



HAL
open science

Le virus de la maladie de Borna : mythe et réalité

Florence Rondin

► **To cite this version:**

Florence Rondin. Le virus de la maladie de Borna : mythe et réalité. Sciences pharmaceutiques. 2000. <dumas-01274315>

HAL Id: dumas-01274315

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01274315v1>

Submitted on 15 Feb 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

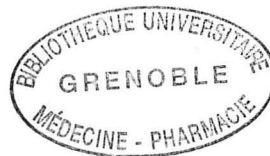
<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



1^{er} exemplaire

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 1999-2000



N° d'ordre : **7003**

**LE VIRUS DE LA MALADIE DE BORNA : MYTHE ET
REALITE**

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

RONDIN Florence

Née le 25 décembre 1976 à Saint Martin d'Hères

Thèse soutenue publiquement le 21 janvier 2000 à 18 heures

Devant le jury composé de :

Monsieur le Professeur **DROUET** - Président du jury

Monsieur le Docteur **PERRON**

Monsieur le Docteur **MORAND**

Madame le Docteur **FOUSSARD**

Je remercie Monsieur le **Professeur Drouet** pour avoir accepté d'encadrer mon travail et de diriger mon jury de thèse. Je lui suis très reconnaissante pour le temps qu'il m'a consacré, les conseils qu'il m'a prodigués, ainsi que pour ses enseignements au cours des études de Pharmacie.

Mes remerciements vont vers Madame le **Docteur Foussard**, pour son aide précieuse à la réalisation de la partie psychiatrique de ma thèse, ainsi que pour sa re-lecture attentive.

Je remercie très sincèrement Monsieur le **Docteur Perron** pour ses données bibliographiques précieuses, et pour l'honneur qu'il me fait par sa présence dans ce jury.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur le **Docteur Morand** pour avoir accepté de participer à ce jury, ainsi que pour ses données bibliographiques et ses encouragements à la réalisation de ce travail.

A mes parents qui m'ont soutenue, encouragée, réconfortée tout au long de mes années d'études. Qu'ils en trouvent ici leur récompense.

A ma sœur et Jean-Philippe, pour leur aide précieuse en informatique... et leur patience.

A Alexandra, Marianne, Valérie, Stéphanie, Laure, Stéphane, Carole et tous mes amis pour leur soutien moral et leur amitié... Et en témoignage de mon affection.

A Christine, pour tous les moments partagés ensemble qui ont soudé notre amitié, en montagne, en cours, ...et même derrière un nez rouge !

A Loïc, pour son aide lors de mes premiers pas sur le web, ses encouragements et ses conseils.

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur P. DEMENGE

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

PROFESSEURS DE PHARMACIE

ALARY	<i>Josette</i>	<i>Chimie Analytique</i>
BAKRI	<i>Abdelaziz</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>
BENOIT-GUYOD	<i>Jean-Louis</i>	<i>Chimie Toxicologie et Eco-toxicologie</i>
CALOP	<i>Jean</i>	<i>Pharmacie Clinique et Bio-technique</i>
CUSSAC	<i>Max</i>	<i>Chimie Thérapeutique</i>
DECOUT	<i>Jean-Luc</i>	<i>Chimie Générale</i>
DEMENGE	<i>Pierre</i>	<i>Physiologie/Pharmacologie</i>
DROUET	<i>Emmanuel</i>	<i>Microbiologie-Immunologie</i>
FAVIER	<i>Alain</i>	<i>Biochimie</i>
GOULON	<i>Chantal</i>	<i>Physique-Pharmacie</i>
GRILLOT	<i>Renée</i>	<i>Parasitologie</i>
LECLERC	<i>Gérard</i>	<i>Chimie Organique</i>
MARIOTTE	<i>Anne-Marie</i>	<i>Pharmacognosie</i>
RIBUOT	<i>Christophe</i>	<i>Physiologie-Pharmacologie</i>
ROUSSEL	<i>Anne-Marie</i>	<i>Biochimie</i>
SEIGLE-MURANDI	<i>Françoise</i>	<i>Botanique et Cryptogamie</i>
STEIMAN	<i>Régine</i>	<i>Biologie Cellulaire</i>
WOUESSIDJEWÉ	<i>Denis</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>

PLAN DE L'ETUDE

1. Historique

2. Introduction et objectif du travail

3. Epidémiologie

4. Virologie-taxonomie

5. Physiopathologie

6. BDV et pathologie humaines

7. Analyse bioclinique : technique diagnostiques

Conclusion

SOMMAIRE

1. Historique	10
2. Introduction et objectif du travail	12
3. Epidémiologie	13
3.1. Répartition géographique	13
3.2. Prévalence	13
3.2.1. Etudes sérologiques	13
3.2.2. Recherche des antigènes dans les cellules périphériques sanguines	15
3.3.3. Conclusion	16
3.3. Mode de transmission	19
4. Virologie-Taxonomie	20
4.1. Taxonomie	20
4.2. Le génome viral	22
4.2.1. Structure génomique	22
4.2.2. Les ORF I, II, X-1	23
4.2.3. Les ORF III, IV, V	23
4.3. Cycle viral	26
4.3.1. Mode d'invasion cellulaire	26
4.3.2. Réplication nucléolaire	27
4.3.3. Les enzymes de la réplication	28
4.3.4. La transcription	29
4.3.5. L'épissage	29
4.3.6. L'élément agissant en cis	31
4.3.7. La traduction	34
4.3.8. L'assemblage	35

5. Physiopathologie	38
5.1. Symptômes observés chez l'animal	38
5.1.1. Le cheval	38
5.1.2. Le rat	38
5.1.3. Les primates	41
5.2. Mécanisme de la pathogénicité	42
5.2.1. Dissémination dans l'organisme	42
5.2.2. La réponse humorale	46
5.2.3. Rôle des anticorps neutralisants	47
5.2.4. Essais de vaccination	49
5.2.5. Les lymphocytes T CD4 ⁺	50
5.2.6. Les lymphocytes T CD8 ⁺	53
5.2.7. Les cytokines	54
5.2.8. Les neurotransmetteurs	55
5.2.9. « L'infection tolérante et persistante »	57
6. BDV et pathologies humaines	59
6.1. Rappels sur les pathologies neuropsychiatriques	59
6.1.1. La schizophrénie	59
6.1.2. Les troubles affectifs	61
6.1.3. Facteurs étiologiques génétiques	62
6.1.4. Autres facteurs étiologiques	64
6.2. BDV : rôle éventuel dans les maladies neuropsychiatriques	66
6.2.1. Les différentes pathologies évoquées	66
6.2.2. BDV et pathologies psychiatriques	68
6.2.3. Relation avec les signes négatifs de la schizophrénie	69
6.2.4. BDV et cellules sanguines périphériques	70
6.2.5. Autopsies humaines	72
6.2.6. Conclusion	72

6.3. Essais thérapeutiques	73
6.3.1. L'amantadine	73
6.3.2. La ribavirine	75
6.3.3. Mode d'action de la ribavirine sur le BDV	76
6.4. Les théories rétrovirales : vers de nouvelles perspectives étiologiques de certaines maladies humaines	77
6.4.1. Les rétrovirus endogènes humains	77
6.4.2. Rétrovirus et pathologies auto-immunes	78
6.4.3. Rétrovirus et schizophrénie	79
6.4.4. Rétrovirus et sclérose en plaques	81
7. Analyse bioclinique : techniques diagnostiques	83
7.1. Techniques d'analyse bioclinique sérologiques	83
7.1.1. L'immunofluorescence indirecte	84
7.1.2. Le Western-blot et la technique ELISA	84
7.1.3. La technique ECLIA	85
7.2. Les méthodes de détection de l'ARN viral	86
7.3. Les principes de détection des antigènes viraux	87
CONCLUSION	88
BIBLIOGRAPHIE	91

Liste des abréviations employées

- a . a . : acides aminés
- Ac : anticorps
- Ag : antigène
- ADN : acide désoxyribonucléique
- ARN : acide ribonucléique
- BDV : le virus de la maladie de Borna
- C : cytosine
- CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
- CMV : cytomegalovirus
- ECLIA : electrochemiluminescence immunoassay
- ELISA : enzyme linked immunosorbent assay
- G : guanine
- HERV : éléments rétroviraux endogènes humains
- HSV-1 : virus herpes simplex de type 1
- HTLV : human leukemia virus
- IFA : immunofluorescence indirecte
- IRM : imagerie par résonance magnétique
- LTR : séquences régulatrices flanquantes
- NLS : séquence de localisation nucléaire
- ORF G : ORF de la protéine G
- ORF M : ORF de la protéine M
- PESS : panencéphalite subaigüe sclérosante
- pi : post-infection
- Pol : polymérase virale
- PTI-NB : infection tolérante et persistante du nouveau-né
- RE : réticulum endoplasmique
- RNP : ribonucléoprotéines virales
- RT-PCR : méthode de " nested reverse transcriptase polymerase chain reaction "
- SINE : éléments nucléaires courts disséminés
- SNC : Système Nerveux Central
- SNP : système nerveux périphérique
- SYNIV : Sunchus Yellox Net Virus
- U : uridine
- VIH : virus de l'immunodéficience humaine
- FFU : focus fluorescents units

1. Historique :

La maladie de Borna fut initialement décrite chez l'animal, vers **1815**, dans le sud de l'Allemagne. Elle semblait alors se manifester de façon sporadique chez les **moutons** et les **chevaux** de certaines fermes, et était définie comme une **méningite cérébrospinale**. C'est en **1885**, que la ville de Borna, en Saxe (Sud de l'Allemagne) fut le siège d'une importante épidémie de cette maladie, responsable de la mort de nombreux chevaux (90). La pathologie fut alors décrite comme une méningoencéphalomyélite non purulente, et fut baptisée maladie de Borna. L'étiologie **virale** de cette pathologie ne fut démontrée que quelques années plus tard, **au début du vingtième siècle**, grâce à l'équipe allemande de Zwick et al.(133) à Giessen, qui réussit à transmettre les symptômes à des animaux d'expérience, par inoculation d'homogénat issu de cerveaux de chevaux infectés. Ce type de pathologie fut aussi observée chez plusieurs autres espèces de vertébrés tels que le chat, le lama, l'autruche, ou encore la vache. De plus, un très grand nombre d'espèces furent infectées expérimentalement, témoignant d'un spectre d'hôte particulièrement large du virus.

Dès les années 1960, le rat Lewis, dont les réponses immunitaires déclenchées par le virus sont très proches de celles observées chez le cheval et le mouton, devint le modèle de choix pour l'étude de la pathogénie du BDV. Son utilisation dans de multiples expériences, permit la découverte du fonctionnement de ce nouveau virus aux caractéristiques uniques sur de nombreux plans. Dès les premières expériences, les symptômes les plus marquants et les plus fréquemment observés lors d'une infection persistante furent des signes d'altération comportementale, ainsi qu'un déficit de la mémoire et de l'apprentissage (66). **Au début des années 1970**, la démonstration de la croissance virale dans des cultures cellulaires vint confirmer cette découverte. **En 1977**, Ludwig et al. (66) observaient une réaction immunitaire locale au niveau du système nerveux central, précisant un peu mieux le mode d'action du virus; puis, l'étude des antigènes viraux, dans les années qui suivirent, permit une nette progression des connaissances (66). **Vers 1980**, des essais permirent de détecter des antigènes viraux spécifiques et des réactions immunes au niveau oculaire et cérébral, orientant vers une hypothèse de transport intra-axonal jusqu'à certaines aires cérébrales, en corrélation avec les observations cliniques, virologiques, et psychologiques.

Enfin, **depuis 1985**, l'analogie, sur le plan clinique et neurodéveloppemental, entre certains symptômes observés chez l'animal infecté et les désordres neurologiques des patients atteints de **pathologies neuropsychiatriques**, ont amené les scientifiques à rechercher le virus chez ce type de personnes, en étudiant leur sérum tout d'abord (88). **En 1990**, l'équipe de J.M. Pyper montrait (88), par l'immunoprécipitation in vitro du sérum de tels patients avec la protéine **P24** virale, la reconnaissance spécifique d'une

protéine de BDV par le sérum humain. C'est à la même époque que l'ARN viral a été identifié et séquencé, permettant ainsi d'étiqueter le BDV comme un virus à ARN non segmenté (129). Ensuite, en 1993, l'équipe de Bode (11) utilisa la technique d'immunofluorescence (IFA) sur le sérum de patients issus de groupes différents de par leur pathologie, pour étudier l'immunoréactivité de ces derniers avec la nucléoprotéine et la phosphoprotéine virales. Tous ces résultats révélèrent une séroprévalence supérieure chez les personnes atteintes de désordres neurologiques, renforçant ainsi l'hypothèse d'un éventuel rôle du virus de la maladie de Borna dans les pathologies neuropsychiatriques humaines, et stimulant les recherches dans cette voie. En 1999, une nouvelle technique de détection a été mise au point et utilisée par des chercheurs japonais (129), montrant elle aussi des taux de séroprévalence significativement plus élevés chez les patients schizophréniques et chez les patients dépressifs : il s'agit d'une technique électroimmunochemiluminescente (ECLIA). Les chercheurs ont aussi voulu mettre en évidence les Ag et l'ARN du virus au niveau des cellules sanguines périphériques des patients atteints de désordres neurologiques, mais les résultats obtenus restent encore très controversés. Ainsi, une étude de l'équipe de Bode en 1994 (88), mit en évidence par fluorescence, la présence d'Ag viral au niveau de ces cellules. En 1995, d'autres études de la même équipe, mais aussi de chercheurs japonais (Kishi et al.), utilisant les techniques de fluorescence et la RT-PCR, vinrent confirmer ces résultats (56, 39). En revanche, en 1997, une expérience effectuée par l'équipe de Richt (88), infirma ces conclusions. L'étude fut effectuée en double-aveugle, et les échantillons de sang des patients psychiatriques furent randomisés entre deux laboratoires différents (dont un qui n'avait jamais travaillé sur le BDV) : les Ag de BDV ne furent retrouvés que dans les échantillons étudiés dans le laboratoire travaillant habituellement sur le BDV. La polémique d'une éventuelle contamination des échantillons étudiés dans les précédents essais fut alors lancée par Richt. Des études autopsiques ont été réalisées sur des cerveaux de patients schizophrènes, en 1996 par De La Torre et al. (90), et en 1998 par l'équipe japonaise de Nakamura (74), démontrant toutes deux la possible persistance du BDV au niveau du cerveau humain.

2. Introduction et objectif du travail :

La maladie de Borna est une pathologie liée à un virus appartenant à une nouvelle famille, les *Bornaviridae*, et dénommé le virus de la maladie de Borna (**BDV**). Cette infection ubiquitaire, a été observée chez un grand nombre d'animaux, et selon certaines études et observations plus récentes, elle semblerait aussi se manifester chez l'Homme. Ce virus pourrait infecter tous les animaux à sang chaud, en revanche aucune donnée actuelle ne concerne l'infection des animaux à sang froid. Cette pathologie peut se traduire par des signes cliniques variés, selon les espèces, les individus, ou encore la tranche d'âge concernée, allant du léger trouble comportemental à la paralysie et même la mort (90, 39). Chez l'Homme, l'hypothèse d'un rôle potentiel du virus dans la pathogénie de maladies neuropsychiatriques dont l'étiologie reste encore peu claire est posée. La persistance de cet agent viral neurotrope dans l'organisme peut entraîner, dans certains cas, un dysfonctionnement subaigu du système nerveux central (SNC) d'origine dysimmunitaire, sans toutefois endommager directement les cellules hôtes. Dans d'autres cas, l'infection reste asymptomatique, les individus sont alors des porteurs sains, et ils représentent des réservoirs de la maladie, dont le mode de transmission n'est pas connu avec certitude à l'heure actuelle. Chez le cheval et le mouton où la séroprévalence virale est élevée et la mortalité supérieure à 80%, la maladie a été définie à l'origine comme une méningoencéphalomyélite non purulente. Dans toutes les espèces, lorsque l'infection est symptomatique, elle se traduit par des désordres neurologiques plus ou moins prononcés. La question actuelle reste à savoir si réellement le virus de la maladie de Borna est impliqué dans le développement de troubles neurologiques chez l'être humain et, si cela est le cas, à quel degré.

Le but de ce travail sera donc d'essayer de synthétiser les données actuelles concernant ce virus, sa morphologie, son mode d'action chez l'animal et ses éventuelles relations avec les pathologies humaines.

3. Epidémiologie :

3.1. Répartition géographique :

La répartition géographique exacte du virus n'est pas connue à l'heure actuelle. En effet, le manque de connaissance, dans de nombreux pays, à l'égard de ce nouveau virus; et la sensibilité insuffisante de certains moyens de détection utilisés, ne permettent pas de détecter l'infection dans toutes les régions du globe.

Ainsi, jusqu'à présent, le virus n'a été mis en évidence qu'en Europe Centrale, en Amérique du Nord, dans certaines parties de l'Asie incluant le Japon, et en Israël. Ces pays hébergent les équipes de recherche les plus dynamiques sur ce sujet, ce qui explique que la maladie et le virus y soient bien répertoriés. Mais de récentes études concernant des animaux infectés, asymptomatiques, montrent que le virus serait présent de façon universelle sur le globe terrestre (75).

3.2. Prévalence :

Chez l'être humain, du fait de la sensibilité variable des méthodes de détection employées, et de l'absence de standardisation entre les différents laboratoires, il est difficile de déterminer des valeurs précises de séroprévalence concernant le BDV, celles-ci variant selon les études, les échantillons, les techniques.

3.2.1. Etudes sérologiques :

La première étude sérologique (recherche d'Ac anti-BDV), effectuée en 1985, par Rott et al. (95), sur 285 patients américains atteints de désordres affectifs, 694 patients psychiatriques allemands, et 200 personnes témoins, et ce grâce à une méthode d'immunofluorescence indirecte montre une séroposivité chez 4,3% des malades américains, chez moins de 1% des allemands, et une absence de séroposivité dans le groupe témoin (39). Le sérum de 138 de ces patients atteints de désordres affectifs et de 117 des personnes du groupe témoin fut par la suite (en 1992) analysé par la méthode du Western-Blot, utilisant la nucléoprotéine (N) et la phosphoprotéine (P) virales extraites de cellules rénales infectées de lapin, et purifiées par chromatographie. On observa alors des Ac anti-N chez 38 % des patients contre 16 % dans le groupe témoin, et les Ac anti-P furent retrouvés chez 12 % des patients contre 4 % des témoins. Les Ac dirigés contre

les 2 protéines furent retrouvés ensemble chez 6,5% des patients, contre 0 % des témoins. Donc, selon la méthode d'analyse employée, les résultats obtenus diffèrent, et de plus, la taille de l'échantillon étudié n'est pas la même dans les deux études, ce qui limite les comparaisons.

Une étude de Bode et al. fut publiée en 1992 (39, 8) : elle employait la méthode d'immunofluorescence, et des prélèvements sanguins effectués à des moments différents dans le temps, sur 71 patients atteints de pathologies variées (dépression majeure ou minime, psychose paranoïde, schizophrénie, ou encore désordres comportementaux).

Son but était de rechercher une corrélation entre l'immunoréactivité causée par le virus, et la durée ou la sévérité des troubles psychiatriques. Les résultats montrent la présence d'anticorps anti-BDV chez 37 % des individus atteints de dépression majeure (44) au dix-septième jour d'hospitalisation. Au total, toutes pathologies confondues, le taux de séroprévalence était de plus de 20 % chez ces patients. L'étude de Chen et al., publiée en janvier 1999, et utilisant la méthode du Western-Blot, met en évidence un taux de séroprévalence de 12.1 % des Ac anti-BDV, dans une population de patients schizophréniques d'origine chinoise et habitant Taïwan, contre 2.9 % dans la population contrôle (16).

En septembre 1999, une étude effectuée à l'aide d'une nouvelle technique électrochimiluminescente (ECLIA) spécifique, montre des taux de séroprévalence, plus faibles que l'étude précédente, mais significativement plus élevés chez les patients schizophrènes et chez les jeunes patients dépressifs, par rapport à ceux des groupes témoins ou des groupes de personnes atteintes d'autres pathologies (maladies auto-immunes, fatigue chronique ...). Cette méthode de détection des Ac anti-BDV utilisant les protéines recombinantes des protéines P24 et P40, s'avère être très spécifique et met en évidence un taux de séroprévalence de 3.08 % dans le groupe des 845 schizophréniques étudiés, et de 3.59 % dans le groupe des jeunes (16 à 59 ans) patients dépressifs. On observe un taux de 1.09 % chez les 917 donneurs de sang, de 1.36 % chez les 1393 patients ayant des pathologies oculaires, et de 4.55 % chez les 66 personnes polytransfusées étudiées (129).

Ces différents résultats illustrent bien les disparités entre les valeurs de séroprévalence mises en évidence au cours des études.

3.2.2. Recherche de antigènes viraux dans les cellules sanguines périphériques :

La recherche des antigènes viraux contenus éventuellement au niveau des cellules sanguines périphériques (PMBCs), d'abord effectuée sur les rats avec succès par Sierra-Honigman et al. (114), est sujette à d'importantes controverses. En effet, la première expérience, réalisée en 1994 par Bode et al. sur des patients psychiatriques, grâce à des Ac monoclonaux et à une méthode de détection par fluorescence, montrait plus de 40 % de patients positifs (échantillon de 70 patients) (39, 36). Les patients avaient environ 15% de leur monocytes positifs. Par la suite, d'autres études utilisant l'immunofluorescence ou la RT-PCR confirmèrent ces résultats. En revanche, deux études du même type, réalisées par l'équipe de Sierra-Honigman en 1995 (19, 113), et par celle de Richt en 1997 (94, 90) infirmaient ces conclusions. L' étude de Richt fut réalisée en double aveugle, et avec deux laboratoires différents, l'un réalisant couramment des analyses sur le BDV, et l'autre n'ayant jamais travaillé dans ce domaine. L'étude portait sur 12 patients psychiatriques séropositifs pour le BDV et 4 témoins séronégatifs d'une région endémique de l' Allemagne, et la méthode employée était la RT-PCR (amorce spécifique du gène de la protéine P24). Les échantillons furent prélevés sur une période de neuf mois consécutifs, et les résultats positifs ne furent obtenus que dans le laboratoire travaillant fréquemment sur le virus de la maladie de Borna. La polémique d'une éventuelle contamination des échantillons par des Ag viraux d'origine animale est depuis lancée par les chercheurs de cette étude. De plus, ils réalisèrent une culture des cellules mononucléaires issues des échantillons de 47 patients trouvés séropositifs, et celle-ci ne révéla pas la preuve d'une production d' Ag viraux (94, 90).

En 1998, Planz et al. effectuèrent une expérience sur un patient schizophrène de 47 ans. Ils détectèrent par RT-PCR (sondes de l'ARN de la protéine p40et p24), l'ARN viral dans les 6 échantillons prélevés sur une période de 8 mois, et ceci en parallèle à une analyse d'ARN contrôle qui s'avéra négative, éliminant les risques de contamination. Une expérience réalisée en 1999 par la même équipe (82), montre la présence d'ARN viral dans les cellules sanguines périphériques de 3 patients psychiatriques, mais ceci majoritairement au niveau de la fraction granulocytaire, et en l'absence d'Ac anti-BDV dans le sang. L'analyse a été effectuée par la technique RT-PCR (sonde de l'ARN de la protéine p40), et un échantillon de cellules témoins, non infectées, mais traitées dans les mêmes conditions, avec les mêmes réactifs, s'est avéré être négatif à la PCR, éliminant ainsi tout doute sur une éventuelle contamination des prélèvements analysés par le laboratoire (82). En revanche, les résultats de l'expérience de Kim et al. (55), publiée en avril 1999, réalisée sur 81 patients coréens, avec la RT-PCR (sonde de l'ARN de la

protéine p24), ont aboutit à un échec dans la mise en évidence d'ARN viral au niveau des PMBCs.

La controverse persiste donc encore, concernant la présence du virus au niveau des cellules sanguines périphériques. Les divergences des résultats sont apparemment dues à des différences au niveau des critères de positivité pris en compte par les expérimentateurs, du nombre de PMBCs utilisées pour l'extraction de l'ARN, de la quantité d'ARN testée par RT-PCR, de la sonde employée pour la RT-PCR, autant d'éléments qui influencent fortement les résultats, et qui entraveront l'avancée des connaissances tant qu'ils ne seront pas standardisés.

3.2.3. Conclusion :

Il semble que l'on puisse tout de même retenir quelques constatations de ces différents résultats :

- le taux de séroprévalence chez les personnes atteintes de schizophrénie ou de dépression majeure est plus élevé que dans la population normale (cf tableau A).

- cette séroprévalence est plus élevée dans les pays où l'incidence de chevaux infectés est importante. Par exemple, l'incidence dans les groupes témoins apparaît être plus faible aux USA (0-1%) qu'en Allemagne, dans la région endémique de Günzburg où celle-ci atteint 3,5%. De plus, le nombre de personnes infectées asymptomatiques est important dans les zones endémiques.

- certaines études de séroprévalence du BDV, effectuées sur des échantillons représentatifs de personnes témoins (n = 505), de patients neurologiques (n = 1791) et psychiatriques (n = 2377) ont montré une augmentation âge-dépendante de la séroprévalence dans les groupes de personnes contrôles et atteintes de pathologies neurologiques (90). En revanche, on observe une répartition de la séroposivité différente chez les patients psychiatriques, pour lesquels on note, dans la tranche d'âge 17-30 ans, une séroprévalence 6 fois supérieure à celle observée chez les sujets non malades de cette même tranche d'âge, comme l'illustre la figure 1'. On a donc une séroprévalence plus élevée, et quasiment identique dans les différentes classes d'âge de ce groupe de patients.

Diagnostic	moyenne d'âge (ans)	% de patients séropositifs
schizophrénie (n=845)	49.3	3.08
dépression (n=251)	55.6	3.59
pathologies neurologiques (n=114): sclérose en plaques encéphalite maladie dégénérative	37.2	0
épilepsie (n=44)	43.9	1.40
syndrome de fatigue chronique (n=75)	32.0	0
SIDA (n=85)	31.9	1.18
Maladie autoimmunes (n=50)	47.2	0
Patients polytransfusés (n=66)	50.6	4.55
Pathologies oculaires (n=1393)	50.1	1.36
Maladie d'Alzheimer (n=89)	82.9	1.12
Démence vasculaire (n=46)	78.5	0
Autres pathologies psychiatriques	57.0	0
Donneurs de sang (n=917)	35.1	1.09

Tableau A : étude de la séroprévalence des Ac anti-BDV dans différents groupes de patients par la méthode ECLIA, utilisant les protéines recombinantes p24 et p40, d'après Yamagushi et al. (129).

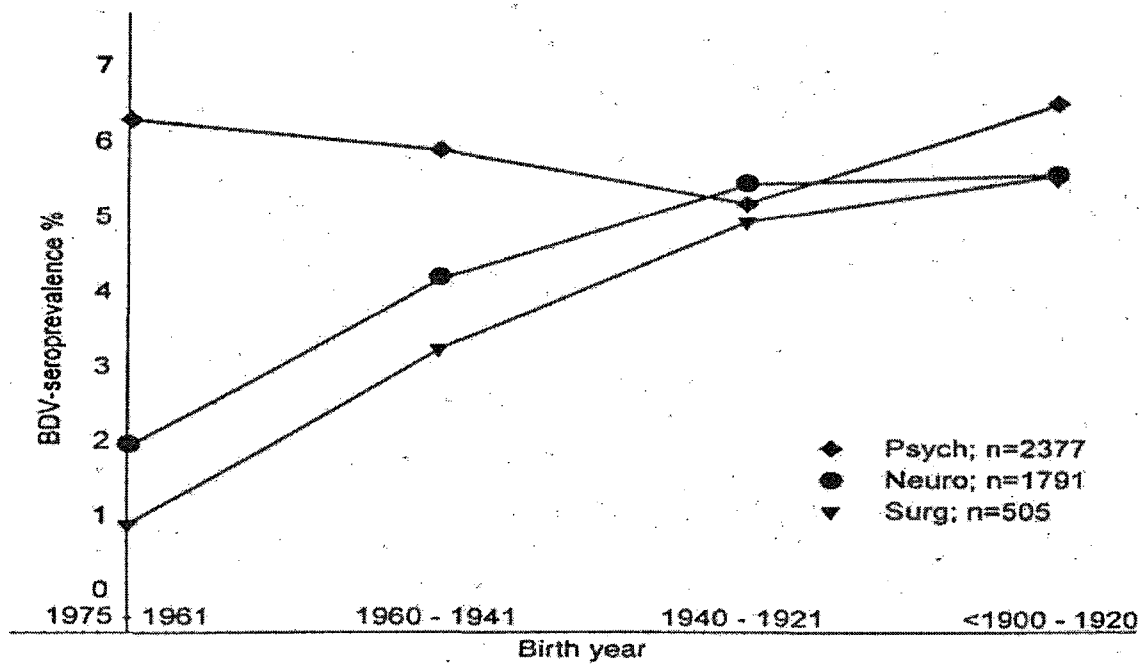


Figure 1' : variation de la séroprévalence en fonction de l' année de naissance chez des patients neurologiques, psychiatriques, et contrôles d'après RICHT et al. (90).

Neuro = patients atteints de pathologies neurologiques

Psych = patients atteints de maladies psychiatriques

Surg = groupe contrôle.

3.3. Mode de transmission :

En ce qui concerne le mode transmission de la maladie, de nombreuses inconnues et controverses persistent encore là aussi. Le virus serait transmis par la salive, les sécrétions nasales et conjonctivales, car de l'ADN spécifique de BDV a été retrouvé à ce niveau (90). Les animaux seraient infectés par **contact nasal** direct avec ces sécrétions, et l'invasion virale se ferait par l'intermédiaire du **neuroépithélium olfactif**. En 1995, Lipkin et al. ont aussi évoqué une possible infection par consommation de nourriture ou eau contaminées par le virus, certains animaux ayant pu être infectés par voie orale, expérimentalement (33). Cette dernière hypothèse reste encore à confirmer, d'autres auteurs ayant échoué lors de ce même type d'expérience. De plus, la voie de migration jusqu'au cerveau, dans ce cas, reste peu claire. Le fait d'avoir découvert la présence des antigènes de BDV au niveau des cellules périphériques sanguines permettrait aussi d'émettre l'hypothèse d'une possible contamination par le sang, mais elle fait aussi l'objet de controverses.

L'éventualité d'une contamination humaine par le réservoir animal est évoquée, et pour étayer celle-ci, Bechter et son équipe ont essayé de trouver des patients ayant une évolution parallèle à celle des premiers signes de la maladie chez l'animal. En 1992, l'étude d'un patient séropositif pour le BDV qui présentait des symptômes de dépression, d'apathie, de mouvements ou postures anormaux a permis d'illustrer ceci. Cet homme travaillait à la ferme paternelle où l'un des quatre chevaux, et quatre des dix moutons avaient des Ac spécifiques de BDV. Les premiers signes du patient avaient consisté en une crise comitiale, puis des symptômes neurologiques et psychiatriques ressemblant à ceux observés dans la maladie de Borna chez l'animal, et non typiques des autres désordres encéphaliques humains connus, étaient apparus.

L'hypothèse d'une éventuelle transmission interhumaine du BDV, a aussi été évoquée et recherchée par l'équipe de Chen et al. Après avoir démontré une augmentation du taux de séroprévalence chez les patients schizophréniques chinois (séroprévalence des Ac égale à 12.1 %), ils recherchèrent les Ac de BDV dans le sang des familles et des soignants ayant un contact proche avec ces malades, et retrouvèrent un taux de séroprévalence de 12.1 % et de 9.1 % respectivement, par rapport au groupe contrôle. Ce résultat, bien que devant être confirmé par d'autres études est en faveur d'un mode de transmission interhumain du virus (92).

4. Virologie - Taxonomie :

4.1. Taxonomie :

Le virus de la maladie de Borna est un virus enveloppé, à ARN négatif non segmenté (NNS), classé comme le prototype d'une nouvelle famille de virus : les *Bornaviridae*, de l'ordre des **Mononegavirales**. Les particules virales du BDV sont sphériques et ont un diamètre avoisinant 100 à 130 nm environ. Elles renferment une nucléocapside en forme de croissant de 4 nm d'épaisseur, et ont à la surface de leur enveloppe, des spicules d'une longueur de 7 nm (63). Le virus se reproduit par bourgeonnement à la surface des cellules infectées, et serait associé à des particules virales incomplètes et plus petites, qui sont apparemment elles aussi infectantes (131, 22, 33).

L'ordre des Mononegavirales renferme trois autres familles de virus : les *Paramyxoviridae*, les *Rhabdoviridae*, et les *Filoviridae*, et l'organisation génomique du BDV leur est similaire. Ce sont tous des virus à ARN négatif non segmenté (NNS), enveloppés, avec des caractéristiques structurales proches. La réplication et la transcription de ces virus ont lieu au niveau du cytoplasme des cellules infectées, excepté pour les *nucléorhabdovirus des plantes*, dont le *Sonchus Yellox Net Virus* (SYNV), espèce virale la plus proche du *Bornavirus* (21). Les *Paramyxoviridae* sont sphériques, tout comme le BDV, alors que les *Rhabdoviridae* et les *Filoviridae* sont filamenteux. D'un point de vue morphologique, le BDV est plus proche des *Paramyxovirus*, tandis que du point de vue fonctionnel, il se rapproche plus des *Rhabdoviridae*, et surtout du *SYNV* (cf figure 2). Les virus de l'ordre des Mononegavirales possèdent, au niveau de leur ARN, trois zones distinctes :

- la région 1 codant pour les nucléoprotéines et les co-facteurs de la polymérase,
- la région 2 codant pour la protéine de la matrice et les protéines de l'enveloppe,
- la région 3 codant pour la polymérase virale.

La structure génomique du BDV est un peu différente, mais l'ARN code pour les mêmes types de protéines. Ce virus fortement neurotrope, a cependant plusieurs propriétés qui lui confèrent un caractère unique et innovant. Tout d'abord, sa réplication et sa transcription ont lieu au niveau du noyau, et plus précisément du nucléole (86). Le BDV possède aussi une stratégie d'expression très complexe, adaptée à la taille de son génome, beaucoup plus compact que celui des autres membres de l'ordre. De plus, sa polymérase, bien que proche de celles des autres familles de virus, présente certaines différences, qui le rapproche de celle du SYNV.

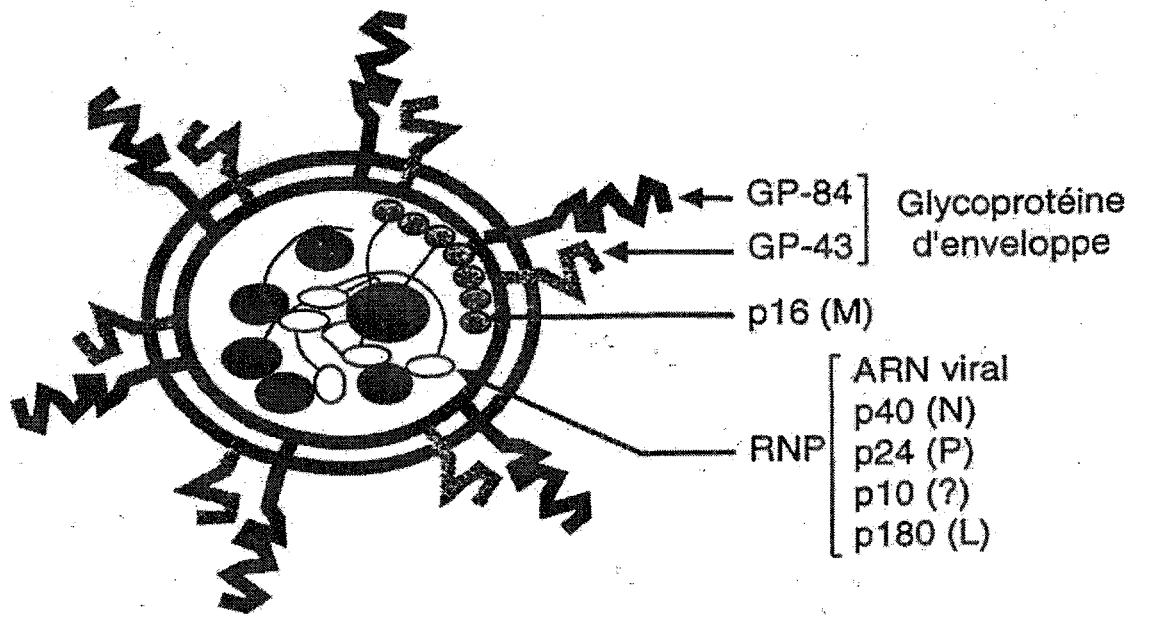


Figure 2 : représentation schématique du BDV d'après Gonzales Dunia et al. (33).

4.2. Le génome viral :

4.2.1. Structure génomique :

Pendant longtemps, l'étude de la morphologie génomique s'est avérée impossible, du fait du neutropisme strict du virus, mais aussi de sa répllication nucléaire, et de la très faible quantité de BDV relarguée au niveau extra-cellulaire. Depuis le début des années 1990, le progrès de la biologie moléculaire, ainsi que la mise au point de lignées cellulaires infectées de façon chronique par le BDV ont permis de faire avancer les choses dans ce domaine. On sait donc maintenant que le génome du virus de la maladie de Borna a une taille d'environ 8.9 kb. Les régions 3' et 5' de l'ARN sont non codantes et complémentaires entre elles, ce qui est un caractère commun des virus à ARN négatifs non segmentés. L'intérêt de la complémentarité de ces régions est inconnue, mais on sait qu'elles ont un rôle important dans la régulation du déclenchement de l'activité des polymérasés virales et dans les processus d'encapsidation. Il est constitué d'au moins 6 phases ouvertes de lecture (ORF) renfermant l'information génétique sous forme anticodante, et correspondant aux trois unités de transcription retrouvées chez les autres virus de l'ordre des Mononegavirales (33, 106) :

- l'ORF I et l'ORF II correspondent à la région 1,
- les ORF III et IV correspondent à la deuxième zone codante,
- l'ORF V est corrélé au troisième groupe de gènes des autres virus de l'ordre.

Dans le génome du BDV, les ORF codent pour les protéines virales suivantes (cf figure 3 p25) :

- l'**ORF I** code pour la nucléoprotéine **p40**
- l'**ORF II** permet la synthèse de la phosphoprotéine **p24**
- l'**ORF III** code pour la protéine de matrice ou **gp18**
- l'**ORF IV** code pour la glycoprotéine GP ou **p56**
- l'**ORF V** permettrait la synthèse de la **polymérase** virale
- l'**ORF X-1** code pour la synthèse de la protéine **p10**

4.2.2. Les ORF I, II, X-1:

Tous les cadres de lecture ouverte sont transcrits en ARN messagers (ARNm) polycistroniques, excepté pour l'un des ARNm de l'ORF I dont la taille est de 1.2-kb, qui est monocistronique. Ce dernier permet la synthèse de la nucléoprotéine **GP40**, possédant un signal de localisation nucléaire (NLS), qui a été retrouvé dans le noyau des cellules infectées, mais aussi dans celui des cellules transfectées par une séquence nucléotidique contenant l'ORF I (21). Cette protéine peut être synthétisée sous **deux isoformes** de 38 et 39 kDa, du fait de la présence de deux codons d'initiation dans la phase ouverte de lecture (33), et elles représenteraient en fait, les protéines de la **nucléocapside** (87). L'expression des deux isoformes de protéines dans des cellules transfectées montre une différence de localisation : l'isoforme de 39 kDa est concentrée dans le noyau, alors que l'isoforme de 38 kDa est présente uniquement dans le compartiment cytoplasmique, selon une expérience réalisée en 1998 par Kobayashi et al (62). La phosphoprotéine p24 (protéine P) est une protéine acide, riche en résidus sérine et thréonine, codée par l'ORF II, mais aussi par une partie de l'ORF X-1, du fait du chevauchement des deux phases de lecture. Elle aurait un rôle d'activateur transcriptionnel, et elle possède, des signaux de localisation nucléaire.

La protéine **p10**, codée par l'ORF X-1, ayant un poids moléculaire de 10 kDa, est présente au niveau nucléaire et cytoplasmique. Elle interagit avec la protéine p40, et semble donc avoir un rôle important dans la réplication et/ou la transcription virale (69). La nucléoprotéine p40 permettrait en fait le transport de la protéine p10 dans le noyau, grâce à ses sites de localisation nucléaire. Le génome contient une séquence de 42 nucléotides à son extrémité 3', qui semblerait correspondre à la séquence "leader" observée chez les *Paramyxovirus* et les *Rhabdovirus*.

4.2.3. Les ORF III, IV, V :

Selon la publication de Schneider et al. (106), l'une des extrémités de l'ORF IV se chevauche avec l'ORF III et l'autre avec l'ORF V, et ces ORF forment ainsi la deuxième et la troisième régions codantes du génome de BDV. Cette partie de l'ARN peut être divisée en deux zones, donnant deux ARN primaires après transcription (l'un de 2.8-kb, et l'autre de 7.1-kb), multicistroniques. Ces ARN contiennent deux introns, qui après épissage permettent la synthèse de trois protéines différentes : la protéine gp18, la protéine G, et la polymérase, Pol. La **protéine de matrice**, ou gp 18, est codée par l'ORF III, et elle est l'homologue des protéines de matrice des autres virus NNS.

Toutefois, on peut décrire deux particularités qui la différencient des autres protéines de matrice : elle est présente à la surface du virion, et elle est glycosylée (33). La protéine p56, ou **protéine G**, codée par l'ORF IV, est non glycosylée et a un poids moléculaire de 57 kDa environ. Sa N-glycosylation post-transcriptionnelle donne naissance à la protéine GP84. Les deux types de protéines, GP 84 et p56 sont protéolysées par une **protéase cellulaire**, la **furine**; la protéolyse de la protéine GP 84, est nécessaire à l'activité du virus. La protéine p56 est maturée en 2 protéines de 27 et 29 kDa chacune; alors que la GP84 est protéolysée en une molécule de poids moléculaire environ égal à 43 kDa et correspondant à la partie C-terminale de la GP84, et en une protéine de 41 kDa représentant la partie N-terminale (87). La protéine p56 possède une séquence de cinq arginines, située entre le nucléotide 245 et 249, correspondant à la séquence consensus minimale reconnue par la furine et permettant son activité protéolytique (35). La protéase furine est une endoprotéase calcium-dépendante localisée principalement dans l'environnement de l'appareil de Golgi, et réalisant la maturation de nombreux autres précurseurs protéiques. C'est le cas de certaines glycoprotéines virales comme la protéine H du virus grippal *Influenza A*, ou encore la protéine F du *virus de la rougeole*. L'expérience de Richt et al. (85), montre, par l'utilisation d'une substance augmentant l'activité de l' inhibiteur de la protéase furine, la nécessité de la protéolyse pour que le virus soit infectant. Nous verrons plus tard que ces deux protéines, GP84 et GP43, ont un rôle au niveau de l'invasion cellulaire par le virus, et ce à des niveaux différents, mais complémentaires.

La protéine codée par l'ORF V n'est pas encore entièrement caractérisée. Il s'agit d'un polypeptide de 180-190 kDa, et ayant des séquences de forte homologie avec les polymérases des autres virus NNS, les protéines L, qui sont en fait des polymérases virales. Cette protéine semble donc être la **polymérase** (pol) du BDV, et elle formerait un complexe transcriptionnel, par interaction avec la protéine p24 (6). L'ORF V est l'ORF situé le plus près de l'extrémité 5' du génome, et elle représente plus de la moitié du génome viral, de par sa taille (33).

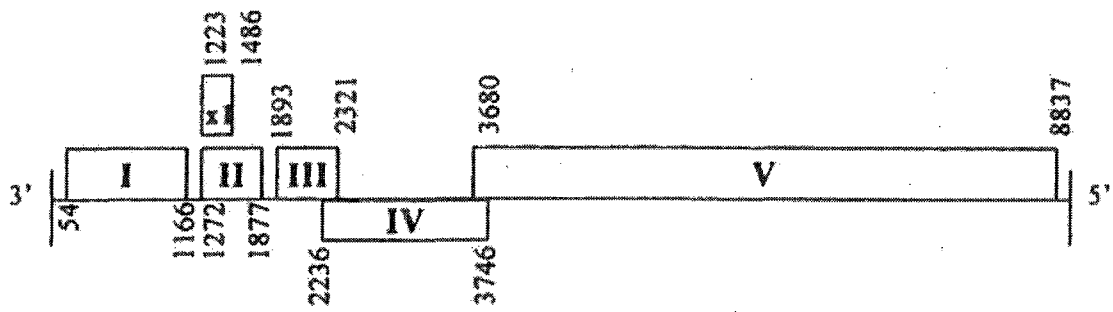


Figure 3 : structure génomique du BDV selon Malik et al. (69).

4.3. Le cycle viral :

4.3.1. Mode d'invasion cellulaire :

L'infection initiale d'une cellule du neuroépithélium olfactif par le BDV ferait intervenir la protéine GP94, qui se lierait à un récepteur cellulaire encore imparfaitement connu à l'heure actuelle. Cette interaction permettrait alors la pénétration de la particule virale dans le cytoplasme cellulaire, par formation d'un endosome (35, 33). La formation de l'endosome étant pH dépendante, l'expérience de Gonzales-Dunia et al. (76), réalisée en 1998, montre que l'utilisation d'inhibiteurs de la synthèse d'ATP empêche l'infection cellulaire par le BDV, par blocage de la synthèse endosomique. Chez le virus *Herpes simplex de type I* (HSV1), pour qui l'infection se fait par fusion directe avec la membrane plasmique, sans nécessiter d'énergie, l'utilisation de tels inhibiteurs n'entraîne aucun changement. Dans le cas du BDV, le pH acide de l'endosome déclencherait un changement de conformation de la protéine GP43, permettant alors la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane endosomique (33), et ce grâce à la partie N-terminale hydrophobe de la protéine (voir figure 6 p37). On a ainsi libération du complexe ribonucléique viral dans le compartiment cytoplasmique, puis passage dans le noyau où a lieu la réplication virale. Ce mode d'invasion cellulaire pH dépendant est aussi observé chez les *Rhabdovirus* et les *Filovirus*, et peut être inhibé par l'utilisation d'un agent lysosomotropique, qui augmente le pH du cytoplasme, et empêche l'acidification de l'endosome. Le clivage de la GP 94 semble être un facteur majeur pour la fusion des membranes cellulaires et virales (89). Ce clivage a lieu au niveau C-terminal et entraîne la fusion de 2 parties du peptide, séparées par un octapeptide (zone a.a. 274-294 et 303-315). On a alors formation d'une boucle, grâce à un pont disulfure entre 2 cystéines (272 et 317) au niveau du segment C-terminal ancré à la membrane. Un domaine similaire a été montré chez le virus *Ebola* et le virus du sarcome, et il est impliqué dans la fusion membranaire du virus et de la cellule hôte. Dans le cas du BDV, la protéine **GP94** intacte permettrait donc la **fixation** du virus sur son récepteur cellulaire, et, la protéine **GP43** issue du clivage permettrait la **fusion** entre la membrane endosomique et la membrane virale.

Selon l'étude de Cubitt et al. (22), publiée en 1994, la dissémination virale dans le SNC serait due, au moins partiellement, à des complexes ribonucléoprotéiques (particules virales incomplètes) ayant la capacité de circuler grâce aux transporteurs neuronaux, sans nécessiter la production de particules de BDV matures. Cette transmission transneurale serait aussi présente dans l'infection par le virus de la rage (22).

De plus, la distribution des Ag de BDV dans le SNC est parallèle à celle des récepteurs de l'aspartate et de l'acide glutamique. Cette observation permet d'émettre l'hypothèse suivante : les ribonucléoprotéines virales auraient une haute affinité pour les récepteurs

de certains acides aminés excitateurs, qui permettraient leur diffusion transneuronale et l'infection des cellules cérébrales synthétisant ces récepteurs. Ceci expliquerait la différence, observée chez les hôtes infectés, entre la faible détection de particules virales de BDV et les taux de réplication, de transcription, et la vitesse de propagation élevés.

Les astrocytes possèdent une grande quantité de ces récepteurs à leur surface, ce qui expliquerait l'infection préférentielle de ces cellules cérébrales. L'expérience de Pyper et al. (86), utilisant la méthode de détection par immunofluorescence (avec les Ac anti-gp18), montre, sur une culture cellulaire d'un tissu nouvellement infecté, des petits foyers de cellules intenses fluorescentes, entourées par des cellules d'intensité moins importante. Ceci est donc en faveur d'une diffusion virale, de cellule en cellule, et appuierait l'hypothèse précédemment citée.

4.3.2. Réplication nucléolaire :

La réplication et la transcription du BDV ont lieu au niveau du noyau, tout comme celles des *Orthomyxovirus* et du *virus delta de l'Hépatite*. Parmi les NNS, seuls quelques *Rhabdovirus des plantes*, dont le *SYNV* ont cette caractéristique, mais le BDV est encore plus original dans son fonctionnement, car il se réplique dans le **nucléole**.

Les virus des plantes utilisent le nucléole, mais ils se répliquent dans le noyau; et seul le *minute virus* de la souris réplique son ADN dans le nucléole des cellules de ses hôtes. De même, chez les *Lentivirus*, le *virus du SIDA* (VIH) et le virus *HTLV* utilisent le nucléole pour leur réplication (liaison à la phosphoprotéine nucléolaire B23 impliquée dans les biosynthèses ribosomales) (86). Comme pour tous les virus NNS, l'ARN négatif sert tout d'abord de "template" pour la synthèse d'un brin d'ARN positif, qui permet ensuite la **réplication** en ARN négatif au niveau du noyau, mais qui tient aussi lieu d'ARNm pour la **traduction** du génome en protéines fonctionnelles virales, au niveau du cytoplasme. Mais la petite taille du génome du BDV implique l'utilisation de processus **d'épissage** et de régulation particuliers. Les ribonucléoprotéines virales (RNP) s'accumulent au niveau du noyau des cellules infectées, et, comme chez les autres virus NNS, ces RNP sont infectieuses, après transfection dans des cellules permissives (33). Une expérience, réalisée par Pyper et al. en 1998 (86), a donc permis de localiser plus précisément la réplication virale : celle-ci aurait en fait lieu au niveau du nucléole.

En effet, l'hybridation in situ de neurones de rats récemment infectés par le BDV montrait une concentration élevée d'ARN dans, et autour du **nucléole**. L'ARN positif était concentré à l'intérieur du nucléole, et l'ARN génomique, de polarité négative à la

périphérie du nucléole. L'ARN génomique serait donc transformé en ARN positif, afin d'être répliqué, comme lors de toute répllication virale, mais ceci au sein du nucléole. Une fois répliqué, l'ARN négatif serait alors exporté hors du nucléole, pour former des particules virales, ce qui expliquerait les fortes concentrations à la périphérie. En revanche, au fil du temps, la différence de localisation entre l'ARN génomique et antigénomique disparaît, et elle n'est plus visible chez les cellules infectées de façon persistante. Ce fait est sans doute dû à l'importante activité d'expression de l'ARN présente à partir d'un certain stade de l'infection; la quantité d'ARN formée est tellement élevée, que l'on observe les deux catégories d'ARN dans tout le nucléole, et l'on ne perçoit plus les différences de localisation.

4.3.3. Les enzymes de la réplication :

Pour sa réplication, le virus utilise une protéine **polymérase virale** de 190 kDa, codée au niveau de l'ORF V. En revanche, la protéine polymérase I humaine n'est pas mise en évidence par immunoprécipitation. L'utilisation d'un inhibiteur de cette protéine n'affecte pas la production d'ARN viral, ce qui montre que le BDV n'utilise pas cette enzyme humaine pour sa réplication. Mais, l'utilisation éventuelle d'autres protéines nucléolaires n'est pas exclue. Certaines autres protéines virales se trouvent aussi concentrées au niveau nucléolaire, et c'est le cas de la **protéine p24**, dont la présence a été révélée par immunoprécipitation à des taux significatifs, mais pas particulièrement très élevés. Cette dernière semble avoir un rôle de co-facteur de la polymérase virale, comme les phosphoprotéines homologues des virus NNS. L'activité fonctionnelle de cette protéine est régulée grâce au processus de phosphorylation par des kinases, comme chez les autres virus de l'ordre des Mononegavirales (111). Selon les expériences de Schwemmler et al., la protéine kinase C epsilon, et dans une moindre mesure, la caséine kinase II seraient les acteurs majeurs de cette phosphorylation. Les sites de phosphorylation de la kinase C epsilon sont les sérines 26 et 28, et ceux de la caséine kinase II sont les sérines 70 et 86. La protéine kinase C epsilon, se situant principalement au niveau du SNC, elle pourrait être un facteur expliquant le neurotropisme viral. La protéine p24 est en fait présente dans différents compartiments cellulaires, et doit avoir un rôle multifactoriel dans le fonctionnement du BDV.

4.3.4. La transcription :

Le génome du BDV est extrêmement compact, et 99.4 % de ses nucléotides vont être transcrits, témoignant d'une utilisation optimale de ce dernier (103). Sur les 8910 bases, seulement 55 ne furent pas retrouvées à l'état transcrit dans l'analyse des particules virales de souche V, et ces dernières correspondaient en fait à la région terminale de l'extrémité 5' du génome. La transcription du génome est déclenchée au niveau de 3 **sites d'initiation** : S1, S2, S3, qui correspondent respectivement à trois **sites de terminaison** : T1, T2, T3 (voir figure 4 p32). Un site de terminaison T4 est présent à l'extrémité 5' du génome de BDV, et il n'est utilisé que lorsque l'ARNm permettant la synthèse de la protéine polymérase est transcrit. Le phénomène de poursuite de lecture existe au niveau de tous ces sites de terminaison, permettant ainsi la formation d'ARNm polycistroniques multiples, prenant fin au prochain site de terminaison situé en aval. La poursuite de lecture du site de terminaison T3 s'avère être vitale pour le virus, car elle permet la transcription du seul ARNm contenant l'ORF V, et codant pour la synthèse de la protéine Pol.

La transcription génomique donne naissance à six principaux ARN messagers de taille : 0.8, 1.2, 1.9, 2.8, 3.5, et 7.1-kb. Tous sont polycistroniques, sauf celui de 1.2-kb, et peuvent subir un épissage. L'ARNm de 1.9-kb représenterait un analogue du transcrit de la séquence "leader" du génome (42 nucléotides), située en amont du site S1, observée de façon similaire chez les *Paramyxovirus* et les *Rhabdovirus*, et qualifiée de séquence putative (103). Chez ces derniers, la transcription de cette région du génome aboutit à la formation d'une petite séquence ARNm "leader". L'analyse de cette partie du génome, précédant le premier site d'initiation de la transcription S1, révèle une forte analogie entre la séquence terminale consensus, présente chez les *Paramyxovirus* et les *Rhabdovirus*, et celle du BDV. Seul un acide ribonucléique diffère en quatrième position. Cet ARNm de 1.9-kb n'a pas de coiffe, et n'est pas polyadénylé, à la différence des autres ARNm formés à partir du génome de BDV.

4.3.5. L'épissage :

Selon les expériences de Schneider et al. (106), certains ARN non épissés seraient traduits au niveau cytoplasmique. En effet, une région de l'ARN codant pour des facteurs facilitant l'accumulation cytoplasmique des ARN non épissés a été mise en évidence au niveau de la troisième région du génome. Au niveau de cette zone du génome, on distingue les ORF III, V et IV, ce dernier chevauchant les deux autres, et la

transcription donne deux ARN primaires différents, l'un de 2.8-kb et l'autre de 7.1-kb, qui peuvent subir l'épissage de deux introns (voir figure 5 p33). Lorsque l'intron 1, n'est pas épissé après la transcription de l'ARNm de 2.8-kb, il exprime une protéine de 16 kDa, qui après glycosylation donne naissance à la glycoprotéine gp18 (protéine M), mais il peut aussi exprimer la protéine G. En revanche, si ce même intron est épissé, l'ARNm obtenu ne code que pour la synthèse de la protéine G (105). Toutefois, le codon d'initiation de la traduction de la protéine G est trois à quatre fois moins efficace au niveau de l'ARN non épissé qu'au niveau de l'ARN épissé. L'épissage de l'intron 1 augmente la traduction de l'ORF de la protéine G (ORF G), en transformant l'ORF de la protéine M (ORF M) en un minicistron de 13 acides aminés, qui facilite la réinitiation ribosomale. L'épissage de l'intron 1 élimine 23% de la capacité codante de l'ORF M, et permet la juxtaposition du codon du treizième acide aminé avec le codon stop. On a donc un minicistron de 13 acides aminés, qui précède l'ORF G; l'initiation de la traduction ribosomale a lieu au début de ce minicistron et permet ensuite la lecture de la région codant la protéine G. Dans l'ARN non épissé, les deux protéines traduites (G et M) ont chacune un ORF distinct, et l'initiation de la traduction de l'ORF G serait facilitée par l'arrêt de la traduction de l'ORF M. L'ARNm non épissé a une taille de 2.8-kb, et celle de l'ARNm épissé de l'intron 1 est de 2.7-kb (figure 5 p33). L'ARNm de 2.8-kb contient uniquement l'information génétique nécessaire à la synthèse des protéines M et G, tandis que l'ARNm de 7.1-kb permet l'expression de ces deux protéines, mais aussi de la protéine Pol, après l'épissage des introns 1 et 2. De la même façon que pour l'intron 1, l'épissage de l'intron 2 permet une restructuration génomique, nécessaire à la synthèse de la protéine polymérase (107). L'ARN quantitativement le plus traduit de cette région est celui codant pour la protéine gp18.

Le fait que l'épissage des ARNm ne soit pas efficace à 100 %, et qu'une fraction des transcrits ne soient pas épissés avant leur traduction, semble dû à une légère variation au niveau de la séquence consensus d'épissage située en 3' (105). En effet, généralement, environ la moitié des exons situés en 3' des ARNm épissés, commencent par un résidu guanine (G) au niveau de leur codon d'initiation. Or, chez le BDV, les exons de la troisième région codante débutent, soit par un résidu uridine (U) pour l'exon 2, soit par un résidu cytosine (C) pour l'exon 3, ce qui entraînerait une diminution de la reconnaissance du site d'épissage 3' par les acteurs du spliceosome. De la même manière, chez le virus grippal *Influenza A*, la difficulté d'accès au site 3' empêche un rendement d'épissage optimal et permet la formation d'ARNm non épissés.

4.3.6. L'élément agissant en cis :

L'utilisation de mutants d'ARN ayant perdu certaines séquences permettant la synthèse des protéines N, P, et Pol, pour la fabrication de plasmides ensuite introduits dans des cellules non infectées, montre que ces protéines n'interviennent pas dans l'expression des transcrits non épissés, le rapport ARN épissé/ARN non épissé ne variant pas en leur absence (106). De même, l'absence de la protéine M n'empêche pas la formation d'ARN non épissé. La séquence codant pour le facteur facilitant l'accumulation cytoplasmique des ARN non épissés (« cis-Acting ») est située au niveau de la région 3' de l'ARN primaire de 2.8-kb, et plus précisément dans une région de 200 nucléotides, entre les nucléotides 4070 et 4269. En effet, des expériences effectuées avec des ARN ayant cette partie tronquée ont montré une nette diminution de l'expression des protéines de l'ARN non épissé. Des résultats du même type furent observés lorsque le sens de cette séquence était inversé, on peut donc dire que le codon facilitant l'accumulation cytoplasmique des ARN non épissés fonctionne de manière dépendante de son orientation. Cet élément agissant en cis augmenterait le transport nucléocytoplasmique des ARN non épissés. En effet, les expériences effectuées avec des ARN mutés, ayant subi une délétion au niveau de la séquence du « cis-Acting » montrent que le rapport ARN non épissé/ARN épissé au niveau cytoplasmique est dix fois moins élevé qu'en présence de cette séquence. En revanche, le même ratio, mais au niveau nucléaire reste inchangé, montrant ainsi l'absence d'influence de l'élément agissant en cis sur les ARN épissés, et prouvant aussi que les deux types d'ARN ont des mécanismes de transport nucléocytoplasmiques différents. Cet élément permettrait le passage des pores nucléaires ou éviterait l'épissage des ARN non épissés par le spliceosome.

De tels éléments existent aussi chez d'autres virus comme le virus de l'*Hépatite B* (PRE) ou l'*HSV1* (PEE), mais ces derniers sont moins efficaces.

Deux facteurs de l'hôte cellulaire, l'un de 16 kDa, et l'autre de 90 kDa, se lieraient spécifiquement à l'élément agissant en cis. Le facteur de 16 kDa est présent au niveau cytoplasmique et nucléaire, et il semble similaire aux facteurs Rev du *VIH*, et Rex de l'*HTLV*. Le facteur nucléaire de 90 kDa possède lui aussi des homologues dans d'autres systèmes viraux. C'est le cas de la ribonucléoprotéine hétérogène nucléaire L, retrouvée dans le système de l'*HSV1*, et qui peut se lier à la séquence des éléments agissant en cis, située sur l'ARN primaire de la thymidine kinase virale.

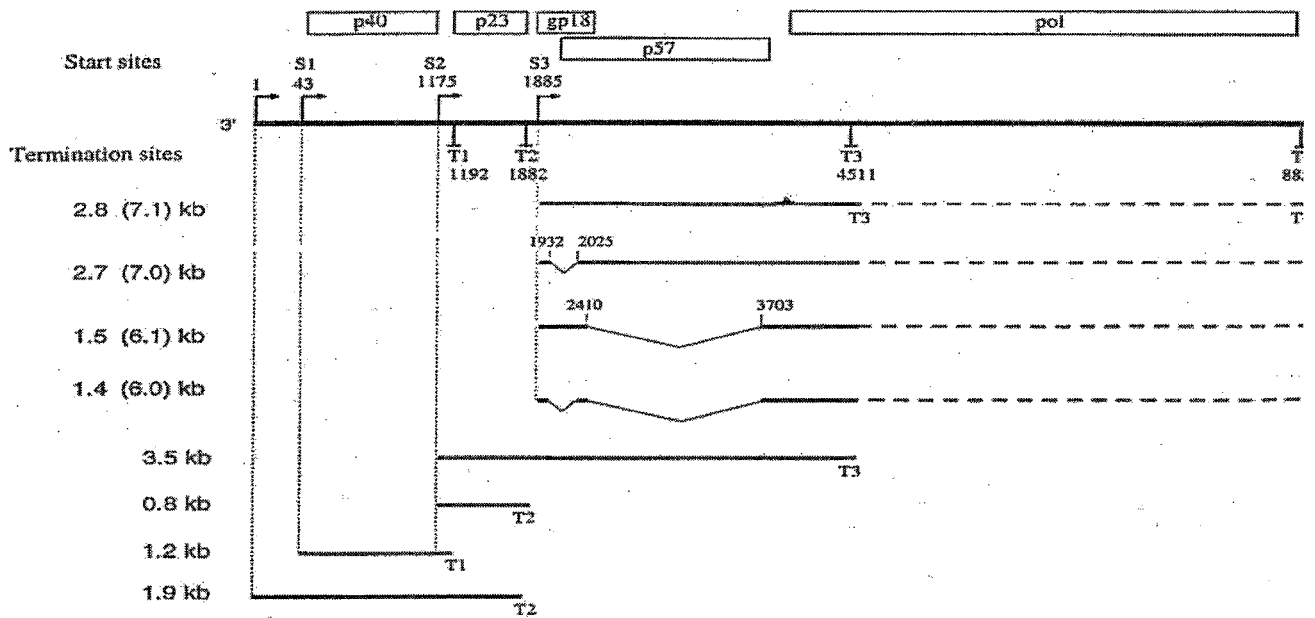


Figure 4 : ARN génomique de BDV et ses sites d'initiation et de terminaison, selon Schneemann et al. (103).

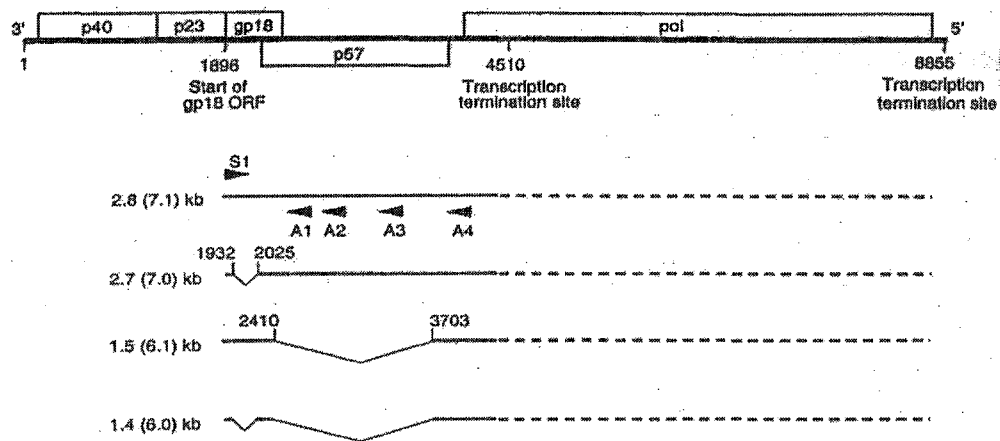


Figure 5 : épissage des introns 1 et 2 de la troisième région génomique du BDV, selon Schneider et al. (107).

L'ARN génomique de BDV est schématisé, et on peut voir, en dessous, les ARNm transcrits, épissés ou non, à partir de la troisième région génomique. Sur la gauche de la figure, la taille de chaque transcrit est précisée, ainsi que la taille maximale de l'ARNm, lorsque le génome est transcrit jusqu'au site de terminaison T4 final.

4.3.7. La traduction :

Une fois l'ARN répliqué sous forme d'ARN positif, une partie de celui-ci sert à la réplication sous forme d'ARN de polarité négative, et l'autre partie est traduite en protéines virales dans le compartiment cytoplasmique (33). Ces protéines transitent par le réticulum endoplasmique (RE), puis par l'appareil de Golgi où elles subissent des modifications. Les protéines fonctionnelles, telles que la protéine p24, ou la protéine Pol, la protéine X1, et la nucléoprotéine p39, retransitent alors vers le noyau, afin de participer à la synthèse des particules virales. Le déplacement du cytoplasme au noyau a lieu grâce à des séquences "**signal de localisation intranucléaire**" (NLS) présentes chez certaines protéines. C'est le cas de la nucléoprotéine N, mais aussi de la phosphoprotéine P, et de la protéine Pol (113). Ces NLS sont constituées d'acides aminés basiques essentiellement, excepté pour la protéine P, chez qui les NLS sont riches en proline, et comportent peu d'acides aminés basiques. La phosphoprotéine possède deux principaux NLS, l'un situé dans sa partie N-terminale, et l'autre situé dans la partie C-terminale, chacun pouvant fonctionner indépendamment en l'absence de l'autre (113). De plus, des NLS minoritaires situés à l'extrémité C-terminale de la protéine P interviendraient aussi dans le transport intranucléaire (110). La protéine X1 transiterait du cytoplasme au noyau, par liaison à la phosphoprotéine, au niveau d'une séquence située à la limite de son site NLS N-terminal. En fait, la protéine X1 serait une protéine d'exportation nucléaire, car elle possède des séquences d'exportation nucléaire (NES), riches en leucine. Certaines expériences ont montré l'existence d'une liaison spécifique entre la protéine X1 et une protéine cellulaire "exportine" (CRM1), impliquée dans les phénomènes d'exportation nucléaire. La mutation des séquences NES de la protéine X1 inhibe cette liaison, mais aussi la liaison à la phosphoprotéine virale p24. Cette dernière découverte indique que le site de liaison avec la protéine P chevauche le site NES de la protéine X1. Les auteurs ont alors émis l'hypothèse selon laquelle la liaison protéines P-X1 serait un facteur essentiel pour l'efficacité de l'importation nucléaire de la protéine X1 après la traduction cytoplasmique, et pour sa participation aux phénomènes de transcription-réplication nucléaires. Les auteurs tentent maintenant de découvrir si la protéine X1 est impliquée dans l'exportation extranucléaire des particules ribonucléiques, ou si elle intervient dans le transport extranucléaire des transcrits viraux (109).

L'existence d'hétérodimères de protéines P et p39 N a été retrouvée, mais on ne sait pas, actuellement, si le passage dans le noyau se fait obligatoirement sous cette forme, ou si les protéines transitent de façon indépendante (62). Berg et al. (4) ont montré par leur

expérience publiée en 1998, la formation d'un complexe entre ces deux protéines, grâce à la présence de deux domaines, contenus dans les deux isoformes de la protéine p40 (séquence peptidique comprise entre les peptides 14 et 18, et 27-28). Mais la protéine p24 interagissait beaucoup plus avec l'isoforme p39, et l'hétérodimère retrouvé est majoritairement le p39-p24 (6).

La nucléoprotéine p39 N possède un NLS dans la séquence de 13 acides aminés de sa partie N-terminale. Le NLS comprendrait 9 acides aminés de cette séquence, et serait donc absent de la protéine p38, ce qui expliquerait sa localisation cytoplasmique (62). La région de 13 acides aminés contient la séquence proline-lysine-arginine-arginine, qui est très similaire aux signaux de localisation nucléaires retrouvés au niveau des protéines VP1 du virus *SV40* et du *Polyomavirus*, tant par l'ordre de la séquence, que par sa localisation N-terminale. L'analyse de l'ARN total du virus met en évidence l'existence de deux types d'ARN codant pour les deux isoformes. Dans les cellules infectées, l'isoforme de 39 kDa est produite à un taux deux fois supérieur à celui de la protéine de 38 kDa, et sa localisation majoritairement nucléaire suggère qu'elle serait étroitement liée à la réplication de l'ARN viral.

4.3.8. L'assemblage :

Au niveau nucléaire, les protéines s'assemblent à l'ARN nouvellement formé : la nucléocapside s'associe à l'ARN, puis la protéine de matrice, gp18, s'intègre à celle-ci. Les particules ainsi formées repassent alors dans le cytoplasme, par l'intermédiaire du RE. Les protéines de la **nucléocapside**, GP40, sont retrouvées en forte concentration au niveau nucléolaire, et l'encapsidation de l'ARN a donc lieu simultanément à la réplication, comme chez les autres NNS. De plus, la **glycoprotéine gp 18**, est aussi retrouvée en quantité importante au niveau du nucléole, ce qui suggère l'hypothèse d'une liaison entre la protéine M et la nucléocapside, avant son exportation hors du nucléole. La protéine de la matrice permet ensuite la liaison entre les protéines de la nucléocapside et celles de l'enveloppe virale, et donc le bourgeonnement, à l'origine de la formation de cette enveloppe (86). Ce fonctionnement diffère de celui des *Paramyxovirus*. Chez ces derniers, la protéine M se lie à une glycoprotéine virale présente au niveau de la surface cellulaire avant de se lier à la nucléocapside. Chez les *Rhabdovirus*, le processus est proche de celui du BDV : la protéine M se lie au core de la nucléocapside, et ce complexe migre ensuite dans la région de la membrane

plasmique où se situe la protéine G, qui permet alors le bourgeonnement du virus à la surface cellulaire.

La protéine de l'enveloppe, p56, passe par le RE où elle subit une N-glycosylation formant ainsi la GP84. Une partie de celle-ci reste dans le réticulum endoplasmique, et elle s'associe ensuite aux ribonucléoprotéines virales issues du noyau, participant ainsi à la formation de l'enveloppe nucléaire. L'autre partie de la GP84 sort du RE, transite par l'appareil de Golgi, est protéolysée par la protéase furine cytoplasmique en GP43. Cette dernière participe alors au bourgeonnement des particules virales, par liaison à la membrane cellulaire, et permet la formation de l'enveloppe du virus (cf figure 6 p37). On a alors libération d'une particule virale complète, mais celle-ci est faible d'un point de vue quantitatif (35). Ce fait peut s'expliquer par deux facteurs:

- tout d'abord, les ARNm des protéines p56 doivent subir un épissage avant leur formation, et l'on observe une synthèse protéique moins importante pour la protéine p56 que pour les autres protéines virales : seulement 2 % à 10 % des cellules ont un taux de p56 détectable par immunofluorescence, alors que 98 % ont un taux de GP40 détectable (35).

- les protéines GP84 et GP43 sont toutes deux présentes à la surface du virus mature, alors qu'elles proviennent de compartiments cellulaires différents. De plus, leur formation nécessite des modifications post-traductionnelles (N-glycosylation, clivage par la furine cellulaire).

Ces mécanismes impliqueraient donc une faible production de particules virales complètes, et une libération de complexes ribonucléiques viraux, responsables de la propagation de l'infectivité. La faible immunoréactivité des protéines p56 observée chez les sujets infectés serait aussi liée à ces facteurs, et pourrait être un moyen d'échapper à l'immunité de l'hôte, et de développer une infection chronique.

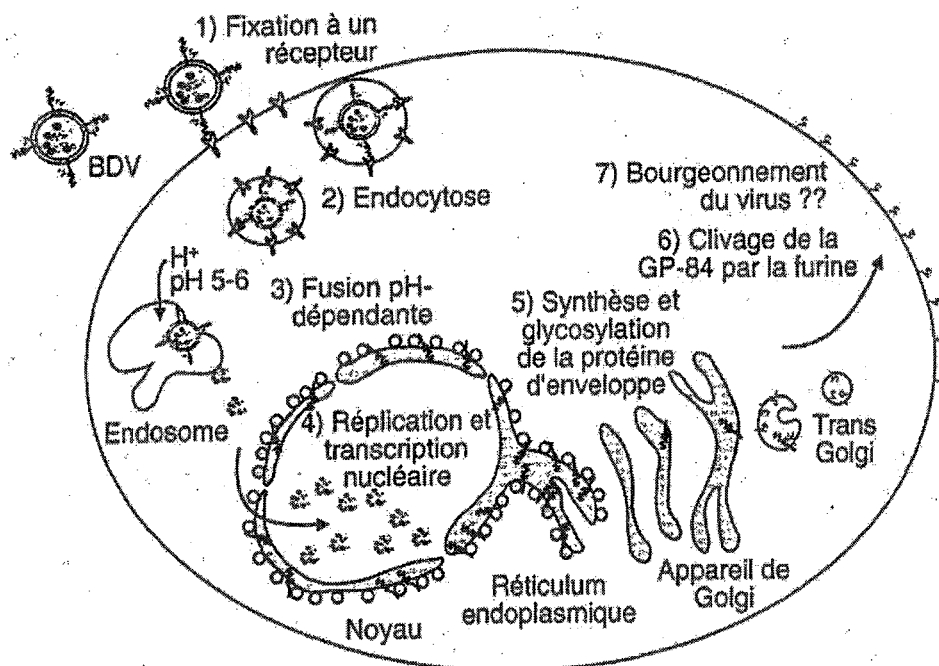


Figure 6 : cycle viral du BDV selon Gonzales-Dunia et al. (33).

5. Physiopathologie :

5.1. Symptômes observés chez l'animal :

D'une manière générale, on peut distinguer deux formes d'évolution de l'infection chez l'hôte infecté, qui consistent en:

- une infection persistante dans le temps, mais n'entraînant aucun signe clinique apparent
- une maladie, caractérisée par des symptômes d'origine neurologique bien définis, baptisée maladie de Borna, et pouvant être assimilée à une méningoencéphalomyélite non purulente (66). Cette pathologie comprend une phase aiguë et une phase chronique.

5.1.1 Le cheval :

L'animal infecté naturellement, chez qui la maladie a été décrite à l'origine, est le cheval. Lorsqu'un équidé infecté développe une maladie de Borna, celle-ci se traduit habituellement par une **première phase** caractérisée par un comportement d'**agitation** et d'agressivité, qui conduit, au fil des semaines, à la **paralysie** et à la **mort** (39). Selon plusieurs auteurs (90), le début de la pathologie serait précédé d'une **phase d'incubation** de quatre semaines environ, consistant en des signes cliniques non spécifiques, tels que de la fièvre, une anorexie, de la diarrhée ou encore de la constipation. Par la suite, la **méningoencéphalomyélite** se développe, avec tout d'abord une phase précoce comprenant des signes d'ataxie, de dépression, des troubles du comportement moteur (mouvements circulaires, maladroits, collision avec les obstacles, collapsus). Cette phase peut aboutir à la paralysie puis à la mort, conséquences d'une large diffusion des dysfonctionnements des centres moteurs et autonomes, et ce dans une période de une à trois semaines (66, 90). Les taux de mortalité pour les chevaux exprimant la maladie sont compris entre 80 et 100%, et chez les animaux survivants à cette phase aiguë de la maladie, des épisodes récurrents sont possibles, surtout après un stress. Chez d'autres chevaux, l'infection reste **asymptomatique**.

Les manifestations cliniques de la méningoencéphalomyélite peuvent varier en fonction de l'individu atteint, mais aussi en fonction des espèces touchées. Cette spécificité d'expression de la maladie en fonction de la souche de l'hôte peut être illustrée par l'expérience de Rubin et al. (96) publiée en 1993, et montrant que l'inoculation d'une

même souche de BDV chez des rats et des souris ne donne pas la même résultat : alors que la plupart des souches de souris adultes inoculées ne développent pas de maladie, les rats Lewis, eux, sont atteints de la maladie de Borna. Chez le mouton et le lapin, l'expression de la maladie est très similaire à celle du cheval. Chez la souris, seuls les animaux nouveaux-nés peuvent développer des signes neurologiques de la maladie de Borna, et ce dans certaines races uniquement (38).

5.1.2. Le rat :

Toutes les espèces de rat peuvent être expérimentalement infectées par le BDV, mais certaines semblent être résistantes au virus, et ne développent jamais de maladie.

Le rat Lewis est le modèle le plus utilisé pour les études sur le BDV, les symptômes observés chez les rats de cette espèce infectés expérimentalement se rapprochant le plus de ceux observés chez le cheval infecté naturellement. Toutefois, on note certaines différences, notamment en ce qui concerne l'expression de la maladie chez le rat nouveau-né. On peut tout d'abord remarquer chez le rat, que les symptômes observés varient en fonction de la **voie d'inoculation** utilisée, mais aussi de la **souche virale** inoculée, et peuvent consister en de l'obésité associée à des perturbations de la fertilité, des changements comportementaux, ou encore en une paralysie aboutissant à la mort, comme on l'observe aussi chez les chevaux et les moutons atteints de la pathologie (91). De plus, plusieurs études ont montré que la période d'incubation varie avec la voie d'inoculation (91), et la pathologie ne s'exprime seulement lorsque le virus a envahi le cerveau. La durée d'incubation est de 17 jours après une inoculation intra-cérébrale, de 20 à 24 jours après une inoculation intra-nasale, et de 47 jours lors d'une injection du virus au niveau de la patte arrière de l'animal. Lors de l'inoculation par voie nasale, le virus interfère avec les récepteurs neuronaux de l'épithélium olfactif, et migre ensuite vers le cerveau.

La diffusion du virus au niveau des tissus extra-neuronaux, par voie nerveuse, n'a lieu que chez les animaux ayant un **déficit immunitaire** (traitement par ciclosporine au long cours), et chez les **nouveaux-nés infectés** dès la naissance. Chez le nouveau-né infecté (âgé de 1-2 jours), on n'observe pas de réaction inflammatoire ou de signes typiques de la maladie de Borna, malgré la réplication virale persistante (PTI-NB) et la diffusion extra-neuronale du virus. Seuls certains déficits au niveau des fonctions d'apprentissage, mais aussi des anomalies comportementales sont visibles, liés apparemment aux modifications morphologiques consécutives à une perte neuronale au niveau de l'hippocampe et au niveau de certains neurones des photorécepteurs de la rétine. Au

niveau de l'hippocampe, la région du gyrus dentelé, impliquée dans les fonctions d'apprentissage et de mémoire, semble être l'une des plus touchées. Une expérience de Rubin et al., publiée en janvier 1999, met en évidence le fait que les déficits progressifs de ces fonctions seraient corrélés à une diminution graduelle de la densité neuronale de la région du gyrus dentelé (97). Pour cela, les auteurs ont sélectionné des rats ayant des stades de dégénération du gyrus dentelé différents, et ils ont évalué l'état de leurs déficits fonctionnels par le test du labyrinthe d'eau de Morris. Le test consiste à faire nager les rats dans un labyrinthe d'eau, afin d'apprécier leur capacité à "naviguer" en utilisant leur fonction visuelle, et de repérage dans l'espace.

D'autres auteurs, (127) ont aussi montré une perte neuronale de 75 % au niveau des cellules de Purkinje du cervelet, chez les rats adultes ayant été infecté par le BDV à l'état de nouveau-né. Le cervelet, associé à la régulation des comportements moteurs et peut être aussi aux fonctions cognitives, semble donc également lésé lors de l'infection par le BDV. Pletnikov et al. (85) ont montré par leur étude sur des jeunes rats ayant été infectés juste après leur naissance, un déficit au niveau du comportement de jeu et des interactions sociales avec les animaux de l'entourage, associé aux lésions cérébrales engendrées par l'infection virale. Ils qualifient ce type de comportement de "modèle d'autisme" (85). Selon Pyper et al. (88), le modèle pathologique du nouveau-né, serait plus en rapport avec la maladie humaine que celui observé chez le rat adulte. Toutes les lésions ainsi décrites seraient le fait des dommages viraux eux mêmes, puisque le nouveau-né infecté ne développe pas de réaction inflammatoire généralisée, à la différence de l'adulte.

Les rats **immunocompétents** développent quant à eux une pathologie bi-phasique.

La première phase consiste en une sévère méningoencéphalite disséminée, avec une réaction inflammatoire intense, surtout au niveau de la substance grise du cortex cérébral. Le début des signes cliniques n'est pas un effet direct de la réplication virale, et semble plutôt coïncider avec le développement de la méningoencéphalomyélite.

Au niveau du cerveau, la modification la plus importante consiste en une accumulation dense des cellules mononucléaires, au niveau des espaces périvasculaires, et en une réaction inflammatoire à l'origine de destructions neuronales (33). Cette phase de la maladie se traduit par des signes **d'hyperactivité**, d'agressivité et des mouvements anormaux, concomitants à la réplication virale au niveau du système limbique, et à l'infiltration cérébrale de cellules mononucléaires (39, 33, 116). On peut alors observer des anomalies au niveau du système dopaminergique mésocorticolimbique, ainsi que dans d'autres systèmes de neurotransmetteurs. Puis, cette réaction inflammatoire diminue, au bout de quatre à cinq semaines, mais le virus persiste, et l'on entre dans une **phase chronique**, hypoactive, où l'animal présente une apathie et une somnolence

importantes, associées à des modifications visibles dans le système dopaminergique cérébral. On observe aussi une atteinte visuelle, avec une dégénérescence progressive des bâtonnets et des cônes rétiniens, qui aboutit à une perte de la vue chez la plupart des animaux, 100 jours après le début de l'infection. On peut remarquer chez certains rats immunocompétents, un syndrome d'obésité se développant cinq mois après l'infection, et se caractérisant par des troubles comportementaux associés à une altération métabolique, avec une augmentation de la quantité de nourriture ingérée, entraînant une élévation des taux de triglycérides, d'insuline et de glucose dans le sang. L'examen histologique de ces animaux montre une hydrocéphalie et une méningoencéphalite (91), mais on ne connaît pas le mécanisme de ce syndrome.

5.1.3. Les primates :

La race de singe **Rhesus** est l'une des plus étudiées dans le domaine du BDV, et les modifications neurologiques et oculaires pathologiques observées chez ces animaux, sont proches de certaines encéphalites et rétinopathies humaines (91). La maladie débute par des signes cliniques similaires à ceux observés chez le cheval ou le rat Lewis adulte. On observe une apathie, une anorexie, et ce quatre à huit semaines après l'inoculation. Puis, de la même façon que chez les autres espèces, les signes neurologiques graves apparaissent, aboutissant à la paralysie des membres postérieurs. Un autre petit primate, le **Tupiai glis**, est très étudié, car il présente des caractéristiques comportementales bien définies et caractéristiques. Après l' inoculation intra-crânienne du BDV, cet animal développe une infection persistante au niveau du SNC, à l'origine d'un seul type de symptôme consistant en une modification du comportement social et sexuel (91). Les conditions de vie influencent l'expression de la maladie chez les animaux infectés. En effet, seulement 25 % des Tupiais infectés et vivant seuls dans une cage présentent des signes cliniques, tandis que les animaux partageant une cage à plusieurs ont tous un changement de comportement radical. Les animaux vivant seuls dans une cage, et exprimant la maladie, présentent une hyperactivité, ainsi que de la boulimie apparaissant dans les quatre semaines suivant l'infection; cette phase est ensuite suivie d'une période d'hypoactivité : l'animal dort beaucoup, et ne présente plus d'intérêt pour les tâches de sa vie quotidienne. En ce qui concerne les primates élevés en communauté, on observe, durant les premières semaines après l'infection, une augmentation du besoin de contact physique avec les autres membres de la cage, et les interactions sociales se font beaucoup plus rapidement que chez les animaux non

infectés. Les femelles, habituellement passives, ont tendance à devenir aussi agressives que les mâles, et s'occupent moins de leurs petits. De plus, on observe une diminution de la reproduction (65). Dans les deux cas, on remarque une infiltration périvasculaire des cellules mononucléaires au niveau du cerveau, et les symptômes neurologiques sévères tels que l'ataxie ou la paralysie des membres ne sont jamais présents.

5.2. Mécanisme de la pathogénicité :

5.2.1. Dissémination dans l'organisme :

Après une pénétration intra-nasale, qui semble être la voie naturelle d'infection, le BDV gagne le cerveau par l'intermédiaire des voies axonales des nerfs olfactifs, par interaction avec les récepteurs neuronaux de l'épithélium olfactif (cf figure 7 p44). La diffusion par voie axonale du virus fut illustrée par l'expérience de Carbone et al. (15), publiée en 1987. En effet, les auteurs ont tout d'abord montré l'invasion cérébrale par le virus, après inoculation du BDV dans la patte postérieure de rats adultes. En revanche, l' inoculation du virus à des rats dont le nerf sciatique avait été sectionné la veille ou le lendemain de l'injection, n'entraînait ni infection, ni maladie (cf figure 8 p45). Ces résultats confirment bien le transport neuronal exclusif du virus pour atteindre le tissu cérébral, et dans le cas des hôtes immunodéprimés, les tissus extra-neuronaux. Après pénétration au niveau de l'épithélium olfactif ou du coussinet plantaire, selon la voie d'inoculation, le virus se réplique dans les neurones de ces tissus, puis migre intra-axonalement, par voie antérograde et rétrograde vers le SNC. Le BDV a un tropisme préférentiel pour le système limbique, et en particulier l'hippocampe où il commence alors sa réplication. Au bout de 14 jours après l'inoculation, des taux élevés d'ARN sont détectés par RT-PCR au niveau du cerveau et du bulbe olfactif. Comme nous l'avons vu précédemment, le virus semble se développer préférentiellement dans les régions du SNC renfermant certains neurorécepteurs, qui seraient plus particulièrement impliqués dans son transport intra-axonal, tels que les récepteurs au glutamate, par exemple (33). Lors de son invasion cérébrale, le virus se développe prioritairement au niveau des cellules gliales, et surtout dans les astrocytes, qui possèdent des récepteurs glutaminergiques à leur surface. On observe alors l'apparition, dans le noyau des cellules infectées d'inclusions dites de " Joest-Degen" (33).

L'inoculation du BDV chez un singe Rhesus ayant subi une splénectomie onze mois auparavant, entraîne le développement d'une apathie, mais n'aboutit pas à la

paralysie de l'animal, comme on l'observe généralement chez les singes infectés (91). De plus, l'infiltration de cellules mononucléaires au niveau du cerveau et de la rétine de l'animal est faible, comparativement aux individus non splénectomisés. Cette observation permet d'émettre l'hypothèse selon laquelle la maladie de Borna serait basée sur un mécanisme immunopathologique à médiation cellulaire, hypothèse suggérée par de nombreuses autres expériences (89, 39, 91). Comme nous l'avons vu dans les paragraphes précédents, le rat Lewis nouveau-né infecté, présente un tableau clinique particulier, qualifié "d'infection persistante et tolérante du nouveau-né" (PTI-NB). Dans ce cas, le virus persiste au niveau du tissu neuronal, mais aussi extra-neuronal, entraînant la production d'Ac anti-BDV, mais sans induire de réponse cellulaire antivirale. La destruction neuronale est alors très limitée, malgré une charge virale cérébrale aussi importante que chez le rat adulte infecté, ce qui traduit l'absence de cytolysse directe du BDV lui même. Tout ceci est en faveur d'un rôle majeur de la réponse immunitaire à médiation cellulaire dans la pathogénèse de la maladie de Borna. Cette théorie est actuellement retenue pour expliquer la pathologie, et ses différentes manifestations en fonction de l'âge de l'individu, par exemple, ou encore de son statut immunitaire. Selon Richt et al. (130), l'éventuelle existence de différentes souches de BDV ne doit pas être exclue pour expliquer les tableaux cliniques variés entraînés par le virus.

Généralement, on peut distinguer deux phases lors de l'infection par le BDV et de l'expression de la maladie : un stade aigu, caractérisé par une réaction inflammatoire exacerbée, suivie d'une phase chronique correspondant à une disparition progressive de l'inflammation, vers le cinquantième jour p.i., malgré un titre viral élevé persistant (76, 112). D'autre part, dans certains cas, comme chez le rat nouveau-né, l'infection aboutit d'emblée à une réaction de tolérance persistante. Nous allons donc essayer de préciser le mécanisme de la pathogénicité liée au bornavirus.

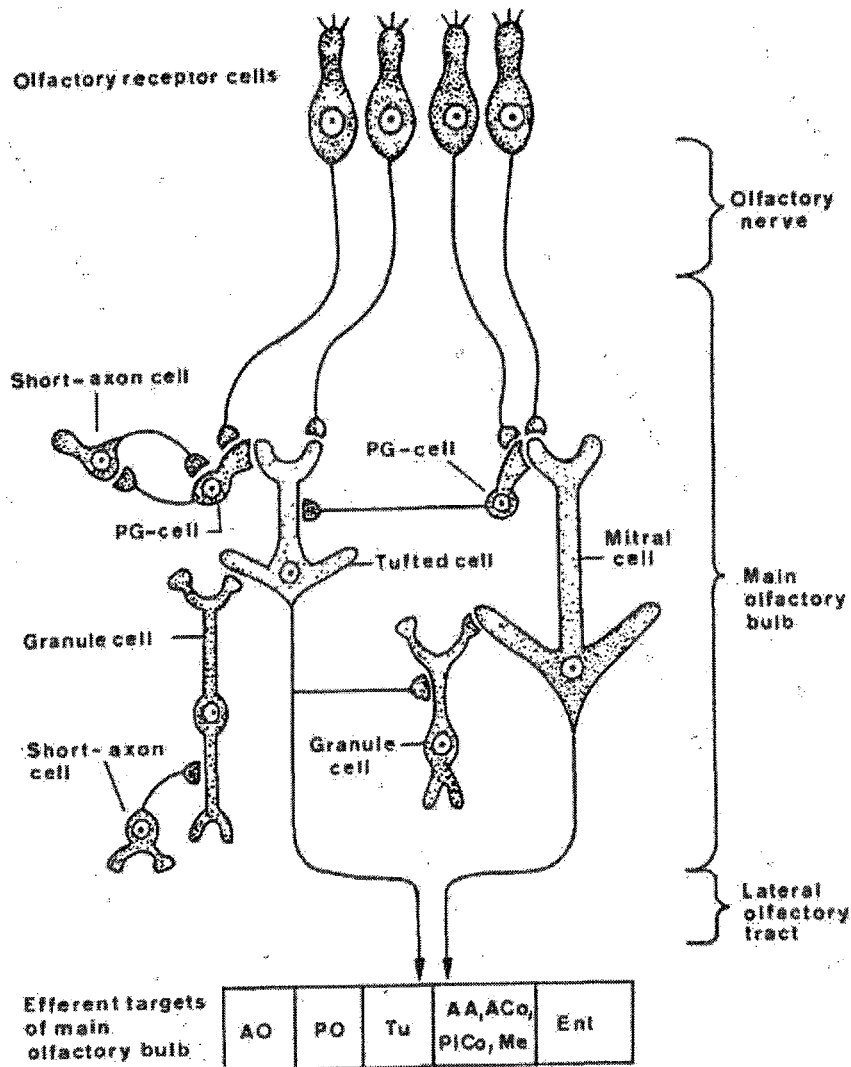


Figure 7 : schéma illustrant l'invasion cérébrale par le virus, par l'intermédiaire de la voie axonale du neuroépithélium, d'après Morales et al. (91, 73).

AO = noyau olfactif antérieur ; PO = cortex prépiriforme

Tu = tubercule olfactif ; AA = aire amygdalienne antérieure

PiCo = aire amygdalienne corticale postérolatérale

Me = noyau amygdalien médian ; Ent = cortex entorhinal

ACo = noyau amygdalien cortical antérieur

PG-cell = cellule périglomérulaire

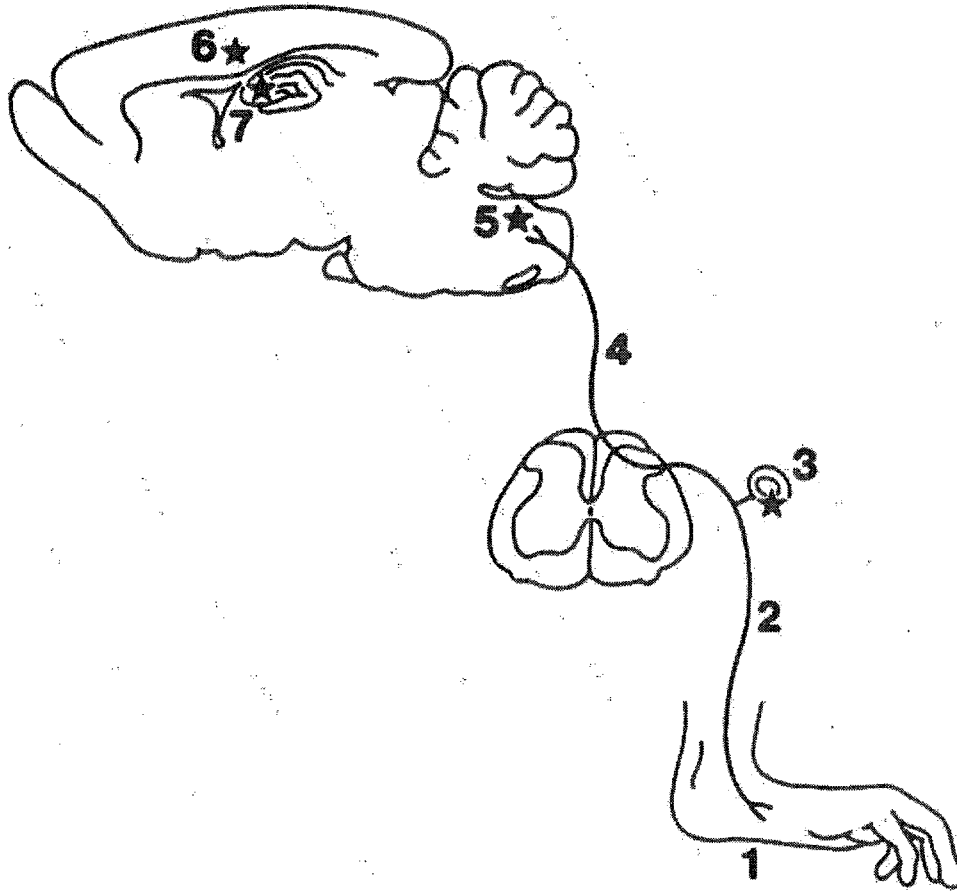


Figure 8 : schéma illustrant la voie axonale d'invasion cérébrale du BDV à partir de la patte postérieure chez le rat d'après CARBONE et al. (15, 91).

- 1 = la patte
- 2 = nerf sciatique
- 3 = voie ganglionnaire dorsale
- 4 = cordon médullaire de la corne dorsale
- 5 = neurones de la medulla oblongue
- 6 = cellules neuronales pyramidales
- 7 = neurones de l'hippocampe

5.2.2. La réponse humorale :

En ce qui concerne la réaction humorale déclenchée par le BDV, il faut tout d'abord retenir que la synthèse des Ac anti-BDV serait dépendante des **lymphocytes T CD4⁺**, selon les résultats des études de plusieurs auteurs (120). Une expérience effectuée en 1991 par Stitz et al. (122), montre que les rats traités par la ciclosporine, et infectés par le BDV présentent une diffusion virale extra-neurale beaucoup plus importante que les rats non traités. Ces rats ne développent pas de maladie de Borna caractéristique, mais plutôt une infection persistante associée à une réaction de tolérance, comme les nouveaux-nés infectés. Les auteurs avaient alors suggéré que cette différence de localisation était due à l'absence de synthèse de certaines lymphokines à l'origine de l'expression de molécules du CMH de classe II chez les animaux immunodéprimés par la ciclosporine A. Une expérience réalisée en 1998 par les mêmes auteurs, montre que les Ac spécifiques de BDV synthétisés lors de l'infection par le virus ne semblent pas contribuer directement à la pathogénèse (120). En revanche, ils interviendraient en bloquant la diffusion du virus dans les tissus extra-neuronaux, et ainsi favoriseraient le développement d'une réaction inflammatoire exacerbée au niveau cérébral, et donc le déclenchement de l'encéphalite (120, 122). Lors de l'infection expérimentale intracérébrale de rats Lewis par le BDV, l'**Ag p40** est détectable par immunohistochimie six jours après l'inoculation, et l'Ag p24, 15 jours après (84). De la même façon, les Ac synthétisés par les animaux infectés expérimentalement ou naturellement, sont les Ac **anti-p40** et **anti-p24**, et ce **deux à trois semaines après le début de l'infection**, les Ac **anti-p84** et **anti-p18** n'étant détectés que **dix à quatorze semaines après**. Plusieurs expériences dans ce domaine (120, 40) ont montré que les Ac ayant une **activité neutralisante** sont les Ac **anti-gp18** et, dans une moindre mesure, les Ac anti-p56, et leur rôle consisterait à empêcher la dissémination virale dans les tissus extra-neuronaux. En effet, selon Hatalski et al. (40), l'activité neutralisante du sérum des rats Lewis infectés augmente de façon importante entre la phase aiguë (5 jours après l'infection), et la phase chronique (15 semaines après l'inoculation), et le délai d'apparition de cette activité correspond donc à celui des Ac anti-gp18. De plus, si l'on soustrait les Ac anti-gp18 du sérum des animaux infectés (par adsorption sur une membrane spécifique), l'activité neutralisante de ce dernier chute radicalement, alors que l'éviction des Ac anti-p40 et anti-p24 n'a aucun effet sur cette activité. Mais, lorsque les Ac anti-gp18 sont éliminés du sérum, celui-ci conserve une petite activité neutralisante, qui semble due aux Ac anti-p84 (123, 120). La neutralisation se ferait par l'intermédiaire de complexes se formant entre les résidus carbohydrates des glycoprotéines (alpha-D-manose et bêta-D-glucosamine), et les paratopes des Ac.

Les auteurs expliquent l'apparition tardive de l'activité neutralisante chez les animaux infectés, par le fait que dans la première phase de la maladie, la protéine gp18 est synthétisée à des taux plus faibles que les protéines p40 et p24, qui elles, entraînent la production de taux élevés d'Ac. De plus, la protéine gp18 est la protéine de matrice de l'enveloppe virale, ce qui pourrait impliquer sa restriction tardive au SNC, tandis que les Ag solubles, p40 et p24, diffuseraient hors du SNC et seraient donc immunogènes très rapidement. On peut aussi observer ce phénomène d'apparition tardive de l'activité neutralisante dans d'autres infections, telles que la chorioméningite lymphocytaire chez la souris, pour laquelle il a été suggéré que les cellules CD8⁺ inhiberaient les cellules B spécifiques de la synthèse des Ac neutralisants, hypothèse renforcée par l'observation d'une accélération de l'apparition des Ac neutralisants lorsque les CD8⁺ diminuent.

5.2.3. Rôle des anticorps neutralisants :

Le rôle exact des Ac neutralisants dans la maladie de Borna reste encore peu clair. Toutefois, selon Stitz et al. (120), ces Ac seraient à l'origine du **neurotropisme viral**. Pour étudier ce phénomène, les auteurs ont observé la distribution tissulaire du virus, sur des rats Lewis ayant des statuts immunitaires différents comprenant : des rats adultes immunocompétents, des rats nouveaux-nés, des rats adultes traités par de la ciclosporine A durant 28 jours, et ce à partir de la veille de l'inoculation :

- les rats adultes immunocompétents ont une infection neuronale entre le troisième et le sixième jour après l'inoculation, et les astrocytes sont infectés au dixième jour ; le virus persiste dans les fibres nerveuses du système nerveux autonome de tous les tissus ; les cellules non nerveuses du rein et des poumons sont infectées plus tardivement au cours de la phase chronique.
- les nouveaux-nés infectés, tout comme les adultes immunodéprimés par la ciclosporine, présentent une diffusion virale plus rapide à l'intérieur du système nerveux, ainsi qu'une dissémination précoce au niveau des cellules non nerveuses de nombreux organes, tels le cœur, le foie, les reins, ou encore les intestins (cf tableau 2).

Tableau 1 : distribution du BDV au niveau des tissus nerveux et extra-neuronaux, chez les rats Lewis adultes immunocompétents, d'après Stitz et al. (120) (détection du virus infectieux, de l'ARN (par hybridation in situ), de l'Ag P40 (immunohistochimie)) :

tissu	7 jours pi	14 jours pi	21 jours pi	28 jours pi	35 jours pi
cerveau	+	+	+	+	+
cordon spinal	-	-	+	+	+
rétine	-	-	+	+	+
SNP	-	-	-	+	+
rein	-	-	-	-	+
foie	-	-	-	-	-
intestin	-	-	-	-	-
coeur	-	-	-	-	-
rate	-	-	-	-	-
peau	-	-	-	-	-

Tableau 2 : distribution du BDV au niveau des tissus nerveux et extra-neuronaux, chez les rats Lewis nouveau-nés, d'après Stitz et al. (120) (détection du virus infectieux, de l'ARN (par hybridation in situ), de l'Ag P40 (immunohistochimie)):

tissu	7 jours pi	14 jours pi	21 jours pi	28 jours pi	35 jours pi
cerveau	+	+	+	+	+
cordon spinal	+	+	+	+	+
rétine	-	+	+	+	+
SNP	-	+	+	+	+
rein	-	-	+	+	+
foie	-	-	-	+	+
intestin	-	-	-	+	+
coeur	-	-	-	+	+
rate	-	-	-	+	+
Peau	-	-	+	+	+

Par la suite, la transfusion de sérum issu de rats adultes infectés et ayant une activité neutralisante chez les rats nouveaux-nés et les rats immunodéprimés infectés, entraîne une modification significative de la distribution du virus dans l'organisme : celui-ci est retrouvé uniquement au niveau des structures nerveuses, comme chez les rats immunocompétents, et l'arrêt de la transfusion est à l'origine d'une nouvelle dissémination virale au niveau des cellules des organes décrits précédemment. En revanche, cette transfusion n'induit aucune modification concernant l'évolution des signes cliniques et de la maladie chez les rats nouveaux-nés et les rats immunodéprimés, qui présentent une réaction de tolérance persistante. Chez les nouveaux-nés infectés, des Ac antiviraux sont détectés à taux élevés par la technique ELISA, même en l'absence de transfusion de sérum de rats adultes infectés, mais aucune activité neutralisante n'est retrouvée. Par conséquent, on peut dire que la présence des Ac neutralisants à la phase précoce de l'infection par le BDV est un facteur déterminant pour un **développement cérébral exclusif**, ou une diffusion au niveau des cellules extra-neuronales. On peut aussi supposer, comme l'avaient suggéré Stitz et al. lors de leur première expérience, qu'une diffusion extra-neuronale importante et précoce, serait l'un des facteurs expliquant le développement d'une réaction de tolérance chez le nouveau-né. En effet, la dissémination virale entraînerait la dispersion des cellules immunes potentielles effectrices en des foyers de multiplication virale multiples, diminuant l'intensité de la réponse possible au niveau cérébral. Ceci s'ajoutant à l'immaturité du système immunitaire, entraînerait une moindre inflammation et une absence de lésions importantes à ce niveau (17). On retiendra donc que la présence des Ac, même neutralisants, n'empêche pas l'infection mais limiterait la diffusion virale aux structures nerveuses (77, 17).

5.2.4. Essais de vaccination :

Une expérience de Lewis et al., réalisée en 1999 (64), montre que l'immunisation de rats Lewis, avec un vaccin recombinant exprimant la nucléoprotéine N, suivie de leur infection par le BDV, n'entraîne pas l'effet habituel d'une vaccination. Le vaccin recombinant utilisé est formé à partir du virus vaccinia, exprimant la protéine N dans le gène de sa kinase (64). Les animaux vaccinés présentent une augmentation rapide de leur titre d'Ac anti-N, comparativement aux animaux non immunisés ayant reçu un vaccin recombinant contrôle (exprimant une séquence d'ARN PSC11, indépendante de BDV), pour qui l'augmentation se fait lentement. Chez ces derniers, le pic du titre d'Ac est atteint vers le trentième jour après l'infection, tandis que chez les animaux

immunisés, ce pic est atteint au vingtième jour après l'infection, et il est huit fois plus important. La charge virale quantifiée au niveau des homogénats cérébraux, s'avère être plus faible dans le groupe des animaux immunisés (pic viral de 575 FFU/ml), que dans celui des rats non immunisés (pic viral égal à 14000 FFU/ml). En revanche, la réponse inflammatoire observée après l'infection est plus marquée chez les animaux immunisés, et les signes cliniques (dystonies, parésies, faiblesse), évalués par deux observateurs différents, sont plus graves. On note une infiltration des cellules mononucléaires plus prononcée au niveau du parenchyme cérébral, après 31 à 36 jours d'infection. Dans les deux groupes, les animaux présentent les signes cliniques de la pathologie au vingt-cinquième jour après l'inoculation, mais la maladie s'aggrave très rapidement chez les rats immunisés, et la plupart doivent être euthanasiés au trente-sixième jour d'infection. Donc, on peut dire qu'une réaction immunitaire plus forte lors de l'infection par le BDV, peut diminuer la charge virale aux dépens d'une augmentation de la morbidité.

5.2.5. Les lymphocytes T CD4⁺ :

La réponse cellulaire semble être le facteur majeur impliqué dans la pathogénicité de la maladie de Borna. La maladie consisterait en une réaction immunopathologique dépendante des lymphocytes CD4⁺, et dans laquelle les lymphocytes CD8⁺ et d'autres mécanismes cyto destructeurs seraient opérants (81, 84). Contrairement à certaines infections virales, telles que la rougeole, qui sont des pathologies autoimmunes déclenchées par le virus, la maladie de Borna est un modèle d'immunopathologie cérébrale résultant exclusivement d'une réaction immunitaire contre les Ag viraux. Ceci a été démontré par des expériences réalisant le transfert passif, chez des receveurs non infectés par le BDV, de lymphocytes CD4⁺ spécifiques de BDV ayant une activité cytotoxique (la lignée cellulaire NM1), et n'entraînant pas d'encéphalite (93).

Le rôle des lymphocytes CD4⁺ dans le développement de la **réaction inflammatoire**, fut mis en évidence dans les années 1990, au cours de plusieurs expériences (81, 91, 93), réalisées grâce à une lignée cellulaire de lymphocytes T CD4⁺ spécifique des protéines p38 et p39, la lignée cellulaire NM1. Chez des rats traités par du cyclophosphamide, leur injection entre 10 et 15 jours après l'immunosuppression, induisait la mort des animaux, ou la nécessité d'euthanasier ceux-ci dans les 5 à 10 jours après le transfert des cellules T. Ces signes cliniques étaient dus à l'induction d'une méningoencéphalite aiguë majoritairement au niveau de la substance grise, à l'origine du développement d'une pathologie paralysante rapidement fatale et différente de celle observée lors de l'infection typique par le BDV. De plus, une autre expérience montrait

qu'in vitro, les cellules de cette lignée pouvaient lyser les cellules infectées par un mécanisme restreint par le CMH de classe II (81, 91). D'autre part, les auteurs ont observé une induction et une expression générale des Ag de classe II du CMH, au niveau du cerveau des animaux infectés immunocompétents présentant une infiltration cérébrale de cellules lymphocytaires, et absentes chez les rats traités par la ciclosporine n'ayant pas d'infiltration (93). Cette constatation renforce donc l'hypothèse de l'intervention de cellules T spécifiques du BDV restreintes par le CMH de classe II dans la pathogénèse de la maladie de Borna.

En 1995, Planz et al., après avoir isolé in vitro, une lignée cellulaire de lymphocytes T CD4⁺ spécifiques de la protéine p24 du BDV, ont réalisé une expérience consistant à injecter ces lymphocytes chez des rats infectés et immunodéprimés par du cyclophosphamide (160 mg/kg le lendemain de l'inoculation intra-cérébrale du BDV, par voie intrapéritonéale), et chez des rats infectés ayant été traités par des Ac anti-CD8⁺ (81). La lignée lymphocytaire fut isolée in vitro, grâce à une protéine p24 recombinante, présentant les mêmes caractéristiques antigéniques que la protéine p24 naturelle lors de l'analyse au Western-Blot. Cette lignée, baptisée P205, présente les propriétés phénotypiques suivantes : CD4⁺ CD8⁻ IL-2⁻ IL-4⁻ IFN- γ ⁺ IL-6⁺ IL-10⁺, elle ne possède aucune activité cytotoxique sur les cellules infectées ayant des Ag de classe II du CMH, et elle fonctionne donc comme une lignée cellulaire T helper. Les auteurs purent alors observer une expression différente de l'infection, selon la période où les cellules T helper furent injectées :

- le transfert des lymphocytes 10 à 15 jours après l'immunosuppression entraîna la mort des receveurs dans la semaine qui suivie, sans aucun signe neurologique, mais avec une perte de poids de 30% en 3 jours. Chez ces derniers, on retrouva les signes d'une maladie lymphoproliférative au niveau des poumons, des ganglions lymphatiques mésentériques, de la paroi intestinale et des plaques de Peyer, à l'examen histologique et macroscopique. Les lymphocytes transférés migrant préférentiellement par les poumons et les tissus lymphoïdes intestinaux, ceux-ci furent donc fortement suspectés d'avoir initié la réaction inflammatoire observée.

- le transfert des lymphocytes 5 jours après l'administration du cyclophosphamide était à l'origine du développement de symptômes neurologiques dans les 14 jours suivants.

La différence des résultats observés s'expliquerait par le fait que le cyclophosphamide a une durée d'action d'une dizaine de jours environ, et que dans le premier cas, les rats recevant les lymphocytes P205 ne sont plus en état d'immunodépression. L'injection des lymphocytes T helper synthétisant des cytokines activatrices de l'immunité non spécifique peut donc entraîner le déclenchement d'une telle réaction dans les organes périphériques où transitent prioritairement les lymphocytes. L'intensité de cette réaction

inflammatoire périphérique est telle que les lymphocytes n'ont pas le temps d'activer une réaction immunitaire spécifique de BDV au niveau cérébral. En revanche, chez les animaux où le transfert est effectué 5 jours après le traitement par le cyclophosphamide, l'immunodépression est encore présente, et les lymphocytes transférés ne peuvent pas induire de réaction inflammatoire périphérique. Ceux-ci ont donc le temps de migrer jusqu'au cerveau, et d'induire une réaction immunitaire spécifique du Bornavirus, une dizaine de jours après le traitement par le cyclophosphamide. L'analyse immunohistochimique des cellules inflammatoires retrouvées au niveau du cerveau de ces rats révèle la présence de 20 à 30% de cellules CD8⁺, et de plus de 50% de cellules CD4⁺, parmi les cellules lymphocytaires totales (81). Cette hypothèse implique que les lymphocytes T helper spécifiques de l'Ag p24 expriment **l'intégrine alpha-4** à la surface de leur membrane, molécule essentielle pour permettre l'entrée des cellules T dans le cerveau, après liaison à un récepteur spécifique situé au niveau des cellules endothéliales. L'implication de cette molécule dans l'expression de la maladie de Borna fut confirmée par l'expérience de Rubin et al. (98), en 1998, montrant que le traitement *in vivo*, par des Ac monoclonaux anti- intégrine alpha-4, de rats infectés par le BDV entraîne un ralentissement de la progression des signes cliniques, et une diminution de l'infiltration des cellules immunes au niveau cérébral. Les lymphocytes de la lignée P205 furent aussi transférés chez des rats ayant été préalablement thymectomisés, et traités par des Ac anti-CD8⁺, et ceci n'entraîna aucun symptôme ou réaction encéphalitique notable, mettant en évidence l'implication des lymphocytes CD8⁺ dans le déroulement de la pathologie.

A l'issue de ces différents résultats, les auteurs conclurent que la pathogénèse du BDV faisait intervenir un large spectre de lignée de cellules CD4⁺, dont la lignée NM1 ayant des effets cytotoxiques propres, et la lignée P205 jouant le rôle de cellules T helper, en activant les lymphocytes T et B. L'accumulation des cellules CD4⁺ au niveau cérébral est à l'origine de lésions inflammatoires périvasculaires, qui seules ne provoquent pas de maladie. Les lymphocytes CD8⁺ spécifiques de BDV semblent avoir un rôle primordial dans la destruction neuronale et l'expression des signes de la maladie, ainsi que dans la stimulation des macrophages par la sécrétion de l'INF gamma.

5.2.6. Les lymphocytes T CD8⁺ :

Chez la souris adulte, on observe de grandes disparités dans l'expression de la maladie en fonction des races, et les nouveaux-nés semblent être les plus susceptibles à l'expression de la maladie (38). Une expérience réalisée par Hallensleben et al., sur des souris de la race MRL infectées à un très jeune âge, renforce l'hypothèse cytotoxique T cellulaire de la pathologie. En effet, plusieurs constatations sont en faveur de cette théorie:

- tout d'abord, le BDV se multiplie à des taux comparables dans le cerveau des animaux malades et non malades;
- on observe, au niveau du cerveau des souris malades, la présence d'un grand nombre de lymphocytes infiltrés au niveau du néocortex et des autres régions cérébrales;
- on remarque de plus, que le début des signes cliniques correspond au début de la réaction immunitaire antivirale;
- enfin, l'infection des souris déficientes en bêta -2 microglobuline, et donc en CD8⁺ n'entraîne pas de pathologie neurologique.

La forte susceptibilité des souris MRL infectées à l'état de nouveau-né, serait due à une hypersensibilité des cellules CD4⁺, qui stimuleraient de façon importante la réaction des **cellules CD8⁺**. A l'âge adulte, cette susceptibilité serait moindre, et l'orientation de la réponse immunitaire chez les adultes se ferait plutôt en faveur du phénotype Th2, alors que chez les nouveaux-nés, les Th1 seraient plutôt activés mais aucune explication n'étaye cette hypothèse à l'heure actuelle. En revanche, la différence d'expression de la maladie observée entre les nouveaux-nés de souris et de rat, serait liée à une variabilité de vitesse de diffusion du virus. En effet, chez le rat nouveau-né, l'ARN de BDV est détecté 3 jours après l'inoculation au niveau du thymus, tandis que chez la souris du même âge, il reste très neurotropique au début, et il n'est mis en évidence hors du SNC (par RT-PCR), que seize jours après l'infection. Dans ce dernier cas, le virus migrerait dans les tissus extra-neuronaux lorsque le système immunitaire serait mature, permettant le développement d'une réponse immune, et non pas d'une réaction de tolérance comme chez le rat nouveau-né (38).

L'expérience de Nöske et al. (77), réalisée en 1998, a montré que l'injection de lymphocytes CD4⁺ avant l'infection par le BDV empêcherait l'expression de la maladie. En effet, les auteurs ont injecté des cellules CD4⁺ de la lignée K38.24, dépourvue d'activité cytotoxique, à des rats adultes, à deux reprises, avant l'inoculation du BDV (12 jours avant puis 3 jours avant), et ils ont alors pu constater que les animaux présentaient une cinétique des taux d'Ac plus rapide, un titre viral beaucoup plus faible que les rats contrôles, ainsi qu'une absence de signes cliniques. Ce phénomène

s'expliquerait par le fait que les cellules $CD8^+$, activées par les lymphocytes $CD4^+$ T Helper injectés avant l'invasion massive par le BDV, auraient la capacité d'éliminer le virus et de contrôler l'infection des organes. Les résultats de ces auteurs permettent d'émettre l'hypothèse suivante : le moment auquel la réponse cytotoxique T cellulaire restreinte par le CMH de classe I est initié, serait à l'origine de l'orientation de l'infection vers une immunopathologie, ou vers une immunoprotection consécutive à l'élimination rapide du virus. Une étude plus récente, réalisée par Planz et al. (84), montre que l'Ag p40 est la cible majeure de la réponse cytotoxique T cellulaire restreinte par le CMH de classe I, et qu'il possède au moins un épitope reconnu par les $CD8^+$ spécifiques du BDV. D'autres épitopes subdominants interviendraient aussi dans l'infection chronique, tels que ceux des Ag p24 et gp18. L'Ag p40 serait donc la cible majeure de la réponse immunitaire contre le BDV, les Ac anti-p40 étant aussi les premiers à être détecté, bien que leur rôle exact ne soit pas déterminés.

L'expérience réalisée en 1997, par Sobbe et al. (115), montre que les lymphocytes $CD8^+$ sont directement impliqués dans les lésions observées lors de la maladie de Borna. En effet, lors de l'analyse histologique des cerveaux de rats infectés et ayant développé la maladie, les lymphocytes $CD4^+$ sont uniquement retrouvés au niveau des régions **d'inflammation périvasculaires**. En revanche, on observe une concentration importante de $CD8^+$ au niveau du **parenchyme cérébral**, associée à une destruction neuronale sévère et à une dégénération de type "spongiforme", qui ne cesse de croître, et aboutit finalement à une sévère atrophie corticale. Les auteurs ont pu montrer que l'activité cytotoxique des lymphocytes $CD8^+$ s'exerce à partir du moment où l'ARNm de la perforine, enzyme effectrice majeure de la lyse cellulaire médiée par les lymphocytes cytotoxiques, est détecté au niveau du cerveau des animaux infectés. L'activation de la réponse cellulaire $CD8^+$ cytotoxique serait le facteur initiateur de la destruction cérébrale, mais il stimulerait à son tour d'autres mécanismes cyto destructeurs, tels que les cellules de la microglie, et les cytokines qu'elles produisent.

5.2.7. Les cytokines :

Selon l'expérience de Shankar et al. (112), en plus d'une action immunomodulatrice, les cytokines auraient un effet cytotoxique direct dans la maladie de Borna. Certains auteurs ont montré antérieurement (112), que l'injection intracérébrale d'IL-1 ou TNF chez le rat induisait une méningite, et des dommages au niveau de la barrière hématoencéphalique. De plus, au cours de plusieurs autres pathologies inflammatoires et démyélinisantes cérébrales, comme la panencéphalite subaigüe sclérosante (PEES),

ou l'encéphalopathie progressive associée au SIDA: le taux de TNF dans le sérum et le liquide céphalorachidien sont très élevés. La production de certaines cytokines serait donc impliquée dans certaines pathologies neurologiques. L'ARNm de TNF-alpha et de l'IL-6 augmentent beaucoup vers le quatorzième jour p.i., et l'ARNm de IL-1 augmente au vingt-sixième jour p.i. Le taux maximal de l'ARNm de ces cytokines produites par les macrophages est atteint aux environs du vingt-sixième jour p.i., qui correspond au moment du pic de l'inflammation cérébrale, et des dommages neurologiques. Ces taux diminuent fortement vers le soixantième jour p.i., ce qui montre qu'ils sont corrélés avec le degré de l'inflammation et la sévérité des signes neurologiques observés. En revanche, les taux d'ARNm de l'IL-2 et de l'IFN-gamma sont augmentés au stade aigu de la pathologie, mais aussi chronique, et ils sont respectivement corrélés aux taux de CD4⁺ et de CD8⁺ présents au niveau cérébral. Ainsi, les lymphocytes CD8⁺ auraient un rôle dans la phase aiguë de la maladie et la destruction neurologique, mais aussi dans la phase chronique car la production de l'IFN-gamma, à laquelle ils participent, pourrait être à l'origine d'un effet protecteur, à long terme, contre les dommages cérébraux. En effet, l'IFN-gamma agit de façon synergique avec le TNF et l'IL-1 pour induire la manganèse superoxyde dismutase, elle même impliquée dans la protection des cellules saines contre l'action du radical libre O₂⁻ lors de la réponse immune.

5.2.8. Les neurotransmetteurs :

La phase hyperactive de la maladie de Borna est corrélée à une perte des sites de recapture dopaminergique, et à une diminution sélective des sites de liaison des récepteurs de la dopamine (DA), dans les régions rostrales du striatum, et spécialement dans le **noyau accumbens** (116). On divise les récepteurs dopaminergiques en 2 catégories : les récepteurs de type D1 (D1 et D5), et les récepteurs de type D2 (D2, D3, D4), et dans l'infection par le BDV, seuls les récepteurs de type D2 semblent modifiés. Les voies dopaminergiques cérébrales sont constituées de la voie tubéroinfundibulaire, de la voie nigro-striée, de la voie mésocorticolimbique, du système dopaminergique mésocortical (48). Ce dernier, impliqué entre autre, dans le comportement social et l'attention, prend naissance au niveau de l'aire tegmentale ventrale mésencéphalique, et se projette essentiellement au niveau du cortex préfrontal. La voie mésocorticolimbique est impliquée dans la mémoire, les émotions. Ses neurones d'origine sont situés au niveau de l'aire tegmentale ventrale mésencéphalique, et elle se projette au niveau de plusieurs structures du système limbique. Les projections les plus importantes se situent au niveau du noyau accumbens. Ce noyau est une structure biochimiquement et

morphologiquement hétérogène, dans laquelle, les subrégions de la capsule, du noyau, et de l'extrémité font intervenir différentes structures limbiques et corticales. Généralement, la dénervation de la voie mésocorticolimbique au niveau des afférences mésencéphaliques, entraîne une augmentation des récepteurs D2 au niveau du noyau accumbens, et de la région striatale (116), selon le mécanisme d'hypersensibilité. Or, la maladie de Borna est un modèle particulier, car on a une dénervation partielle dopaminergique, mais celle-ci s'accompagne aussi d'une diminution du nombre de récepteurs D2 et D3 (116, 117). Le virus semblerait donc causer des dommages post-synaptiques également. Chez les animaux infectés par le BDV, on observe une diminution des taux de radioligand spécifique des récepteurs D3, illustrant une réduction de l'expression des récepteurs post-synaptiques, consécutive à la baisse des taux de DA ou des terminaux dopaminergiques. Seuls les récepteurs D2 et D3 sont touchés par cette diminution, et les ARNm des récepteurs du groupe D2 (D2, D3, D4) sont synthétisés à partir d'ARNm épissés. Une première hypothèse a donc été avancée par les auteurs, selon laquelle la diminution de l'expression des récepteurs de type D2 et D3 serait due à une compétition entre l'ARNm viral et l'ARNm humain lors de l'épissage, ou à la synthèse d'un facteur inhibant l'épissage.

Une expérience pharmacologique montre que l'excès de DA, ou l'augmentation de la sensibilité des récepteurs dopaminergiques dans le noyau accumbens entraîne une hyperactivité locomotrice du rat. Mais, dans le modèle du rat infecté par le BDV, ce mécanisme ne semble pas pouvoir expliquer l'hyperactivité des rats, puisque l'on a une diminution du nombre de ces récepteurs. La théorie expliquant cette observation est la suivante : l'échec de la recapture dopaminergique entraînerait une augmentation des taux synaptiques et extra-cellulaires en DA, et une diminution du nombre de récepteurs par régulation. Un autre facteur ne peut pas être exclu pour expliquer la perte des récepteurs post-synaptiques observée chez l'animal infecté : il s'agit de l'influence des signaux provenant des autres neurotransmetteurs. Par exemple, les **acides aminés excitateurs** relargués au niveau du cortex, de l'hippocampe ou des afférences amygdaliennes, augmenteraient les effets post-synaptiques de la DA. Les projections des acides aminés excitateurs, comme l'acide glutaminergique, ont des cibles neuronales en commun avec les terminaisons dopaminergiques du noyau accumbens. L'hypothèse selon laquelle l'infection entraînerait une augmentation de la libération des acides aminés excitateurs, au niveau des projections ventrales, corticales et striatales, induisant ainsi, par effet excitotoxique, la destruction des cellules situées au niveau des régions du noyau et de l'extrémité du noyau accumbens. Les régions pré- limbique et antérieure insulaire du cortex frontal se projettent préférentiellement dans la région centrale et au niveau de l'extrémité du noyau accumbens. Or, les cellules de la lignée cellulaire pyramidale 6 des régions pré- limbiques et antérieure insulaire, contiennent des taux

élevés d'ARN de BDV. La région ventro-corticale est innervée par la région ventrale pré-lobique, et l'on peut observer une diminution significative de la liaison du ligand marqueur au niveau des récepteurs D2 de cette zone, alors que la région dorsolatérale qui n'a pas d'innervation provenant du cortex pré-frontal, est épargnée. Ainsi, au niveau du noyau accumbens, les régions centrales et distales verraient le nombre de leurs récepteurs D2 et D3 diminuer au cours de l'infection par le BDV, alors que la capsule serait épargnée.

Selon les auteurs, un des effets propres du BDV serait donc un changement de l'équilibre de la balance concernant le nombre de récepteurs D2 et D3 fonctionnels dans les sous-régions du noyau accumbens, résultant en une modulation différentielle de l'efficacité de la transmission dopaminergique dans des populations neuronales distinctes. Certaines expériences montrent que les patients atteints de psychose maniaco-dépressive ont une augmentation de leurs récepteurs D2, et que les schizophrènes ont une augmentation à la fois des récepteurs D3 et D2. Le potentiel du BDV à augmenter le rendement des récepteurs D2/D3 de la capsule du noyau accumbens serait un fait important pour permettre de faire le lien entre le modèle du rat et les pathologies psychiatriques humaines (116).

5.2.9. « L'infection tolérante et persistante »:

La réaction de tolérance persistante (PTI) chez le nouveau-né semble due à une différence dans le développement et la maturation du système immunitaire. Lorsque l'on injecte des cellules de rate issues d'animaux infectés, chez des rats adultes immunodéprimés par un traitement immunosuppresseur (ciclosporine ou cyclophosphamide), on observe alors l'apparition des signes cliniques de la maladie de Borna (93, 91). En revanche, l'injection de ce même type de cellules, ne provoque pas de maladie chez le nouveau-né, tandis que la mise en contact d'un rat adulte et d'un nouveau-né infecté, par voie intrapéritonéale permettant la libre circulation des facteurs immuns humoraux et cellulaires, entraîne une maladie de Borna sévère chez tous les nouveaux-nés appariés, sans aucune exception, mais avec une encéphalite d'intensité moyenne (13). Selon les auteurs, deux hypothèses pourraient expliquer ces résultats : le rat adulte libérerait un facteur systémique dans l'organisme du nouveau-né, qui déclencherait la pathologie; ou plus certainement encore, les cellules immunes du nouveau-né seraient maturées après passage dans l'organisme du rat adulte, et repasseraient chez le nouveau-né, déclenchant alors la maladie. L'appariement de rats

adultes infectés, avec des rats nouveaux-nés non infectés, n'entraîne pas de maladie de Borna chez ces derniers, ceci confirmant bien le fait que l'expression de la pathologie chez le nouveau-né est liée à l'acquisition de cellules matures, et non pas à une éventuelle augmentation de la charge virale consécutive au transfert. Selon Sauder et al. (100), chez les rats nouveaux-nés développant une PTI-NB, on observe une augmentation chronique des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, le TNF-alpha, l'IL-1 alpha, l'IL-1 bêta, au niveau de l'hippocampe et du cervelet. Bien que l'on observe seulement une faible infiltration immune au niveau du cerveau des nouveaux-nés, on note une astrocytose et une microgliose, et la source majeure de ces cytokines sembleraient donc être les astrocytes et les cellules de la microglie, qui sont infectées de façon préférentielle par le BDV.

Une expérience, réalisée en 1996, par Gonzales-Dunia et al. (34), soulève l'hypothèse d'un éventuel rôle de l'activité des **protéases** dans la réaction de tolérance observée chez le nouveau-né, et les modifications comportementales qu'elle induit. En effet, Les protéases seraient impliquées dans régulation de la plasticité neuronale, et tout déséquilibre dans leur fonctionnement, serait à l'origine de désordres neurologiques. La présence persistante du virus au niveau de l'organisme, entraînerait une augmentation de l'activité protéase dans le SNC, à l'origine de certains troubles neurologiques.

Les astrocytes synthétisent le facteur tissulaire, qui est à l'origine de l'activation des protéases de la coagulation, et selon les résultats de cette expérience, l'infection persistante des astrocytes activerait l'expression du gène du facteur tissulaire dans le cerveau (augmentation de la transcription du gène et stabilisation de l'ARNm). Ce facteur tissulaire appartenant, de par sa structure moléculaire, à la famille des récepteurs de cytokines de classe II, travaillerait comme un récepteur signal, en induisant l'augmentation intracellulaire du taux calcique. Les protéines de la coagulation auraient donc un rôle dans le fonctionnement du SNC, indépendamment de leur action dans l'hémostase. De plus, le facteur tissulaire est le premier initiateur du système d'activation de la thrombine, qui elle, est impliquée dans plusieurs pathologies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer. L'hypothèse selon laquelle la régulation de l'expression du facteur tissulaire liée à l'infection par le BDV jouerait un rôle important dans la réponse du SNC à l'invasion virale et peut être aussi dans les désordres des fonctions du SNC induites par le BDV est depuis émise (34).

6. BDV et pathologies humaines :

6.1. Rappels sur les pathologies neuropsychiatriques:

6.1.1. La schizophrénie :

La schizophrénie est l'une des maladies mentales les plus graves, tout comme la dépression, la manie, et les états d'anxiété (48). Avec une prévalence environ égale à 1 % dans la population générale, elle est qualifiée par plusieurs auteurs, comme étant la pathologie la plus dévastatrice des maladies humaines (48, 30), pouvant survenir de façon soudaine, brisant des carrières prometteuses, détruisant des relations, et ruinant des vies. A l'origine, Krapelin avait distingué deux types majeurs de maladie mentale, différentes de part leurs symptômes, mais aussi leur évolution : la démence précoce (débutant à l'adolescence et évoluant fatalement), et la psychose maniaco-dépressive, aujourd'hui qualifiée de trouble psychoaffectif (débutant vers l'âge adulte, et évoluant par épisodes). Devant la diversité des formes d'expression observées, le psychiatre suisse Bleuler a introduit en 1910, le terme de schizophrénie, pour remplacer la démence précoce, et désigner ce groupe de psychoses, dont le dénominateur commun est une dislocation de la vie psychique en différents compartiments (48, 2, 28). Sur le plan clinique, la schizophrénie se caractérise par une perte de contact avec la réalité, ainsi que la fragmentation et la désorganisation de la pensée, de la perception, de l'humeur et du mouvement. D'une manière générale, il n'est pas forcément évident de considérer la schizophrénie comme une maladie unique et bien caractérisée, puisque l'on distingue plusieurs formes d'expression.

On observe deux types de symptômes qui coexistent (74) et déterminent l'expression d'une forme particulière de la maladie :

- les signes **déficitaires ou négatifs** : repli sur soi, apragmatisme, indifférence, retrait, appauvrissement de la pensée.
- les signes **productifs ou positifs** : le délire (croyance irréductible et inébranlable à une conception fautive de la réalité) et les hallucinations (impressions visuelles, auditives, corporelles sans rapport avec la réalité et très angoissantes pour le patient).

Sur le plan anatomique, on peut noter dans certaines schizophrénies, des anomalies telles qu'une augmentation de la taille des ventricules (probablement consécutive à une légère réduction globale du cerveau, et observée dans la maladie d'Alzheimer également), ou une réduction de certaines structures du lobe temporal, à l'imagerie cérébrale par résonance magnétique. La **dopamine**, et plus particulièrement l'hyperactivité du système dopaminergique (au niveau des récepteurs D2), semblent être

impliquées fortement dans la pathologie, étant donné l'efficacité des neuroleptiques (antagonistes dopaminergiques) dans certaines schizophrénies, et l'aggravation des symptômes lors de la prise d'un agoniste dopaminergique tel que la L-Dopa. Mais les anomalies dopaminergiques n'expliquent pas tous les aspects de la schizophrénie, car les antipsychotiques, bien que bloquant rapidement les récepteurs dopaminergiques, ne provoquent un effet qu'au bout de deux à trois semaines en moyenne. L'hypothèse d'une intervention du **système sérotoninergique**, complémentaire de celle du système dopaminergique repose sur le fait que l'administration d'un analogue structurel de la sérotonine tel que le LSD (drogue hallucinogène) chez des sujets normaux peut entraîner des hallucinations du même type que celles observées dans la schizophrénie.

On note des différences d'expression de la schizophrénie entre les hommes et les femmes, celles-ci ayant généralement un âge d'entrée dans la pathologie plus tardif, des symptômes thymiques plus prononcés, et un meilleur pronostic (58). Au niveau épidémiologique, on peut observer une influence des saisons sur le développement de la schizophrénie. En effet, les auteurs ont relevé un nombre plus important de pathologies psychiatriques débutant durant les mois d'été ou proches de cette saison (17). De plus, une influence de la saison de naissance des patients a été remarquée : les individus développant une schizophrénie au cours de leur vie sont plus fréquemment (dans une proportion de 4 à 8 %) nés en hiver ou au printemps. Bien que l'on ne connaisse pas les raisons exactes de telles observations, celles-ci sembleraient compatibles avec une éventuelle infection virale au cours de la grossesse de la mère.

6.1.2. Les troubles affectifs :

Les **troubles affectifs** consistent en des altérations de l'humeur, et on peut distinguer deux types de maladies : la **psychose maniaco-dépressive**, et la **dépression majeure**. Cette dernière est une pathologie grave et durable, caractérisée par l'impression d'avoir perdu tout contrôle de ses propres émotions, et généralement associée à de l'insomnie, un manque d'appétit, un sentiment d'inutilité et de culpabilité, et des pensées morbides. Cette pathologie évolue par épisodes, elle peut survenir sans raison apparente, et persister pendant 4 à 12 mois si on ne la soigne pas. De plus, la maladie ne s'améliore pas, même si les circonstances deviennent plus favorables (28). Cette pathologie touche 5 % de la population mondiale, les femmes étant 2 à 3 fois plus atteintes que les hommes, et l'âge moyen d'apparition se situe aux alentours de 30 ans (48). Dans 50 à 85 % des cas, un patient atteint d'un épisode de dépression majeure, aura au moins un autre épisode au cours de sa vie. On peut diviser la dépression en deux sous-types, la dépression réactive, et la dépression endogène, en fonction de l'existence ou non, d'un facteur exogène déclenchant.

La psychose maniaco-dépressive, encore dénommée dépression bipolaire, est caractérisée par des épisodes d'euphorie, suivis, parfois très rapidement, d'une période de dépression, et elle représente 25 % des dépressions totales. Elle touche de façon équivalente le sexe masculin et féminin, et survient en moyenne vers l'âge de 20-30 ans. Les épisodes dépressifs y sont similaires à ceux observés dans la dépression majeure, et les périodes d'euphorie sont caractérisées par une hyperactivité, une expansion sociale inhabituelle, une perte du sommeil, et, dans les cas les plus graves, on peut observer des éléments délirants. Les épisodes de dépression ou d'euphorie, sont deux fois plus fréquents dans la psychose maniaco-dépressive que dans le cas de la dépression majeure. Ces maladies sont liées à des anomalies au niveau des systèmes monoaminergiques cérébraux, mais cela ne semble pas être le seul facteur explicatif.

6.1.3. Facteurs étiologiques génétiques :

La schizophrénie évolue généralement par épisodes successifs, et elle semble être la résultante d'au moins quatre groupes de facteurs : génétiques, développementaux, biologiques et sociaux. Selon les résultats des dernières études effectuées sur l'étiologie de la schizophrénie, le développement de cette pathologie chez un individu donné relèverait de l'accumulation de plusieurs anomalies génétiques, mais aussi de plusieurs facteurs environnementaux.

En effet, les études génétiques réalisées sur des jumeaux monozygotes et dizygotes dont l'un des deux membres est schizophrène, montrent qu'il existe une composante **génétique** dans la maladie, mais que celle-ci n'est apparemment pas le facteur unique intervenant. Les résultats ont montré que la concordance, c'est à dire le fait de développer la même pathologie, dans le cas de la schizophrénie, est de 30 à 50% pour les jumeaux monozygotes, et de 15 % en ce qui concerne les jumeaux dizygotes (48). Ces derniers possèdent des patrimoines génétiques équivalents à ceux de deux enfants non jumeaux ayant les mêmes parents, alors que les jumeaux monozygotes ont des génomes quasiment identiques. Si la schizophrénie dépendait uniquement de la génétique, on devrait donc avoir une concordance avoisinant les 100% dans ce dernier groupe, ce qui n'est pas le cas. Les facteurs génétiques semblent être des éléments nécessaires mais pas suffisants pour entraîner le développement de la pathologie. Ces résultats ont été renforcés par des études effectuées sur des enfants adoptés à la naissance, ayant l'un de leurs parents biologiques schizophrène, et révélant des taux de prévalence avoisinant 10 à 15 % chez ces enfants, par rapport à des enfants adoptés ayant des parents biologiques non malades. Certains polymorphismes génétiques ont été mis en évidence, grâce à la biologie moléculaire, chez des patients schizophréniques, mais leur existence n'est pas retrouvée chez tous les patients. Les généticiens pensent qu'il existe probablement plusieurs gènes impliqués dans la schizophrénie lorsqu'ils sont altérés, mais que chacun a seulement un petit effet, qui pris isolément, n'a qu'un faible retentissement sur le comportement de l'individu. On parle dans ce cas de gènes de susceptibilité.

En 1977, Zubin et Spring ont instauré le concept de **modèle de vulnérabilité** dans la schizophrénie. Selon ce modèle, la schizophrénie est la résultante d'une interaction entre des facteurs environnementaux de « stress » (famille, travail, virus,...), et des facteurs de vulnérabilité biopsychologique existant chez un individu donné (altérations génétiques, dysfonctionnement neurologique des systèmes régulés par la dopamine). Ainsi, certains facteurs endogènes et exogènes pourraient agir sur le cerveau du fœtus lors de sa formation, puis une latence séméiologique s'installerait, et à un moment de la vie de l'individu, certains facteurs exogènes déclencheraient l'expression clinique de la schizophrénie. Des études plus récentes ont amené certains psychiatres à distinguer des

indicateurs de vulnérabilité (cognitifs, mais aussi psychobiologiques) chez des patients atteints de schizophrénie ou ayant un de leur parent schizophrène. Selon ces médecins, il y aurait même un **continuum** entre la dépression majeure et la schizophrénie, et les deux maladies ne seraient pas distinctes (130, 19). Mais cette théorie n'est pas acceptée par tous les neuropsychiatres. Selon Tim Crow (18), les psychoses représenteraient un continuum de la variation d'un seul locus du gène de dominance cérébrale, situé dans la région pseudoautosomale des chromosomes sexuels. Ce gène, directement impliqué dans les fonctions de parole et de communication de l'être humain, serait issu de l'évolution tardive du génome humain. La schizophrénie et la dépression majeure ne dépendraient pas de deux gènes distincts, mais d'une variation génétique d'un continuum. Ces dernières théories restent controversées, et dans l'état actuel des choses, nous retiendrons qu'il existe une implication génétique dans la schizophrénie, mais les circonstances exactes de son développement ainsi que sa localisation restent à éclaircir. Parmi les facteurs exogènes suspectés d'être impliqués dans la schizophrénie, les virus et les rétrovirus furent parmi les plus étudiés.

Tout comme pour la schizophrénie, il semble y avoir une forte prédisposition génétique pour les **désordres affectifs** (48). Les études réalisées sur des jumeaux monozygotes et dizygotes, révèlent un taux de concordance respectivement égal à 50 % et 10%. En ce qui concerne les études des enfants adoptés, la dépression est plus fréquente chez ceux dont l'un des parents biologiques était dépressif, que pour les enfants issus de parents non malades. De plus, on observe que les jumeaux monozygotes élevés dans des milieux séparés présentent des pourcentages de concordance identiques à ceux élevés dans un même milieu. De la même façon que pour la schizophrénie, le facteur génétique est essentiel, mais non suffisant, pour expliquer les désordres affectifs, et plusieurs gènes seraient impliqués, chacun ayant une petite action contribuant au développement de la maladie. Mais le poids des facteurs environnementaux semble aussi important, au vu des observations de ces dernières années. En effet, depuis 1940, on remarque que la moyenne d'âge de début de la pathologie a beaucoup reculé (28 ans au lieu de 35 ans), et de plus, l'incidence de la dépression dans les familles de patients a augmenté. Les désordres affectifs seraient liés à des anomalies au niveau de certains gènes de susceptibilité, déclenchées ou aggravées par des facteurs exogènes.

6.1.4. Autres facteurs étiologiques :

C'est en 1845, que l'éventualité d'une **composante infectieuse** dans les maladies mentales fut évoquée par le neurologue français Jean Esquirol, devant les constatations de plusieurs médecins selon lesquelles les maladies mentales avaient parfois un caractère épidémique (130). Au cours du vingtième siècle, la découverte du spirochète *Borrelia burgdorferi*, comme agent causal de la maladie de Lyme, renforça les recherches sur les agents infectieux et les maladies neuropsychiatriques. **Dans les années 1920**, l'épidémie de grippe raviva les esprits, car à l'issue de leur infection par le virus *Influenza A*, certains patients présentaient des signes proches de la schizophrénie ou de l'euphorie. **En 1926**, Menninger rapportait 175 cas de psychoses post-grippales (encéphalite léthargique), dont 77 ayant été diagnostiquées comme des schizophrénies (17). L'auteur concluait alors de ces différentes observations, que le syndrome schizophrénique représentait la psychose post-grippale la plus fréquente, qu'il avait lieu avec ou sans prédisposition génétique apparente, et que dans la plupart des cas, il se terminait dans une complète guérison. De même, les symptômes schizophréniques sont décrits comme étant une manifestation de l'encéphalite Vilyuisk observée dans la république de Yakut de l'ex-URSS, et attribuée à un *picornavirus* en 1993 (17). Dès lors, plusieurs autres auteurs considérèrent le fait que le virus grippal *influenza A*, ou d'autres agents viraux n'étaient pas une cause directe de la schizophrénie, mais qu'ils devaient être des facteurs impliqués dans le déclenchement du processus. Les premières expériences de mise en évidence directe d'une infection virale dans la schizophrénie eurent lieu **dans les années 1950**, et consistèrent en la recherche des particules virales dans le LCR, ou les sécrétions nasales de patients psychiatriques. La détection des Ag viraux et des Ac antiviraux, devint très vite le moyen le plus utilisé pour cette mise en évidence, et de nombreux virus furent recherchés, tels que le virus Herpes simplex de type 1, le cytomégalovirus, le virus Epstein Barr (EBV), le virus de la rougeole, de la rubéole, de la poliomyélite, de la grippe. Plus récemment, des virus d'origine animale, tels que le virus de la maladie de Borna furent recherchés. Compte tenu des résultats obtenus lors des études génétiques et des études virologiques, l'éventuelle relation entre une susceptibilité génétique et un agent étiologique spécifique tel qu'un virus a souvent été évoquée (126). Jusqu'à présent, bien qu'une étiologie virale soit fortement suspectée dans la schizophrénie et les troubles bipolaires, tout comme pour la sclérose en plaques ou la maladie de Parkinson, aucune étude n'a permis d'affirmer avec certitude, l'existence d'un lien entre un virus spécifique et ces maladies.

Les auteurs des différentes études ont proposé **plusieurs arguments** pour expliquer la difficulté de la mise en évidence de l'agent infectieux (130, 126) :

- 1) le fait que l'infection puisse avoir lieu in utero, ou pendant la période post-natale, l'agent infectieux disparaissant par la suite, pourrait expliquer la mise en évidence difficile de ce dernier, lors de l'apparition des signes 20 ou 30 ans plus tard. L'infection initiale par le virus entraînerait des changements neurochimiques ou encore un dérèglement auto-immun, dont les conséquences cliniques ne se manifesteraient que beaucoup plus tard.

- 2) un virus très courant pourrait être à l'origine du déclenchement d'une pathologie inhabituelle, comme on l'observe avec le virus de la rougeole, qui peut, dans certains cas, être à l'origine du développement d'une PESS (panencéphalite subaiguë sclérosante). Le fait que l'agent infectieux soit très répandu dans l'environnement, et que la majorité de la population y ait été exposée à un moment de sa vie, rendrait la mise en évidence difficile.

- 3) ces pathologies seraient peut être causées par un virus très rare, ou encore inconnu, qui resterait non identifié jusqu'à ce que l'on ait essayé de le détecter.

- 4) par analogie avec l'hépatite delta dont le déclenchement nécessite la présence du virus delta et du virus de l'hépatite B, la schizophrénie et les désordres affectifs pourraient être déclenchés par plusieurs virus agissant de façon synergique.

- 5) les virus ne seraient peut être impliqués que dans certains types de schizophrénie ou de dépression, et il faudrait donc des études concernant un grand nombre de patients pour identifier les personnes infectées.

- 6) un des derniers arguments évoqués est celui de l'existence de **rétrovirus**, qui s'intégreraient dans le génome humain, rendant l'utilisation des méthodes de détection classiques difficiles. Nous aborderons ce sujet dans les paragraphes suivants.

- 7) enfin, une distribution **très localisée**, ou encore un très **faible taux de réplication** pourrait expliquer la difficulté de mise en évidence des antigènes viraux ou du génome, comme c'est le cas pour le virus de la rougeole dans la PESS. C'est aussi le cas du virus de la maladie de Borna, dont le taux de réplication est très bas, et la mise en évidence difficile, comme nous allons maintenant le voir.

6.2. BDV : rôle éventuel dans les maladies neuropsychiatriques

Comme nous l'avons vu précédemment, la similitude entre les signes cliniques de la maladie de Borna observés chez l'animal et certains symptômes des maladies neuropsychiatriques humaines (dépression, ataxie,...), ainsi que l'étendue des différents hôtes possibles du BDV, ont amené les biologistes à rechercher ce virus chez l'homme, à partir des années 1980. Les résultats des différentes études de séroprévalence humaines sont difficiles à interpréter car non uniformisées. Les pathologies étudiées sont parfois mal définies, et les résultats controversés, mais il semble toutefois que la séroprévalence concernant les Ac anti-BDV et les Ag du virus soit plus élevée dans la population des patients souffrant de maladies mentales.

6.2.1. Les différentes pathologies évoquées :

Une étude multicentrique de Bode et al. effectuée en 1992 sur 3000 patients européens, Nord américains et africains, atteints de pathologies variées telles que la sclérose en plaques, les psychoses, le paludisme, la bilharsiose, le sida, l'infection par l'EBV, mit en évidence la présence d'Ac anti-BDV chez des enfants atteints du paludisme ou de bilharsiose, par la méthode d'immunofluorescence (65, 8). Les auteurs rapportèrent des taux de 8.3 % chez les enfants atteints de l'une ou l'autre de ses deux maladies parasitaires, et de 18.8. % chez les enfants atteints par les deux pathologies. En revanche, chez les sujets adultes, les taux d'Ac anti-BDV retrouvés étaient de 2 % pour les patients atteints de maladies psychiatriques, et de 13 % pour les personnes atteintes de sclérose en plaques, ou de sida associé à des lymphadénopathies. Chez les sujets du groupe témoin, le taux de séroprévalence était aussi de 2% environ. Les auteurs avaient alors émis l'hypothèse suivante : le virus de la maladie de Borna serait acquis de manière précoce au cours de la vie, il infecterait de façon latente une large population à travers le monde, et il serait réactivé au cours de certaines affections du système immunitaire, ou encore en association avec une maladie du SNC.

Une autre étude utilisant la méthode du Western blot dans la recherche des Ac anti-p40, p23, et gp18, chez 90 patients schizophrènes, et 20 sujets contrôles, montre que 14 % des schizophrènes ont des Ac spécifiques d'au moins deux de ces protéines virales (65). Les auteurs ont aussi observé que cette immunoréactivité était associée de façon

significative à une **anomalie morphologique cérébrale** visible à l'analyse par IRM, ainsi qu'à un diagnostic clinique de syndrome déficitaire, un sous-groupe de la schizophrénie, caractérisé par des dysfonctionnements neurologiques et des anomalies neuroanatomiques. Ces remarques confirment les conclusions de l'étude de Betcher et al. (6), selon lesquelles la présence des Ac anti-BDV et celle d'une atrophie cérébrale visible à l'IRM, seraient corrélées.

Comme nous l'avons abordé dans le chapitre traitant l'épidémiologie du BDV, les résultats de prévalence concernant la sérologie des Ac anti-BDV, fluctuent entre 1 % et 38 % selon les études et les méthodes utilisées, et une standardisation des moyens de détection et d'analyse seraient nécessaires pour clarifier les connaissances, et la relation avec les pathologies humaines. Néanmoins, au décours de leurs résultats, la majorité des différents auteurs, émirent l'hypothèse d'une implication potentielle du BDV dans deux catégories de pathologies psychiatriques humaines : la **schizophrénie** et les **désordres affectifs**, sans toutefois savoir dans quelle proportion l'une ou l'autre des pathologies serait la plus concernée. A priori, la schizophrénie, qui semble correspondre à une hyperactivité dopaminergique mésocorticolimbique, paraîtrait être plus proche des signes de la maladie de Borna observés chez les animaux que la dépression majeure ou bipolaire, d'un point de vue neurochimique.

Trois autres pathologies humaines d'origine apparemment infectieuse, présentent des caractéristiques encore plus proches de la maladie de Borna, et ont été suspectées d'être liées au BDV (65) :

- **l'encéphalomyélite de Vilyuisk** retrouvée chez certains sujets de la population Yakut en Sibérie, est à l'origine d'une encéphalite causant des séquelles psychiatriques, des troubles du mouvement, ainsi que de l'obésité;
- **l'encéphalite de Bojinov**, décrite dans les années 1960 en Bulgarie, est une pathologie sporadique entraînant une psychose transitoire, des dysfonctionnements intellectuels, et des troubles du mouvement;
- **l'encéphalite léthargique**, décrite en 1917, était une pandémie affectant des milliers de personnes de part le monde, et causant un syndrome parkinsonien, associé à des troubles du mouvement et du comportement similaires à ceux retrouvés dans la maladie de Borna.

Mais du fait de la rareté des deux premières pathologies, et de l'ancienneté de l'encéphalite léthargique, il s'est avéré difficile d'attribuer un rôle précis au BDV dans ces pathologies.

6.2.2. BDV et pathologies neuropsychiatriques :

Certains auteurs ont étudié le lien éventuel entre le BDV et les épisodes aigus des pathologies psychiatriques. Ainsi, après avoir mis en évidence des taux d'Ac viraux avoisinant les 30 % chez les patients atteints de dépression majeure, Bode et al. ont recherché en 1995, les Ac anti-BDV sérologiques par immunofluorescence, ainsi que les Ag du virus dans les cellules sanguines périphériques par cytofluorimétrie, mais aussi l'ARN spécifique du BDV dans ces mêmes cellules, grâce à la technique de RT-PCR (11), chez 6 patients ayant des pathologies bien définies. Cette dernière découverte, bien qu'ayant été ensuite remise en question (90) par d'autres auteurs (suspicion de contamination des échantillons analysés par de l'ARN viral animal) représentait alors la première preuve définitive de l'infection humaine par le virus animal, ou par une souche virale spécifique de l'Homme. Les 6 patients avaient été sélectionnés pour leur taux élevé d'Ag viraux, parmi deux cohortes de patients regroupant des malades psychiatriques chroniques ou aigus, dont le statut Ag et Ac avait été analysé plusieurs fois sur une période de un an, au cours d'une précédente étude réalisée à Berlin. L'étude de Bode et al. regroupait donc 4 patients atteints de pathologies psychiatriques à caractère plutôt aigu (3 patients atteints de dépression majeure et un patient atteint de "crise de panique") qui furent hospitalisés pendant l'épisode aigu, ou 6 semaines après le début de celui-ci; et 2 sujets atteints d'une pathologie psychiatrique chronique depuis une quinzaine d'années. En parallèle, 10 donneurs de sang en bonne santé et randomisés furent pris comme témoins, et dans aucun des cas l'ARN de BDV ne fut détecté. De plus, l'utilisation des sondes de RT-PCR de l'essai sur le sérum de chevaux morts de la maladie de Borna permit la détection d'ARN du virus, et montra la fiabilité des résultats. Ces derniers montrèrent que la présence des Ag et de l'ARN viraux semblaient coïncider avec les épisodes aigus des pathologies psychiatriques, et diminuer au cours des phases de rémission ou lors de l'atténuation des symptômes. En revanche, lors d'une infection à caractère chronique, les auteurs ont observé des taux plus ou moins constants de ces deux marqueurs. Ces constatations renforcent donc l'hypothèse d'une implication du BDV préférentiellement dans les maladies affectant le **système limbique**, comme l'avaient déjà suggéré les résultats sérologiques (11).

6.2.3. Relation avec les signes négatifs de la schizophrénie :

L'étude d' Iwahashi et al. (44), réalisée en 1998, montre que le BDV serait associé avec les symptômes négatifs de la schizophrénie. Les auteurs ont recherché les Ac anti-BDV spécifiques de la protéine p24 par la méthode du Western blot, et l'ARN viral des cellules sanguines périphériques par la RT-PCR, chez 67 patients schizophrènes. L'analyse des taux d'Ac et d'ARN chez ces patients révéla alors une prévalence de 45%, contre 0 % chez les 31 personnes appartenant à l'équipe médicale du même hôpital psychiatrique, prises comme groupe témoin. Ils ont tout d'abord essayé de rechercher une relation entre l'infection par le BDV et le parcours clinique des patients (âge de début de maladie, durée d'hospitalisation...), les doses de neuroleptiques administrées, les maladies somatiques associées (diabète, hépatite, antécédent de tuberculose, de transfusion sanguine,...), ou encore la possession d' animaux domestiques (chat, bétail, cheval) (43). Les résultats de l'étude ne révélèrent aucun lien apparent entre ces différents facteurs et l'infection par le virus de la maladie de Borna. Les analyses des échantillons sanguins des patients furent effectuées plus de deux fois chacune, afin d'exclure d'éventuels résultats positifs non spécifiques. Selon plusieurs auteurs (44), le syndrome positif de la schizophrénie pourrait être considéré comme un aspect de l'hyperactivité dopaminergique, ayant généralement une bonne sensibilité aux traitements antipsychotiques, tandis que les signes négatifs de la pathologie seraient plutôt associés à un déficit cérébral structural, impliquant une relative résistance aux neuroleptiques, et un pronostic moins bon. **Dans un deuxième temps** , Iwahasha et al. ont donc essayé d'étudier la relation entre l'infection par le BDV et la nature des signes observés chez les patients, en se basant sur l'échelle des symptômes positifs et négatifs (PANSS). Cette dernière est divisée en plusieurs items pour chacune des deux catégories de signes, et les patients sont évalués en fonction de chacun de ces items. Les auteurs ont observé une différence significative entre la prévalence de personnes ayant des Ac anti-p24, et celle des sujets n'ayant pas ces Ac, dans le groupe de patients présentant des signes majoritairement déficitaires. L'étude de ces différences pour chaque item permet aux auteurs d'émettre l'hypothèse d'une éventuelle association entre le BDV et une dominance des signes négatifs de la schizophrénie chez certains patients. Mais d'autres études, comprenant plus de sujets sont nécessaires pour étudier les éventuelles relations entre le BDV et l'apparition de certains types de symptômes de la schizophrénie, et de clarifier les éventuels mécanismes impliqués dans ce phénomène.

6.2.4. BDV et cellules sanguines périphériques :

La première mise en évidence d'Ag viral au niveau des cellules sanguines périphériques humaines réalisée par Bode et al. en 1995 (109), fut suivie de nombreuses recherches du même type menées par d'autres équipes. Comme nous l'avons déjà abordé, certains laboratoires publièrent des taux de prévalence compris entre 30 et 50 %, mais ces différents résultats furent controversés par des auteurs ayant échoué dans cette recherche, ou encore, comme Richt et al. (94, 39), ayant obtenu des résultats discordants après avoir fait réaliser des analyses par deux laboratoires différents. Les différences majeures observées étant apparemment liées à des problèmes de contamination des échantillons lors de l'isolement et de l'amplification de l'ARN des cellules sanguines périphériques, plutôt qu'à un manque de sensibilité de la RT-PCR, les auteurs des études les plus récentes ont donc redoublé de précautions pour limiter les risques d'erreurs dans les résultats (109). L'équipe de Planz et al. mit tout d'abord en évidence en **1998** (83), la présence d'ARN du BDV (des protéines p24 et p40) dans les cellules sanguines périphériques d'un patient atteint de schizophrénie sur une période de 8 mois, montrant ainsi la possible persistance du virus dans l'organisme humain sur une longue période. Pour écarter toute contamination éventuelle lors de l'analyse des échantillons, l'isolement de l'ARN et l'amplification par RT-PCR furent effectuées dans deux laboratoires différents. Toutefois, ces résultats ne permettent pas de conclure quant à un lien de causalité entre le virus et les signes cliniques de la schizophrénie, le virus n'ayant pas été recherché et détecté simultanément dans le cerveau du patient. **En 1999**, la même équipe publia (82) une étude montrant la détection par la technique de RT-PCR, d'ARN spécifique du BDV majoritairement dans la **fraction granulocytaire** des cellules sanguines périphériques. Les auteurs ont pour ceci analysé des échantillons sanguins du patient de leur première étude, ainsi que ceux de deux autres patients schizophrènes s'étant révélés positifs à la détection d'ARN par RT-PCR. Les résultats ont ainsi montré que la fraction de cellules contenant majoritairement des cellules granulocytaires représentait le vecteur majeur de l'Ag p40 du BDV. Toutefois, cette fraction renfermant aussi quelques autres types de cellules, on ne peut pas exclure la présence du BDV dans certaines subpopulations cellulaires sédimentant avec les granulocytes (82).

Actuellement, on ne sait pas si l'expression de l'Ag viral par les polynucléaires neutrophiles est consécutive à une infection directe des ces cellules par le virus, ou si elle découle d'une phagocytose de cellules infectées ou de particules virales libres. Cette dernière éventualité semblerait être la plus plausible du fait de la présence possible de polynucléaires au niveau cérébral, et de leur capacité à phagocyter des virions. Ainsi, l'existence d'une fraction unique exprimant l'Ag du BDV et le faible nombre de cellules

concernées expliqueraient la difficulté à mettre en évidence les Ag viraux au niveau des cellules sanguines périphériques. Les auteurs ont aussi noté que lors de l'analyse d'une population de cellules sanguines mononucléaires contenant 20 % seulement de granulocytes, le résultat de la RT-PCR est négatif, ceci suggérant que les cellules granulocytaires ne renferment pas toutes le virus. Les auteurs ont alors essayé d'isoler le virus de ces cellules granulocytaires, et ils ont ainsi obtenu un virus baptisé RW98, identifié comme étant une souche du BDV, et pouvant être clairement différenciée de la souche virale utilisée en laboratoire, tout comme de la souche virale animale (souche V). De plus, l'analyse de la séquence d'ARN de la souche RW98, montre 100 % d'homologie avec les produits de la PCR obtenus à partir du sang des patients (82).

Paradoxalement, chez les patients possédant des Ag viraux au niveau des cellules sanguines, on note une absence d'Ac spécifiques du BDV. En extrapolant les résultats observés chez le rat à l'homme, les auteurs ont émis l'hypothèse suivante : les Ag viraux seraient retrouvés de façon préférentielle dans les cellules sanguines périphériques des patients ayant un déficit au niveau de leur potentiel immunitaire humoral ou cellulaire contre le BDV. Ainsi, les patients présentant un statut immunitaire déficitaire ou affaibli par certaines pathologies ou traitements auraient une diffusion virale périphérique. Toutefois, il faut noter que la détection d'Ag viraux dans les cellules périphériques sanguines paraît indépendante de la situation au niveau du SNC, car dans plusieurs modèles animaux, dont celui du rat nouveau-né infecté présentant une réaction de tolérance, on observe une charge virale très faible au niveau des cellules sanguines, contrastant avec une expression massive du BDV dans le SNC (33).

Malgré toutes les précautions prises à l'égard des risques de contamination de laboratoire, la polémique concernant la mise en évidence d'ARN viral dans les cellules sanguines périphériques persiste, probablement du fait de la non standardisation des méthodes de RT-PCR, mais aussi du volume des échantillons utilisés pour les études.

6.2.5. Autopsies humaines :

En 1998, deux équipes ont essayé de détecter des Ag viraux au niveau du matériel d'autopsie de SNC humain. Ainsi, l'équipe japonaise de Nakamura et al. publia les résultats de l'analyse d'échantillons cérébraux de 4 patients schizophréniques, en 1998 (74). Les auteurs mirent en évidence, par RT-PCR, la présence d'ARN de BDV dans le cerveau de l'un des quatre patients, et ce uniquement dans certaines régions du cerveau : **l'hippocampe, le cervelet, et le pont**. Ils observèrent une inflammation périvasculaire au niveau de l'hippocampe contenant l'ARN viral. De plus, les auteurs pratiquèrent une injection intra-cranienne d'homogénat de cervelet et d'hippocampe de ce patient à des musaraignes sensibles au BDV, et ils purent détecter l'ARN viral au niveau de ces animaux 20 jours après l'inoculation, par RT-PCR. A la même période, De la Torre et al. (33), détectaient l'ARN viral chez 4 de leur 5 cas d'études autopsiques. Ces auteurs avaient auparavant choisi 5 cas parmi une banque d'autopsie du SNC contenant plus de 600 cas présentant des lésions de l'hippocampe et une gliose astrocytaire, données histopathologiques les plus proches de celles observées chez les animaux infectés de façon persistante. Les 5 cas étudiés avaient une histoire clinique de désordres mentaux, de syndrome dépressif et de perte de mémoire, et présentaient une sclérose de l'hippocampe et une gliose astrocytaire. L'analyse de ces échantillons fut effectuée en parallèle à celle d'échantillons de cas témoins. Elle révéla des Ag (protéines et ARN) viraux dans 4 cas sur 5, et tous les témoins furent négatifs.

6.2.6. Conclusion :

A l'issue de ces différents résultats, on peut donc dire qu'il existe un consensus concernant la possibilité d'une infection de l'Homme par le BDV, toutefois les données épidémiologiques et cliniques de cette infection humaine restent controversées (47). Dans l'histoire de la recherche du BDV chez l'homme, seulement deux études multicentriques ont jusqu' alors étaient menées, visant à détecter les Ac anti-viraux au niveau du sérum de patients atteints de différentes pathologies, et celles ci n'ont toutefois pas permis l'obtention de résultats clairs et définitifs. La première citée au paragraphe 6.2.1., fut réalisée en Allemagne par Bode et al. en 1992 (65) grâce à la technique d'immunofluorescence, sur des patients atteints de pathologies variées : les résultats de séroprévalence ne furent pas significativement plus élevés dans le groupe des patients psychiatriques, que dans le groupe témoin (2% dans les deux groupes). La deuxième, fut réalisée au Japon en 1999, grâce à la nouvelle technique ECLIA : elle mit

en évidence des taux de séroprévalence significativement supérieurs dans les groupes des patients schizophrènes (3.08%) et des patients dépressifs (3.59%), par rapport au groupe des donneurs de sang (1.09%) pris comme témoin. Toutefois, ces résultats ne permettent pas de conclure précisément quant à une implication du BDV dans l'étiologie de la schizophrénie (129).

D'autres études multicentriques de ce type, utilisant des prélèvements sanguins suffisamment conséquents sont donc nécessaires, mais celles-ci ne sont pas faciles à réaliser du fait de la santé des patients étudiés, et du nombre important de prélèvements devant être réalisés. Certains médecins considèrent l'état de santé des patients psychiatriques trop précaire pour supporter de tels examens (109).

6.3. Essais thérapeutiques :

En ce qui concerne les essais thérapeutiques dans l'infection par le BDV, deux molécules ont jusqu'alors été testées : l'amantadine, et la ribavirine.

6.3.1. L'amantadine :

Initialement, l'amantadine était utilisée pour son activité antivirale sur le virus grippal *Influenza A*, puis plus récemment, dans le traitement de la maladie de Parkinson. L'équipe de Bode et al. (7) étudia tout d'abord, en 1996, l'activité de l'amantadine in vitro, et observa une inhibition dose-dépendante de la réplication virale, et une clairance de l'infection par le BDV dépendante du temps. En effet, le pré-traitement de cellules cérébrales de jeunes lapins par de l'amantadine (0.019 µg/ml de sulfate d'amantadine pendant une heure), avant leur infection par une souche humaine de BDV (BDV-HU-HI), entraîna une inhibition du développement viral de 50%. Cette inhibition était dose-dépendante, et elle atteignait son maximum pour un taux sanguin de 0.1 µg/ml (10% de la dose recommandée dans le traitement de l'infection par le virus *Influenza A*), avec une inhibition de 80-90%. De plus, les auteurs ont observé, chez des cellules de l'oligodendrogliose infectées par cette même souche, après traitement par l'amantadine (taux sanguin de 1.2 µg/ml) pendant 7 jours, une élimination de l'infectivité au bout de 2

jours de traitement. En 1997, cette même équipe testa l'activité in vivo de l'amantadine, sur une patiente âgée de 67 ans, atteinte de psychose maniaco-dépressive depuis 1985, et d'une maladie de Parkinson depuis 1991. Cette patiente, sous traitement antidépresseur (60 mg par jour de miansérine) et normothymique (1050 mg de valproate de sodium par jour) depuis 1991, présentait des épisodes dépressifs graves en moyenne deux fois par an, d'une durée de 3 mois environ et nécessitant une hospitalisation systématique. En mai 1996, 3 mois après le début de son dernier épisode dépressif, les auteurs détectèrent des Ag du BDV au niveau des cellules sanguines périphériques de leur patiente, et ils instaurèrent un traitement par sulfate d'amantadine 9 jours plus tard par voie orale (50-100 mg par jour pendant 3 jours, puis 200 mg par jour pendant 6 semaines et 100 mg par jour pendant 14 semaines, puis 200 mg jusqu'à la fin du mois de novembre 1996). Entre le huitième et le onzième jour de traitement, la dépression s'améliora, et à partir du quinzième jour, et ce jusqu'à la date de publication des résultats, c'est à dire plus de 7 mois après le début du traitement, la patiente ne présenta plus jamais aucun signe de dépression ou d'euphorie. Les Ag protéiques de BDV furent éliminés au bout de 2 semaines de traitement, et l'ARN viral, 6 semaines après le début de l'administration d'amantadine, et ce de façon constante sur une période d'observation de 24 semaines. En revanche, la maladie de Parkinson ne fut pas influencée par le traitement. Les auteurs suggérèrent après cette expérience que l'effet antidépresseur de l'amantadine était lié à son activité antivirale sur le BDV, l'amélioration de la dépression bipolaire récurrente depuis 11 ans, étant parallèle à l'élimination de l'infection par le BDV (7).

Mais une autre étude, publiée en 1998 par Stitz et al., infirme ces résultats (121), les auteurs ayant obtenu des résultats négatifs quant à l'activité in vivo et in vitro de l'amantadine sur le développement du BDV. Leurs expériences portaient sur des cellules de différentes origines infectées par le BDV (souche non humaine), et ne révélèrent pas de diminution générale du titre viral. In vivo, ils étudièrent l'effet de l'administration de l'amantadine, par différentes voies (pompes osmotiques et voie orale), avant l'infection par le BDV, et n'observèrent aucun effet sur le délai d'instauration de la maladie, les titres d'Ac antiviraux, la sévérité de l'inflammation cérébrale, ou encore celle des signes neurologiques. L'efficacité antivirale de l'amantadine dans l'infection par le BDV reste donc controversée, tout du moins en ce qui concerne les souches animales du virus.

Une étude de Dietrich et al., effectuée sur 26 patients souffrant de dépression et infectés par le BDV, montre une amélioration de l'état dépressif sous traitement par amantadine (109). De même, une étude de Ferszt et al. (29), publiée en 1999, a montré une efficacité de l'amantadine sur 19 des 30 patients atteints de dépression majeure et infectés par le BDV observés sur une période de 12 semaines. Les Ag du BDV étaient initialement retrouvés chez l'ensemble des sujets de l'étude, et après traitement, les

auteurs ont noté une élimination du virus chez tous les participants. Toutefois, seuls les patients répondeurs à l'amantadine présentaient une diminution significative des taux viraux (29). Mais, du fait des difficultés causées par la détection du BDV chez l'Homme, comme nous l'avons vu précédemment, il paraît légitime de se demander si cet effet est réellement lié à l'activité antivirale de l'amantadine, ou à une action antidépressive intrinsèque de cette molécule. D'autres expériences sont nécessaires pour confirmer l'éventualité d'une sensibilité spécifique des souches de BDV issues d'isolats humains, à l'amantadine. Dans l'hypothèse d'une réelle activité antivirale de l'amantadine, celle-ci serait liée à une interaction avec la glycoprotéine gp18, étant donné ses séquences neutralisantes (dérivés carbohydrates et structure tétramérique) propices à une action neutralisante de l'amantadine. Cette protéine serait donc analogue à la protéine M2 présente chez le virus grippal *Influenza A* et impliquée dans l'activité antivirale de la molécule (7).

6.3.2. La ribavirine :

En 1998, l'équipe de Mizutani (71, 47) montrait à l'issue de ses expériences utilisant la RT-PCR, que le traitement par la ribavirine était à l'origine d'une diminution des taux d'ARN dans une lignée cellulaire non neurale infectée par la souche virale de BDV He/80. Ces résultats furent confirmés, en février 1999, par la publication de Jordan et al. (47) montrant les résultats d'une expérience dont le but était de détecter d'éventuelles molécules antivirales efficaces contre le BDV, réalisée avec 10 analogues nucléosidiques sur les deux souches virales de laboratoire les mieux caractérisées, la souche V et la souche He/80, infectant deux lignées cellulaires différentes : la lignée oligodendrocytaire humaine (OL) et la lignée gliale du rat (C6). Parmi les 10 molécules testées, seule la ribavirine s'est avérée avoir une activité antivirale significative, induisant une diminution des taux viraux. Les auteurs traitèrent ensuite des groupes de cellules OL infectées par la souche V et de cellules C6 infectées par la souche He/80 par de la ribavirine, en parallèle à deux groupes traités par de la 2',3'-dideoxynosine, analogue nucléosidique n'ayant montré aucune activité antivirale. Les résultats montrèrent une diminution rapide des titres et des transcrits viraux au niveau des cellules traitées par la ribavirine. La réduction des titres viraux était de plus de 90% pour les cellules OL, au bout de 3 jours de traitement, et elle restait à ce niveau à la fin des 12 jours de la période d'étude; au niveau des cellules C6, cette diminution atteignait 97%; les taux d'ARN viraux étaient réduits de 60% et 80% respectivement pour les

deux lignées cellulaires. L'étude de la cinétique de réduction de l'activité antivirale mit en évidence une baisse de 20% des titres viraux en 6 heures, de 85% en 12 heures, et de 97% 24 heures après le début du traitement par la ribavirine. Les auteurs recherchèrent une explication au fait que la souche HE/80 infectant les cellules C6 soit légèrement plus sensible que la souche V dans les cellules OL, et pour ceci, ils infectèrent les cellules OL par la souche HE/80, et les cellules C6 par la souche V, puis les traitèrent de la même façon par la ribavirine. Les résultats montrent une inversion des valeurs par rapport à celles observées précédemment : la souche He/80 qui paraissait plus sensible à la ribavirine dans la première expérience s'avère être moins inhibée que la souche V dans ce cas. Ceci suggère donc l'hypothèse selon laquelle l'activité potentielle de la ribavirine serait déterminée en partie par les interactions hôtes-virus.

6.3.3. Mode d'action de la ribavirine sur le BDV:

Le mode d'action de la ribavirine, analogue de structure de la guanosine, consisterait en fait en une inhibition de l'activité enzymatique de l'inoside monophosphate (IMP) déshydrogénase, bloquant la formation du précurseur du guanosine tri-phosphate (GTP) à partir de l'IMP, et indirectement la biosynthèse du GTP (82). Cette diminution des taux de GTP intra-cellulaires serait à l'origine de l'inhibition du développement viral, par deux mécanismes : l'altération de la transcription virale, et d'autre part, l'inhibition de la guanylation de la coiffe des ARNm après leur phosphorylation en 5', nécessaire à la traduction des transcrits en protéines virales. L'action conjuguée de ces deux mécanismes, est donc à l'origine d'une diminution de la quantité d'ARNm viraux fonctionnels, et donc de l'inhibition de la réplication du virus dans les cellules infectées. L'existence d'une interférence entre la ribavirine et le GTP a aussi été montrée dans d'autres systèmes viraux comme chez le *paramyxovirus*, et dans ces systèmes, l'ajout de guanosine, mais pas celui d'adénosine est à l'origine d'une inhibition de l'effet de la ribavirine sur le développement viral. Dans le cas du BDV, les auteurs ont constaté les mêmes faits : en présence de guanosine, l'activité antivirale de la ribavirine est nettement diminuée. La ribavirine semble donc avoir une action sur le développement de plusieurs souches virales dans deux lignées cellulaires neurales issues d'espèces différentes, et dans une lignée cellulaire non neurale. Toutefois, l'utilisation in vivo n'a pas été testée dans ces expériences, et les auteurs laissent supposer que l'effet de la ribavirine sur des animaux infectés ne serait peut être pas forcément bénéfique dans le cas de la maladie de Borna. En effet, cette molécule est depuis peu connue comme

entraînant une stimulation de la réponse des lymphocytes Th1; or dans la maladie de Borna, la sévérité de la pathologie semble directement corrélée à l'action exacerbée de ces lymphocytes. En clinique, la ribavirine est utilisée dans le traitement de l'hépatite C (en association à l'interféron alpha) et son activité serait liée à cette dernière action. Comme nous l'avons vu au chapitre 5, l'injection de ces cellules lymphocytaires T CD4⁺ avant l'infection par le BDV serait à l'origine d'une augmentation de la mortalité et de la morbidité. Par conséquent, l'effet thérapeutique de la ribavirine in vivo est difficile à prévoir, celui-ci dépendant du rapport entre l'importance de la stimulation des lymphocytes Th1 et celle de l'activité antivirale de la molécule, résultant en un effet curatif ou aggravant de la maladie.

6.4. Les théories rétrovirales : vers de nouvelles perspectives étiologiques de certaines maladies humaines

6.4.1. Les rétrovirus endogènes humains :

Depuis une dizaine d'années, les recherches dans le domaine des rétrovirus humains ont connu un regain d'intérêt, du fait des avancées dans le domaine du sida et de l'acquisition de techniques d'études plus perfectionnées. Parmi ces rétrovirus, certains, ayant été intégrés dans le génome humain il y a des millions d'années, constituent des rétrovirus endogènes. Ces derniers possèdent des génomes similaires en taille à ceux des rétrovirus exogènes. De même, leurs structures génétiques sont comparables, elles comprennent des séquences régulatrices flanquantes (LTR), un domaine *pol* codant pour une polymérase virale, un domaine *gag* codant pour les protéines fonctionnelles virales, et un domaine *env* codant pour l'enveloppe virale. Toutefois, ces différentes régions présentent certaines altérations ne permettant pas aux rétrovirus endogènes de produire à eux seuls des particules virales complètes et fonctionnelles. Les éléments rétroviraux endogènes humains (HERV), représentent 1 à 2 % du génome humain, et les éléments nucléaires courts dispersés, SINE et LINE, constituent une part encore plus importante de celui-ci, mais leur intérêt biologique reste assez peu connu (70). La présence de la plupart de ces éléments n'a probablement pas d'effet majeur, mais certains seraient peut être impliqués dans les processus physiologiques ou pathologiques de l'organisme. En

effet, les séquences rétrovirales peuvent interagir avec des proto-oncogènes cellulaires, et les LTR peuvent exercer une activité régulatrice de promotion ou d'inhibition des gènes cellulaires. Ces séquences rétrovirales endogènes peuvent s'exprimer dans l'organisme sous forme d'ARNm, ou de protéines; on retrouve ces formes d'expression de façon importante dans le placenta, ou encore dans certaines cellules tumorales. Dans la plupart des cas, ces séquences sont défectueuses et n'ont aucune activité notable. Ainsi, l'influence pathogénique rétrovirale serait la conséquence soit d'une infection exogène, comme c'est le cas lors de l'infection par le virus d'immunodéficience humaine (HIV), soit d'une activation d'éléments endogènes comme pour la tumeur mammaire de souris. Ces dernières constatations ont amené les scientifiques à rechercher un éventuel rôle de ces séquences rétrovirales endogènes dans les pathologies humaines (50).

6.4.2. Rétrovirus et pathologies auto-immunes :

Les rétrovirus endogènes ont été classés en différents groupes dont l'HERV-E, l'HERV-H, l'HERV-I, l'HERV-R, l'ERV-9. Récemment, l'HERV-K (caractérisé par un site de liaison lysine pour le premier ARNt) a été étudié à la suite de la découverte de sa capacité codante pour un superantigène, qui serait lui-même impliqué dans le diabète de type I. En effet, cet autoantigène a été détecté chez les patients atteints de diabète insulino-dépendant, et les auteurs ont émis l'hypothèse selon laquelle une susceptibilité génétique pour cette pathologie serait liée la présence de l'HERV-K, ou encore à une variation de son expression (70). Les éléments du groupe des HERV-K diffèrent un peu des autres HERV, de part leur aptitude à coder pour des protéines enzymatiques fonctionnelles, mais aussi pour des particules virales et des antigènes autoimmuns, témoignant de la conservation de leurs fonctions rétrovirales. Selon les études récentes de Medstrand et al., certains HERV, et notamment les HERV-K auraient été intégrés relativement récemment dans l'évolution des primates, et ils représenteraient des sources éventuelles de variation génétique, impliquées dans le développement de pathologies d'origine génétique. Le LTR de la famille HERV-K, situé au niveau du locus HLA-DQB1, a été associé à la polyarthrite rhumatoïde. De même, le SINE-R-C2, dérivé du LTR HERV-K, serait impliqué dans le développement de la dystrophie musculaire de Fukuyama.

6.4.3. Rétrovirus et schizophrénie :

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe 6.1.4., devant la difficulté de la mise en évidence des agents infectieux susceptibles d'être impliqués dans la schizophrénie, certains auteurs ont émis l'hypothèse de l'intervention d'un rétrovirus dans le déclenchement de la pathologie. En 1984, T.J. Crow (17) soulignait différents faits:

- l'existence d'une **prédisposition génétique** apparente dans la schizophrénie, dont le mode de transmission et les caractéristiques sont encore peu clairs, du fait des taux de discordance observée chez les jumeaux monozygotes, de l'âge d'entrée dans la maladie, de l'évolution par épisodes, et de la persistance de taux d'incidence stables, malgré une diminution de la fertilité chez les patients atteints de schizophrénie ou de troubles affectifs.
- la capacité de **certains virus** à déclencher des syndromes de type schizophrénique (17) mise en évidence par plusieurs auteurs.
- la possible relation entre le développement de la schizophrénie et une **interaction gène-virus**; toutefois, selon les résultats d'études effectuées au sein de familles ayant un ou plusieurs membres schizophrènes, la transmission horizontale du virus semble impossible. En effet, chez deux membres schizophrènes d'une même fratrie, issus des mêmes parents, le début de la pathologie n'a pas lieu au même moment dans le temps, mais si on prend en compte l'âge du déclenchement de la maladie chez chacun des patients, celui-ci est voisin.
- une alternative possible à l'interaction gène-virus serait l'existence de l'intégration d'un virus dans le génome humain sous une forme latente (**pro-virale**), s'exprimant par une pathologie à l'âge adulte. Ce virus pourrait appartenir à la classe des rétrovirus, et serait donc intégré dans le génome humain, expliquant la transmission verticale observée.
- le rétrovirus interagirait avec un **proto-oncogène**, qui contribuerait au développement de l'asymétrie des hémisphères, observée dans la schizophrénie. Ce proto-oncogène cellulaire serait un déterminant de la latéralité manuelle, et représenterait le site d'intégration du virus de la schizophrénie.

Selon ce concept, la schizophrénie pourrait se développer par trois mécanismes distincts:

- par héritage du provirus intégré dans le génome humain d'un parent schizophrénique, ou qui tout du moins possède cette prédisposition génétique;
- par héritage de ce même provirus, mais ayant été modifié dans le temps, d'un parent atteint de psychose maniaco-dépressive;
- ou encore par infection in utero par ce rétrovirus.

Ainsi, un rétrovirus intégré dans le génome humain serait à l'origine de la transmission au delà des générations, d'une susceptibilité à la schizophrénie, et peut être aussi à la psychose maniaco-dépressive.

Les recherches de certains auteurs ayant continué dans cette voie, l'hypothèse de l'intervention d'un rétrovirus endogène dans le développement de la schizophrénie est actuellement étudiée (54, 78). Les modifications anatomiques cérébrales observées chez les schizophrènes sont situées au niveau des régions ayant évoluées le plus récemment dans l'histoire du développement cérébral des primates, et consistent en une asymétrie cérébrale spécifique (augmentation de la corne temporale et légère diminution du lobe temporal, ceci uniquement du côté gauche) (18). Certains auteurs ont montré que la latéralité manuelle était liée à une asymétrie cérébrale dans certains cas (17). En 1998, Laval et al. (78), mettaient en évidence une relation existant à la fois entre la schizophrénie et les degrés de latéralité manuelle, et une région chromosomique Xq21.3. Cette dernière contient un bloc d'homologie avec le bras court du chromosome Y, issue d'une transposition ayant eu lieu lors de la séparation des lignées aboutissant au chimpanzé et à l'*Homo sapiens*. Cette relation entre schizophrénie et Xq21.3, semble faible, mais elle est compatible avec l'hypothèse selon laquelle cette région renfermerait un gène codant pour l'asymétrie cérébrale, et qu'il serait aussi en faveur d'une prédisposition génétique à la psychose. En 1999, l'équipe de Kim et al. étudia l'ADN du matériel autopsique (cortex frontal) d'un jeune patient schizophrène âgé de 34 ans s'étant suicidé, et mit en évidence certaines séquences particulières, détectées au niveau de la région Xq21.3. Les auteurs comparèrent ces isolats à deux séquences : HS307 et HS408, situées au niveau de la région Xq21.3, ayant une forte homologie (88%) avec les LTR des rétrovirus endogènes humains : HERV-K10, K18, et IDDMK1,2-22, mais surtout (90%) avec une famille dérivée de HERV, nommée SINE, représentée par le SINE-R-C2, et le SINE-R11. Les séquences isolées de l'ADN schizophrénique humain montraient environ 90% d'homologie avec les séquences HS307 et HS408, ou encore avec SINE-R-C2, ou SINE-R11. Les séquences SINE-R-C2, retrouvées uniquement dans le génome humain, semblent être apparues et s'être répandues dans le génome au moment de la séparation entre l'*Homo sapiens* et les grands singes (chimpanzé et gorille). Ces différents rétrovirus endogènes influenceraient l'expression du génome humain, comme l'ont décrit certains auteurs : par exemple, les LTR des HERV-K isolés ont la capacité de se lier aux protéines nucléaires des cellules hôtes, et donc d'influencer la régulation des gènes voisins; certains SINE auraient acquis un rôle de signal de transduction au cours de l'évolution des mammifères (54, 78). Les régions d'homologie observées au niveau du bras court du chromosome Y seraient issues d'une transposition de la région Xq21.3 au bras court, environ 5 millions d'années après la séparation des lignées qui

aboutit aux grands singes et à l'*Homo sapiens*. Cette transposition aurait eu lieu avec une inversion, entraînant la formation de deux blocs séparés par 3 mégabases sur le chromosome Y, caractéristique séparant l'*Homo sapiens* des autres primates. Certaines études de Crow montrent (78, 18, 20) que le gène de dominance cérébrale se situerait au niveau des chromosomes homologues X-Y, et plus précisément dans la région Xq21.3. Selon des études de relation, les séquences HS307 et HS408 seraient impliquées dans la génétique des psychoses et de l'asymétrie cérébrale, et le fait que l'on observe une forte homologie, mais cependant inférieure à 100% avec les séquences isolées chez le patient schizophrène, laisse à penser que l'une ou l'autre de ces séquences ne sont pas impliquées dans le processus de la schizophrénie. Après des analyses comparatives de l'ADN prélevé chez des jumeaux monozygotes discordants pour la schizophrénie, certains auteurs ont pu décrire une homologie entre les séquences de la famille des HERV-W, et celle des schizophrènes, et supposer une implication de ces séquences dans la maladie. Plus récemment encore, l'équipe de De-Rinker et al., a identifié lors de l'étude de trois paires de jumeaux discordants pour la schizophrénie, une séquence rétrovirale similaire à celle du rétrovirus associé à la sclérose en plaques (le MSR/V). Cette séquence fut baptisée **SZRV-1**, elle est retrouvée en copies multiples dans le génome, et elle a été localisée dans 6 locus chromosomiques différents. Ces dernières découvertes favorisent l'hypothèse selon laquelle une transposition rétrovirale au cours de la vie fœtale serait à l'origine d'une altération des gènes du neurodéveloppement, responsable de certaines pathologies, mais les implications directes dans la schizophrénie sont encore à définir.

La théorie rétrovirale de la schizophrénie, bien qu'apparemment prometteuse, nécessite donc d'autres études afin de préciser son rôle éventuel dans la prédisposition génétique pour cette pathologie.

6.4.4. Rétrovirus et sclérose en plaques :

La voie des rétrovirus est aussi étudiée dans la sclérose en plaques. En 1995, tout d'abord, Lefèbre et al. ont mis en évidence, à partir d'ARN isolé de patients atteints de sclérose en plaques, des séquences rétrovirales ayant des homologies avec certaines séquences de l'HERV-K10 (78). En 1997, un rétrovirus dénommé **MSRV** (multiple sclerosis associated retrovirus) a été retrouvé par l'équipe d'Hervé Perron (80, 50) dans des cultures de monocytes isolés à partir du liquide céphalorachidien (LCR) de patients atteints de la sclérose en plaques. Par la suite, cette découverte fut confirmée par

l'identification d'ARN encapsidé de ce rétrovirus dans le sérum de sujets atteints de la pathologie (78, 32). L'expression des séquences du MSVR dans des cellules placentaires permet leur étude et leur séquençage, et les auteurs baptisèrent cette nouvelle famille d'éléments endogènes rétroviraux humains : **HERV-W**. Cette famille serait en rapport avec les particules MSRV observées dans la sclérose en plaques, mais elle aurait aussi une relation avec d'autres états neuropsychiatriques (50). En 1999, cette même équipe précisa la localisation de l'élément rétroviral endogène **HER-W** dans une région de susceptibilité pour la sclérose en plaques (locus q du chromosome 7), et l'étude de cette séquence révéla une forte homologie avec les séquences *pol* de MSVR. L'HERV est depuis dénommé **HERW-7q** (i). Ce dernier possède des structures altérées (*gag*, *pol*), mais sa séquence *env* est très bien conservée, et pourrait avoir un rôle bénéfique pour l'Homme. L'hypothèse d'une implication de tout ou partie de ces éléments rétroviraux endogènes dans le mécanisme de la sclérose en plaques est depuis suggérée, et des programmes de recherche dans ce sens sont aujourd'hui lancés. Plusieurs études phylogénétiques mettent en évidence une récente variation de ses différents ERV, qui ne sont bien souvent retrouvés que chez les espèces de primates de l'Ancien Monde (et non chez les singes du Nouveau Monde). Ces sources potentielles de modifications génomiques pourraient donc être à l'origine d'une prédisposition génétique pour certaines maladies dont les étiologies apparemment multifactorielles restent à préciser, comme la sclérose en plaques, ou encore les maladies neuropsychiatriques. Simultanément, le professeur Rieger découvrait l'implication d'un facteur gliotoxique intervenant dans la destruction des cellules productrices des gaines de myéline entourant les nerfs. La présence du rétrovirus et de ce **facteur gliotoxique** sembleraient être corrélées. Ces différentes découvertes laissent donc présager de nouvelles perspectives dans la compréhension et la prise en charge de ces maladies dans les années futures.

7. Analyse bioclinique: techniques diagnostiques:

Les méthodes d'analyse bioclinique du BDV, peuvent être divisées en quatre groupes (109):

- les méthodes sérologiques;
- les méthodes de détection de l'acide nucléique;
- les principes de détection des Ag viraux;
- l'isolement du virus dans les cultures cellulaires ou chez les animaux.

L'isolement du virus dans des cultures cellulaires représente la méthode de certitude pour diagnostiquer une infection virale. Comme nous l'avons vu auparavant, le virus de la maladie de Borna se réplique à des taux très faibles dans les organismes infectés, et sa détection par la mise en évidence de l'ARN, ou encore de ses Ag s'avère difficile, et nécessite des méthodes sensibles tout en étant suffisamment spécifiques, afin d'éviter au maximum les faux-positifs. Les méthodes sérologiques restent les plus utilisées dans le diagnostic de l'infection par le BDV, du fait de leur relative facilité et rapidité.

7.1. Techniques d'analyse bioclinique sérologiques :

Les techniques sérologiques utilisées dans la détection des Ac anti-BDV sériques sont les suivantes :

- l'immunofluorescence indirecte (IFA);
- le Western blot (WB);
- la méthode ELISA;
- la technique ECLIA.

7.1.1. L'immunofluorescence indirecte :

La technique d'immunofluorescence indirecte utilisant des cellules infectées fut la première utilisée dans la détection des Ac anti-BDV chez l'homme, dans les années 1985. Cette méthode fut par la suite critiquée (33, 39), car elle peut être l'objet d'artéfacts expérimentaux faussant les résultats. En effet, on observe généralement de faibles taux d'Ac anti-BDV circulants chez les patients infectés par le BDV, et la sensibilité relativement faible de l'IFA n'apparaît pas la mieux adaptée à cette détection.

De plus, on note généralement chez les patients neuropsychiatriques, la présence d'une quantité importante d'auto-anticorps reconnaissant les structures nucléaires infectées, et pouvant donc entraîner des faux-positifs. Par conséquent, les résultats obtenus par l'IFA paraissent discutables quant à leur validité, si les études ne sont pas effectuées en parallèle à des contrôles adaptés, tels que le marquage des cellules non infectées par exemple (101, 33).

7.1.2. Le Western blot et la technique ELISA :

La technique du Western blot apparut comme étant plus fiable que l'IFA, et certains auteurs l'utilisèrent dans la recherche des Ac anti-BDV (101). Cet outil emploie des protéines recombinantes de BDV : p40, p24, et gp18 comme source d'Ag cibles permettant la détection des Ac anti-BDV sériques. Dans ce cas aussi, les taux d'Ac détectés chez les sujets positifs sont faibles, mais les auteurs précisent que l'existence de complexes immuns pourraient expliquer ce phénomène. Cette dernière technique, apparemment plus appropriée à la détection des Ac sérologiques anti-BDV, s'avère peu pratique à utiliser dans le cas d'échantillons humains très importants. La méthode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), plus facile et plus rapide à réaliser, a aussi été proposée dans la détection des Ac anti-p40 du BDV (27, 12). Les scientifiques utilisent là aussi des protéines recombinantes p40, p24, et gp18 comme Ag du BDV, et la technique ELISA s'avère être 10 à 100 fois plus sensible que l'IFA, et légèrement plus sensible que le Western blot dans la détection des Ac anti-BDV. De plus, elle permet l'analyse de centaines d'échantillons en quelques heures, alors que le Western blot nécessite en moyenne un à deux jours. Toutefois, jusqu'à présent, cette méthode a été surtout utilisée pour le diagnostic chez l'animal, et son application à l'Homme est peu répandue.

7.1.3. La technique ECLIA :

Récemment l'équipe japonaise de Yamagushi et al. a mis au point une nouvelle technique d'étude, l'ECLIA (electrochemiluminescence immunoassay), et a appliqué cette méthode dans une étude sérodiagnostique chez l'Homme et le cheval (129), deux espèces connues pour avoir de faibles taux d'Ac anti-BDV. Cet outil utilise uniquement les protéines recombinantes p40 et p23, et aurait la sensibilité et la spécificité nécessaire à une méthode de criblage sérologique mesurant les taux d'Ac anti-BDV dans des échantillons ayant de faibles taux mesurables. Le principe de cette technique consiste à incuber le sérum à analyser (pendant 9 minutes à 30°), avec un mélange de protéines p40 et p24 recombinantes et fixées à des billes. Après 3 lavages successifs de ces billes, des Ac anti-immunoglobuline G humaines (Ac monoclonaux de souris), couplés avec un marqueur, le $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ (ester de ruthenium (II) Tris (bipyridil)-N-hydroxysuccinimide), sont ajoutés et incubés pendant 9 minutes à 30°. Après trois lavages successifs, les Ac anti-p40 et p24 ainsi marqués et fixés sur les billes sont mis en contact avec une électrode, et le photon émis par le $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ est quantifié dans un détecteur ECLIA automatique. La spécificité de cet outil est contrôlée grâce à un test de confirmation consistant en une pré-incubation des échantillons analysés avec du sérum de lapin contenant des protéines recombinantes p40 et p24, et ce pendant un quart d'heure à température ambiante. Simultanément, un témoin est réalisé par du sérum de lapin non infecté et ne contenant pas de protéines recombinantes, incubé de la même façon avec des échantillons de sérum étudiés. La positivité du test est basé sur l'obtention de valeurs supérieures à un seuil limite au détecteur ECLIA, et sur une inhibition d'au moins 50% de ces valeurs au test de confirmation. Ainsi, la positivité à l'Ac anti-p40 et anti-p24, seuls ou couplés peut être détectée. Comme nous l'avons cité dans les paragraphes antérieurs, lors de leur étude, les auteurs japonais détectèrent des taux significativement plus élevés, chez les patients atteints de pathologies neuropsychiatriques (dépression majeure, psychose maniaco-dépressive, schizophrénie). En terme de spécificité, la technique ECLIA est supérieure au Western blot ou à la méthode ELISA, du fait de l'existence du test de confirmation permettant l'élimination des faux-positifs. En effet, l'utilisation d'*Escherichia coli* pour la synthèse des protéines recombinantes peut être à l'origine de la contamination des échantillons analysés par des composés de cette bactérie, et un test de confirmation est nécessaire afin d'écartier tout risque de réaction non spécifique (129).

7.2. Les méthodes de détection de l'ARN viral :

La recherche de l'ARN viral dans les cellules périphériques sanguines ou dans le cerveau se fait généralement par la technique RT-nested PCR, qui consiste en une transcription inverse suivie de 2 fois 40 cycles de PCR (33). Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, de nombreuses études japonaises, allemandes, ou américaines ont été menées dans ce but, et les résultats divergent beaucoup d'une étude à l'autre, et d'une population à l'autre. De plus, certaines polémiques existent concernant ces études et leur validité. En effet, l'ARN est présent en faible quantité au niveau des cellules sanguines périphériques (33); chez les rats nouveaux-nés infectés, elle est estimée à une cellule infectée sur 5.10^6 , ce qui correspond à la limite de sensibilité de la RT-PCR, pourtant une des méthodes les plus sensibles. Par surcroît, une telle sensibilité augmente les risques de faux-positifs, eux mêmes amplifiés par la possible contamination des échantillons avec une source d'ARN de laboratoire. Ainsi, certains auteurs ont publié des valeurs de séroprévalence atteignant 50 % (39, 10), tandis que d'autres auteurs n'ont pas détecté d'ARN dans les cellules sanguines périphériques des patients de leur étude (39, 59). Jusqu'à présent, l'absence de contrôles standardisés pour évaluer la validité de l'analyse par RT-PCR des différents auteurs a entravé l'interprétation objective et une bonne comparaison des résultats. C'est pourquoi en 1997, l'équipe de Sauder et al. développa une technique de contrôle de la sensibilité et de la reproductibilité de la RT-PCR employée lors des études (102). Celle-ci consiste en l'utilisation d'un ARN synthétique standard (p40INS), généré par transcription in vitro. L'ARN INS est identique à l'ARN p40 naturel, excepté une insertion interne, qui respecte cependant l'ORF de la protéine (région cible de l'amplification par la RT-PCR) (102). L'ajout d'une quantité connue d'ARN INS à un échantillon de sérum analysé par RT-PCR, permet l'évaluation de la reproductibilité et de la sensibilité de la méthode, et montre qu'une quantité minimale de 100 copies d'ARN INS p40 sur 5 μ g d'ARN total est nécessaire à une reproductibilité de 100 %. Dans ce test de contrôle, tout risque de contamination est écarté, car les produits de l'amplification de l'ARN INS p40 ont une taille différente de celle de l'ARN p40. Ce test contrôle permet d'estimer la quantité de cellules sanguines périphériques infectées par le BDV à une ou deux cellules pour 10^6 cellules (chaque cellule infectée renferme entre 100 et 500 copies d'ARN). Par conséquent, 1 ml de sang contenant environ 10^6 cellules, la recherche des cellules sanguines périphériques nécessite un minimum de 5 ml d'échantillon de sang par patient étudié. Les disparités observées entre les résultats obtenus par les différentes études pourraient aussi s'expliquer par des tailles d'échantillon variées, non standardisées, et parfois trop faibles pour que la détection soit possible (les échantillons analysés ont en moyenne un volume de 2 à 5 ml) (102). Certains auteurs ont aussi développé des techniques visant à mettre en évidence une éventuelle contamination par des plasmides

contenant l'ARN p24, lors de la détection par RT-PCR des ARN de p24, et afin d'éliminer les faux-positifs. C'est le cas de l'équipe de Fujiwara et al., qui a mis au point une méthode d'hybridation sur microplaque (31). Cette dernière permet uniquement l'hybridation des ADN de la protéine p24, et il n'y a pas d'hybridation avec les ADN issus des plasmides. L'équipe de Mizutani et al. (72) a développé une méthode de RT-PCR utilisant un "kit de PCR sélectif de l'ARNm", permettant de détecter l'ARN de la protéine p40 sans risque de contamination plasmidique.

Ainsi, les risques de contamination des échantillons ne seraient peut être pas les seuls facteurs explicatifs de la variabilité des résultats obtenus, et d'autres études, employant des échantillons de sang plus importants que les précédentes, et standardisées quant à la technique RT-PCR sont donc nécessaires. Compte tenu de ces différentes remarques, la détection de l'ARN dans les cellules sanguines périphériques n'est pas le moyen le plus simple à mettre en oeuvre dans les grandes études épidémiologiques comprenant de larges échantillons de patients. Néanmoins, comme nous l'avons déjà souligné, dans un nombre significatif de cas, le fait de détecter de l'ARN au niveau des cellules sanguines périphériques par RT-PCR, n'est pas corrélé avec une positivité des Ac sérologiques anti-BDV, et il semble que la technique RT-PCR et la détection sérologique devraient être toute deux utilisées pour le diagnostic d'une infection par le BDV chez l'Homme.

7.3. Les principes de détection des antigènes viraux :

Les Ag viraux sont essentiellement recherchés par la technique d'immunohistochimie dans des prélèvements autopsiques cérébraux, ou par la technique du tri des cellules activées par fluorescence (FACS). Dans cette dernière, après activation des monocytes sanguins, ceux-ci sont séparés des autres cellules mononucléaires sanguines, puis mises en contact avec des Ac anti-p40 et p24, et des Ac anti-immunoglobuline G marqués par la phycoérythrine, permettant ainsi la détection des Ag p40 et p24 (65, 10). Ces deux techniques ont été assez peu utilisées comme méthodes d'analyse bioclinique dans l'infection par le BDV. De la même façon, l'isolement du virus est peu employé pour le diagnostic de l'infection par le BDV, celui-ci étant en très faible quantité dans le milieu extra-cellulaire, et impliquant donc une détection difficile et incertaine.

THESE SOUTENUE PAR : Florence RONDIN

TITRE : LE VIRUS DE LA MALADIE DE BORNA : MYTHE ET REALITE

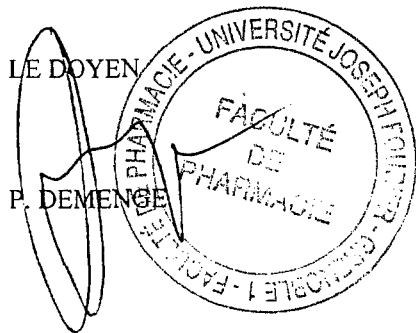
CONCLUSION

Le virus de la maladie de Borna (BDV), particule sphérique enveloppée à ARN négatif non segmenté, représente une nouvelle famille de l'ordre des Mononegavirales : la famille des *Bornaviridae*. Bien que de structure voisine de celle des autres virus du même ordre, le BDV possède des propriétés caractéristiques telles qu'une réplication nucléolaire, et l'utilisation des outils d'épissage des cellules hôtes. Ce virus fortement neurotrope présente un large spectre d'hôte, et son infection chez l'animal peut être asymptomatique, ou entraîner une méningoencéphalomyélite parfois mortelle. La pathologie n'est pas liée à l'action du virus lui-même, mais à la réaction immunitaire qu'il déclenche, à l'origine d'une destruction neuronale. Les signes observés varient d'une espèce et d'un individu à l'autre, en fonction de plusieurs facteurs tels que l'âge, le statut immunitaire, ou la souche virale. La similitude entre les signes cliniques observés chez l'animal et les symptômes de certaines maladies neuropsychiatriques humaines ont amené à rechercher ce virus chez l'Homme, et les résultats obtenus sont hétérogènes. Toutefois, on peut retenir, que le BDV est capable d'infecter l'être humain, et que la séroprévalence de cette infection serait plus importante chez les patients atteints de maladies telles que la dépression majeure, la psychose maniaco-dépressive, ou la schizophrénie. Aucun lien de causalité entre le virus et les signes cliniques de ces pathologies n'a jusqu'à présent été clairement démontré, et la mise en place d'études multicentriques réalisées à grande échelle, avec des techniques d'analyse bien standardisées, suffisamment sensibles et reproductibles sont nécessaires afin de confirmer les hypothèses émises.

En cette fin de siècle, les études concernant les différentes pathologies neurologiques mettent en avant une étiologie multifactorielle de ces maladies, et les théories virales et rétrovirales font l'objet de programmes de recherche intéressants dans ce domaine. Les années futures nous apporteront certainement une meilleure compréhension et donc une amélioration de la prise en charge de ce type de pathologie.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le



LE PRESIDENT DE THESE

PROFESSEUR E. DROUET



BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

1. BACHMANN S., CAPLAZI P., FISCHER M., EHRENSPERGER F., CONE RW. Lack of association between Borna disease virus infection and neurological disorders among HIV-infected individuals.
J. Neurovirol., 1999; **5** : 190-195.
2. BEAR M.F., CONNORS B.W., PARADISO M.A. Neurosciences à la découverte du cerveau, Editions Pradel, Paris, 1998.
3. BECHTER K., HERGOZ S., SCHÜTTLER R. Case of neurological and behavioral abnormalities : due to BDV encephalitis ?
Psychiatry Res., 1992; **42** : 193-196.
4. BERG AL., BERG M. A variant form of feline Borna disease.
J. Comp. Pathol., 1998; **119** : 323-331.
5. BERG AL., DORRIES R., BERG M. Borna disease virus infection in racing horses with behavioral and movement disorders.
Arch. Virol. 1999; **144**: 547-559.
6. BERG M., EHRENBORG C., BLOMBERG J., PIPKORN R., BERG A.L. Two domains of the Borna disease virusp40 protein are required for interaction with the p23 protein.
J. Gen. Virol., 1998; **79** : 2957-2963.
7. BODE L., DIETRICH D.E., STOYLOFF R., EMRICH H.M., LUDWIG H. Amantadine and human Borna disease virus in vitro and in vivo in an infected patient with bipolar depression.
Lancet, 1997; **349** : 178.
8. BODE L., FERSZT R., CZECH G. Borna Diseases Virus infection and affective disorders in man.
Arch. Virol., 1993 ; [Suppl.] **7** : 159-167.
9. BODE L., RIEGEL S., LUDWIG H., AMSTERDAM J.D., LANGE W., KOPROWSKI H. Borna disease virus-specific antibodies in patients with HIV infection and with mental disorders.
Lancet, 1988; sept 17 : 689.
10. BODE L., STEINBACH F., LUDWIG H. A novel marker for Borna disease virus infection.
Lancet, 1994; **343** : 297-298.
11. BODE L., ZIMMERMANN W., FERSZT R., STEINBACH F., LUDWIG H. Borna disease virus genome transcribed and expressed in psychiatric patients.
Nature. Med., 1995; **3** (1) : 232-236.
12. BRIESE T., HATALSKI C.G., KLICHE S., PARK Y.S., LIPKIN W.I. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to Borna disease virus-specific proteins.
J.Clin. Microbiol., 1995; **33**(2) : 348-351.
13. CARBONE K.M., DUCHALA E.S., GRIFFIN J.W., KINCAID A.L., NARAYAN O. Pathogenesis of Borna Disease in rats : evidence that intraaxonal spread is the major route for virus dissemination and the determinant for disease incubation.
J.Virol., 1987 ; **61** : 3431-3440.

14. CARBONE K.M., PARK S.K., RUBIN S.A., WALTRIP II R.W., VOGELSANG G.B. Borna disease : association with a maturation defect in the cellular immune response. *J. Virol.* 1991; **65** (11) : 6154-6164.
15. CARBONE K.M., RUBIN S.A., A.M. SIERRA-HONIGMANN, LEDERMAN H.M. Characterization of a glial cell line persistently infected with Borna disease virus (BDV) : influence of neurotropic factors on BDV protein and RNA expression. *J.Virol.*, 1993; **67** : 1453-1460.
16. CHEN C.H., CHIU Y.L., WEI F.C., et al. High seroprevalence of Borna virus infection in schizophrenic patients, family members and mental health workers in Taiwan. *Mol Psychiatry*, 1999 ; **4** : 33-38.
17. CROW T.J. A re-evaluation of the viral hypothesis : is psychosis the result of retroviral integration at a site close to the cerebral dominance gene ? *Br. J. Psych.*, 1984; **145** : 243-253.
18. CROW T.J. The continuum of psychosis and its genetics origins. *Br. J. Psych.*, 1990; **156** : 788-797.
19. CROW T.J. Sexual selection, machiavellian intelligence, and the originins of psychosis. *Lancet*, 1993; **342** : 594-598.
20. CROW T.J. A Darwinian approach to the origins of psychosis. *Br. J. Psych.*, 1995; **167** : 12-25.
21. CUBITT B., OLDSTONE.C., De la TORRE J.C. Sequence and genome organisation of Borna disease virus. *J. Virol.*, 1994; **68** : 1382-1396.
22. CUBITT B., De la TORRE J.C. Borna disease virus (BDV), a nonsegmented RNA virus, replicates in the nuclei of infected cells where infectious BDV ribonucleoproteins are present. *J.Virol.*, 1994; **68** : 1371-1381.
23. De la TORRE J.C. Molecular biology of Borna disease virus : prototype of a new group of animal viruses. *J.Virol.*, 1994; **68** : 7669-7675.
24. DE-RINKER P., KLEMPAN T.A., O'REILLY R.L., TORREY E.F., SINGH S.M. Molecular characterization of a MSVR-like sequence identified by RDA from monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia. *Genomics*, 1999; **61**(2) : 133-144.
25. DEUSCHLE M., BODE L., HEUSER I., SCHMIDER J., LUDWIG H. Borna disease virus proteins in cerebrospinal fluid of patients with recurrent depression and multiple sclerosis. *Lancet*, 1998; **352** : 1828-1829.
26. DIETRICH D.E., SCHEDLOWSKI M., BODE L., LUDWIG H., EMRICH H.M. A viro-psycho-immunological disease-model of a subtype affective disorder. *Pharmacopsychiatry*, 1998; **31** : 77-82.
27. EISENMAN L.M., BROTHERS R., TRAN M.H., et al. Neonatal Borna disease virus infection in the rat causes a loss of Purkinje cells in the cerebellum. *J. Neurovirol.*, 1999; **5** : 181-189.

28. EY H. Schizophrénie : études cliniques et psychopathologie, Synthelabo, Paris, 1996.
29. FERSZT R., KUHL K.P., BODE L., et al. Amantadine revisited : an open trial of amantadinesulfate treatment in chronically depressed patients with Borna disease virus infection. *Pharmacopsychiatry*, 1999; **32**(4) : 142-147.
30. FRITH C.D. Neuropsychologie cognitive de la schizophrénie, PUF, Paris, 1996.
31. FUJIWARA S., TAKAHASHI H., NAKAYA T., et al. Microplate hybridation for Borna disease virus RNA in human peripheral blood mononuclear cells. *Clin. and Diag. Lab. Immunol.*, 1997; **4** : 387-391.
32. GARSON J.A., TUKE P.W., GIRAUD P., PARANHOS-BACCALA G., PERRON H. Detection of virion-associated MSR-V-RNA in serum of patients with multiple sclerosis. *Lancet*, 1998; **351** : 33.
33. GONZALES-DUNIA D. Le virus de la maladie de Borna. *Virologie* 1998 , **2** : 191-198
34. GONZALES-DUNIA D., EDDLESTON M., MACKMAN N., CARBONE K., de la TORRE JC. Expression of tissue factor is increased in astrocytes within the central nervous system during persistent infection with Borna disease virus. *J.Virol.*, 1996; **70** : 5812-5820.
35. GONZALES-DUNIA D., CUBITT B., GRASSER F.A., De la TORRE J.C. Characterization of Borna disease virus p56 protein, a surface glycoprotein involved in virus entry. *J.Virol.*, 1997; **71** : 3208-3218.
36. GONZALES-DUNIA D., CUBITT B., De la TORRE JC. Mechanism of Borna disease virus entry into cells. *J. Virol.*, 1998; **72** : 783-788.
37. HAGA S., MOTOI Y., IKEDA K., AND THE JAPAN BORNAVIRUS STUDY GROUP / NOWOTNY N., WINDHABER J. Borna disease virus and neuropsychiatric disorders. *Lancet*, 1997 ; **350** :592-593.
38. HALLENSLEBEN W., SCHWEMMLE M., HAUSMANN J., et al. Borna Disease Virus-Induced Neurological Disorder in Mice : Infection of Neonates Results in Immunopathology. *J.Virol.*,1998 ; **72** : 4379-4386.
39. HATALSKI C.G., LEWIS A.J., LIPKIN W.I., Borna disease. *Emerging Infectious Diseases*, 1997; **3**, n°2.
40. HATALSKI G.C., KLOCHE S., STITZ L., LIPKIN W.I. Neutralizing antibodies in Borna disease virus-infected rats. *J.Virol.*, 1995; **69** (2) : 741-747.
41. HERGOZ S., PFEUFFER I., HABERZETTL K., et al. Molecular characterization of Borna disease virus from naturally infected animals and possible links to human disorders. *Arch Virol. Suppl.*, 1997; **13** : 183-190.

42. IGATA-YI R., YAMAGUCHI K., YOSHIKI K., et al. Borna disease virus and the consumption of raw horse meat.
Nature Med., 1996; **2** : 948-949.
43. IWAHASHI K., WATANABE M., NAKAMURA K., et al. Clinical investigation of the relationship between Borna disease virus (BDV) infection and schizophrenia in 67 patients in Japan.
Acta Psychiatr. Scand., 1997; **96** : 412-415.
44. IWAHASHI K., WATANABE M., NAKAMURA K., et al. Positive and negative syndromes, and Borna disease virus infection in schizophrenia.
Neuropsychobiology, 1998; **37** (2) : 59-64.
45. IWATA Y., TAKAHASHI K., PENG X., et al. Detection and sequence analysis of borna disease virus p24 RNA from peripheral blood mononuclear cells of patients with mood disorders or schizophrenia and blood donors.
J. Virol., 1998; **72** : 10044-10049.
46. JEFFERY K.J., READ S.J., PETO T.E.A., MAYON-WHITE T.R., BANGHAM C.R.M. Diagnosis of viral infectious of the central nervous system : clinical interpretation of RT-PCR results.
Lancet, 1997; **349** : 313-317.
47. JORDAN I., BRIESE T., AVERTETT D.R., LIPKIN W.I. Inhibition of Borna disease virus replication by Ribavirin.
J. Virol., 1999; **73** : 7903-7906.
48. KANDEL E.R. Chapitres 55 et 56, *In* : KANDEL E.R., SCHWARTZ J.H., JESSELL T.M. Principles of neural science, third edition, Elsevier, New-York, 1991.
49. KAUFMANN C.A., WEINBERGER D.R., YOLKEN R.H., TORREY E.F., POTKIN S.G. Viruses and schizophrenia.
Lancet, 1983; **ii** : 1136-1137.
50. KIM H.S., TAKENAKA O., CROW T.J. Isolation and phylogeny of endogenous retrovirus sequences belonging to the HERV-W family in primates.
J. Gen. Virol., 1999; **80** (10) : 2613-2619.
51. KIM H.S., WADEKAR R.V., TAKENAKA O., et al. SINE-R.C2 (a Homo Sapiens Specific Retroposon) is homologous to cDNA from postmortem brain in schizophrenia and to two loci in the Xq21.3/Yp block linked to handedness and psychosis.
Am. J. Med. Gen., 1999; **88** (5) : 560-566.
52. KIM H.S., WADEKAR R.V., TAKENAKAR O., HYUN B.H., CROW T.J. Phylogenetic analysis of HERV-K-LTR-like elements in primates : presence in some New World monkeys and evidence of recent parallel evolution in these species and in Homo sapiens.
Arch. Virol., 1999; **144** (10) : 2035-2040.
53. KIM H.S., CROX T.J. Identification and phylogenetic of novel human endogenous retroviral sequences belonging to the HERV-W family on the Human X chromosomes.
Arch. Virol., 1999; In press.
54. KIM H.S., WADEKAR R.V., TAKENAKA, HYUN B.H., CROW T.J. Phylogenetic analysis of a retroposon family in African great apes.
J. Mol. Evol., 1999; **49** (5) : 699-702.

55. KIM Y.K., KIM S.H., CHOI S.H., et al. Failure to demonstrate Borna disease virus genome in peripheral blood mononuclear cells from psychiatric patients in Korea.
J. Neurovirol., 1999 ; **5** : 196-199.
56. KISHI M., NAKAYA T., NAKAMURA Y., et al. Demonstration of human Borna Disease Virus RNA in human peripheral blood mononuclear cells.
FEBS letters, 1995 ; **3645** : 293-297.
57. KISHI M., ARIMURA Y., IKUTA K., SHOYA Y., LAI P.K., KAKINUMA M. Sequence variability of Borna disease virus Open Reading Frame II found in human peripheral blood mononuclear cells.
J. Virol., 1996; **70** : 635-640.
58. KITAMURA Y., AYUKAWA T., ISHIKAWA T., KANDA T., YOSHIKE K. Human endogenous retrovirus K10 encodes a functional integrase.
J. Virol., 1996; **70** : 3302-3306.
59. KLAUS L., HALLENSLEBEN W., CZYGAN M., et al. No Borna disease virus-specific RNA detected in blood from psychiatric patients in different regions of Germany.
Lancet, 1997; **350** : 1002.
60. KLICHE S., BRIESE T., HENSCHEN A.H., STITZ L., LIPKIN W.I. Characterization of Borna disease virus Glycoprotein, gp18.
J. Virol., 1994; **68** : 6918-6923.
61. KLICHE S., STITZ L., MANGALAM H., et al. Characterization of the Borna disease virus phosphoprotein, p23.
J. Virol., 1996; **70** : 8133-8137.
62. KOBAYASHI T., SHOYA Y., KODA T., et al. Nuclear targeting activity associated with the amino terminal region of the Borna disease virus nucleoprotein.
Virology, 1998; **243** (1) : 188-197.
63. KOHNO T., GOTO T., TAKASAKI T., et al. Fine structure and morphogenesis of Borna disease virus.
J. Virol., 1999; **73** : 760-766.
64. LEWIS A.J., WHITTON J.L., HATALSKI C.G., WEISSENBOCK H., LIPKIN W.I. Effect of immune priming on Borna disease.
J. Virol., 1999; **73** : 2541-2546.
65. LIPKIN W.I., SCHNEEMANN A., SOLBRIG M.V. Borna disease virus : implications for human neuropsychiatric illness.
Trends Microbiol., 1995; **3** (2) : 64-69.
66. LUDWIG H., BODE L., GOSZTONYI. Borna Disease / Virus infection / Neurons of Mammals and Birds.
Progr. Med. Virol., 1998; **35** : 107-151.
67. LUDWIG H., BODE L., The neuropathogenesis of Borna disease virus infections.
Intervirol., 1997; **40** : 185-197.

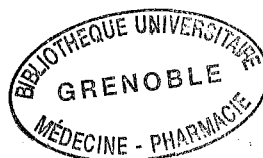
68. Mac CLURE M.A., THIBAUT K.J., HATALSKI C.N., LIPKIN W.I. Sequence similarity between Borna Disease Virus p40 and a duplicated domain within the Paramyxovirus and Rhabdovirus Polymerase proteins.
J. Virol., 1992; **66** : 6572-6577.
69. MALIK T.H., KOBAYASHI T., GHOSH M., KISHI M., LAI P.K. Nuclear localisation of the protein from Open Reading Frame x1 of the Borna disease virus was through interactions with the viral Nucleoprotein.
Virology, 1999; **258** : 65-72.
70. MEDSTRAND P., MAGER L.D. Human-specific integrations of the HREV-K endogenous retrovirus family.
J.Virol., 1998; **72** : 9782-9787.
71. MIZUTANI T., INAGAKI H., ARAKI K., KARIWA H., ARIKAWA J., TAKASHIMA L. Inhibition of Borna Disease Virus replication by ribavirin in persistently infected cells.
Arch.Virol. , 1998 ; **143** : 2039-2044.
72. MIZUTANI T., OGINO M., NISHINO Y., et al. A single tube RT-PCR method for the detection of Borna disease viral genomic RNA.
Jpn. J. Vet. Res., 1998; **46** : 73-81.
73. MORALES J.A., HERGOZ S., KOMPTEK C., FRESE K., ROTT R. Axonal transport of Borna Disease Virus along olfactory pathways in spontaneously and experimentally infected rats.
Med. Microbiol. Immunol., 1998 ; **177** : 51-68.
74. NAKAMURA Y. Isolation of Borna disease virus from the autopsy brain of a schizophrenia patient.
Hokkaido Igaku Zasshi, 1998; **73** : 287-297.
75. NAKAMURA Y., ASAHI S., NAKAYA T., et al. Demonstration of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells derived from domestic cats in Japan.
J. Clin.Microbiol., 1996; **34** (1) : 188-191.
76. NARAYAN O., HERGOZ S., FRESE K., SCHEEFERS H., ROTT R. Behavioral disease in rats caused by immunopathological responses to persistent Borna virus in the brain.
Science; 1983, **220** : 1401-1403.
77. NÖSKE K., BILZER T., PLANZ O., STITZ L. Virus-specific CD4+ T cells eliminate Borna disease virus from the brain via induction of cytotoxic CD8+ T cells.
J. Virol., 1998; **72** (5) : 4387-4395.
78. OLDSTONE M.B.A. Minireview.
J.Virol., 1991; **65** (12) : 6381-6386.
79. PECHERE J.C. Rester-t-il des maladies non infectieuses ?
Med. Hyg., 1999; **57** : 1902-1905.
80. PERRON H., FIROUZI R., TUKE P., et al. Cells cultures and associated retroviruses in multiple sclerosis.
Acta Neurol. Scand. Suppl., 1997; **169** : 22-31.

81. PLANZ O., BILZER T., STITZ L. Immunopathogenic role of T-cell subsets in Borna disease virus-induced progressive encephalitis.
J.Virol., 1995; **69** : 896-903.
82. PLANZ O., RENTZSCH C., BATRA A., RZIHA HJ., STITZ L. Pathogenesis of Borna Disease Virus : granulocyte fractions of psychiatric patients harbor infectious virus in the absence of antiviral antibodies.
J. Virol. 1999; **73** (8) : 6251-6256.
83. PLANZ O., RENTZSCH C., BATRA A., RZIHA HJ., STITZ L. Persistence of Borna disease virus-specific nucleic acid in blood of psychiatric patient.
Lancet, 1998; **352**: 623.
84. PLANZ O., STITZ L. Borna disease virus Nucleoprotein (p40) is a major target for CD8+-T-cell-mediated immune response.
J.Virol., 1999; **73** : 1715-1718.
85. PLETNIKOV MV., RUBIN SA., VASUDEVAN K., MORAN T.H., CARBONE K.M. Developmental brain injury associated with abnormal play behavior in neonatally Borna disease virus-infected Lewis rats : a model of autism.
Behav. Brain. Res., 1999; **100** : 43-50.
86. PYPHER J.M., CLEMENTS J.E., ZINK M.C. The nucleolus is the site of Borna disease virus RNA transcription and replication.
J.Virol., 1998; **72** : 7697-7702.
87. PYPHER J.M., GARTNER A.E. Molecular basis for the differential subcellular localization of the 38- and 39-Kilodalton structural proteins of Borna disease virus.
J.Virol., 1997; **71** : 5133-5139.
88. PYPHER J.M. Does Borna Disease Virus infect humans ?
Nature Med., 1995 ; **1** : 209-210.
89. RICHT J.A, FURBRINGER T., KOCH A., et al. Processing of the Borna disease virus glycoprotein gp 94 by the subtilisin-like endoprotease furin.
J.Virol., 1998; **72** : 4528-4533.
90. RICHT J.A., PFEUFFER I., CHRIST M., et al. Borna disease virus infection in animals and humans.
Emerg. Infect. Dis., 1997; **3** : 343-352.
91. RICHT J.A., VANDEWOUDE S., ZINK M.C., et al. Infection with Borna disease virus : molecular and immunobiological characterization of the agent.
Clin. Infect. Dis., 1992; **14** : 1240-1250.
92. RICHT J.A., VANDEWOUDE S., ZINK M.C., NARAYAN O., CLEMENTS J.E. Analysis of Borna disease virus-specific RNAs in infected cells and tissues.
J. Gen. Virol., 1991; **72**: 2251-2255.
93. RICHT J.A., STITZ L., DESCHL U., FRESE K., ROTT R. Borna disease virus-induced meningoencephalomyelitis caused by virus-specific CD4+ T cell-mediated immune reaction.
J. Gen. Virol., 1990; **71** : 2565-2573.
94. RICHT J.A., ALEXANDER R.L., HERGOZ S., et al. Failure to associate human psychiatric disorders with Borna Disease Virus infection. In press.

95. ROTT R., HERGOZ S., FLEISCHER B., et al. Detection of serum antibodies to Borna disease virus in patients with psychiatric disorders.
Science, 1985; **228** : 755-756.
96. RUBIN S.A., R. W. WALLTRIP I.I., BAUTISTA J.R., CARBONE K.M. Borna disease virus in mice : host-specific differences in disease expression.
J.Virol., 1993; **67** (1) : 548-552.
97. RUBIN S.A., SYLVES P., VOGEL M., et al. Borna disease virus-infected hippocampal dentate gyrus damage is associated with spatial learning and memory deficits.
Brain. Res. Bull., 1999; **48** : 23-30.
98. RUBIN S.A., YEDNOCK T.A., CARBONE K.M. In vivo treatment with anti-alpha 4 integrin suppresses clinical and pathological evidence of Borna disease virus infection.
J. Neuroimmunol., 1998; **84** : 158-163.
99. SALVATORE M., MORZUNOV S., SCHWEMMLE M., LIPKIN W.I., AND THE BORNAVIRUS STUDY GROUP. Borna disease virus in brains of North American and European people with schizophrenia and bipolar disorder.
Lancet 1997; **349** : 1813.
100. SAUDER C., De la TORRE J.C. Cytokine expression in the rat central nervous system following perinatal Borna disease virus infection.
J. Neuroimmunol., 1999; **96** : 29-45.
101. SAUDER C., MÜLLER A., CUBITT B., et al. Detection of Borna disease virus (BDV) antibodies and BDV RNA in psychiatric patients : evidence for high sequence conservation of human blood-derived BDV RNA.
J. Virol., 1996; **70** : 7713-7724.
102. SAUDER C., De la TORRE J.C. Sensitivity and reproductibility of RT-PCR to detect Borna disease virus (BDV) RNA in blood : implications for BDV epidemiology.
J.Virol. Meth., 1998; **71** : 229-245.
103. SCHNEEMANN A., SCHNEIDER P.A., KIM S., LIPKIN W.I. Identification of signal sequences that control transcription of Borna Disease Virus, a non segmented, negative-strand RNA virus.
J.Virol., 1994; **68** : 6514-6522.
104. SCHNEIDER P.A., HATALSKI C.G., LEWIS A.J., LIPKIN W.I. Biochemical and functional analysis of the Borna disease virus G protein.
J.Virol., 1997; **71** : 331-336.
105. SCHNEIDER P.A., RICKY K., LIPKIN W.I. Evidence for translation of the Borna disease virus G protein by leaky ribosomal scanning and ribosomal reinitiation.
J.Virol., 1997; **71** : 5614-5619.
106. SCHNEIDER P.A., SCHEMMLE M., LIPKIN I.W. Implication of a cis-acting element in the cytoplasmic accumulation of unspliced Borna disease virus RNAs.
J.Virol., 1997; **71** : 8940-8945.
107. SCHNEIDER P.A., SCHNEEMANN A., LIPKIN W.I. RNA splicing in Borna disease virus, a non segmented, negative-strand RNA virus.
J.Virol., 1994; **68** (8) : 5007-5012.

108. SCHNEIDER P.A., BRIESE T., ZIMMERMANN W., LUDWIG H., LIPKIN W.I. Sequence conservation in field and experimental isolates of Borna disease virus. *J.Virol.*, 1994; **68** (1) : 63-68.
109. SCHWEMMLE M. Progress and controversy in Bornavirus research : a meeting report. *Arch.Virol.*, 1999; **144** (4) : 835-840.
110. SCHWEMMLE M., JEHL C., SHOEMAKER T., LIPKIN W.I. Characterization of the major nuclear localization signal of the Borna disease virus phosphoprotein. *J. Gen. Virol.*, 1999; **80** : 97-100.
111. SCHWEMMLE M., DE B., SHI L., BANERJEE A., LIPKIN W.I. Borna disease virus P-protein is phosphorylated by protein kinase Cepsilon and casein kinase II. *J. Biol. Chem.*, 1997; **272** : 21818-21823.
112. SHANKAR V., KAO M., HAMIR A.N., SHENG H., KOPROWSKI H., DIETZSCHOLD B. Kinetics of virus spread and changes in levels of several cytokine mRNA in the brain after intranasal infection of rats with Borna disease virus. *J. Virol.*, 1992; **66** : 992-998.
113. SHOYA Y., KOBAYASHI T., KODA T., IKUTA K., KAKINUMA M., KISHI M. Two proline-rich nuclear localization signals in the amino- and carboxyl-terminal regions of the Borna disease virus phosphoprotein. *J.Virol.*, 1998; **72** : 9755-9762.
114. SIERRA-HONIGMAN A.M., CARBONE K.M., YOLKEN R.H. Polymerase chain reaction (PCR) search for viral nucleic acid sequences in schizophrenia. *Br. J. Psychiatry*, 1995 ; **166** : 55-60.
115. SOBBE M., BILZER T., GOMMEL S., NÖSKE K., PLANZ O., STITZ L. Induction of degenerative brain lesions after adoptive transfer of brain lymphocytes from Borna disease virus-infected rats : presence of CD8+ T cells and perforin mRNA. *J. Virol.*, 1997; **71** : 2400-2407.
116. SOLBRIG M.V., KOOB G.F., JOYCE J.N., LIPKIN W.I. A neural substrate of hyperactivity in Borna Disease : changes in brain Dopamine Receptors. *Virology*, 1996; **222** : 332-338.
117. SOLBRIG M.V., KOOB G.F., LIPKIN W.I. Cocaine sensitivity in Borna disease virus-infected rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1998; **59** (4) : 1047-1052.
118. SORG I., METZLER A. Detection of Borna disease virus RNA in formalin-fixed, paraffin-embedded brain tissues by nested PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 1995; **33**(4) : 821-823.
119. STITZ L., SOBBE M., BILZER T. Preventive effects of early anti-CD4 or anti-CD8 treatment on Borna disease in rats. *J.Virol.*, 1992; **66** : 3316-3323.
120. STITZ L., NÖSKE K, PLANZ O., FURRER E., LIPKIN W.I, BILZER T. A functional role for neutralizing antibodies in Borna disease : influence on virus tropism outside the central nervous system. *J. Virol.*, 1998; **72** : 8884-8892.

121. STITZ L., PLANZ O., BILZER T. Lack of antiviral effect of amantadine in Borna disease virus infection.
Med. Microbiol. Immunol., 1998; **186** : 195-200.
122. STITZ L., SCHILKEN D., FRESE K. Atypical dissemination of the highly neurotropic Borna disease virus during persistent infection in cyclosporine A-treated, immunosuppressed rats.
J.Virol., 1991; **65** (1) : 457-460.
123. STOYLOFF R., BODE L., BORCHERS K., LUDWIG H. Neutralization of Borna disease virus depends upon terminal carbohydrate residues (alpha-D-man, beta-D-GlcNAc) of glycoproteins gp17 and gp94.
Intervirology, 1998; **41** (2-3) : 135-140.
124. THIERER J., RIEHLE H., GREBENSTEIN O., et al. The 24K protein of Borna disease virus.
J. Gen.Virol., 1992; **73** : 413-416.
125. TYRELL D.A.J., CROW T.J., PARRY R.P., JOHNSTONE E. Possible virus in schizophrenia and some neurological disorders.
Lancet, 1979; **i** : 839-841.
126. TORREY E.F., PETERSON M.R. Slox and latent viruses in schizophrenia.
Lancet, 1973; **ii** : 22-24.
127. TSUJIMURA K., MIZUTANI T., KARIWA H., et al. A serosurvey of Borna disease virus infection in wild rats by capture Elisa.
J.Vet. Med. Sci., 1999; **61** : 113-117.
128. VARMUS H.E. Form and function of retroviral proviruses.
Science, 1982; **216** : 812-820.
129. YAMAGUCHI K., SAXADA T., NARAKI T., et al. Detection of Borna disease virus-reactive antibodies from patients with psychiatric disorders and from horses by electrochemiluminescence immunoassay.
Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1999; **6** (5) : 696-700.
130. YOLKEN H.R., FULLER TORREY E. Viruses, schizophrenia, and bipolar disorder.
Clin. Microbiol. Rev., 1995; **8** : 131-145.
131. ZIMMERMANN W., BRETER H., RUDOLPH M., LUDWIG H. Borna disease virus : immu,electron microscopic characterization of cell-free virus and further information about the genome.
J. Virol., 1994; **68** : 6755-6758.
132. ZSIROS J., JEBBINK M.J., LUKASHOV V.V., VOÛTE P.A., BERKHOUT B. Evolutionary relationships within a subgroup of HERV-K- related human endogenous retroviruses.
J.Gen.Virol., 1998; **79** : 61-70.
133. ZWICK W. Bornasche Krankheit und Encephalomyelitis der Tiere. In : GILDENMEISTER E., HAAGEN E., WALDMANN O. Editors Handbuch der Viruserkrankungen, Jena ; 1939. P 252-354.



*** Sites internet consultés :**

i : SEP :

<http://www.esculape.com/fmc/sep.html>.

ii : SILLON MULTI IMAGES :

<http://www.oceanet.fr/Entreprises/sillomulti/Retroendo.html>.

iii : W.I. LIPKIN :

<http://www.ucihs.uci.edu/microbio/faculty/lipkin.html>.



Serment des Apothicaires

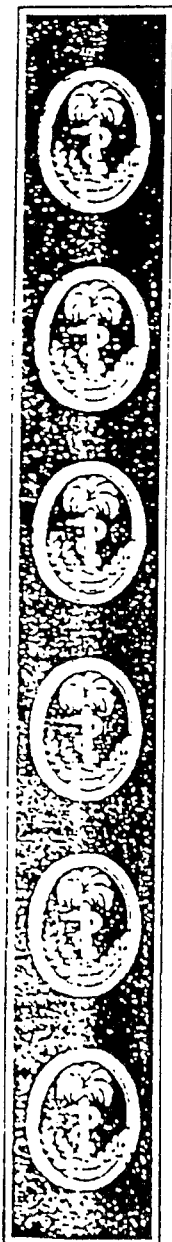
Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



LE VIRUS DE LA MALADIE DE BORNA : MYTHE ET REALITE

RESUME :

Le virus de la maladie de Borna (BDV), particule sphérique enveloppée à ARN négatif non segmenté, représente une nouvelle famille de l'ordre des Mononegavirales : la famille des *Bornaviridae*. Bien que de structure voisine de celle des autres virus du même ordre, le BDV possède des propriétés caractéristiques telles qu'une réplication nucléolaire, et l'utilisation des outils d'épissage des cellules hôtes. Ce virus fortement neurotrope présente un large spectre d'hôte, et son infection chez l'animal peut être asymptomatique, ou entraîner une méningoencéphalomyélite parfois mortelle. La pathologie n'est pas liée à l'action du virus lui-même, mais à la réaction immunitaire qu'il déclenche, à l'origine d'une destruction neuronale. Les signes observés varient d'une espèce et d'un individu à l'autre, en fonction de plusieurs facteurs tels que l'âge, le statut immunitaire, ou la souche virale. La similitude entre les signes cliniques observés chez l'animal et les symptômes de certaines maladies neuropsychiatriques humaines ont amené à rechercher ce virus chez l'Homme, et les résultats obtenus sont hétérogènes. Toutefois, on peut retenir, que le BDV est capable d'infecter l'être humain, et que la séroprévalence de cette infection serait plus importante chez les patients atteints de maladies telles que la dépression majeure, la psychose maniaco-dépressive, ou la schizophrénie. Aucun lien de causalité entre le virus et les signes cliniques de ces pathologies n'a jusqu'à présent été clairement démontré, et la mise en place d'études multicentriques réalisées à grande échelle, avec des techniques d'analyse bien standardisées, suffisamment sensibles et reproductibles sont nécessaires afin de confirmer les hypothèses émises. En cette fin de siècle, les études concernant les différentes pathologies neurologiques mettent en avant une étiologie multifactorielle de ces maladies, et les théories virales et rétrovirales font l'objet de programmes de recherche intéressants dans ce domaine. Les années futures nous apporteront certainement une meilleure compréhension et donc une amélioration de la prise en charge de ce type de pathologie.

MOTS CLES :

VIRUS – MALADIE DE BORNA – ENCEPHALOMYELITE – SCHIZOPHRENIE –
MONONEGAVIRALES – BORNAVIRIDAE – RETROVIRUS

RONDIN Florence - année 1999-2000 - Thèse de doctorat en Pharmacie.

Adresse : [Données personnelles retirées de la version diffusée]