait-on une liaison forte? Un tel groupe positif semblait devoir se localiser dans la petite cavité, au fond du site actif, et s'y immobiliser, en se liant aux molécules de glutamate chargées négativement de la cavité.

En 1993, Mark von Itzstein et ses collègues de l'Université de Melbourne trouvèrent qu'en substituant un groupe guanidine (à la fois volumineux et chargé positivement) au groupe hydroxyle de l'acide sialique, ils obtenaient un puissant inhibiteur de la neuraminidase grippale. Comme cet inhibiteur agissait peu sur les enzymes voisines fabriquées par les bactéries et par les mammifères, on pouvait espérer qu'il ne perturberait pas les cellules humaines. Des études sur des animaux et des essais préliminaires chez l'homme montrèrent alors que la substance – le zanamivir – prévenait l'apparition des symptômes de la grippe chez des personnes infectées après l'administration du zanamivir et qu'elle atténuait les symptômes chez les personnes qui commençaient à se traiter après avoir été infectées. Toutefois, pour être efficace, ce produit ne devait pas être administré par voie buccale ; il devait être inhalé par le



4. DE NOUVEAUX MÉDICAMENTS bloquent le site actif de la neuraminidase en s'y liant plus que l'acide sialique. Quand un virus attaque une cellule, l'acide sialique (à gauche) est maintenu dans le site, un sillon, surtout grâce à ses groupes glycérol et carboxylate, qui forment des liaisons (traits verts) avec les acides aminés du site actif. Le zanamivir (au centre) se lie plus fortement au site actif grâce à d'autres liaisons : le groupe hydroxyle d'un dérivé de l'acide sialique est remplacé par un gros groupe

guanidine chargé positivement, qui se fixe solidement à deux acides aminés chargés négativement situés au fond du sillon. Le GS 4104 est converti en GS 4071 dans l'organisme. La molécule résultante (à droite) conserve les liaisons carboxylate établies par l'acide sialique, mais elle a aussi un groupe hydrophobe qui, dans le sillon de liaison, provoque la formation d'une cavité hydrophobe qui maintient le médicament en place par des forces attractives hydrophobes (les petits traits verts).

nez ou aspiré par la bouche, pour agir sur le système respiratoire.

C'est le groupe guanidine qui fait du zanamivir un inhibiteur si efficace, mais c'est aussi lui qui rend le produit sans effet quand il est administré sous forme de comprimés.

Avant d'atteindre les régions de l'organisme où il agit, un médicament ingéré doit traverser les cellules du revêtement intestinal et atteindre le sang. Malheureusement, les molécules chargées traversent difficilement les membranes cellulaires lipidiques,

perméables surtout aux molécules non chargées.

Comme l'inhalation est un moyen commode d'administrer un médicament agissant dans les voies respiratoires, les Laboratoires *Glaxo Wellcome* ont entrepris de nouveaux tests du

Des vaccins plus efficaces

La grippe ne serait-elle pas mieux jugulée par un vaccin «universel», capable de prévenir une infection en stimulant l'organisme pour qu'il prépare une réaction immunitaire qui le protégerait contre n'importe quelle souche de virus de la grippe ? Si, mais un tel vaccin n'existe pas encore.

Aujourd'hui, les immunologistes cherchent à raccourcir les délais de production des vaccins, afin qu'une campagne de vaccination soit rapidement mise en place en cas d'épidémie grave. Ils voudraient mettre au point des vaccins dont l'administration ne nécessiterait plus d'injections, améliorer l'acceptabilité des vaccins et augmenter la couverture vaccinale des enfants. En effet, si les personnes âgées sont le plus malades, ce sont surtout les enfants qui assurent la transmission de la maladie.

Les vaccins contre la grippe se sont généralisés depuis les années 1940. Aujourd'hui, la chaîne de fabrication commence par l'analyse d'échantillons de virus de la grippe collectés par 110 sites de surveillance, répartis dans le monde entier. Chaque année, en février, l'Organisation mondiale de la santé identifie trois souches – deux de type A et une de type B – qui semblent devoir être les principales responsables des gripes de la saison à venir (de novembre à mars dans l'hémisphère Nord) ; ces trois souches entreront dans la composition du vaccin.

Pour fabriquer un vaccin, on pourrait cultiver à grande échelle les souches sélectionnées, les inactiver pour qu'elles ne puissent pas déclencher d'infection, puis les rassembler en une seule préparation. Cependant, les souches sélectionnées se multiplient lentement au laboratoire, ce qui rend la production de masse difficile. Pour tourner cette difficulté, les biologistes insèrent, dans une forme de virus de grippe qui se multiplie rapidement en laboratoire, des protéines stimulant le système immunitaire (l'hémagglutinine et la neuraminidase), lesquelles proviennent de la surface des souches sélectionnées. Ensuite, ils infectent des embryons de poulet avec le virus modifié à croissance rapide et le virus sélectionné. Les particules virales fabriquées par les embryons se multiplient rapidement ; ils portent des spicules d'hémagglutinine et de neuraminidase des souches supposées responsables des épidémies de l'année à venir. Ces virus à croissance rapide sont ensuite isolés, puis confiés aux fabricants de vaccins, qui en assurent la production au moyen d'un grand nombre d'embryons de poulet.

Auparavant, le vaccin était constitué d'un mélange de formes inactivées des trois types de souches sélectionnées. Aujourd'hui,

la plupart des fabricants préparent le vaccin à partir des protéines extraites des virus. Les protéines déclenchent les réactions immunitaires, mais ne sont absolument pas infectieuses. Dans les deux cas, les vaccins stimulent le système immunitaire, lui font fabriquer des anticorps qui se fixent sur les particules virales infectieuses portant ces protéines, lesquelles sont alors éliminées.

D'autres vaccins contiennent des virus vivants atténués, qui ont l'avantage de déclencher la production d'anticorps, mais aussi de globules blancs, nommés lymphocytes T, qui repèrent et éliminent les cellules infectées. Ils ne s'attaquent pas seulement aux seules souches reconnues par les anticorps spécifiques, mais aussi à des souches voisines. Ils resteraient donc efficaces si les molécules de surface d'une souche virale changeaient légèrement.

Un vaccin à base de virus vivant atténué, administré sous forme d'aérosol nasal, a été testé chez l'homme et, notamment, chez les enfants ; il sera probablement commercialisé d'ici un à deux

ans. Malheureusement, on ne sait pas fabriquer rapidement les vaccins à base de virus vivant atténué, de sorte qu'on ne pourrait sans doute pas les utiliser lors d'une pandémie soudaine.

Pour raccourcir la durée de production, on cherche des méthodes qui éviteraient d'avoir recours à tant d'œufs fécondés. On pourrait insérer des gènes d'hémagglutinine et de neuraminidase provenant des souches sélectionnées dans une autre sorte de virus, telle qu'un baculovirus, qui, contrairement aux virus de la grippe, se multiplie très bien en culture. En se multipliant, les virus génétiquement modifiés fabriqueraient de grandes quantités de protéines de la grippe, qui seraient purifiées et utilisées dans les vaccins. On saurait préparer et distribuer des vaccins recombinants en deux mois (trois mois au plus), mais on doit d'abord en confirmer l'efficacité.

Une stratégie encore plus rapide consisterait à utiliser de l'ADN nu : les gènes de l'hémagglutinine et de la neuraminidase, introduits dans des anneaux d'ADN nommés plasmides, seraient injectés dans la peau ou dans les muscles, et absorbés par les cellules environnantes, lesquelles se mettraient à produire des protéines du virus de la grippe. Ces protéines seraient alors présentées à la surface des cellules qui les fabriquent, où les cellules du système immunitaire les repéreraient. Des anticorps et des lymphocytes T capables de neutraliser les virus libres et d'éradiquer toutes les cellules infectées seraient produits. Les vaccins contre la grippe à ADN nu sont efficaces sur des animaux, mais doivent encore être testés sur l'homme.



UNE VACCINATION ANNUELLE est généralement la meilleure façon d'éviter la grippe. Pour certains, les piqûres seront un jour remplacées par un vaccin administré par un aérosol nasal.