

Apports de la virologie moléculaire à la compréhension de la transmission materno-foetale du VIH-1

La prévention de la transmission verticale du virus de l'immuno-déficience humaine de type 1 (VIH-1) repose actuellement sur l'utilisation de traitements antirétroviraux. Ainsi, l'administration de zidovudine (AZT, Rétrovir®) chez la mère en fin de grossesse et chez le nouveau-né pendant les six premières semaines de vie a permis de réduire la contamination de 25,5 % à 8,3 % [1] ; cette dernière est actuellement de l'ordre de 5 % en France [2]. Ces résultats spectaculaires ne doivent pas masquer notre ignorance concernant les mécanismes impliqués dans la transmission du virus. Leur compréhension est indispensable pour permettre d'évaluer précisément le risque de transmission, optimiser le traitement antirétroviral pendant la grossesse, développer des stratégies de prévention complémentaires et informer au mieux les femmes infectées.

Source de l'infection : virus circulants ou cellules infectées ?

Il est maintenant établi que le risque de contamination augmenté avec la quantité de virus circulants [3, 4]. Depuis bientôt deux ans, cette quantification virale est facilement réalisée par des techniques de biologie moléculaire fiables et de plus en plus sensibles. Malheureusement, il n'a pas été mis en évidence de niveau seuil, au-dessous duquel la transmission ne serait plus possible. En outre, l'AZT, dont l'efficacité dans la réduction du risque de contamination est certaine, ne diminue cependant pas ou peu la charge virale des patientes. L'efficacité de cette molécule pourrait donc être liée à d'autres méca-

nismes que ceux impliqués dans la réduction du niveau de réplication virale maternelle. Par ailleurs, la corrélation entre le risque de transmission et la charge virale ne signifie pas forcément que la contamination soit due aux virus circulants. En effet, la charge virale reflète le niveau de réplication du virus dans l'organisme, mais elle ne mesure qu'une des deux formes virales circulantes. La contamination peut être liée au passage de cellules infectées porteuses de l'information virale intégrée au sein de leur propre génome. L'étude des ARN viraux (virus libres) et de l'ADN proviral (cellules infectées) a confirmé l'existence des deux mécanismes sans pouvoir déterminer leur importance relative [5, 6] (*figure 1*).

Homogénéité de la population virale présente chez l'enfant

Du fait de la grande variabilité du VIH, un individu infecté est porteur d'une population plus ou moins hétérogène de virus appelée quasi-espèce. Certains sujets peuvent ainsi être infectés par plusieurs populations virales dérivant les unes des autres. L'hétérogénéité génétique virale chez un individu infecté s'accroît d'environ 1 % par an. Elle s'effectue sous la pression de sélection exercée sur le virus par la réponse immunitaire de l'hôte (échappement du virus aux anticorps et aux lymphocytes cytotoxiques), par les traitements antirétroviraux utilisés (développement des virus résistants) et probablement par certaines caractéristiques génétiques du sujet (corécepteurs non fonctionnels). Les études portant sur la variabilité des génomes viraux ont permis

d'identifier des caractéristiques communes aux virus présents chez les enfants infectés. Les populations virales retrouvées chez ceux-ci sont plus homogènes que celles des mères contaminantes. Cette homogénéité de la population virale est également retrouvée chez les personnes nouvellement contaminées par voie sexuelle et pourrait correspondre à un phénomène plus général. Cette observation conduit à formuler deux hypothèses : la transmission d'un variant sélectionné chez la mère ou la transmission de variants maternels multiples puis une sélection après le passage chez l'enfant (*figure 2*). Ces deux hypothèses ne sont pas mutuellement exclusives et pourraient éventuellement se combiner.

Sélection d'un variant maternel avant la transmission

Dans ce premier cas, il s'agirait du passage chez le nouveau-né ou le fœtus d'un variant maternel ou d'un nombre très limité de variants. Cette transmission limitée pourrait être liée, soit au faible nombre de virus en contact avec l'enfant, soit à une sélection de variants en fonction de caractéristiques antigéniques et du tropisme cellulaire. Ces dernières permettraient à certains virus maternels de contaminer l'enfant au détriment des autres. L'absence de diversification de cette souche présente chez l'enfant expliquerait l'homogénéité de la population retrouvée. De nombreuses études ont été effectuées sur les génomes des virus infectant les enfants pour tenter d'identifier des caractéristiques communes. D'une part, la contamination ne semble pas dépendre des sous-types viraux du

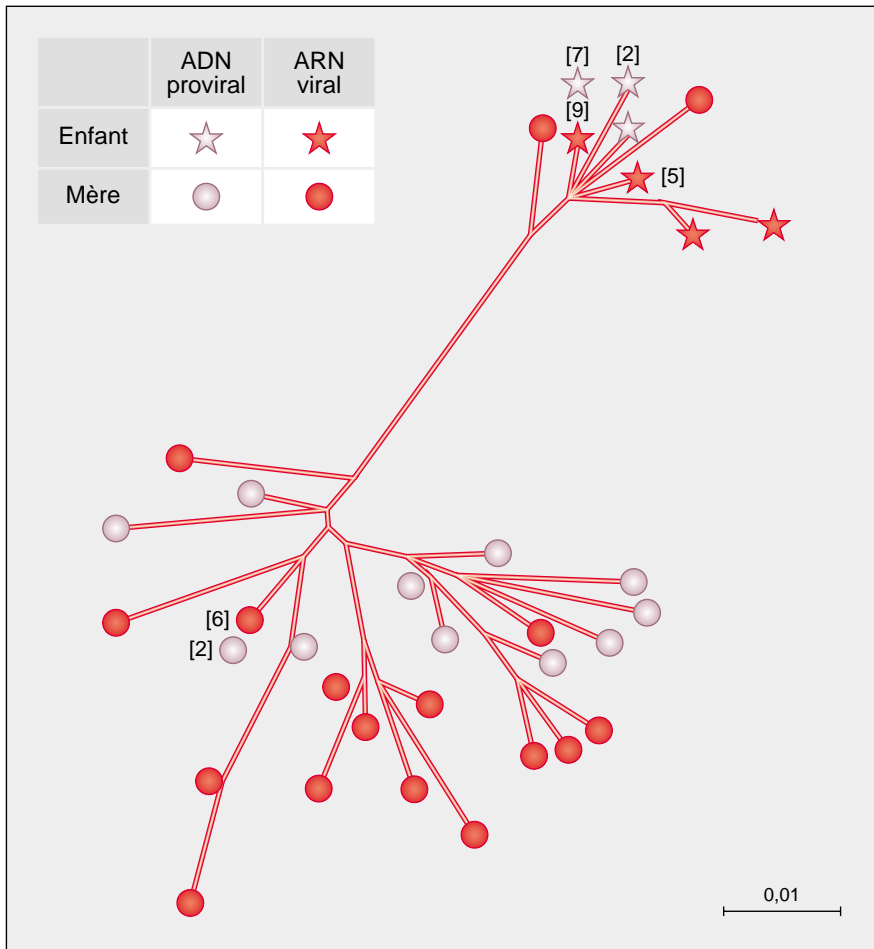


Figure 1. Exemple d'arbre phylogénétique établi à partir des souches de VIH-1 présentes chez une mère et son enfant au moment de l'accouchement. Les séquences de la région hypervariable (boucle V3) de la protéine virale de surface (gp120), obtenues à partir des virus plasmatiques (ARN viral) des cellules mononucléées sanguines (ADN proviral), ont été analysées par la méthode du plus proche voisin (neighbor-joining). L'échelle indiquée correspond à 0,01 substitution par site, soit 1% de divergence en nucléotides. La variabilité génétique observée chez l'enfant est plus faible que chez sa mère. Dans ce cas, la présence de deux clones viraux maternels (ADN proviral) très proches de ceux de l'enfant est en faveur d'une transmission par des cellules infectées.

VIH-1 puisque des cas de transmission avec les principaux d'entre eux ont été rapportés [5, 7]. D'autre part, plusieurs motifs situés sur la glycoprotéine de surface virale (gp120) impliquée dans les étapes initiales de l'infection ont été soupçonnés de faciliter le passage chez l'enfant. La troisième région variable de la gp120 (boucle V3) est une cible privilégiée pour le système immunitaire de l'hôte; elle est la cible principale des anticorps neutralisants. Son caractère hypervariable, entre autres, permet au virus d'échapper à ces anticorps.

Ceux-ci sont capables d'empêcher la fixation du virus sur les cellules cibles et donc de bloquer le processus infectieux. Dans une étude, la disparition de sites de glycosylation dans la boucle V3 de la gp120 a été préférentiellement retrouvée au niveau des variants transmis [8]. Cette disparition, en modifiant la conformation de la région V3, rendrait inefficaces les anticorps neutralisants maternels présents chez l'enfant et favoriserait ainsi le passage et la réplication de ce type de variants. Ces données n'ont cependant pas été confirmées par des tra-

vaux ultérieurs [6, 9-11]. Enfin, la séquence de la boucle V3 joue un rôle fondamental dans la reconnaissance des co-récepteurs associés au CD4 et impliqués dans le tropisme préférentiel du virus pour les lymphocytes T ou pour les monocytes et les macrophages [12]. Les souches à tropisme macrophagique, par opposition à celles ayant un tropisme lymphocytaire, sont retrouvées majoritairement chez les enfants infectés [13]. Elles sont également mises en évidence après transmission parentérale ou sexuelle récente [14]. Les souches à tropisme lymphocytaire apparaissent chez les sujets infectés depuis longtemps.

Transmission de variants maternels multiples puis sélection chez l'enfant

Il y aurait dans ce cas un passage aléatoire de multiples variants maternels chez le fœtus ou le nouveau-né. Les diverses souches maternelles présentes chez l'enfant entreraient alors en compétition pour infecter les cellules permissives et ainsi se répliqueraient dans ce nouvel hôte. Chez le nouveau-né, seul le variant doué d'une forte capacité de réplication dans les cellules cibles et capable d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte se développerait au détriment des autres variants qui deviendraient très rapidement minoritaires et disparaîtraient. Deux arguments plaident en faveur de cette hypothèse. D'une part, des cas de transmission avec passage de multiples variants ont été décrits [15]; ils sont cependant rares et parfois considérés comme des artefacts de laboratoire. Ils correspondraient à des contaminations massives comme, par exemple, le passage de sang maternel chez le fœtus lors d'un traumatisme. D'autre part, certaines régions dites hypervariables, en particulier celles codant pour la boucle V3, sont très homogènes chez les enfants alors que des séquences généralement moins variables (comme celles codant pour les protéines p17 et Nef) sont, paradoxalement, plus hétérogènes [16, 17]. Cela permet de penser qu'il y a sélection de la séquence de la boucle V3 la plus apte à développer l'infection chez l'enfant alors que les séquences

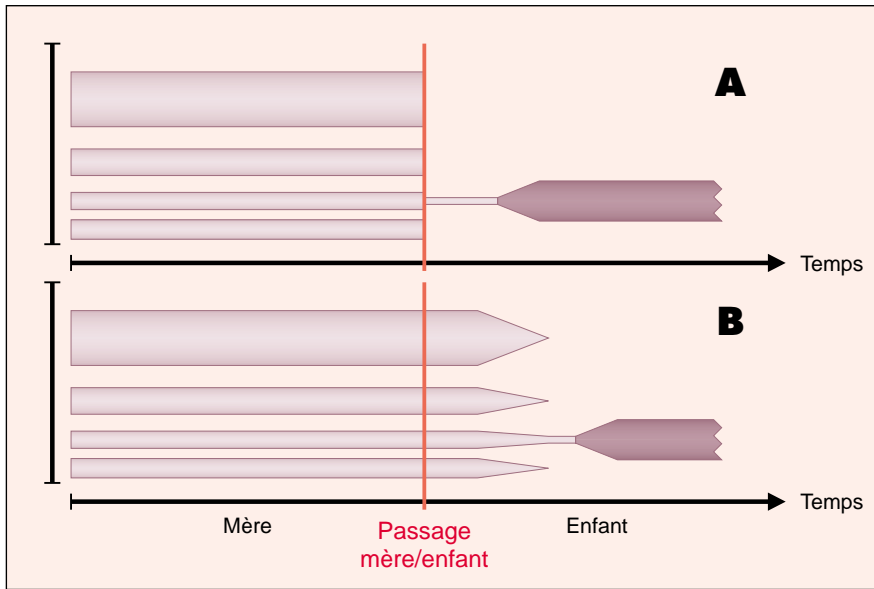


Figure 2. **Représentation schématique des hypothèses pouvant expliquer l'homogénéité relative des souches virales chez l'enfant par rapport à sa mère.** L'évolution des populations virales est représentée en fonction du temps chez la mère puis chez son enfant. Le nombre de barres horizontales et leur épaisseur indique respectivement le nombre de variants viraux et leur représentation dans la population virale totale. Dans le premier cas (A), un seul variant viral est transmis et déclenche l'infection chez l'enfant. Dans le second cas (B), la totalité ou la majorité des variants viraux maternels sont transmis mais un seul d'entre eux est capable de se répliquer chez l'enfant.

des autres régions qui évoluent plus lentement conserveront une hétérogénéité supérieure. Cette différence entre des régions plus exposées que d'autres aux interactions avec l'hôte pourrait donc s'expliquer par le passage de multiples variants suivi de l'homogénéisation rapide des régions hypervariables soumises à la pression de sélection de l'hôte.

La période de contamination

Les études moléculaires du génome viral tentent également de déterminer le moment de la transmission du virus (ou des cellules infectées). La période de contamination est importante pour évaluer le pronostic de l'infection chez l'enfant. Les nouveau-nés contaminés *in utero* (environ un sur cinq) auraient une évolution plus rapide vers la maladie que ceux infectés au moment de l'accouchement [18]. Connaître cette période est également important pour adapter les traitements et les mesures préventives. Ainsi, la population virale maternelle a été étudiée à divers

temps de la grossesse et comparée aux séquences virales de l'enfant afin d'identifier le (ou les) variant(s) transmis. Le prélèvement correspondant à la date de contamination contient théoriquement un variant maternel génotypiquement identique à la souche retrouvée chez l'enfant. Cette approche n'a toutefois pas amené de progrès significatif dans la datation de l'infection car les variants potentiellement transmis peuvent être présents sur des périodes de plusieurs mois voire plusieurs années [5, 17] ou bien appartenir à une fraction trop faible de la population maternelle pour être identifiés.

En conclusion, les techniques de biologie moléculaire ont permis des progrès déterminants dans la compréhension de la dynamique des populations virales et de leur évolution. En particulier, la quantification des virions circulants est un facteur important dans l'évaluation du risque de transmission de la mère à l'enfant. Mais, il est impossible actuellement d'identifier chez une mère les populations virales pouvant

être transmises plus facilement à l'enfant que d'autres, ni de déterminer avec précision la date de contamination du fœtus ou du nouveau-né infecté, cela probablement en raison de la complexité des phénomènes en cause. Les connaissances actuelles conduisent à poser de nouvelles questions, en particulier sur les mécanismes impliqués dans le caractère homogène des populations virales présentes chez les enfants. Enfin, l'efficacité d'associations d'antirétroviraux non toxiques pour l'enfant et destinées à réduire la transmission verticale reste à évaluer ■

RÉFÉRENCES

1. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, *et al.* Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med* 1994; 331: 1173-80.
2. Mayaux MJ, Teglas JP, Mandelbrot L, Berrebi A, Jaillais H, *et al.* Acceptability and impact of zidovudine prevention on the mother to child HIV-1 transmission in France. *J Pediatr* 1997 (in press).
3. Sperling RS, Shapiro DE, Coombs RW, Todd JA, Herman SA, *et al.* Maternal viral load, zidovudine treatment, and the risk of transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1996; 335: 1621-9.
4. Mayaux MJ, Dussaix E, Izopet J, Rekacewicz C, Mandelbrot L, *et al.* Maternal virus load during pregnancy and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1 – the French perinatal cohort studies. *J Infect Dis* 1997; 175: 172-5.
5. Contag CH, Ehrnst A, Duda J, Bohlin A-B, Lindgren S, Learn GH, Mullins JI. Mother-to-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 involving five envelope sequence subtypes. *J Virol* 1997; 71: 1292-300.
6. Scarlatti G, Leitner T, Halapi E, Wahlberg J, Marchisio P, Clerici-Schoeller MA, Wigzell H, Fenyo EM, Albert J, Uhlen M, Rossi P. Comparison of variable region 3 sequences of human immunodeficiency virus type 1 from infected children with the RNA and DNA sequences of the virus populations of their mothers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1721-5.
7. Narwa R, Roques P, Courpoin C, Parnet MF, Boussin F, Roane A, Marce D, Lasfargues G, Dormont D. Characterization of human immunodeficiency virus type 1 p17 matrix protein motifs associated with mother-to-child transmission. *J Virol* 1996; 70: 4474-83.

RÉFÉRENCES

8. Wolinsky SM, Wike CM, Korber BTM, Hutto C, Parks WP, Rosenblum LL, Kunstman KJ, Furtado MR, Munoz JL. Selective transmission of Human Immunodeficient Virus type-1 variants from mothers to infants. *Science* 1992; 255: 1134-7.

9. Ahmad N, Baroudy BM, Baker RC, Chappey C. Genetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 envelope V3 region isolates from mothers and infants after perinatal transmission. *J Virol* 1995; 69: 1001-12.

10. Roth WW, Zuberi JA, Stringer HJ, Davidson SK, Bond VC. Examination of HIV type 1 variants in mother-child pairs. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996; 12: 925-30.

11. Briant L, Wade CM, Puel J, Brown AJ, Guyader M. Analysis of envelope sequence variants suggests multiple mechanisms of mother-to-child transmission of human

immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1995; 69: 3778-88.

12. Samson M, Libert F, Vassart G, Parmentier M. L'interaction entre VIH-1 et ses co-récepteurs. *Med Sci* 1997; 13: 264-6.

13. Mammano F, Salvatori F, Ometto L, Panozzo M, Chieco BL, De Rossi A. Relationship between the V3 loop and the phenotypes of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) isolates from children perinatally infected with HIV-1. *J Virol* 1995; 69: 82-92.

14. van't Wout AB, Kootstra NA, Mulder-Kampinga GA, Albrecht-van Lent N, Scherpbier HJ, Veenstra J, Boer K, Coutinho RA, Miedema F, Schuitemaker H. Macrophage-tropic variants initiate human immunodeficiency virus type 1 infection after sexual, parenteral, and vertical transmission. *J Clin Invest* 1994; 94: 2060-7.

15. Lamers SL, Sleasman JW, She JX, Barrie KA, Pomeroy S, Barrett DJ, Goodenow MM. Persistence of multiple maternal genotypes of human immunodeficiency virus type 1 in infants infected by vertical transmission. *J Clin Invest* 1994; 93: 380-90.

16. Zhu T, Mo H, Wang N, Nam DS, Cao Y, Koup RA, Ho DD. Genotypic and phenotypic characterization of HIV-1 in patients with primary infection. *Science* 1993; 261: 1179-81.

17. Mulder-Kampinga A, Simonon A, Kuiken CL, Dekker J, Scherpbier HJ, van dPP, Boer K, Goudsmit J. Similarity in env and gag genes between genomic RNAs of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) from mother and infant is unrelated to time of HIV-1 RNA positivity in the child. *J Virol* 1995; 69: 2285-96.

18. Blanche S, Mayaux MJ, Rouzioux C, Teglas JP, Firtion G, et al. Relation of the course of HIV infection in children to the severity of the disease in their mothers at delivery. *N Engl J Med* 1994; 330: 308-12.

Christophe Pasquier

Assistant hospitalo-universitaire

Jacques Izopet

Praticien hospitalier, chargé de cours

Jacqueline Puel

Professeur des universités, praticien hospitalier

Laboratoire universitaire des rétrovirus, hôpital Purpan, place du Docteur-Baylac, 31059 Toulouse Cedex, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **La survivance du VIH dans ses sanctuaires.** Nous rapportons récemment les travaux de l'équipe de Ho (New York, NY, USA) sur la dynamique du VIH *in vivo* estimée à partir des mesures d'ARN plasmatisque et concluons sur l'importance de connaître la dynamique des virus des autres compartiments: la durée minimale d'observance du traitement en découle, bien sûr, directement [1]. Ces réservoirs sont moins accessibles à la mesure par les méthodes standard. Un réservoir potentiellement stable est constitué par les lymphocytes mémoires CD4⁺ qui transportent le provirus intégré: ces cellules ont été des lymphoblastes répliquant activement le virus puis sont retournées à l'état de sommeil dans lequel elles cessent de répliquer le virus. Deux articles récemment parus dans *Science* rapportent aujourd'hui qu'elles sont capables de remettre en marche une machinerie qui n'était qu'en sommeil [2, 3]. Pour déceler la présence du provirus dans ces cellules, il a fallu mettre au point un ensemble de techniques de coculture des lymphocytes CD4⁺ isolés du malade et d'un sujet sain, purifiés, en particulier de toute contamination par des cellules tueuses tels les CD8⁺ et les

macrophages. La même observation a été faite chez tous les malades traités par au moins une trithérapie et sans virus plasmatisque décelable depuis deux à trente mois: ils ont tous, quelle que soit la durée de leur traitement des virus réactivables dans leurs lymphocytes quiescents. En outre, la fréquence des cellules infectées de façon latente ne se modifie pas au cours du temps chez les 2 patients réanalysés à quelques mois d'intervalle. Enfin, chez 2 malades traités 10 semaines après leur primo-infection, on retrouve des virus dans des cellules quiescentes. Ces études apportent cependant une bonne nouvelle: les virus que l'on démasque ainsi n'ont que peu muté et aucun n'a développé de résistance au traitement. On peut en conclure aussi que la présence de ces virus n'est pas due à un défaut d'efficacité du traitement mais à la persistance de virus dans des populations de lymphocytes infectées mais latentes.

[1. Bursaux E. *Med Sci* 1996; 12: 820-1.]

[2. Wong JK, et al. *Science* 1997; 278: 1291-5.]

[3. Finzi D, et al. *Science* 1997; 278: 1295-300.]

DISPONIBLE EN VIDÉOCASSETTE

La journée Jean-Claude DREYFUS

RÉCEPTEURS ET MALADIES

Paris le 19 septembre 1997

sur deux vidéocassettes VHS

Nombreux autres congrès, liste sur demande

Pour information, contacter :

Professeur Gérard MELKI

Tél. : 02 99 33 69 64 - Fax : 02 99 33 68 78

E-MAIL : gérard.melki@univ-rennes1.fr

TIRÉS À PART

C. Pasquier.