



Infection à « Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-COV-2) » : bases biomoléculaires du traitement antiviral ciblant le cycle de vie du virus

Sars-cov-2 life cycle and biomolecular basis of antiviral therapy

François Bompeka Lepira¹, Yannick Mayamba Nlandu¹, Jean-Robert Risassy Makulo¹, Rosette Kevaani Lepira², Nadine Ngongo Mayasi³, Daniel Kuezina Tondouangu⁴, Ernest Kiswaya Sumaili¹, Jacques Laniet Mangalaboyi⁵

Correspondance

François Bompeka Lepira
Service de Néphrologie-Dialyse

Summary

In addition to the best knowledge of pharmacokinetics and pharmacodynamics of available drugs used to combat infectious diseases, the best knowledge by healthcare providers of the microbial agent's structure and its interaction with host defense mechanisms is crucial for a rationale use of these drugs and an effective therapeutic education of patients to ensure treatment adherence and subsequent improved outcomes. Therefore, the present review focused on mechanism and the sites of action of some antivirals used in treatment for COVID-19. The main audience of the present review is general practitioners involved in the treatment of COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2 life cycle, antiviral action mechanisms, COVID-19

Received: May 13th, 2020

Accepted: May 14th, 2020

1 Service de Néphrologie-Dialyse, Département de Médecine Interne, Cliniques Universitaires de Kinshasa

2 Unité de pneumologie Pédiatrique, Service de Cardiologie, Pneumologie et Oncologie, Département de Pédiatrie, Cliniques Universitaires de Kinshasa

3 Service de Maladies Infectieuses et Parasitaires, Département de Médecine Interne, Cliniques Universitaires de Kinshasa

4 Service de Réanimation Médicale, Hôpital de Sens, France

5 Chef Honoraire du Service de Réanimation Médicale, Hôpital de Lille

Résumé

Au-delà d'une bonne connaissance de la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de l'arsenal thérapeutique anti-infectieux disponible, une utilisation rationnelle de cet arsenal thérapeutique et une éducation thérapeutique efficace et efficiente des patients implique, pour le prestataire de soins, une bonne connaissance de l'agent microbien et de son interaction avec les mécanismes de défense de l'hôte. C'est la raison pour laquelle, la présente revue se propose, à la lumière des étapes du cycle de vie du virus « SARS-CoV-2 », de discuter des mécanismes et des sites d'action des principaux médicaments antiviraux utilisés dans la lutte contre la pandémie à COVID-19. Compte tenu du caractère nouveau et particulier de la pandémie à COVID-19, cette revue s'adresse principalement aux médecins généralistes évoluant au niveau primaire et secondaire de la pyramide de soins de santé qui se trouvent en première ligne du front contre ce fléau des temps modernes.

Mots clés : SARS-CoV-2 cycle de vie, mécanismes action antiviraux, COVID-19

Reçu le 13 mai 2020

Accepté le 14 mai 2020

Introduction

A cause de sa rapidité d'expansion et sa létalité, l'infection à "SARS-CoV-2 et la maladie subséquente appelée COVID-19" représentent une réelle menace pour la santé publique, le développement et la sécurité dans le monde (1). Cette menace implique l'élaboration et la mise en œuvre des stratégies efficaces et effectives visant, entre autre, de réduire la propagation de la pandémie. Parmi ces stratégies figurent, entre autres, une meilleure connaissance de la pandémie afin de proposer des mesures de prévention, de prise en charge et de soutien adaptées à chaque contexte. Malheureusement, pendant que le fardeau de l'infection à SARS-CoV-19 et la maladie subséquente (COVID-19) ne cesse d'augmenter dans le monde (1).

Ce fléau des temps modernes demeure encore largement méconnu par une frange importante de la population générale et de la communauté médicale. Ce constat souligne ainsi la nécessité de rechercher et identifier des canaux de communication efficaces, à utiliser par toutes les parties prenantes à la lutte contre ce fléau des temps modernes, susceptibles de contribuer à l'amélioration des connaissances, des attitudes et des pratiques envers cette maladie subséquente et éviter ainsi des attitudes négatives telles que le déni. Si la communication de masse et celle interpersonnelle ciblent particulièrement la population générale, la communauté médicale peut être atteinte à travers la formation médicale continue utilisant les séminaire-ateliers, le Webinar, les conférences/congrès ou la publication des articles de revue ou de synthèse comme moyens de communication et de vulgarisation de l'information sur le « SARS-CoV-2 » et la COVID-19.

En République Démocratique du Congo (RDC), le premier cas de l'infection à SARS-COVID-19 a été diagnostiqué le 10 mars 2020 dans la Ville Province de Kinshasa. Un mois et demi après le début de l'infection, on compte près de 500 cas de COVID-19 répartis dans 10 provinces avec $\frac{3}{4}$ de cas dans la Ville de Kinshasa et 38 décès, soit une létalité de 7% (2). Même si la progression du nombre global de cas semble relativement faible comparée à celle des pays ayant connu antérieurement cette épidémie, la progression journalière d'allure exponentielle et la létalité observée impliquent une rapide et meilleure compréhension de l'infection et la maladie subséquente ainsi que leurs déterminants socio-culturels, environnementaux et biologiques pour une riposte efficace et efficiente à la hauteur de la menace que fait peser ce fléau sur l'individu, la famille, la communauté et le secteur socio-économique. A cet égard, le Gouvernement de la République démocratique du Congo (RDC) a mis en place une commission multisectorielle et multidisciplinaire de lutte contre la COVID-19 chargée, à la lumière de l'évidence gagnée et de leçons tirées par les pays antérieurement touchés par l'épidémie ainsi que l'expérience acquise dans la lutte contre la maladie à virus Ebola, d'élaborer des stratégies de lutte adaptées au

contexte pour le contrôle rapide de la pandémie à COVID-19. L'information étant devenue le principal nerf de toute guerre, la présente mini-revue se propose de fournir, à la communauté médicale, une synthèse sur les bases moléculaires de l'inhibition du cycle de vie du SARS-CoV-19 comme stratégie thérapeutique antivirale dans la lutte contre ce fléau des temps modernes.

Rappel de physiologie et d'immunologie

Pour une meilleure compréhension de l'interaction virus-cellule hôte et des cibles thérapeutiques potentielles, nous avons pensé faire un rappel succinct du transport membranaire passif par récepteur interposé (mécanisme utilisé par les virus pour leur entrée dans les cellules hôtes) et de la réponse immune antivirale.

- Transport membranaire passif par récepteur interposé

En physiologie, le passage, à travers la membrane plasmique ou cellulaire de substances hydrosolubles de grande taille du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire, se fait à l'aide d'un processus ou mécanisme dynamique appelé « endocytose » (3). Ce mécanisme d'endocytose comprend trois types principaux : la phagocytose, la pinocytose et l'endocytose par récepteur interposé. Ce dernier type (Figure 1), qui nous concerne, se fait, contrairement aux deux premiers types, à l'aide d'une protéine transmembranaire localisée dans une invagination de la membrane servant de récepteur à la substance ou molécule à transporter ; cette protéine servant de récepteur membranaire peut être une clathrine (endocytose dépendant de la clathrine) ou une cavéoline (endocytose indépendant de la clathrine). Une fois, la substance à transporter fixée à son récepteur, il se forme, à partir de la membrane plasmique, une vésicule d'endocytose ou endosome contenant en son sein le complexe récepteur-substance à transporter qui se détache de la membrane plasmique pour migrer vers le cytoplasme. Chemin faisant et à cause du pH acide dans l'endosome, le récepteur se détache de la substance à transporter suivi du recyclage d'une partie de récepteurs vers la membrane

plasmique pour fixer d'autres substances ou molécules à transporter. Finalement, l'endosome va fusionner avec le lysosome (contenant diverses enzymes digestives en fonction de la nature chimique de la substance transportée : hydrolases, protéases, lipases, glycosidases...) avec comme conséquence digestion de la substance transportée (3).

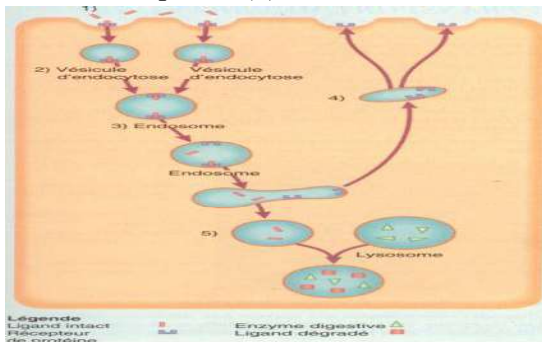


Figure 1. Mécanisme d'endocytose par récepteur interposé (Source : Google Images)

C'est par ce mécanisme d'endocytose par récepteur interposé que le cholestérol transporté sous forme de lipoprotéines de faibles densité (Low-density lipoprotein-cholesterol ou LDL-c) aux différents tissus grâce à l'interaction l'apolipoprotéine B100 (ApoB100) et son récepteur spécifique (ApoBR) au niveau de la membrane plasmique des cellules cibles. Il y a lieu de souligner que les différents mécanismes physiologiques d'endocytose constituent la principale modalité de transport de molécules et substances du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire de l'organisme humain (3). Cependant, ces mécanismes physiologiques peuvent être détournés par des agents microbiens tels que les virus et les bactéries comme discuté plus bas.

• Réponse immune antivirale de l'hôte

La défense contre une agression virale implique l'intervention initiale de l'immunité non spécifique ou innée puis la coopération de cette dernière avec l'immunité spécifique ou acquise (4). L'immunité non spécifique ou innée est activée par la présence des particules virales et/ou du virus lui-même dans les tissus ; les particules virales subissent l'opsonisation (fixation des opsonines immunoglobulines et protéines du complément) avant d'être digérées par les cellules phagocytaires, principalement les

macrophages tissulaires, qui ont reconnu, grâce aux récepteurs « Toll-like receptors, TLRs », les épitopes du virus. Le virus, étant un germe intracellulaire par excellence, est attaqué par un lymphocyte particulier intervenant dans l'immunité non spécifique ou innée appelé « natural killer lymphocyte » qui reconnaît les cellules infectées par le virus grâce aux antigènes viraux exprimés à la surface de la cellule infectée à l'aide de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMHI). Le lymphocyte « natural killer » synthétise alors des médiateurs (cytokines) responsables de la lyse de la cellule infectée par le virus (Figure 2).

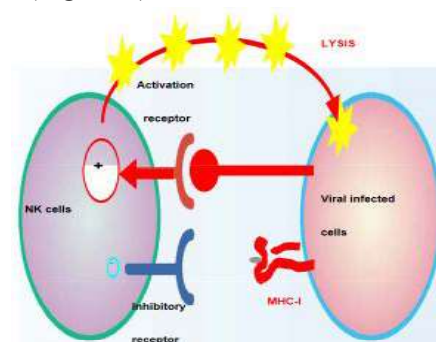


Figure 2. Réponse antivirale non spécifique ou innée à l'aide de « Natural Killer Lymphocyte » (Source : Google Images)

Après la phagocytose et digestion de l'agent agresseur, le macrophage exprime à la surface de sa membrane plasmique des antigènes viraux ayant les molécules du complexe d'histocompatibilité de classe II (CMHII) comme présentoirs ; la cellule phagocytaire porte alors le nom de cellule présentant l'antigène (CPA) à l'immunité spécifique. A cet effet, la cellule « CPA » présente l'antigène porté sur les molécules CMHII au récepteur du lymphocyte T helper ou CD4+ (TCR) en formant un complexe trimérique CMHII-TCR-CD4+ (phase de reconnaissance) (Figure 2) (4).

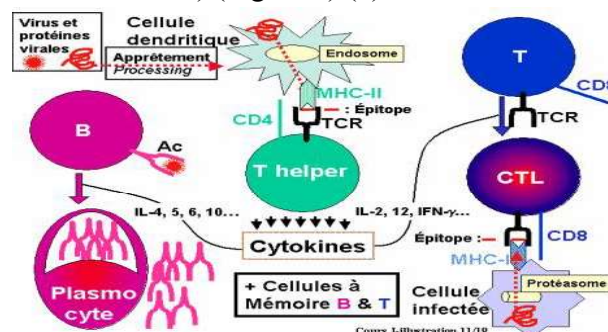


Figure 3. Coopération de l'immunité non spécifique et spécifique dans la réponse immunitaire antivirale : présentation de l'antigène. Source : Google Images

Une fois la reconnaissance terminée, la cellule « CPA » sécrète des cytokines qui vont activer le lymphocyte CD4⁺ pour se différencier en lymphocyte CD4⁺ sous type Th2 ou sous type Th1 (Figure 3). Le lymphocyte CD4⁺ sous type Th2 sécrète des cytokines (IL4,5,6,10...) qui vont activer la différenciation de lymphocytes B en plasmocytes producteurs d'immunoglobulines ou anticorps (C'est le bras humoral de l'immunité spécifique) ; le lymphocyte CD4⁺ Th1 sécrète principalement l'IL2, 12, interféron-gamma (IFN- γ) qui vont activer la différenciation du lymphocyte CD8⁺ ou suppresseur en lymphocytes cytotoxiques (CTL) ; ces derniers vont reconnaître les cellules infectées exprimant à leur surface membranaire des épitopes du virus portés par les CMHI qu'elles détruisent à travers la sécrétion de médiateurs chimiques appelés lymphokines (C'est le bras cellulaire de l'immunité spécifique). L'activation du lymphocyte CD4⁺ résulte aussi en sa différenciation en lymphocytes mémoires B et T (4).

Cycle de vie du « SARS-CoV-2 » et pathogénicité de la maladie « COVID-19 »

• Structure moléculaire du SARS-CoV-2

Les coronavirus (CoVs) se subdivisent en quatre genres : alpha (α), beta (β), gamma (γ) et delta (δ). Ce sont des virus à RNA non segmenté de polarité positive contenant le génome le plus large de tous les virus à ARN (Figure 4) (5). Les CoV ont une forme sphérique avec un diamètre d'environ 125 nm. La structure la plus prédominante du virus est représentée par des projections sous forme de pointe, émanant de la surface du virus, appelées « spikes » ; ces projections donnent au virus l'aspect en couronne de soleil à la base du nom « coronavirus ». A l'intérieur de l'enveloppe du virus se trouve la nucléocapside d'aspect hélicoïdal symétrique qui est inhabituel chez les virus à RNA à polarité positive mais habituel chez les virus à RNA à polarité négative (5).

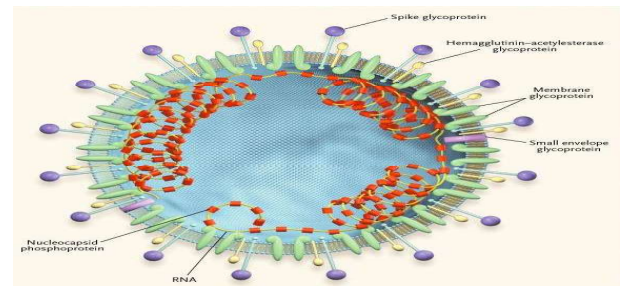


Figure 4. Structure moléculaire du SARS-CoV-2 (Source : Google Images)

L'ARN du génome du SARS-CoV-2 encode deux larges gènes « Open Reading Frame 1a (ORF1a) » et « ORF1b » qui, à leur tour, codent pour 16 protéines non structurales (nsp1-16) et 4 protéines structurales principales : la glycoprotéine S (spike), la protéine M (membrane), la protéine de l'enveloppe (E) et la protéine de la nucléocapside (N) encodées toutes par l'extrémité 3' du génome viral (Figure 4) ; ces protéines jouent un rôle important dans le cycle de vie et le pouvoir infectant du virus (5).

La glycoprotéine trimérique S (~150 kDa) est une protéine de fusion de classe I et médie l'attachement du virus au récepteur membranaire de la cellule de l'hôte. Chez la plupart des CoVs, la protéine S est clivée, par une protéase-furine like membranaire de la cellule de l'hôte, en deux polypeptides distincts S1 (formant le large domaine de fixation du récepteur ou « receptor binding domain, RBD ») et S2 (rôle dans la fusion des membranes) (5).

La protéine M, protéine structurale la plus abondante du virus, est une petite protéine (~25-30 kDa), ayant trois domaines transmembranaires, qui donne au virus sa forme. Elle existe comme un dimère dans le virus et peut adopter deux différentes conformations lui permettant de favoriser aussi bien la courbure de la membrane que la fixation à la nucléocapside (5).

La protéine E (~8-12 kDa) se trouve en petites quantités dans le virus et possède une activité de canal-ionique. Le rôle principal de la protéine E est de faciliter l'assemblage intracellulaire et la libération extracellulaire des virions. En dehors de ce rôle principal, l'activité canal-ionique de la protéine E du SARS-CoV n'est pas requise dans la réplication virale mais plutôt pour la pathogénicité (5).

La protéine N constitue la seule protéine présente de la nucléocapside. En plus de se fixer à la nucléocapside, la protéine N se fixe aussi à la protéine non structurale 3 (nsp3), composante essentielle du complexe replicase et à la protéine M; ces interactions entre protéines sont nécessaires à la réplication du génome viral (5). A côté de ces quatre protéines de structure principales, il existe une cinquième protéine de structure, l'hémagglutinine estérase (HE) présente dans le sous-groupe de CoVs de type beta (CoVs β), dont le SARS-CoV-2. Cette protéine, agissant comme une hémagglutinine, se fixe aux molécules d'acide sialique à la surface des glycoprotéines membranaires de la cellule de l'hôte et possède une activité acétyl-estérase (5).

- Cycle de vie du SARS-CoV-2 dans les cellules de l'hôte

L'un des principaux déterminants de l'initiation et de la progression de l'infection à « SARS-CoV-2 » est l'entrée du virus dans les cellules de l'hôte (6-8). A cet égard, il est actuellement admis que le SARS-CoV-2 peut entrer dans les cellules de l'hôte via deux voies : la voie de l'endocytose par récepteur membranaire interposé (voie endosomale) décrite ci-dessus et celle non endosomale (voie de la formation de la vésicule à double membrane). De ces deux voies, la voie de l'endocytose par récepteur membranaire interposé (voie endosomale) apparaît particulièrement importante et est la plus étudiée. Dans la voie endosomale, l'endocytose clathrine-dépendante ("Clathrin-dependent endocytosis") et le clivage enzymatique (par la cathepsine) de la protéine S (« Cathepsin-mediated S protein cleavage ») représentent deux étapes critiques dans le processus d'entrée du virus et d'infection des cellules hôtes (6-7).

Le cycle de vie du SARS-CoV-2 comprend quatre étapes principales qui peuvent être la cible de thérapies antivirales : l'attachement à la membrane plasmique de la cellule de l'hôte et la pénétration intracellulaire du virus, l'expression de l'enzyme replicase, la réplication et la transcription de l'ARN viral et l'assemblage et la libération des virions (Figure 5) (6-7).

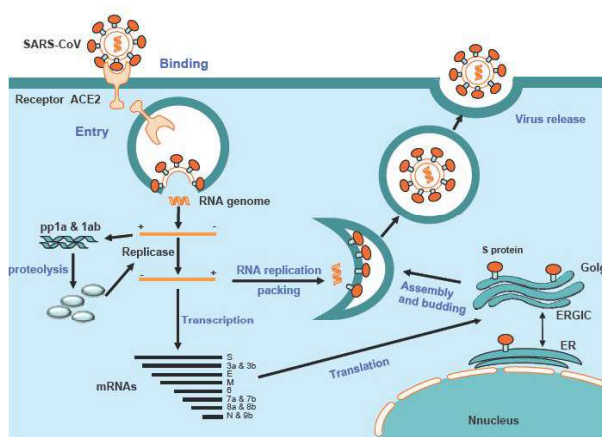


Figure 5. Cycle de vie du SARS-CoV-2 dans la cellule de l'hôte (Source: Google Images)

o Attachement à la membrane plasmique de la cellule de l'hôte et pénétration intracellulaire du virus

Le cycle de vie du SARS-CoV-2 dans la cellule de l'hôte commence avec la fixation (attachement) de la protéine S virale à son récepteur membranaire spécifique qui est l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) (Figure 5) ; cette fixation se fait via le clivage protéolytique (par une protéase membranaire appelée protéase sérine transmembranaire ou « transmembrane protease serine 2 », TMPRSS2, exprimée à la surface de la membrane plasmique avec l'ACE2) de la protéine S en deux sous-unités distinctes S1 et S2 ayant des fonctions différentes. La sous-unité S1 est impliquée (à travers son domaine de fixation au récepteur ou « receptor binding domain, RBD ») dans la fixation de la protéine S à son récepteur membranaire ACE2 (au niveau de son résidu hydrate de carbone) tandis que la protéine S2 est responsable de la fusion de la membrane virale à la membrane de la cellule de l'hôte (S2) favorisant ainsi l'entrée du virus dans la cellule à travers la voie d'endocytose par récepteur interposé avec formation d'une vésicule d'endocytose appelée « endosome » contenant le complexe virus-récepteur. On peut, par anticipation, inférer que tout moyen pharmacologique susceptible de bloquer la fixation du virus à son récepteur, la fusion de deux membranes ainsi que l'initiation de l'endocytose par récepteur interposé pourra contribuer à minimiser la réplication virale (6-7).

o Expression du complexe enzymatique replicase

Dans l'endosome, la protéine S du virus se détache, à cause du pH acide de l'endosome et de l'effet protéolytique des protéases intracellulaires, du récepteur ACE2 (Figure 5), il s'ensuit l'activation de mécanismes de fusion de la membrane virale avec celle de l'endosome et la libération subséquente de l'ARN génomique viral dans le cytoplasme cellulaire après protéolyse de la nucléocapside par les protéasomes. Une fois de plus, tout moyen pharmacologique susceptible d'augmenter le pH (c'est-à-dire passer du pH acide au pH alcalin) pourra empêcher la libération de l'ARN génomique viral et, partant, la réplication virale (6-7).

o Réplication et transcription de l'ARN viral

Au niveau du cytoplasme commence le processus de réplication et de transcription de l'ARN par le biais du complexe appelé complexe de réplication et de transcription ou « replication transcription complex, RTC » fait de protéines non structurales (nsp). Il s'ensuit la traduction du RNA du génome viral à polarité positive pour générer des réplicases à partir d'ORF1a/b. Les réplicases utilisent le génome viral comme template pour générer d'autres génomes viraux (RNA à polarité négative). La RNA polymérase produit, par transcription discontinue, une série de RNA messagers (mRNA) sous génomiques qui seront finalement traduits en protéines virales (structurales et non structurales) (Figure 5). Comme dit ci-dessus, tout moyen pharmacologique à même de bloquer l'expression des réplicases ou l'action de la polymérase permettront d'inhiber la réplication et la transcription du virus déjà entré dans la cellule de l'hôte (6-7).

o Assemblage et libération des virions

Les protéines virales (structurales et non structurales) et les ARN génomiques viraux vont être insérés dans le réticulum endoplasmique (RE) puis transférés dans le compartiment intermédiaire du RE et de l'appareil de Golgi (« Endoplasmic Reticulum Golgi Intermediate Compartment, ERGIC ») pour être assemblés en nouveaux virions ; ces derniers vont être transportés via des vésicules ad hoc et libérés hors de la cellule par exocytose (Figure 5). D'un point de vue conceptuel, tout moyen

pharmacologique, pouvant inhiber l'assemblage des protéines virales et les ARN messagers en virions ou s'attaquer directement aux virions libérés hors de la cellule, contribuera au contrôle de l'infection à SARS-CoV-2 et la maladie COVID-19 subséquente (6-7).

Le SARS-CoV-2 utilise de mécanismes multiples pour échapper ou paralyser la réponse immune innée ou non spécifique diminuant ainsi l'activité du système d'interférons (IFN) (5). Le SARS-CoV-2 peut, grâce à ses protéines spécifiques, inhiber la phosphorylation au niveau cytoplasmique et la translocation nucléaire du facteur de régulation de l'IFN 3 (IFN-regulatory factor 3 ou IRF3) qui est un facteur de transcription cytoplasmique situé en aval des récepteurs membranaires « Toll-like receptors ou TLRs » des cellules de l'hôte présentant l'antigène (CPA) ; ces récepteurs sont chargés de reconnaître une partie antigénique (épitope). Après sa translocation nucléaire, l'IRF3 induit la transcription des gènes codant pour les IFNs. De plus, d'autres protéines virales, incluant ORF3b, ORF6 et N peuvent aussi inhiber la translocation nucléaire de l'IRF3 et, partant, la transcription des gènes codant pour l'IFN- β . La protéine ORF6 peut antagoniser les effets du facteur de transcription « Signal transducer and activator of transcription 1, STAT1 » et, partant, la transcription du gène de l'IFN- β en séquestrant ce facteur de transcription au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique rugueux et de l'appareil de Golgi avec comme conséquence l'absence de translocation nucléaire du STAT1. De la même manière, la protéine non spécifique (nsp3) réduit la phosphorylation du STAT1 et favorise la dégradation du RNA messenger de la cellule hôte essentiel à la production des protéines antivirales (8).

L'expression multi-viscérale du récepteur ACE2 et de la protéase « TMPRSS » membranaires [principalement voies respiratoires supérieures (oropharynx) et inférieures (poumons), l'intestin grêle, les vaisseaux (cellules endothéliales), les reins (bordure en brosse des cellules épithéliales du tube contourné proximale et les cellules épithéliales viscérales ou podocytes)], explique le polymorphisme du tableau clinique de l'infection à SARS-CoV-2 et l'atteinte multi-

viscérale ou organique observée dans les formes sévères de la maladie COVID19 (9-10). Toutefois, il faut retenir que l'atteinte des voies respiratoires, compte tenu du mode de transmission interpersonnelle du SARS-CoV-2, représente la principale porte d'entrée du virus dans l'organisme humain. Il faut souligner qu'il y a de plus en plus de publications scientifiques sur l'atteinte neuropsychiatrique associée à la maladie COVID-19 (11).

Bases moléculaires de l'action des médicaments antiviraux potentiels sur le cycle de vie du SARS-CoV-2.

Il sied de rappeler qu'il n'existe présentement aucun traitement spécifique efficace contre le nouveau coronavirus SARS-CoV-2. Dès lors, la recherche et l'identification d'antiviraux spécifiques efficaces contre ce nouveau coronavirus s'avèrent une nécessité impérieuse et urgente de portée santé publique et mondiale (7, 12-13). En attendant la découverte d'un médicament spécifique, une approche alternative efficace et réaliste est celle de tester l'efficacité et la tolérance des antiviraux déjà utilisés (repurposing of existing effective antiviral drugs) dans les infections à virus morphologiquement ou structurellement proches du SARS-CoV-2, tels que les autres coronavirus (CoV) ou le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), en ciblant leur effet inhibiteur potentiel sur les différentes étapes du cycle de vie du SARS-CoV-2 (14).

La voie de l'endocytose par récepteur membranaire interposé étant reconnue comme la principale voie contrôlant l'entrée du SARS-CoV-2 dans les cellules de l'hôte, les différentes étapes de cette voie ont été largement étudiées comme cible potentielle des thérapies antivirales. A cet égard, il existe différents inhibiteurs de la voie d'endocytose par récepteur membranaire interposé utilisés pour bloquer l'entrée du virus et l'infection de la cellule de l'hôte. Parmi eux, il existe trois groupes considérés particulièrement pertinents et d'intérêt clinique prometteur : 1. Les agents endosomo/lysosomotropiques, 2. Les inhibiteurs directs de la protéase endosomale/lysosomiale et 3. Les inhibiteurs de l'endocytose médiée par la clathrine (8, 12, 14) (Figure 6).

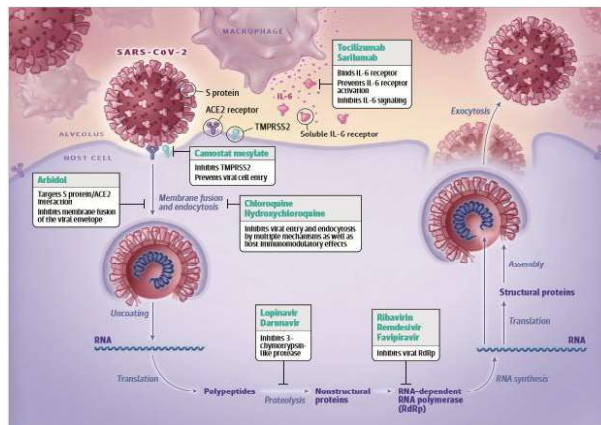


Figure 6. Cycle de vie du QARS-CoV-2 et sites d'action des antiviraux potentiels. (Source : Sanders et al. 2014, 14)

o Agents endosomo/lysosomotropiques

Ils sont capables de s'accumuler à l'intérieur de l'endosome ou du lysosome et neutraliser le pH acide du l'endosome ou du lysosome bloquant ainsi l'activité de la protéase avec comme conséquence l'inhibition de l'entrée du virus et, partant, sa réplication. La chloroquine (CQ), un antipaludéen bien connu, est probablement l'agent endosomo/lysosomotropique le mieux étudié ; elle s'accumule dans les organites acides tels que l'endosome ou le lysosome et neutralise leur pH acide (7, 11, 14). Le traitement à la CQ, à des doses optimales avant ou après l'infection à SARS-CoV-2, a montré, *in vitro*, son efficacité dans la suppression de la réplication virale suggérant que la CQ pouvait être utilisée en prophylaxie ou en thérapie (8, 12-14). Il est bien établi, comme discuté ci-dessus, que le clivage protéolytique de la glycoprotéine S du SARS-CoV-2, par les protéases de la membrane plasmique de la cellule de l'hôte, est requis pour l'entrée du virus dans la cellule via une voie pH-dépendante. La neutralisation du pH acide endosomal ou lysosomal par la CQ inhibe l'activité des protéases membranaires et prévient, par conséquent, le clivage de la glycoprotéine S virale et l'entrée du virus dans la cellule. Il a été rapporté que les agents endosomo/lysosomotropiques pouvaient aussi agir sur l'ACE2, le récepteur membranaire du SARS-CoV-2 ; à cet effet, une étude *in vitro* a montré que la CQ pouvait inhiber l'infection à SARS-CoV-2 aussi bien au stade d'entrée cellulaire du virus que celui post-entrée (8,12). De manière intéressante, il a été rapporté un effet

synergique de la CQ sur la voie de signalisation des glucocorticoïdes, à travers la stabilisation du récepteur de glucocorticoïdes (8, 12, 14-15), suggérant ainsi la possibilité d'utiliser la CQ en association aux glucocorticoïdes dans les formes sévères de COVID-19 comme c'est le cas dans l'infection à SARS (8, 12, 14-16). En clinique, des essais cliniques, utilisant la CQ en monothérapie ou en association à d'autres classes de médicaments, sont en cours dans divers pays pour vérifier son efficacité et sa tolérance pour valider les résultats des études *in vitro*. Il sied de signaler que la CQ étant un substrat du système enzymatique de cytochrome P450 (CYP), voie de métabolisation de plusieurs médicaments, il y a lieu de craindre des interactions médicamenteuses ; d'où la nécessité de faire un choix judicieux de médicaments à associer à la CQ (8, 12, 14-17) (Figure 6).

Hormis la chloroquine, l'Ivermectine et la doxycycline possèdent des propriétés antivirales comme agents endosomo/lysosomotropiques. En effet, l'Ivermectine, un puissant antiparasitaire bien connu et utilisé principalement dans le traitement de la filariose à *Onchocerca volvulus*, agit comme une base faible en augmentant le pH de l'endosome/lysosome empêchant ainsi, à l'instar de la CQ, indirectement la réplication et la transcription du génome viral (8, 12, 14, 18-20). Il en est de même de la doxycycline, un dérivé lipophile de la tétracycline, qui inhibe l'entrée et la réplication virale via l'inhibition de la protéase sérine, enzyme clé pour l'entrée du virus dans la cellule. De plus, la survie, l'entrée cellulaire et la réplication reposant sur les résidus zinc des enzymes métalloprotéases de la matrice extracellulaire (MMPs), la tétracycline et ses dérivés, chélateurs connus du zinc, peuvent ainsi bloquer l'entrée et la réplication du virus. Il a été aussi rapporté que la doxycycline pouvait, par ses effets anti-inflammatoires, atténuer les effets délétères de la tempête cytokinique (« cytokine storm ») sur les cellules et tissus de l'hôte (14, 21) (Figure 6).

o Inhibiteurs directs de la protéase endosomale/lysosomale

Les cathépsines sont des protéases cystéines endosomales/lysosomales qui jouent un rôle important dans la dégradation ou le catabolisme

des protéines dans plusieurs processus cellulaires incluant la voie de l'endocytose. Il a été démontré *in vitro* que le Camostat, un inhibiteur de la protéase sérine transmembranaire 2 (TMPRSS2) de la cellule de l'hôte, enzyme nécessaire à l'entrée du SARS-CoV-2 après fixation à l'ACE2, protégeait la souris de la mort causée par l'infection à SARS-CoV (8, 12). Plus intéressant encore, il a été rapporté récemment que le Camostat pouvait empêcher l'entrée de SARS-CoV-2 en inhibant, à la fois, l'ACE2 et la TMPRSS2. Le Camostat, étant déjà utilisé en Clinique dans le traitement de la pancréatite, offre une potentialité thérapeutique pour le traitement de COVID-19 (8, 12, 14) (Figure 6).

o Inhibiteurs de l'endocytose médiée par la clathrine

L'endocytose médiée par la clathrine est, comme rappelé ci-dessus, l'un des principaux mécanismes d'entrée des virus dans les cellules de l'hôte. Il a été rapporté, de manière consistante, *in vitro* que la chlorpromazine, neuroleptique largement utilisé dans traitement des désordres psychotiques, tels que la schizophrénie (14, 22), possédait, via l'inhibition de l'endocytose dépendant de la clathrine, un effet inhibiteur significatif sur l'entrée des coronavirus dans les cellules de l'hôte (8, 12, 14) (Figure 6). En clinique, l'étude « reCoveRy », initiée en France, va analyser l'effet antiviral du neuroleptique chlorpromazine dans la COVID-19.

À côté des médicaments inhibant la réplication virale à partir de l'inhibition des étapes pré- et post-récepteurs de l'endocytose par récepteur membranaire interposé, il existe d'autres médicaments qui agissent directement sur la réplication et la transcription du virus ainsi que l'assemblage intracellulaire et la libération extracellulaire du virus (5, 12, 14). À cet égard, la présente revue va s'intéresser à quelques antiviraux d'usage courant *in vitro* ou *in vivo*, en association principalement avec la chloroquine ou l'hydroxychloroquine, dans la lutte contre la COVID-19 tout en soulignant que les aspects relatifs à l'efficacité clinique de ces médicaments ne seront pas discutés car les études à large échelle sur ces différents

médicaments sont, pour la plupart, en cours ou tendent vers leur fin (5, 12, 14). (Figure 6).

o Inhibiteurs de l'ARN polymérase dépendant de l'ARN

Le médicament le plus utilisé de ce groupe utilisé dans la lutte contre la COVID-19 est le Remdesivir ; c'est un analogue de nucléotide dont l'activité antivirale consiste à inhiber l'enzyme l'ARN polymérase dépendant de l'ARN, étape clé dans la réplication et la réplication cytoplasmique du SARS-CoV-2. Il s'ensuit une diminution de la capacité du virus à se reproduire et infecter d'autres cellules de l'hôte. Dans la plupart d'études publiées ou en cours, il est associé à la chloroquine ou l'hydroxychloroquine dans les formes sévères du COVID-19 (5, 8, 12, 14, 23). Un autre médicament qui partage les mêmes mécanismes d'action que le Remdesivir est l'EIDD-2801. Ce nouveau médicament qui a montré son efficacité contre le SARS-CoV-2 *in vitro* est un analogue du ribonucléotide qui exerce son effet antiviral en inhibant l'ARN polymérase dépendant de l'ARN empêchant ainsi l'étape de réplication et transcription virales. Il en est de même de l'antiviral Favipiravir qui agit de la même manière que les deux antiviraux ci-dessus (5, 8, 12, 14, 23) (Figure 6).

o Inhibiteurs des protéases

Parmi les médicaments de ce groupe, le médicament le plus utilisé dans la lutte contre la COVID-19 est l'association de deux anti-protéases, le lopinavir (LPV) et le ritonavir (RTV), communément utilisés dans le traitement de l'infection à VIH/SIDA. Ces médicaments inhibent les protéases du SARS-CoV-2 l'empêchant ainsi de terminer son cycle de vie jusqu'à la libération de nouveaux virions dans le milieu extracellulaire. En effet, Cette association peut être utilisée en bithérapie avec la chloroquine/hydroxychloroquine ou un autre antiviral la ribavirine, un analogue de nucléotides utilisé dans le traitement de l'hépatite virale voire même en trithérapie avec ribavirine et interféron (5,8,12,14,23) (Figure 6).

o Médicaments neutralisant les virions extracellulaires

On distingue deux espèces d'interférons, les IFNs de type 1 parmi lesquels l'IFN alpha (IFN- α)

et beta (IFN- β), kappa (IFN- κ) et de type 2 incluant l'IFN gamma (IFN- γ). Les IFNs de type 1 (IFN- α) ont effet inhibiteur sur une large gamme de virus dont le SARS-CoV-2. Lorsque les cellules de l'hôte entrent en contact avec le virus, elles synthétisent et libèrent l'IFN- α qui protège, à la fois, la cellule productrice (communication autocrine) et les cellules adjacentes (communication paracrine). L'IFN- α , en augmentant l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMHI) à la surface des cellules infectées, augmente la cytotoxicité des lymphocytes « natural killer » à l'endroit de ces cellules infectées (8, 12, 14, 23) (Figure 6).

Quoique ne constituant pas l'objet de cette revue, il sied de signaler qu'il existe d'autres stratégies thérapeutiques contre la COVID-19 actuellement à l'étude. Parmi ces stratégies, on peut citer, sans entrer dans les détails, les anticorps monoclonaux humains, les inhibiteurs de la « Janus kinase (JAK) », les immuno-amplificateurs, les corticoïdes, les immunoglobulines par voie intraveineuse et le plasma des convalescents (5, 14, 23). S'agissant d'anticorps monoclonaux humains, il existe trois principales molécules utilisées dans la lutte contre la COVID-19 : le tocilizumab, le sarilumab et le bevacizumab. Les deux premières molécules agissent contre le récepteur de l'interleukine-6 (IL-6), aussi bien membranaire que soluble, empêchant ainsi l'IL-6, un déterminant majeur de la tempête cytokinique (« Cytokine storm »), de produire ses effets délétères cellulaires et tissulaires. La « Janus kinase » est la voie de signalisation intracellulaire utilisée par les cytokines une fois fixées à leurs récepteurs membranaires ; l'inhibition de cette voie de signalisation peut concourir à l'atténuation des effets délétères de l'IL-6 et, partant, de la tempête cytokinique. En ce qui concerne les immuno-amplificateurs, l'IFN- β , principalement produite par les lymphocytes CD4+ après présentation de l'antigène par la cellule présentant l'antigène ou CPA (macrophages), est connue pour amplifier la réponse immune non spécifique ou innée contre le virus en augmentant l'expression des molécules du complexe majeur

d'histocompatibilité de classe II (CMHII) à la surface des CPAs. Cette propriété de booster la réponse immune explique l'utilisation potentielle de l'IFN- β comme agent immuno-amplificateur. Les glucocorticoïdes, grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires, antiprolifératives, anti-fibrotiques (réduction de la capacité de dépôts de collagène), peuvent être utilisés dans les formes sévères de COVID-19 en association avec d'autres molécules discutées ci-dessus (5, 14, 23) (Figure 6).

Conclusion

Il existe une évidence expérimentale et clinique suffisamment forte indiquant que la voie de l'endocytose par récepteur membranaire interposé joue un rôle crucial dans l'entrée et la réplication du virus SARS-CoV-2 dans la cellule de l'hôte. Par voie de conséquence, les médicaments ciblant l'endosome et le lysosome, tels la chloroquine et l'hydroxychloroquine, offrent des potentialités thérapeutiques dans le traitement de la COVID-19. En attendant la confirmation de leur efficacité, en monothérapie ou en association, à travers les essais cliniques en cours, les médecins surtout généralistes de soins se doivent de mieux comprendre les mécanismes et les sites d'action de ces médicaments, en référence au cycle de vie de ce virus, pour non seulement une meilleure prescription et une formation adaptée du personnel soignant mais aussi une éducation thérapeutique convaincante aux patients et leurs familles.

Remerciements

Les auteurs remercient très sincèrement les Membres de l'Association des Anciens de la Faculté de Médecine de Kinshasa (AFMED-UNIKIN)/Section Europe et ceux du Service de Néphrologie du Département de Médecine des Cliniques Universitaires de Kinshasa pour avoir mis gracieusement à leur disposition les articles relatifs au sujet abordé dans cette revue.

Conflit d'intérêt : Pas de conflit d'intérêt

Contribution des auteurs

Conception, revue de la littérature et rédaction : FBL.
Collecte et revue de la littérature et rédaction : JRRM, YMN, RKL, NNM, DKT.

Revue de la littérature et correction du manuscrit : EKS, JM.

Tous les auteurs ont lu et approuvé la version finale du manuscrit.

References

1. Rothana HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J. Autoimmunity* 2020 ; **109**: 102433. <http://doi.org/10.1016/j.aut.2020.102443>.
2. Comité Multisectoriel de la Riposte contre COVID-19. Situation épidémiologique en RDC du 5 mai 2020. Ministère de la Santé, Kinshasa, République Démocratique du Congo (RDC). Disponible sur www.ccife-rdcongo.org
3. Kornilova ES. Receptor-mediated endocytosis and cytoskeleton. *Biochemistry (Mosc)* 2014; **79** (9): 865-878 doi: 10.1134/S0006297910041.
4. Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune response defense. *Clin Microbiol Rev* 2009; **22** (2): 240-273 doi: 10.1128/CMR-00046-08.
5. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: An overview of their Replication and pathogenesis. In Helena Jane Maier *et al.* (eds.), *Coronaviruses: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 1282, DOI 10.1007/978-1-4939-2438-7_1, © Springer Science+Business Media New York 2015
6. Yang N, Shen HM. Targeting the Endocytic Pathway and Autophagy Process as a Novel Therapeutic Strategy in COVID-19. *Int. J. Biol. Sci.* 2020; **16** (10): 1724-1731. doi: 10.7150/ijbs.45498.
7. El-Aziz TMA, Stockland JD. Recent progress and challenges in drug development against COVID19 (SARS-CoV-2) – An update on the status. *Infect Genet Evol* 2020; **83**: 10.4327. doi: 10.1016/j.meegig.2020.
8. Tong T. Therapies for coronaviruses. Part 2. Inhibitors of intracellular life cycle. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 2009; **19** (4): 415-431. doi: 10.1517/135457770802600698.
9. Fanelli V, Fiorentino M, Vincenzo Cantaluppi V, Gesualdol L, Stallone G, Roncoc C, *et al.* Acute kidney injury in SARS-CoV-2 infected patients. *Critical Care* 2020; **24**: 155 <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02872-z>.
10. Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID19 and cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol* 2020; **17** (5): 256-260.
11. Assadi-Pooya AA, Simani L. Central nervous system manifestations of COVID-19: a systematic review. *J Neurol Sci* 2020; **413**: 116832 doi: 10.1016/j.jns.2020.116832.
12. Yang N, Shen HM. Targeting the Endocytic Pathway and Autophagy Process as a Novel Therapeutic Strategy in COVID-19. *Int. J. Biol. Sci.*

- Sci.* 2020; **16** (10): 1724-1731. doi: 10.7150/ijbs.45498.
13. Phua J, Weng L, Ling L, Egi M, Lim CM, Divatia JV, *et al.* Intensive Care Unit management of COVID19: Challenges and Recommendations. *Lancet Respir Med* 2020; **8**(5) : 506-517 [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30169-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30169-X).
 14. Sanders JM, Monologue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) A Review. *JAMA* Published online April 13, 2020;
 15. He Y, Xu Y, Zhang C, Gao X, Dykema KJ, Martin KR, *et al.* Identification of a lysosomal pathway that modulates glucocorticoid signaling and the inflammatory response. *Sci Signal* 2011; **4**: ra44.
 16. Nie QH, Luo XD, Hui WL. Advances in clinical diagnosis and treatment of severe acute respiratory syndrome. *World J Gastroenterol* 2003; **9**: 1139-43.
 17. Multicenter collaboration group of Department of S, Technology of Guangdong P, Health Commission of Guangdong Province for chloroquine in the treatment of novel coronavirus p. [Expert consensus on chloroquine phosphate for the treatment of novel coronavirus pneumonia]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* 2020; **43**: E019.
 18. Choudhary R, Sharma AK, Choudhary R. Potential use of Hydroxychloroquine, Ivermectin and Azithromycine drugs in fighting COVID1-9: Trends, scope and relevance. *New Microbes New Infect* 2020; 100684.
 19. Caly L, Druce JD, Catton MG, Jans DA, Wagstaff KM. The FDA-approved drug Ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 *in vitro*. *Antiviral Res* 2020 Jun; **178**: 104787.
 20. Patri A, Fabbrocini G. Hydroxychloroquine and Ivermectin: a synergistic combination for COVID19 chemoprophylaxis and/or treatment? *J Am Acad Dermatol* 2020 Apr 10. doi: 10.1016/j.jaad
 21. Sodhi M, Etmiran M. Therapeutic potential for tetracyclins in the treatment of COVID-19. *Pharmacotherapy* 2020 Apr 8; doi: 10.1002/phar.2695.
 22. Zhang J, Xie B, Hashimoto K. Current status of potential therapeutic candidates for COVID-19 crisis. *Brain Behav Immun* 2020 Apr 22 doi: 10.1016/j.bbi.2020.04.046.
 23. Boyd-Kimball D, Gonczy K, Lewis B, Mason T, Siliko N, Wolfe J. Classics in Chemical Neuroscience: Chlorpromazine. *ACS Chem Neurosci* 2019; **10** (11): 79-88.