

Titre : Nouveaux mécanismes alternatifs de résistance du virus de l'immunodéficience humaine aux inhibiteurs de protéase : impact des mutations dans la polyprotéine gag et dans la glycoprotéine d'enveloppe gp41

Résumé: En cas d'échec virologique chez des patients recevant un traitement antirétroviral à base d'inhibiteur de protéase (IP), des mutations de résistance dans la protéase sont rarement mises en évidence. En effet, les mécanismes de résistance aux IP apparaissent plus complexes que ce qui a été décrit jusqu'à présent. Récemment, des mécanismes alternatifs de résistance ont été mis en évidence, impliquant la région gag et la région de la glycoprotéine transmembranaire d'enveloppe gp41. Le but de ce travail était d'explorer, à l'aide des technologies de séquençage haut débit, de nouveaux mécanismes alternatifs de résistance aux IP. Dans un premier travail, nous avons montré l'absence d'impact sur la réponse virologique de la présence de variants résistants minoritaires (VRM) aux IP à l'initiation d'un traitement à base d'atazanavir ou de darunavir. Dans une deuxième partie, nous avons mis en évidence, dans la protéase, que 4 mutations (T4A et S37T ; E21D et I72M pour les VIH-1 CRF02_AG) étaient associées à la survenue d'échec virologique à une première ligne de traitement à base d'IP. Des analyses structurales in silico de la protéase ont montré que ces mutations engendraient des déformations au voisinage des résidus mutés, pouvant dans certains cas avoir un impact sur la liaison de l'IP au site actif de la protéase. Dans les régions gag et gp41, respectivement 3 mutations (G62D, N315H et Y441S) et une mutation (I270T) présentes à l'initiation étaient associées à l'échec virologique. L'analyse des séquences à l'échec a identifié l'émergence de mutations dans la protéase (I15V, I64M, K70R, P79A), mais également dans les régions gag (R286K) et gp41 (K106R, E109D, T165S, K172R et V321I). Enfin, nous avons comparé l'utilisation de trois logiciels d'analyse de séquences haut débit (AVA®, SmartGene® et Geneious®) pour la détection et la quantification des VRM du VIH-1. Nos résultats plaident pour un seuil optimal pour la détection et la quantification des VRM à 2%.

Mots clefs : VIH-1, résistance, inhibiteurs de protéase, gag, gp41, séquençage haut débit, variants résistants minoritaires

Title: New alternative mechanisms of human immunodeficiency virus (HIV) protease inhibitors (PI) resistance: impact of Gag polyprotein mutations and transmembrane envelope glycoprotein (gp41) mutations

Abstract: Virological failure (VF) in patients receiving protease inhibitors (PI)-based regimen is rarely associated with selection of resistance mutations in the protease region. Indeed, mechanisms of resistance of PI are more complex than previously described. Recently, alternative mechanisms showed the impact of mutations in the transmembrane envelope glycoprotein (gp41) or in the Gag polyprotein. The aim of this study is to explore, using ultra-deep sequencing technologies, novel alternative mechanisms for PI resistance. In a first part, we showed that minority resistant variants (MRV) at PI initiation have no impact on virological response to a first-line PI-based regimen containing darunavir or atazanavir. In a second part, we have shown, in the protease region, that 4 mutations (T4A and S37T; E21D and I72M mutations for HIV-1 CRF02_AG) were associated with VF of a first-line PI-based regimen. In silico protease structural analyzes have shown that these mutations generate deformations in the vicinity of the mutated residues, which may in some cases have an impact on the binding of the PI to the protease active site. In the gag region, baseline mutations G62D, N315H, and Y441S were associated with VF. In the gp41 region, baseline I270T mutation was associated with VF. At time of VF, mutations emerged in all 3 regions: I15V, I64M, K70R, P79A in protease, R286K in gag and K106R, E109D, T165S, K172R and V321I. Finally, we compared the use of three software packages for ultra-deep sequencing data analysis (AVA®, SmartGene® and Geneious®) for detection and quantification of HIV-1 MRVs. Our results argue for an optimal threshold for detection and quantification of MRV at 2%.

Key words: HIV-1, resistance, protease inhibitors, gag, gp41, ultra-deep sequencing, minority resistant variants