



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Targeting chikungunya virus replication : insights into chikungunya virus replication and the antiviral activity of suramin in vitro

Albulescu, I.C.

Citation

Albulescu, I. C. (2019, November 27). *Targeting chikungunya virus replication : insights into chikungunya virus replication and the antiviral activity of suramin in vitro*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/80955>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/80955>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/80955> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Albuлесcu, I.C.

Title: Targeting chikungunya virus replication : insights into chikungunya virus replication and the antiviral activity of suramin in vitro

Issue Date: 2019-11-27

Rezumat

Titlu: Inhibarea replicării virusului Chikungunya - Perspective asupra replicării acestui virus și modul de acțiune al compusului suramin

Această lucrare este axată pe înțelegerea particularităților replicării virusului Chikungunya (CHIKV) și a mecanismelor prin care acest proces poate fi inhibat de suramin, un compus cu spectru larg de activitate.

CHIKV este un membru al familiei *Togaviridae* care se transmite la oameni prin mușcătura țânțarilor infectați. În trecut acest virus de origine africană a provocat mari epidemii în Asia, dar cea mai recentă epidemie a avut loc între 2014-2015 în America, unde a cauzat peste 1 milion de cazuri confirmate. Persoanele infectate manifestă dureri articulare și musculare acute (care pot dura ani întregi), febră și erupții cutanate. În prezent nu există niciun vaccin sau tratament aprobat pentru infecția cu CHIKV. O introducere mult mai amplă în ceea ce privește CHIKV, organizarea genomului său, funcțiile proteinelor virale, replicarea, patogenza și strategiile preventive sau terapeutice poate fi găsită în **Capitolul 1**, introducerea generală a tezei. La scurt timp după terminarea epidemiei cauzate de CHIKV, un alt virus, de asemenea transmis de țânțari și originar din Africa, a continuat să provoace grave probleme de sănătate în America Centrală și de Sud. Acesta este virusul Zika (ZIKV), un membru al familiei *Flaviviridae*. Deși ZIKV cauzează predominant infecții asimptomatice sau boli fără complicații caracterizate prin febră ușoară, erupții cutanate, conjunctivită și stare de rău, epidemiile din America au asociat, de asemenea, infecția cu ZIKV de malformații fetale, precum microcefalia, și sindromul Guillain-Barré la adulți. În plus, au fost descoperite rutele de transmitere a infecției nerecunoscute anterior, precum de la mamă la copil și prin contact sexual. În mod similar, precum în cazul CHIKV, nu există pe piață o strategie preventivă sau terapeutică (vaccinuri sau medicamente) împotriva infecției cu ZIKV. Cercetările din ultimii 40 de ani au arătat ca suramin, un compus comercializat pentru tratamentul infecțiilor parazitare, are activitate anticancerosă, dar și antivirală. Prin urmare, am dorit să testăm dacă acest compus ar putea inhiba replicarea celor două virusuri, CHIKV și ZIKV.

Capitolul 2 descrie dezvoltarea unui sistem de replicare *in vitro* (IVRA) care se bazează pe complexe de replicare/transcripție, aparținând virusului CHIKV, izolate din celulele infectate. Acest test poate fi utilizat pentru a studia sinteza ARN-ului viral, precum și pentru a identifica compuși care inhibă acest proces și a le studia modul de acțiune. În timpul optimizării acestui sistem, am identificat un nou tip de ARN care este produs în timpul infecției cu CHIKV, alături de ARN-ul genomic și subgenomic, specii/soiuri/tipuri care sunt necesare pentru sinteza proteinelor virale implicate în procesul de replicare sau în producția de virus nou, precum și în interacțiunea cu celula gazdă. Acest nou tip de RNA a fost numit RNAII, similar cu cel identificat de Huang și Wielgosz (1997) pentru virusul Sindbis (SINV), un virus înrudit cu CHIKV. Suspectăm că acest nou ARN dirijează mai

târziu în cursul infecției complexe de replicare/transcripție spre a produce predominant ARN subgenomic, necesar pentru generarea de proteine structurale care sunt apoi utilizate în asamblarea noilor particule virale.

Folosind acest sistem de replicare *in vitro*, în **capitolul 3** am identificat compusul suramin ca fiind un puternic inhibitor al replicării CHIKV. Cu toate acestea, testele bazate pe celule în cultură au demonstrat că suramin are ca principal mod de acțiune inhibarea unei etape timpurii a ciclului replicativ, și anume intrarea virusului în celula gazdă. În plus, au fost analizați mai mulți compuși înrudiți cu suramin și, deși acești compuși nu au fost mai eficienți, au oferit o perspectivă asupra elementelor structurale (simetria moleculei și prezența sarcinilor negative) care sunt importante pentru activitățile inhibitoare ale compusului suramin observate atât *in vitro*, cât și în culturi de celule mamaliene.

Efectul antiviral al suraminului are un spectru foarte larg, iar în **capitolul 4** arătăm că inhibă, de asemenea, și replicarea virusului ZIKV, interferând atât cu intrarea sa în celula gazdă, cât și cu biogeneza virionilor descendenți.

Ulterior, am explorat cum suraminul poate inhiba etapele prin care CHIKV intră în celula gazdă. **Capitolul 5** descrie identificarea glicoproteinei E2, expusă la suprafața anvelopei virale a lui CHIKV, ca una din țintele compusului. Experimentele din acest capitol sugerează că prin interacțiunea suraminului cu E2 este blocată atașarea virusului la membrana celulei gazdă, precum și fuziunea ulterioară a particulei cu membranele celulare (în urma endocitozei particulelor). CHIKV poate deveni mai rezistent la acțiunea compusului prin dobândirea de mutații în proteina E2. Substituțiile de aminoacizi N5R și H18Q, au permis virusului să se reproducă mult mai bine în prezența suraminului, în comparație cu virusul original. Cu toate acestea, un mutant CHIKV cunoscut în literatură, având substituția G82R în E2 care adaptează virusul pentru infectarea celulelor mamaliene (prin interacțiunea cu o moleculă de pe suprafața celulară a acestora, heparan sulfat), a fost mai sensibil la suramin. Spre final, **capitolul 6** rezumă principalele concluzii ale acestei lucrări și discută implicațiile acestora în contextul literaturii recente, și se încheie cu o concluzie generală.