

Groupe d'experts et auteurs

Dr Christian AUCLAIR, pharmacologie, directeur de l'URA 147 du CNRS, Institut Gustave Roussy, Villejuif

Dr Anne BOUSSEAU, direction Biologie anti-VIH, Laboratoires Rhône Poulenc Rorer, Vitry/Seine

Dr Dominique COSTAGLIOLA, épidémiologie de l'immunodéficience humaine, directeur du service commun 4 de l'INSERM, Paris

Pr Eduardo DEI-CAS, biologie et biochimie parasitaires et fongiques, INSERM U 42, Villeneuve d'Ascq

Dr Dominique DORMONT, chef du service de neurologie CEA, Fontenay aux Roses

Dr Jean Louis JUNIEN, directeur de recherche préclinique, Laboratoires Ferring, Gentilly

Pr Christine KATLAMA, maladies infectieuses et tropicales, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris

Dr Jean-Claude MELCHIOR, service de nutrition, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris

Pr Jean MARSAC, vice président Direction médicale et Recherche clinique, Laboratoires Synthélabo, Le Plessis Robinson

Pr Jean-Paul MOATTI, sciences économiques, directeur de l'unité INSERM U 379, Institut Paoli-Calmettes, Marseille

Pr Christian PERRONNE, chef de service, maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

Pr Christine Rouzioux, laboratoire de microbiologie et de virologie, Hôpital Necker Enfants malades, Paris

Dr Pierre SONIGO, virologie moléculaire, directeur de recherche à l'INSERM, UPR 415, Paris

Dr Yves SOUTEYRAND, socio-économiste, chargé de mission à l'ANRS, Paris

Pr Marc TARDIEU, pédiatre, responsable du laboratoire de neurovirologie, Hôpital Bicêtre, Paris

Dr Jean de la TULLAYE, directeur du département Nutrition, Sanofi recherche, Gentilly

Pr Patrick YENI, chef du Service de médecine interne, Hôpital Bichat, Paris, Président du groupe

Au cours des réunions du groupe d'experts, ont été auditionnés pour leurs compétences:

Pr Daniel CAMUS, biologie et biochimie parasitaires et fongiques, directeur de l'unité INSERM U 42, Villeneuve d'Ascq

Pr Michel KAZATCHKINE, immunopathologie humaine, directeur de l'unité INSERM U 430, Hôpital Broussais, Paris

Pr Jean-Paul LEVY, directeur de l'ANRS, Paris

Coordination scientifique et éditoriale

Dr Jeanne ETIEMBLE, directeur de recherche à l'INSERM, Département du partenariat pour le développement économique et social (DPES)

Dr Emmanuelle CHOLLET PRZEDNOWED, assistante

Odile ROBERT, journaliste scientifique

Assistance bibliographique et éditoriale

Dr Nicole PINHAS, responsable du service de documentation, Département de l'information et de la communication

Philippe GUILLIAUMET, directeur du service commun 2 de l'INSERM

Claudine GEYNET, Michèle DODEUR et Maryse CURNUT, Éditions INSERM (DIC)

Introduction

Le ministère de la Santé a souhaité que l'industrie pharmaceutique soit plus concrètement impliquée dans la recherche contre le sida. Le Syndicat National de l'Industrie Pharmaceutique (SNIP) a proposé que des échanges scientifiques soient organisés avec l'INSERM sous l'égide du Comité Paritaire Médicament (CPM). L'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) a répondu favorablement à cette démarche, en souhaitant associer d'autres partenaires de recherche impliqués dans ce domaine, pour définir des thématiques pertinentes.

L'Expertise collective est apparue comme la procédure la plus adaptée pour engager cette concertation entre recherche publique et recherche privée, destinée à promouvoir des projets de recherche et de développement communs. L'Expertise collective offre en effet la possibilité de réunir, sous l'autorité scientifique de l'INSERM, un panel d'experts qui s'efforcent de réaliser une analyse critique des données de la littérature dans les domaines considérés, tout en échangeant leurs expériences respectives.

Un groupe pluridisciplinaire a été constitué, comportant des cliniciens spécialistes de différentes pathologies, des chercheurs de la recherche publique dans les domaines de l'épidémiologie, de la virologie, de la parasitologie, de la pharmacologie, de la nutrition et des sciences économiques et sociales. Ce groupe comprend aussi plusieurs scientifiques de la recherche industrielle. En effet, cette composante industrielle est apparue indispensable pour la réflexion puisque l'objectif était d'effectuer un repérage de nouvelles approches thérapeutiques susceptibles de générer de véritables synergies entre la recherche publique et industrielle.

Il a été décidé que la réflexion du groupe serait centrée sur trois thèmes l'infection à VIH, les maladies opportunistes et la dénutrition. La présence de sept cliniciens parmi les experts témoigne de la volonté de mettre le malade au cœur de cette réflexion. Le malade est le plus souvent soumis à une polymédication, pour lutter contre les diverses pathologies qui apparaissent en même temps. De ce fait, l'élaboration des protocoles thérapeutiques et la conception même des médicaments doivent bien entendu en tenir compte, pour une prise en charge globale compatible avec une meilleure qualité de vie du malade. C'est dans ce même esprit qu'une réflexion sur le phénomène de dénutrition et les problèmes d'observance thérapeutique a pris toute sa place dans cette expertise.

La réflexion du groupe s'est structurée selon trois niveaux:

- l'infection par le VIH, les pathologies qui lui sont associées, la dénutrition;
- les traitements actuels et leurs limites;
- les pistes de recherche et de développement pour les différentes pathologies.

La base documentaire sur laquelle le groupe d'experts a appuyé son analyse était constituée de 1 200 publications récentes *. Le groupe a participé à six réunions communes de travail. À chacune de ces séances, les experts sont présentés sous la forme d'un exposé leur analyse rigoureuse de la littérature. Après une discussion générale, le groupe d'experts a élaboré un document écrit sur chacun des points de réflexion, constituant la partie “ Analyse ” de cet ouvrage. Une dernière journée de travail a été consacrée à l'élaboration des principales conclusions et recommandations de l'expertise qui figurent dans la partie “ Synthèse ”.

* De part la procédure même de l'expertise collective, les publications parues au-delà de décembre 1995 n'ont pu être incluses dans chacun des chapitres constituant la partie analyse de l'ouvrage.

I

Infection à VIH et maladies associées

1

Quelques données chiffrées

Depuis la mise en place en France de la surveillance du sida en 1982, les caractéristiques de l'épidémie se sont assez profondément modifiées (rapport Direction générale de la santé, Agence nationale de recherches sur le sida, juin 1995).

Globalement, le taux de progression de l'incidence du sida diminue dans tous les groupes de transmission: homo/bi-sexuels, toxicomanes, hétérosexuels, hémophiles, transfusés ainsi que dans le groupe dont le mode de contamination est inconnu. Si la progression est ralentie, le nombre de cas de sida continue d'augmenter dans tous les groupes, à l'exception notable de celui des hémophiles et des transfusés.

En 1993, le poids de l'épidémie apparaît très variable selon les modes de transmission. Dans le groupe des toxicomanes, l'incidence des cas de sida, proche de 1 500/100 000 personnes, est 5 fois plus élevée que chez les homo/bisexuels et 645 fois plus importante que chez les hétérosexuels. L'analyse selon le sexe montre que sur l'ensemble des cas de sida, cinq hommes sont touchés pour une femme; cependant, l'évolution dans le temps révèle que la part des femmes dans l'épidémie tend à augmenter plus rapidement que celle des hommes. Une majorité importante (plus de 80 %) des cas de sida concerne des hommes et des femmes ayant entre 20 et 49 ans.

Trois régions sont particulièrement touchées l'Ile-de-France, la Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA) et les Départements d'outre-mer (Antilles-Guyane). Cependant, l'accroissement des cas de sida tend à diminuer par rapport aux autres régions. À ces régions correspondent trois modèles de diffusion de l'infection liés à l'importance relative des comportements à risque. Ainsi, on constate une prédominance de l'infection chez les homo/bisexuels dans la région Ile-de-France, chez les toxicomanes dans la région PACA et chez les hétérosexuels dans les Antilles-Guyane.

Trois facteurs semblent corrélés de manière significative à la survie des sujets atteints de sida l'âge au moment du diagnostic, la manifestation clinique inaugurale et l'année du diagnostic.

La période sans sida s'est allongée et les sujets entrent dans la maladie sida à niveau d'immunodéficience plus élevé. Globalement, on ne constate pas d'augmentation de la survie des patients entrés dans la maladie.

Ces tendances générales sont confirmées par l'analyse des données de cohortes hospitalières dont la plus importante concerne les sujets séropositifs suivis à l'hôpital. Cette cohorte est constituée à partir d'une base de données clinico-épidémiologiques créée en 1989 et incluant plus de 33 000 sujets qui appartiennent aux différents groupes de transmission.

Description de la base de données clinico-épidémiologiques

La base de données clinico-épidémiologiques gérée par le Service commun 4 (sc4) de l'INSERM est constituée à partir du logiciel DMI 2-Dossier médical, épidémiologique et économique de l'immunodéficience, logiciel qui est la propriété du ministère en charge de la santé. Cette base comprenait, en mai 1995, les données de 44 hôpitaux*. Les critères d'inclusion dans la base sont l'infection par le VIH-1 ou le VIH-2, le fait d'être suivi dans un Centre d'Information et de Soins de l'Immuno-déficience Humaine (CISIH) et d'avoir donné son consentement éclairé par écrit. Lors du premier recours dans le CISIH, un " dossier patient " est établi, qui comprend les données invariables sur le sujet - groupe de transmission, date de première sérologie positive, notion de contage daté, antécédents cliniques de l'infection par le VIH... Les informations cliniques, biologiques et thérapeutiques sont recueillies à chaque hospitalisation - classique ou de jour - et à chaque consultation du sujet au CISIH, SI un événement clinique et/ou thérapeutique s'est produit. D'autres informations médico-économiques sont recueillies - examens prescrits, posologie, type de recours..., mais elles ne sont pas transmises au sc4; elles sont présentes dans les bases locales et dans la base médico-économique constituée à la Direction des hôpitaux. Dans la base de données, les sujets représentent 35 % des sujets séropositifs pris en charge à l'hôpital (41 % pour les sujets atteints de sida et 31 % pour les sujets sans sida).

*** Hôpitaux de la cohorte DMI 2**

Hôpitaux de Province métropolitaine: Antibes, Besançon, Caen, Clermont-Ferrand, Dijon, Grenoble, Lyon (4), Montpellier, Nancy, Nantes, Nîmes, Rennes, Rouen, Saint-Etienne, Strasbourg, Toulon, Toulouse, Tourcoing, Tours.

Hôpitaux de l'Assistance Publique Hôpitaux de Paris: Antoine Beclère, Bichat-Claude Bernard, Broussais, Cochin, Henri Mondor, Jean Verdier, Kremlin Bicetre, Laennec, Louis Mourrier, Necker adultes, Paul Brousse, Pitié-Salpêtrière, Rothschild, Saint-Antoine, Saint-Louis, Tenon.

Hôpitaux de la Région Parisienne hors AP-HP: Pasteur, Saint-Denis.

Hôpitaux des départements d'outre-mer: Guadeloupe, Guyane, La Réunion, Martinique.

Les données relatives à 33 585 sujets âgés de 15 ans et plus, suivis en moyenne 16,8 mois (suivi médian 11,5 mois), étaient incluses dans la base en mai 1995. Parmi les sujets, 78 % sont de sexe masculin; sur l'ensemble, 10 % environ ont un contage daté. À l'entrée dans la base, 25 % des sujets ont déjà développé le sida et 18 % sont dans un stade précoce de l'infection ($CD4^+ > 500/\text{ml}$). Ceux qui ont au moins deux suivis à six mois d'intervalle minimum entrent dans une cohorte hospitalière. Avec ce critère, 20 963 sujets suivis en moyenne 26 mois ont intégré la cohorte hospitalière définie à partir du DMI 2.

Les modes de transmission présumés sont les relations homo/bisexuelles pour 40 %, la toxicomanie pour 24 % et les relations hétérosexuelles pour 22 %. Au cours de la période 1989-1993, la fraction des sujets présentant un sida avéré est restée stable (34 % en 1989, 32 % en 1994); en revanche, la fraction des sujets asymptomatiques ayant moins de 200 $cD4^+/\text{ml}$ est passée de 15 % en 1989 à 22 % en 1994; en parallèle, la fraction des sujets sans sida ayant plus de 500 $cD4^+/\text{ml}$ est passée de 19 % en 1989 à 13 % en 1994. En 1993, environ 33 % des sujets avaient développé un sida et 22 % des sujets sans sida avaient moins de 200 $cD4^+/\text{ml}$.

Incidence des manifestations cliniques

Chaque année, 20 à 25 % des sujets séropositifs indus dans la base développent le sida. La figure 1-1 représente l'évolution de l'incidence de différentes pathologies au cours de l'infection par le VIH, qu'elles soient ou non inaugurales. Entre 1989 et 1993, l'incidence des pneumocystoses à *Pneumocystis carinii* a diminué de plus de 50 % et celle de la toxoplasmose de 42 %. Cette évolution est probablement liée à la généralisation des prophylaxies primaires. L'incidence de la tuberculose a diminué de 53 %; en parallèle, l'incidence des infections à mycobactéries atypiques et celle des cachexies a été multipliée par trois. Cette évolution est en partie due à une amélioration du diagnostic des infections à mycobactéries atypiques.

Après une baisse initiale de 1989 à 1991, l'incidence des sarcomes de Kaposi et des encéphalopathies dues au VIH s'est stabilisée respectivement à 5,0 pour 100 patients-années et 2,3 pour 100 patients-années.

Après une baisse initiale de 1989 à 1991, l'incidence des infections par le cytomegalovirus (CMV), des infections par les Herpesvirus (HSV) et des cryptosporidioses est remontée sur la période 1991-1993. Dans le même temps, l'incidence des lymphomes est restée stable.

La figure 1-2 représente le risque de développer un premier épisode d'une pathologie en fonction du niveau d'immunodéficience. Cette analyse est utile pour mettre en œuvre des prophylaxies au moment le plus opportun.

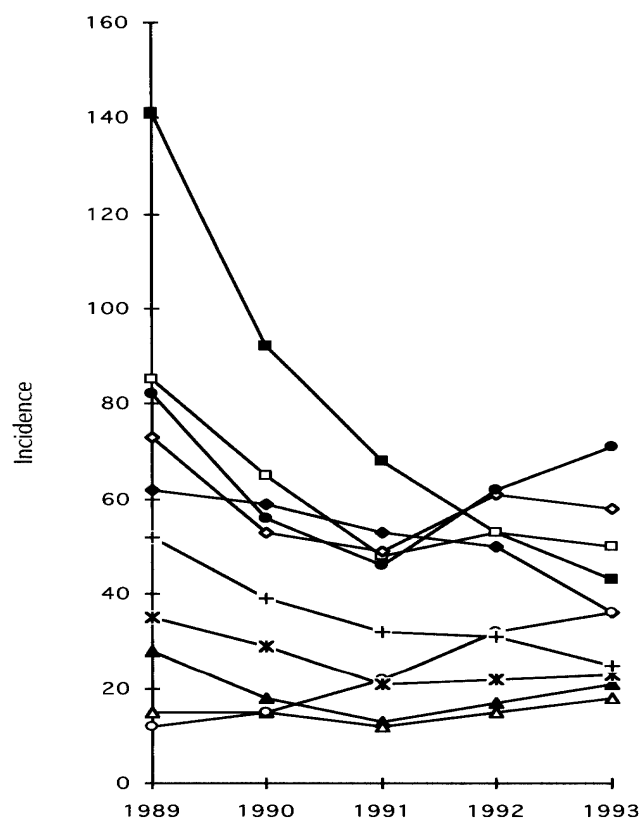


Figure 1-1 – Incidence des principales maladies opportunistes pour 1 000 patients-années. —■— Pneumocystose ; —□— Kaposi ; —◆— Toxoplasmose ; —◇— Infection à CMV ; —▲— Cryptosporidiose ; —△— Lymphomes ; —●— Infection à HSV ; —○— Infection à mycobactéries atypiques ; —*— Encéphalopathie ; —+— Tuberculose.

Seule l'infection par HSV présente un risque supérieur à 1 pour 100 personnes-années pour les sujets ayant un taux de CD4⁺ supérieur à 350/ml. Entre 200 et 350 cD4⁺/ml ce niveau de risque est atteint pour le sarcome de Kaposi, la tuberculose et la pneumocystose. Pour la toxoplasmose et l'infection à CMV, ce seuil est atteint pour des taux de CD4⁺ situés entre 100 et 200/ml. Pour les infections à mycobactéries atypiques, le risque devient supérieur à 1 pour 100 personnes-années entre 50 et 100 cD4⁺/ml.

À moins de 50 cD4⁺/ml, 1 sujet sur 4 court le risque de développer un premier épisode d'infection par le CMV, 1 sur 4 un premier épisode de pneumocystose, 1 sur 5 un premier épisode de sarcome de Kaposi ou de toxoplasmose.

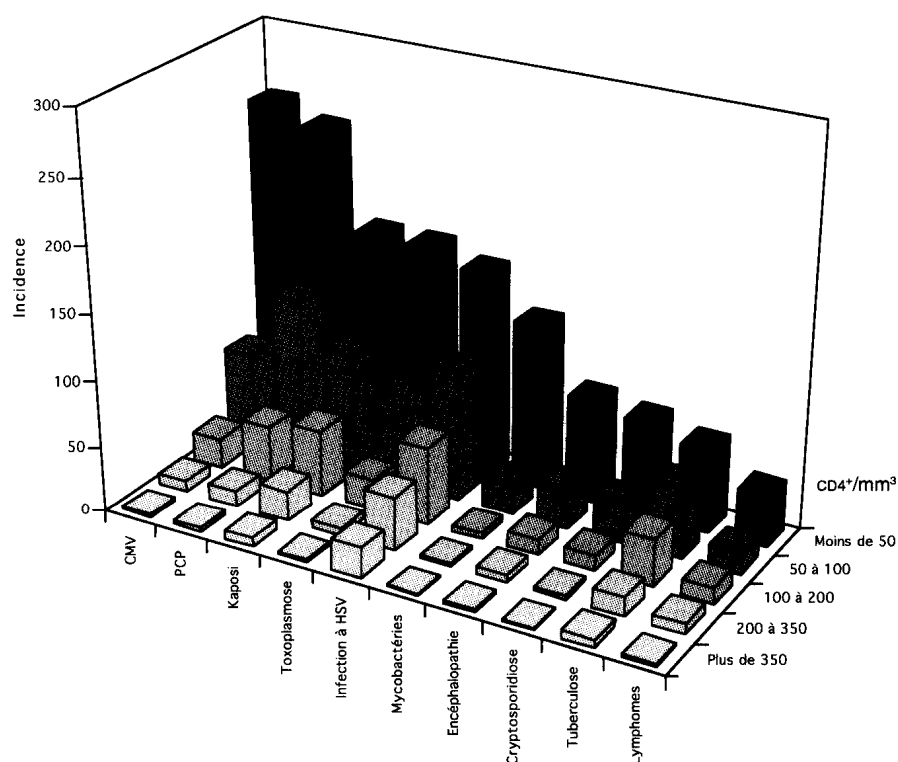


Figure 1-2 – Incidence du premier épisode de différentes maladies opportunistes pour 1 000 personnes-années, selon le nombre de CD4⁺/mm³.

Le tableau 1-I présente l'estimation du nombre de premiers épisodes de chacune des pathologies observés pour l'année 1993 en France. La répartition des diverses pathologies est assez différente de la répartition des pathologies au moment du diagnostic du sida. Ainsi, l'infection par le CMV apparaît la plus fréquente au cours de l'infection par le VIH, alors qu'elle n'est que la cinquième pathologie la plus détectée au moment du diagnostic du sida.

Tableau 1-I – Estimation du nombre de premier épisode des pathologies les plus fréquentes chez les sujets vus à l'hôpital (1993)

Pathologie	Estimation du nombre
Candidose buccale	6 000
Infection à HSV	2 300
Candidose autre que buccale	2 300
Infection à CMV	1 700
Sarcome de Kaposi	1 700
Pneumocystose à P. Carinii	1 500
Infection à mycobactérie atypique	1 300
Toxoplasmose cérébrale	1 300
Infection à Mycobacterium Tuberculosis	1 000
Encéphalopathie due au VIH	800
Cryptosporidiose	800
Syndrome cachectique	700
Lymphome	700

Entre 1989 et 1994, la proportion de sujets asymptomatiques ne recevant ni antirétroviraux ni prophylaxie contre la pneumocystose et la toxoplasmose et ayant moins de 200 cD4⁺/ml est passée de 34 % à 9 %, tandis que pour les sujets asymptomatiques ayant 200 à 350 cD4⁺/ml, cette proportion a diminué de 69 % à 36 %. En 1994, 8 % des sujets du premier groupe reçoivent, dans le cadre d'un essai, au moins un traitement (antirétroviral où prophylactique contre la pneumocystose et/ou la toxoplasmose), 61 % reçoivent ces deux traitements, 14 % ont seulement un traitement prophylactique et 8 % suivent un traitement antirétroviral. Pour les sujets ayant entre 350 et 200 cD4⁺/ml, ces pourcentages sont respectivement de 8 %, 24 %, 6 % et 26%.

En 1994, la zidovudine (AZT) restait l'antirétroviral le plus prescrit devant la didanosine (ddI); 2,3 % des patients ayant développé le sida et 2,5 % des patients exempts de sida ayant moins de 200 cD4⁺/ml recevaient de la lamivudine (3TC) seule ou associée à l'AZT.

Les enjeux économiques du sida

L'ensemble des ressources consacrées à la lutte contre le VIH (soins, prévention, aide sociale, dépistage, recherche) représente, pour la seule année 1993, 5,348 milliards de francs, soit environ 0,7 % de la dépense nationale de santé. Ce pourcentage indique que le sida, en tant que problème de santé publique, ne constitue pas aujourd'hui un enjeu financier majeur dans notre pays (Souteyrand, 1992). Cette situation pourrait cependant évoluer sous l'influence de différents paramètres, en particulier le développement de nouvelles thérapeutiques coûteuses et l'allongement de la durée de vie des malades qui en résultera.

L'émergence du sida a favorisé le développement d'innovations en matière de prise en charge - réseau ville/hôpital - et a accéléré certaines évolutions - soins à domicile, associations de malades, informations médicalisées... La dimension économique et sociale de La pathologie en est renforcée. La réflexion sur les enjeux économiques liés à l'infection par le VIH en France a été menée conjointement par les chercheurs en économie de la santé et par les administrations responsables de la prise en charge de cette pathologie, notamment par la Direction des hôpitaux. La base de données DMI 2, qui permet de recueillir une information sur les recours aux services de santé et la consommation médicale des patients hospitalisés, constitue une source d'information majeure sur cette question. D'autres travaux de recherche sont réalisés à partir d'une collecte d'informations spécifiques, principalement au sujet de patients ayant recours aux prestations des établissements hospitaliers (ANRS, 1994).

Nous limiterons ce propos aux analyses centrées sur la prise en charge des patients contaminés par le VIH. Les travaux sont articulés autour de deux thématiques

- les composantes du coût de la prise en charge;
- l'analyse de la diversité des modes de prise en charge.

Composantes du coût de la prise en charge

Les dépenses consacrées à la prise en charge médicale représentent près de 70 % de l'ensemble des dépenses liées à la lutte contre le sida (3 728 millions de francs). Les dépenses hospitalières en représentent la plus grande partie. Selon l'évaluation de la Direction des hôpitaux, elles s'élèvent à 1 % de la dépense hospitalière totale. En termes de nombre de malades, la file active hospitalière en 1993 représente 55 500 individus (dont 22 000 sont également pris en charge en secteur ambulatoire). 8 500 personnes sont prises en charge par le seul secteur de ville. Les dépenses en soins ambulatoires ne représenteraient que 115 millions de francs.

À l'hôpital, les dépenses consacrées aux médicaments antiviraux représentent 429 millions de francs, soit 12 % de la dépense hospitalière totale. Cette proportion est en augmentation par rapport à 1990 (10 % à l'époque).

En 1993, le coût total annuel de la prise en charge hospitalière d'un patient atteint par le VIH est évalué par la Direction des hôpitaux à:

- 29 000 francs pour les personnes séropositives asymptomatiques;
- 40 000 francs pour les personnes souffrant de formes mineures de pathologies liées à l'infection par le VIH;
- 141 000 francs pour les patients en phase de sida avéré.

Au cours des dernières années, les modalités de prise en charge de l'infection par le VIH ont évolué. Pour un ensemble de patients accueillis le même jour à l'hôpital du fait de leur contamination, la proportion de ceux pris en charge en hospitalisation complète a diminué, tandis que les prises en charge externes augmentent. Cette évolution est particulièrement marquée pour les personnes séropositives qui ne sont pas en phase de sida avéré. La durée moyenne de séjour des patients atteints de sida avéré est passée pour la même période de 18 à 14 jours (10 à 8 jours pour les patients séropositifs non atteints de sida avéré). Il en résulte sur l'année un temps d'hospitalisation plus court.

Le constat d'une prise en charge plus fréquemment externe renforce la nécessité d'explorer " la production domestique " de soins pour les patients porteurs du VIH. Des soins peuvent ainsi être prodigués par des personnes non professionnelles de la santé - entourage familial, volontaires d'association, patients eux-mêmes. Les résultats d'une enquête menée auprès de 100 patients en hospitalisation à domicile à l'assistance publique de Paris en 1990 ont montré que la participation des malades et de leur entourage est importante en volume et en technicité (Bungener, 1994). La comptabilisation, à leur coût professionnel, de gestes médicotecniques répétés alourdirait considérablement la charge financière.

Diversité des trajectoires de soins et des pratiques médicales

L'analyse de la diversité des pratiques de prise en charge des patients porteurs du VIH a été entreprise dans différentes recherches (Bungener, 1993; Buchet et coll., 1991; Flori et Kerleau, 1994).

Ces recherches ont un double objectif décrire et évaluer l'hétérogénéité des modes de prise en charge et des pratiques médicales en tenant compte de la variabilité induite par la gravité des cas, puis tenter d'appréhender les déterminants de cette hétérogénéité.

L'analyse de 2 920 dossiers de patients hospitalisés dans 7 centres hospitaliers, entre le dernier trimestre 1992 et le premier semestre 1993, fait apparaître une grande hétérogénéité dans la prise en charge thérapeutique des patients (Flori et Kerleau, 1994). Le nombre de médicaments prescrits est plus élevé lors d'une hospitalisation complète, en comparaison d'une hospitalisation de jour et a fortiori d'une consultation externe. De la même manière, les patients atteints de sida avéré font l'objet, à chaque consultation, d'un plus grand nombre de prescription que les patients dans les phases les moins graves. Toutes choses égales par ailleurs - et en particulier la gravité des cas traités sur chaque site - le nombre moyen de prescriptions par centre est très variable (2,53 à 3,93). Des résultats analogues sont obtenus si l'on analyse le nombre moyen de prescriptions biologiques et non biologiques par patient.

Buchet et coll. (1991) démontrent, pour leur part, que les profils de trajectoire des patients, représentés par la succession des contacts avec le système de soin hospitalier et ambulatoire, sont très hétérogènes. En particulier, ces trajectoires diffèrent significativement selon le mode de contamination.

La compréhension des mécanismes conduisant à une telle diversité est une question qui préoccupe les chercheurs mais aussi les responsables de santé. En effet, la diversité des pratiques peut être à l'origine des dépenses et coûts de prise en charge et soulève des questions relatives au fonctionnement des services hospitaliers. Cette diversité pourrait par exemple être induite à la fois par une expérience variable de la maladie liée à l'ancienneté de l'implication des services dans le VIH et du nombre de cas suivis, et également par les caractéristiques sociales de la majorité des malades accueillis (Bungener, 1993).

En conclusion, ce type de résultats renforce la nécessité de mieux connaître le rapport coût/efficacité des différentes interventions et des différentes stratégies thérapeutiques mises en œuvre dans le cadre de l'infection par le VIH. Différents travaux, de type pharmaco-économique et essentiellement d'origine anglo-saxonne, ont été réalisés (Oddone et coll., 1993; Bozzette et coll., 1994; Simpson et coll., 1994). Cependant, les stratégies thérapeutiques développées dans le cadre de l'infection par le

VIH sont très évolutives nouvelles molécules, nouveaux traitements évalués dans le cadre d'essais thérapeutiques, qu'il s'agisse d'antiviraux ou de traitements préventifs ou curatifs des infections opportunistes, adaptation des posologies... Dans ce contexte, la publication des résultats des évaluations, alors même que les stratégies étudiées sont caduques, en rend les conclusions extrêmement fragiles.

BIBLIOGRAPHIE

- ANRS. Les recherches en économie de la santé. *ANRS-Information* 1994, 12: 20-25
- BOZZETTE S. PARKER R. HAY J. COST A. Analysis of approved antiretroviral strategies in persons with advanced human immunodeficiency virus disease and zidovudine intolerance. *Journal of Aids*, 1994, 7: 355-362
- BUCHET P. FLORI YA, TRIOMPHE A, DELFRAISSY JF. Le parcours des patients atteints par le VA entre l'hôpital et la ville - Déterminants des filières de soins. *Rapport de fin de recherche. DH, Université de Paris I* décembre 1991.
- BUNGNER M. Décision thérapeutique et gestion de l'infection par le VIH: une approche de la diversité des modalités de prise en charge. *Sciences Sociales et Santé*, vol. XI, N°3, octobre 1993: 5-48.
- BUNGNER M. Les soins à domicile des malades souffrant du sida: une décision consensuelle et une nécessaire coopération du patient et de son entourage. - Les personnes atteintes - des recherches sur leur vie quotidienne et sociale. *Collection Sciences Sociales et SIDA - ANRS*. Octobre 1994: 73-84.
- DIRECTION DES HOPITAUX (DH). *SUA. Les chiffres clés*, décembre 1994.
- FLORI YA, KERLEAU M. Analyse de l'hétérogénéité dans la prise en charge des malades infectés par le VIH - une méthode centrée sur le DMI2. *Rapport de fin de contrat de définition, INSERM U 357*, octobre 1994.
- ODDONE EZ, COWPER P et coll. Cost effectiveness analysis of early zidovudine treatment of HIV infected patients. *Br Med J* 1993, 307: 1322-1325
- SEROR V, LE GALES C. L'évaluation économique du dépistage du sida chez les femmes enceintes. *Rapport de recherche, INSERM U 357*, décembre 1994.
- SIMPSON K. HATZIANDREU EJ et coll. Cost effectiveness of antiviral treatment with zalcitabine plus zidovudine for AIDS patients with CD4+ counts less than 300/ μ l in 5 european countries. *PharmacoEconomics* 1994, 6: 553-562
- SOUTEYRAND Y. Le prix d'un virus. *Autrement, L'homme contaminé*, mai 1992.
- TRIOMPHE A, FLORI YA. Ambulatory case and evolution of the HIV. *Infection in France* octobre 1992.
- VIENS-BITKER C, BLUM BOISGARD et coll. Le Coût de l'infection à VIH: méthodes et résultats. *Rev Epidémiol Santé Publique* 1991, 39: 25-36.

Le point de vue de l'industrie

Malgré l'importance des moyens débloqués en faveur de la recherche sur l'infection par le VIH, force est de constater que cette recherche connaît une stagnation de sa productivité. Le faible nombre de médicaments efficaces mis sur le marché en témoigne clairement.

Depuis plus d'une décennie, les programmes de recherche se sont diversifiés non seulement dans le domaine de la rétrovirologie, mais aussi dans le champ des pathologies associées au sida, telles les maladies infectieuses opportunistes ou les troubles digestifs et neuroencéphaliques. L'amélioration de la qualité de vie est un objectif important de recherche car les patients souffrent non seulement de l'infection en elle-même mais également des effets délétères, pénibles et invalidants, de certains traitements. Les raisons du relatif déclin des découvertes pharmacologiques et thérapeutiques méritent une analyse approfondie. Cette analyse doit porter sur divers points :

- l'adéquation des moyens par rapport aux programmes de recherche;
- la qualité des partenariats entre le secteur public et le secteur privé afin d'exploiter les synergies scientifiques et technologiques;
- la nature et l'importance des efforts de recherche dans le champ des pathologies associées au sida;
- la qualité et l'organisation des essais thérapeutiques contrôlés;
- l'étude des facteurs interférant sur la qualité de vie des patients.

L'industrie pharmaceutique et biotechnologique est reconnue comme un partenaire privilégié des institutions publiques de recherche. Elle offre en effet des compétences complémentaires souvent indispensables au développement de concepts innovants ou d'entités chimiques nouvelles. L'apport de la recherche industrielle peut s'exprimer dans divers domaines d'expertise

- la synthèse chimique et toutes ses extensions, comme la chimie combinatoire et la modélisation moléculaire;

- les banques de molécules souvent bien décrites au plan structural;
- les méthodes de criblage à grande échelle, souvent automatisées;
- les modèles validés de pharmacologie ou de toxicologie prédictives;
- les approches successives du développement préclinique d'une nouvelle entité chimique;
- les méthodes de développement clinique, dans le strict respect des procédures de bonnes pratiques cliniques;
- les moyens de développement galénique;
- les techniques de transposition d'une production à l'échelon industriel, dans le respect des bonnes pratiques de fabrication;
- les procédures de gestion de projets, de planification des tâches et de contrôle financier, dans le respect des plans.

On peut aisément imaginer l'aide qu'une industrie focalisée sur le médicament peut apporter à la recherche publique si elle le souhaite, notamment dans les programmes de synthèse chimique, de criblage, de développement préclinique et clinique, voire de transposition industrielle.

Une collaboration fructueuse entre divers partenaires repose sur l'identification précise des facteurs clés de succès, à savoir

- Identifier de véritables synergies scientifiques et techniques dans le vaste champ opératoire que constituent les recherches sur le rétrovirus VIH, sur les infections opportunistes favorisées par l'immunodépression, sur les problèmes nutritionnels, sur les troubles digestifs, sur les altérations neurologiques périphériques et centrales, sur le développement de nouvelles formulations galéniques susceptibles d'améliorer l'observance thérapeutique et la qualité de vie des patients.
- Aménager les modalités d'un partenariat renforcé focalisé sur les complémentarités des divers acteurs, sur la mise en place de services communs, sur la dynamisation de groupes de projets et sur la création d'entreprises. . .
- Privilégier la pertinence médicale des axes de recherche, tout en veillant à respecter les impératifs de gestion des entreprises, génératrices de biens et de progrès, mais aussi attachées à rationaliser les prises de risque financier, les modalités des retours d'investissements, les règles de propriétés intellectuelle et industrielle.

Ces considérations soulignent la volonté réelle de l'industrie pharmaceutique de participer aux progrès thérapeutiques, notamment dans le domaine des grands fléaux médicaux, tel le sida, et dans le cadre de partenariats scientifiques et financiers avec la recherche publique et les autorités de tutelle.

Un nouveau concept pour l'infection virale

Pendant longtemps, et bien que plusieurs théories aient été avancées, la physiopathologie de l'infection par le VIE demeurée une énigme.

La conception qui prévaut aujourd'hui en matière d'infection par le VIH tend à se rapprocher du modèle adopté pour l'hépatite virale chronique active, liée au virus de l'hépatite B. Dans ce modèle, l'infection persistante des hépatocytes entraîne une destruction progressive des structures cellulaires et fonctionnelles du foie. Cette destruction n'est pas le fait de la réplication virale elle-même, mais celui de la réponse immune anti-virale, accompagnée de son cortège d'inflammation et de fibrose. Sur le plan de l'histoire clinique de l'infection, les fonctions hépatiques sont maintenues pendant une première phase, même si des perturbations biologiques peuvent être détectées. Dans une seconde phase, l'insuffisance hépatique “ décompense ” et devient cliniquement patente. Du fait des fonctions hépatiques “ à distance ”, on observe aussi des troubles secondaires (neurologiques, osmotiques, hématologiques) là où il n'y a jamais eu d'infection virale significative.

Par analogie avec le modèle de l'hépatite B, le déficit immunitaire du sida n'est-il pas simplement la conséquence d'une adénite rétrovirale chronique active ? Cette adénite serait secondaire à la réponse immune dirigée contre le virus qui se réplique dans des cellules du ganglion. Au terme d'une période d'évolution détruisant progressivement les cellules et la structure fonctionnelle des organes lymphoïdes, l'insuffisance ganglionnaire “ Récompense ” et entraîne des troubles immunologiques et des manifestations secondaires dans les systèmes qui interagissent avec les ganglions.

Une telle conception du sida nécessite donc que soient approfondis différents points

- les mécanismes qui permettent la persistance de l'infection;
- la nature exacte des cellules cibles de la réplication virale;

- les mécanismes de la destruction des cellules et de leur organisation tissulaire;
- les conséquences fonctionnelles d'une destruction des organes lymphatiques périphériques.

L'appellation “ virus des lymphadénopathies ” (LAV) pour le VIH était donc bien mieux appropriée si l'on se réfère à la physiopathologie de l'infection.

Stratégies virales: persistance et latence

Selon la théorie de la sélection naturelle appliquée aux virus, ce que l'on appelle (abusivement) stratégie virale ne vise que la production d'un nombre maximal de descendants viraux. Il faut alors distinguer la production de virus dans l'organisme (invasion) et la transmission du virus aux autres organismes (contagion). Le point qui nous concerne, la pathogenèse, n'est pas pris en compte par la stratégie virale, à moins qu'elle n'interfère avec l'invasion ou la contagion. Par contre, un des principaux “ prédateurs ” du virus qui devra être pris en compte par la stratégie virale est la réponse immune.

Les trois éléments “ invasion ”, “ contagion ” et “ réponse immune ” sont liés. En effet, les caractéristiques de l'invasion - abondance virale, nature des cellules cibles - déterminent la probabilité de contagion mais aussi les possibilités d'échappement immunitaire. Ainsi, on peut schématiquement définir deux stratégies d'infection virale, aiguë ou chronique

- Infection aiguë (invasion/contagion)

Les caractéristiques de l'invasion permettent la contagion vers un second organisme immunologiquement naïf avant l'élimination immunitaire dans le premier organisme. C'est la capacité répliquative qui est sélectionnée dans ce cadre. Elle est souvent responsable des effets pathogènes, en particulier par effet lytique direct (effet cytopathogène). Par ailleurs, comme le virus ne peut vivre que dans les délais de mise en route de la réponse immune, la vaccination qui raccourcit ces délais est une excellente solution préventive. Aucun de ces éléments n'est applicable au VIH.

- Infection chronique (persistance)

Les caractéristiques de l'invasion ne permettent pas à la contagion de s'effectuer avant l'apparition de la réponse immune. C'est la capacité de persistance qui est alors sélectionnée. La contrainte d'échappement immunitaire interdit la production massive de virus, et les effets pathogènes liés à la réplication virale elle-même restent mineurs. Les délais de mise en œuvre de la réponse immune ne sont plus essentiels à la stratégie virale et le raccourcissement de ces délais par vaccination ne sera par conséquent pas efficace. C'est dans ce cadre qu'il faut envisager l'infection par le VIH.

On notera que l'échappement immunitaire est partiel, c'est-à-dire qu'il ne concerne qu'une partie de la population virale infectante. Le caractère partiel de l'échappement est un mauvais compromis hôte-virus mauvais pour le virus dont la charge est diminuée, et mauvais pour l'hôte qui attaque de manière chronique ses propres cellules infectées.

Relativiser la baisse des Lymphocytes CD4⁺ circulants

La diminution du nombre de lymphocytes CD4⁺ circulants, observée dès la description des premiers cas de sida, reste encore aujourd'hui un des phénomènes les plus “ visibles ” au cours de l'infection par le VIH. C'est aussi le paramètre le plus utilisé pour quantifier l'évolution clinique. Cependant, les mécanismes de cette diminution ont toujours été l'objet de nombreuses discussions. Cette controverse chronique se nourrit des restes des postulats initiaux de Klatzmann et coll. (1984), qui sont les suivants

- le lymphocyte CD4⁺ est la principale cellule cible de l'infection, puisque, en culture cellulaire, on observe que la molécule CD4 est le récepteur viral;
- l'immunodéficience résulte de la disparition des lymphocytes CD4⁺, puisqu'une diminution progressive des lymphocytes CD4⁺ circulants est observée.

À partir de ces deux affirmations, un modèle physiopathologique fut proposé où l'immunodéficience résulterait de la disparition des lymphocytes CD4⁺, qui elle-même serait une conséquence directe de leur infection. Selon ce postulat, le sida découlait du déficit immunologique en cellules CD4⁺. Ce schéma s'est montré difficile à accepter étant donné le taux très faible d'infection des lymphocytes CD4⁺ et leur capacité élevée à se renouveler.

Seul a été remis en cause le fait que la chute du taux de cellules CD4⁺ résulterait de leur infection par le VIH, sans vraiment remettre en cause l'hypothèse que l'immunodéficience serait une conséquence de l'effondrement du taux de lymphocytes CD4⁺. Ainsi, certains auteurs ont proposé des mécanismes indirects (apoptose, effet *bystander*...) expliquant la disparition physique ou fonctionnelle des cellules CD4⁺ non infectées. En l'absence d'infection des lymphocytes CD4⁺, la disparition “ à distance ” de ces derniers nécessiterait l'action d'un messenger chimique non infectieux l'enveloppe libre, une protéine virale diffusible, des virus défectifs, la particule virale effectuant un mystérieux *hit-and-go* ou certaines cytokines pourraient remplir ce rôle.

En suivant cette logique, on arrive à un modèle qui dissocie virologie et physiopathologie les cellules dites “ cibles ” sont rarement la cible de l'infection virale. Par contre, elles seraient surtout la cible de substances pathogènes et non infectieuses, qui ont le même tropisme que le virus. On peut bien sûr se demander où seraient produites ces substances, surtout

s'il s'agit de protéines virales. Le piège est évident. Certains auteurs sont allés jusqu'à totalement innocenter l'infection virale. C'est l'hypothèse du sida sans infection par le VIH (paradoxe de Duesberg). On a aussi proposé l'intervention de "collecteurs". Face à un facteur-virus dont la présence est clairement indispensable, les cofacteurs proposés, aussi répandus chez les groupes malades que non malades, n'ont pas emporté l'adhésion. Le mycoplasme, notamment, est à la fois ubiquitaire, polymorphe et difficile à détecter. Autrement dit, si le cofacteur est partout, c'est le facteur seul qui fait la différence et qui importe réellement. Le rôle exact joué par le taux de lymphocytes CD4⁺ circulants dans l'installation de l'immunodéficience reste pour le moins obscur. Il semble que la baisse du nombre de cellules CD4⁺ pourrait n'être qu'une conséquence secondaire de l'infection d'autres cellules et/ou de la destruction de structures cellulaires (organes). Ces phénomènes constitueraient ainsi la cause primitive de l'immunodéficience. Ces "autres cellules ou structures cellulaires" devraient être recherchées en priorité là où l'on sait depuis fort longtemps que l'infection virale est cliniquement et histologiquement significative, c'est-à-dire dans les ganglions lymphatiques. Il faut noter ici que le ganglion lymphatique est une zone importante d'interactions, malheureusement mal élucidées, entre trois types cellulaires dont les liens avec le VIH ont été abondamment documentés : les lymphocytes CD4⁺, les macrophages et les cellules folliculaires dendritiques. Les lymphocytes CD4⁺ sont donc à considérer plutôt en tant que constituants ganglionnaires qu'en tant que cellules cibles initiatrices du déficit.

Persistance et latence

Les lentivirus sont une famille de rétrovirus capables de persister dans l'organisme de l'hôte, malgré le développement de la réponse immune. Chez les primates non humains dans leur milieu naturel, les lentivirus ne sont pas pathogènes. Le lentivirus VIH, responsable du sida chez l'Homme, apparaît donc comme une exception. Ainsi, l'immunodéficience, dont certaines manifestations biologiques peuvent être observées dans les phases précoces de l'infection, n'apparaît pas comme un élément nécessaire à la persistance lentivirale.

L'étude des mécanismes de la persistance des lentivirus est devenue un objectif prioritaire en virologie. Il est intéressant de noter que ce problème de la persistance est aussi abondamment étudié en microbiologie et en parasitologie, et que les stratégies employées par les micro-organismes pour contrer la réponse immune présentent de nombreux points communs (Mitchell, 1991). Quelques notions de base sur la persistance virale (Oldstone, 1991, pour revue) sont à retenir.

D'après des études déjà anciennes sur les lentivirus des Ongulés, notamment sur le virus Visna du mouton (Haase, 1986, pour revue), le virus

dispose de trois stratégies pour ne pas être détecté par la réponse immune la latence (pas d'antigène), la variabilité (nouvel antigène), et la faible visibilité immunologique (non-antigène)

- La latence (pas d'antigène) consiste en un arrêt de la synthèse des protéines virales. Le virus est présent uniquement sous la forme de matériel génétique. Cette tactique, qui implique le ralentissement ou l'arrêt de la multiplication virale, n'est utilisée que de façon partielle ou transitoire un arrêt complet et définitif de sa multiplication implique la mort du virus. Il s'agit ici d'une latence définie au niveau cellulaire (restriction d'expression des gènes viraux) et non au niveau clinique. En effet, l'état de latence cellulaire n'est pas nécessairement établi de façon synchrone dans toutes les cellules cibles et peut s'accompagner de symptômes. Réciproquement, la latence clinique peut être accompagnée de réplication virale c'est notamment le cas chez les personnes séropositives pour le VIH.
- La variabilité (nouvel antigène) est une stratégie classique des microorganismes persistants: du fait des délais de mise en route de la réponse immunitaire, l'organisme présente toujours un temps de retard sur les variante antigéniques effectivement présents dans l'organisme.
- La faible visibilité immunologique (non-antigène) consiste pour le virus à assurer son invisibilité par rapport au système immunitaire. Par rapport à la latence qui consiste à réduire la quantité d'antigène, la stratégie “ non-antigène ” consiste à réduire la qualité des antigènes. Pour la mettre en œuvre, le virus dispose de plusieurs options, comme celles de perturber les systèmes de reconnaissance des protéines étrangères ou de prendre l'aspect des protéines de l'organisme (mimétisme moléculaire).

Variabilité

Dans le cas du VIH, la variabilité a été abondamment étudiée (Myers et coll., 1992, pour revue). Les enzymes responsables de la réplication du génome - transcriptase inverse, ARN polymérase - introduisent environ 1 erreur pour 10 000 nucléotides. La longueur du génome viral étant d'environ 10 000 nucléotides par cycle réplcatif, on peut approximativement considérer que chaque génome viral est unique. L'intense réplication du virus, donc le nombre de cycles réplcatifs, entraîne une accumulation des erreurs. S'ajoutant à la continuelle contrainte qu'exerce sur lui une réponse immune très forte, ceci explique assez bien, parce que cela dure des années, la sélection de variante même très minoritaires à un moment donné. L'organisme est de ce fait infecté par une population de virus apparentés. Plusieurs études récentes ont révélé qu'au sein de ces populations virales, il pouvait exister d'un virus à l'autre d'importantes différences de propriétés biologiques, notamment en ce qui concerne le

tropisme cellulaire, l'effet cytopathogène et la vitesse de réplication. La variabilité ne retient donc pas seulement sur les caractéristiques des protéines de surface qui constituent la cible privilégiée de la réponse immune. Quelle que soit la difficulté rencontrée par cette population à grande capacité adaptative, il existe au moins un virus capable d'y survivre. C'est ce virus qui constituera l'ancêtre de la population virale future. On se trouve donc en présence d'un schéma très classique d'évolution par sélection naturelle, sur des échelles de temps très courtes. Bien entendu, c'est cette capacité adaptative qui justifie d'intensifier la recherche d'antiviraux et de tester des combinaisons de molécules.

Dynamique a évolutive ” des phénotypes viraux

Le virus peut associer plusieurs stratégies dans ses interactions avec l'organisme. Lors de la primo-infection, on détecte surtout des virus capables de se répliquer rapidement. En l'absence de pression immunologique, la sélection naturelle favorise en effet les génomes qui se multiplient le plus vite. La phase suivante correspond à l'activité maximale de la réponse immune les virus multiplicatifs sont détectés et détruits. Par contre, les virus qui se multiplient moins et présentent donc moins efficacement leurs protéines à l'organisme pourront survivre. C'est la période de séropositivité Symptomatique, caractérisée par une détection majoritaire de virus faiblement répliatifs et l'accumulation de variante antigéniques (Nowak et coll., 1991). Intervient aussi le fait que le premier antigène reconnu l'est ensuite mieux que ses variante. La stimulation par ceux-ci relance plutôt la réponse contre ce premier que contre eux-mêmes (“ péché originel antigénique ”). Il est donc fréquent que le sujet ne présente pas d'anticorps contre le virus qu'il porte au même moment mais conserve sa réponse initiale contre un variant éliminé.

Dans les phases terminales, la “ décompensation ” immunologique laisse le virus - et autres agents opportunistes - libres de se multiplier activement. Les virus rapides redeviennent majoritaires et entraînent une augmentation accélérée de la charge virale dans l'organisme. On remarquera que selon ce modèle, la réapparition des virus rapides est la conséquence et non la cause de l'immunodéficience, comme cela a pu être proposé. C'est le stade clinique du sida.

Adaptation et virulence: le mystère des singes d'Afrique

En théorie, l'évolution à long terme d'un lentivirus comme le VIH devrait tendre à sélectionner progressivement les variante les moins immunogènes, c'est-à-dire ceux dont la structure est la moins efficacement détectée. La poursuite permanente des variante antigéniques par le système immunitaire devrait donc pousser le virus dans une cachette immunologique absolue et définitive.

Pour obtenir une telle adaptation, il est nécessaire que le virus soit maintenu dans un environnement immunologique stable. En d'autres termes, il faut que le virus reste pendant de longues périodes à l'intérieur d'un petit groupe d'individus génétiquement proches les uns des autres. En effet, le passage du virus vers un groupe d'individus différents annulerait la " transparence " obtenue précédemment. Comme le virus du sida est transmis par voie sexuelle, c'est-à-dire parallèlement aux gènes, il est possible qu'il ait été maintenu dans un contexte génétique restreint avant l'explosion de l'épidémie actuelle. Des modifications initiales d'ordre épidémiologique auraient donc abouti à augmenter la fréquence mais aussi la pathogénicité de l'infection.

La stratégie " non-antigène " constitue un compromis intéressant pour l'hôte et le virus. En effet, ni le virus ni les cellules infectées ne sont détruits une relation d'équilibre entre un hôte et un virus s'est établie. Une telle atténuation adaptative de l'immunogénicité fait partie des hypothèses avancées pour expliquer, au moins en partie, l'absence de maladie au cours de l'infection naturelle, par le virus SIV, de certains singes d'Afrique tels que le singe vert, le mangabey enfumé ou le chimpanzé. Certaines équipes ont noté chez ces espèces simiennes la présence d'une charge virale élevée sans diminution des cellules T4, ainsi que l'absence de certains anticorps (anticorps anti-P25) qui sont présents en abondance au cours du sida humain. La possibilité de détruire cette adaptation entre l'hôte et le virus au cours d'une transmission interespèces soutient aussi cette hypothèse le passage d'un virus provenant d'un mangabey asymptomatique à un macaque asiatique, qui n'est pas l'hôte naturel du virus, fait apparaître la pathologie. La virulence s'accroît encore lors d'un retour du virus dans son espèce d'origine. En d'autres termes, le passage du virus par un hôte inhabituel, le singe rhésus, pourrait avoir détruit l'équilibre établi avec le système immunitaire du mangabey.

Un tel modèle d'accentuation de la virulence n'implique pas une origine simienne pour le virus du sida. La diversité immunologique est suffisante au sein de l'espèce humaine pour déstabiliser un équilibre hôte-virus qui aurait pu s'établir dans certaines populations isolées. Un tel modèle pourrait aussi expliquer la plus faible virulence du virus VIH2, dont la diffusion épidémique est encore essentiellement limitée à l'Afrique Occidentale.

BIBLIOGRAPHIE

BALTIMORE D. The enigma of HIV infection. *Cell* 1995, 82: 175-176
CHAKRABARTI L, CUMONT MC, MONTAGNIER L, HURTREL B. Variable course of primary simian immunodeficiency virus infection in lymph nodes: relation to disease progression. *J Virol* 1994, 68: 6634-6643

CHAKRABARTI L, ISOLA P, CUMONT MC, CLAESSENS-MAIRE MA, HURTREL M, MONTAGNIER L, HURTREL B. Early stages of simian immunodeficiency virus infection in lymph nodes. Evidence for high viral load and successive population of target cells. *Am J Pathol* 1994, 144: 1226-1237

COFFIN JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis and therapy. *Science* 1995, 267: 483-489

CONNOR RI, HO OD. Human immunodeficiency virus type 1 variants with increased replicate capacity develop during the asymptomatic stage before disease progression. *Virus* 1994, 68: 4400-4408

FAUCI AS. Immunopathogenesis of HIV infection. *Ann. N.Y. Acad Sci* 1993, 685: 408-419

GIBBS JS, LACKNER AA, LANG SM, SIMON MA, SEHGAL PK, DANIEL MD, DESROSIERS RC. Progression to AIDS in the absence of a gene for vpr or vpx. *J Virol* 1995, 69: 2378-2383

HAASE AT. Pathogenesis of lentivirus infections. *Nature* 1986, 322: 130-136

HUANG YX, ZHANG LQ, HO DD. Characterization of nef sequences in long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 1995, 69: 93-100

KIRCHHOFF F, GREENOUGH TC, BRETTLER DB, SULLIVAN JL, DESROSIERS RC. Brief report: absence of intact nef sequences in a long-term survivor with non progressive HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1995, 332: 228-232

KLATZMANN D, CHAMPAGNE E, CHAMARET S, GRUEST J, GUETARD D, HERCEND T, GLUCKMAN JC, MONTAGNIER L. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984, 312: 767-768

MARLINK R, KANKI P, THIOR I, TRAVERS K, EISEN G, SIBY T, TRAORE I, HSIEH CC, DIA MC, GUEYE EH, HELLINGER J, GUEYE-NDIAYE A, SANKALE JL, NDOYE I, MBOUP S, ESSEX M. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science* 1994, 265: 1587

MITCHELL GF. Co-evolution of parasites and adaptive immune response. *Immunoparasitology Today*. Ash and Gallagher eds (Cambridge: Elsevier Trends Journals): A2-A6.

MYERS G, MACINNES K, KORBER B. The emergence of simian/human immunodeficiency viruses. *AIDS, research and Human Retroviruses* 1992, 8: 373-386.

NOWAK MA, ANDERSON RM, MCLEAN AR, WOLFS TFW, GOUD-SMITH J, MAY RM. Antigenic diversity thresholds and the development of AIDS. *Science* 1991, 254: 963-969.

OLDSTONE MD. Molecular anatomy of viral persistence. *J Virol* 1991, 65: 6381-6386.

PANTALEO G, GRAZIOSI C, DEMARESI JF, BUTIN L, MONTRONI M, EOX CH, ORENSTEIN JM, KOTLER DP, FAUCI AS. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 1993, 362: 355

PANTALEO G, GRAZIOSI C, FAUCI AS. The role of lymphoid organs in the pathogenesis of HIV infection. *Immunology* 1993, 5: 157-163

PANTALEO G, GRAZIOSI C, FAUCI AS. The role of lymphoid organs in the immunopathogenesis of HIV infection. *AIDS* 1993, 7: 19-23

PATTERSON S, GROSS J, ENGLISH N, SACKROOLE A, BEDFORD P, KNIGHT SC. CD4 expression on dendritic cells and their infection by human immunodeficiency virus. *J Gen Virol* 24/1995, 76: 1155-1163

SONIGO P. GIRARD M. DORMONT D. Design and Trials of AIDS Vaccines. *Immunol Today* 1990, 11: 465-471.

WAIN-HOBSON S. SONIGO P. DANOS O, COLE S. ALIZON M. Nucleotide sequence of the AIDS Virus, LAV. *Cell* 1985, 40: 9-17.

WAIN-HOBSON S. The fastest genome évolution ever described: HIV variation *in situ*. *Curr Opin Genet Dev* 1993, 3: 878-883

WAIN-HOBSON S. Viral burden in AIDS. *Nature* 1993, 366: 22

Une phase de latence clinique trompeuse

L'infection par le VIH est une infection virale, chronique et progressive en l'absence de toute intervention thérapeutique. Bien des erreurs dans le concept physiopathologique et dans le discours médical viennent de l'interprétation faite initialement de cette maladie. La description princeps a bien sûr été clinique, avec la mise en évidence et la reconnaissance de manifestations opportunistes dont on apprendra par la suite qu'elles sont très tardives dans la maladie.

Vinrent ensuite la mise en évidence du virus, la découverte de son cycle réplicatif et des conséquences immunologiques de l'infection virale - essentiellement la dépression des lymphocytes $CD4^+$. Dans le même temps, les patients infectés, c'est-à-dire séropositifs, étaient définis par la présence ou l'absence de signes cliniques - événements opportunistes majeurs ou mineurs. Au sida et à l' ARC (AIDS related complex) était opposé le stade asymptomatique avec l'idée sous-jacente d'une latence virale, d'un virus " dormant " qui se réactiverait sous l'influence de divers facteurs. Cette conception a prévalu si longtemps que les marqueurs biologiques, y compris viraux, ont été longtemps qualifiés de " marqueurs de substitution ". L'avancée majeure dans la compréhension pathogénique de l'histoire naturelle de l'infection par le VIH est venue du développement des techniques virologiques avec, en particulier, la quantification virale. De récents développements techniques ont permis d'évaluer la cinétique de production virale in vivo et ont renforcé l'idée que la mesure de la charge virale dans le sang circulant peut être représentative du niveau global de réplication chez un sujet infecté.

Marqueurs virologiques de l'infection

Dans le sang circulant, le virus est présent dans le compartiment cellulaire sous forme de provirus intégré au génome de cellules CD4⁺ infectées et dans le compartiment plasmatique sous forme de particules virales libres. Dès que les cellules infectées sont activées, elles produisent et libèrent de nombreux virions dans le plasma. De fait, le système immunitaire inactive rapidement les particules virales libres, élimine les cellules infectées et régénère des cellules CD4. Le maintien de la virémie à un niveau relativement stable, ainsi que celui du taux de CD4, peut sembler paradoxal. Des résultats récents ont évalué la cinétique de production de virus et celles de la destruction et du renouvellement cellulaire effectués chaque jour (Wei et coll., 1995; Ho et coll., 1995)

- La moitié de la population virale plasmatique est renouvelée tous les deux jours, ce qui correspond à une production quotidienne d'environ 10^8 à 10^9 particules virales. Le nombre de lymphocytes CD4⁺ détruits et régénérés chaque jour est d'environ 2×10^9 cellules.

La destruction de cellules CD4⁺ ne représente donc qu'une petite fraction des lymphocytes totaux. Certains auteurs estiment que la charge virale sanguine représente 30 % de la charge virale totale de l'organisme. La présence du virus dans les ganglions n'est pas une donnée récemment acquise. Il faut rappeler que c'est à partir d'un prélèvement ganglionnaire que le premier isolement du VIH a été effectué. La charge virale ganglionnaire ne joue sans doute pas le même rôle durant l'évolution de la maladie, la phase asymptomatique de l'infection étant sans doute une période cruciale au cours de laquelle le virus se maintient en perpétuelle réplication et contribue à la formation d'un véritable réservoir dans les ganglions. Les études portant sur des patients ne progressant pas vers le sida depuis au moins 10 ans, voire 15 ans, montrent que ces sujets présentent une faible charge virale bien que la réplication virale persiste, ce qui suggère une forte réponse immunitaire à l'infection. D'ailleurs, l'architecture de leurs ganglions lymphatiques semble demeurer intègre. La charge virale est mesurée

- Soit à partir des lymphocytes infectés qui contiennent l'ADN proviral intégré dans leur ADN; le nombre de copies d'ADN proviral intégré étant faible, la technique d'amplification de l'ADN viral (*polymerase chain reaction*) est utilisée.
- Soit sur le plasma des patients, par dosage direct de l'ARN viral après son amplification par la technique de *polymerase chain reaction*.

Il existe une relation très étroite entre charge virale plasmatique (nombre de copies d'ARN/mm³ de plasma) et charge virale cellulaire. La quantification

de l'ARN viral plasmatique est devenue une technique de référence, sensible, reproductible et peu coûteuse. Elle constitue à ce jour une approche plausible et suffisante dans une stratégie de prise en charge et de suivi thérapeutique.

L'évaluation des outils de mesure de la charge virale plasmatique est suffisamment avancée pour penser que ces différentes techniques sont assez équivalentes, même si elles présentent des avantages et des inconvénients divers. Leur développement est une étape considérable pour les mesures de charge virale au sein des essais thérapeutiques; l'interprétation des résultats et l'analyse des variations individuelles reste le problème à régler pour une bonne utilisation de ces marqueurs au cours de la prise en charge régulière des sujets infectés.

Survenue plus tardive du sida ?

Dans l'unité de pathologie infectieuse de la Pitié-Salpêtrière, l'analyse de 1 609 cas de sida, enregistrés entre 1981 et 1994, montre que le nombre médian de lymphocytes $CD4^+$ /mm³ au moment du diagnostic de sida est passé de 96 avant 1990 à 30 après 1992.

La connaissance des facteurs de risque de survenue d'une infection - groupe à risque, environnement et surtout degré d'immunodépression - permet d'envisager un traitement préventif des infections opportunistes. Celui-ci constitue un pas fondamental dans la prise en charge thérapeutique des patients infectés par le VIH car il permet de réduire la morbidité et d'améliorer leur survie.

La stratégie de prophylaxie - dite primaire - représente évidemment la démarche optimale en pathologie infectieuse. Cependant, à l'heure où l'on serait tenté de croire que toutes les prophylaxies sont possibles, il est important de garder à l'esprit qu'une démarche prophylactique est bien différente de celle du traitement aigu d'une infection ou encore d'une démarche de prophylaxie secondaire visant à empêcher la survenue de récurrences.

Le nombre de patients potentiellement bénéficiaires d'une prophylaxie primaire est corrélé à la prévalence de l'infection considérée dans la population. Ainsi, plus la prévalence d'une infection opportuniste est élevée - comme c'est le cas par exemple de la pneumocystose (60 à 80 %) chez les patients ayant moins de 200 lymphocytes $CD4^+$, plus les bénéficiaires potentiels de cette prophylaxie seront nombreux et plus faible sera le nombre de patients qui subiront " sans bénéfice " cette prophylaxie - de l'ordre de 20 à 30 % dans le cas de la pneumocystose.

Si, de surcroît, on agit par une même prophylaxie sur deux infections comme l'action du cotrimoxazole sur la pneumocystose et la toxoplasmose,

on augmente encore le nombre des patients qui sont potentiellement des bénéficiaires.

La nouvelle conception physiopathologique du sida incite à mettre en œuvre une thérapeutique simple traiter précocement pour inhiber la réplication dans les cellules ganglionnaires et détruire les virus relargués par les ganglions pour empêcher de nouvelles infections des cellules sanguines, ceci afin de préserver les réserves du système immunitaire. En l'absence de traitements ayant démontré une efficacité au long cours, cette approche reste cependant très théorique.

Les symptômes ou signes biologiques - charge virale et taux de lymphocytes CD4⁺ circulants - sont de plus en plus utilisés non plus comme des marqueurs de substitution, mais comme des marqueurs biologiques de la maladie. L'année 1995 a été riche en résultats concernant les études de charge virale plasmatique, non seulement au sein d'essais thérapeutiques mais aussi dans les études de “ cohortes ” ou suivi longitudinal de sujets séropositifs. La mesure de l'ARN viral plasmatique effectuée la première année de l'infection virale permet de démontrer la valeur prédictive d'une charge virale élevée pour une évolution rapide vers le sida (Mellors et coll., 1995). De plus, des résultats récemment rapportés, comparant l'évolution de l'ARN viral plasmatique chez des patients “ progressseurs ” (ayant une pente négative du nombre de lymphocytes CD4⁺) ont montré que le taux d'ARN viral plasmatique se maintenait élevé pendant plusieurs années tout en augmentant progressivement, alors qu'à l'opposé, chez les sujets “ non progressseurs ” (à niveau de lymphocytes CD4⁺ stable), ce taux restait à un niveau significativement plus faible et le plus souvent inférieur à 10 000 copies d'ARN/ml (Delamare et coll., 1995). Cette étude réalisée à partir d'échantillons collectés et conservés depuis plus de 5 ans confirme la très bonne fiabilité de ce marqueur et renforce l'idée de son intérêt pour une prise en charge individuelle des sujets séropositifs.

Dans le contexte de la transmission materno-foetale, des résultats de mesure de l'ARN plasmatique ont récemment été communiqués. Ils confirment le fait que la quantité de virus circulant est un des facteurs liés à la transmission virale de la mère à l'enfant, et que cette charge virale peut être réduite sous traitement antirétroviral, diminuant ainsi le risque de l'infection de l'enfant.

Par ailleurs, des résultats récents, obtenus au sein d'essais thérapeutiques associant notamment des bithérapies, ont montré une différence considérable de leur efficacité comparativement à celle des monothérapies. La diminution de l'ARN plasmatique peut être de 2 log, et il est facile d'imaginer pouvoir réduire encore plus le niveau de charge virale par la trithérapie.

La conjonction de ces deux événements récents que sont la mise à disposition de techniques de mesure de la charge virale associée à la mise en évidence d'associations antirétrovirales efficaces a considérablement

changé la vision prospective et modifié profondément les stratégies thérapeutiques de l'infection par le VIH.

La mesure quantitative de la charge virale constitue une étape importante dans la prise en charge de l'infection par le VIH. Elle devrait permettre d'évaluer facilement l'efficacité d'un produit ou celle d'une association, lors d'essais thérapeutiques courts, et autoriser une prescription fine de ces produits ou de leurs associations, en rendant possible la surveillance rapprochée de chaque patient. Déterminer le meilleur moment du début de traitement reste une des questions majeures, qui ne pourra sans doute se résoudre qu'après de longs et difficiles essais thérapeutiques.

En fonction du degré d'immunodépression sont débutées la ou les prophylaxies anti-infectieuses adéquates et sont recherchées les infections

- au-delà de $200 \text{ CD4}^+/\text{mm}^3$, le risque d'infection opportuniste est faible;
- la plupart des infections opportunistes ne surviennent qu'en deçà de $100 \text{ CD4}^+/\text{mm}^3$;
- certaines infections opportunistes (cytomegalovirus, mycobactéries atypiques) surviennent essentiellement lorsque les CD4^+ sont inférieurs à $50/\text{mm}^3$.

Ainsi apparaît-il fondamental dans une optique d'optimisation des stratégies de prophylaxie primaire de sélectionner au maximum les sujets à risque de développer cette infection.

BIBLIOGRAPHIE

- BALTIMORE D. Lessons from people with non progressive HIV infection. *N Engl J Med* 1995, 332: 259-260
- CAO Y, Ho DD, TODD J, KOKKA R, URDEA M, LIFSON JD, PIATAK M, CHEN S, HAHN BH, SAAG JD, SHAW GM. Clinical evaluation of branched DNA signal amplification for quantifying HIV type I in human plasma. *AIDS Research and Human Retroviruses* 1995, 11: 253-361
- CAO Y, QIN L, ZHANG L, SAFRIT J, Ho DD. Virologie and immunologie characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1995,332: 201208
- DELAMARE C, CHAL ML, DEVEAU C, BURGARD M, RAMIREZ D, CARRÉ N, Rouzloux C. Five Yeats évolution of plasma HIV-1 measured by 3 methodologies for patients with diffèrent progression. RICAI, 1995, Paris.
- FURTADO MR, KINGSLEY LA, WOUNSKY SM. Changes in the viral mRNA expression pattern correlate with a rapid rate of CD4^+ T-cell number décline in human immuno" deficiency virus type I-infected individuals. *J Virol* 1995,69: 2092-2100
- HO DD, NEUMANN AU, PERELSON AS, CHEN W, LEONARD JM, MARKOWITZ M. Rapid turnaver of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1-infection. *Nature* 1995, 373: 123-126

- LAFEUILADE A, TAMALET C, PELUEGRINO P, DE MICCO P, VIGNOLI C, QUILICHINI R. Correlation between surrogate markers, viral load, and disease progression in HIV infection. *AIDS* 1994, 7: 1028-1033
- LINEBERGER DW, KESSLER JA, WATERBURY JA, BYRNES VW, MASSARI F, STASEWSKI S, EMINI E. Turnover of circulating virion RNA and of cell-associated viral DNA reflects active viral replication in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. *J Virol* 1995, 69: 2637-2639
- MCCUNE JM. Viral latency in HIV disease. *Cell* 1995, 82: 183-188
- MELLORS JW, KINGSLEY LA, RINALDO CR, TODD JA, HOO BS, KOKKA RP, GUPTA R. Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion. *Ann Intern Med* 1995, 122: 573-579
- MUNOZ A, KIRBYAJ J, HE YD, MARGOLICK JB, VISSCHER BR, RINAUDO CR, KASLO RA, PHAIRJP. Long-term survivors with HIV-1 infection: incubation period and longitudinal patterns of CD4⁺ lymphocytes. *J Acquir Immun Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995, 8: 496-505
- NIGHTINGALE SD. CD4 counts as surrogate markers for progression to AIDS. *Ann Intern Med*, 1994, 120:87
- PANTALEO G, MENZO S, VACCAREZA M, GRAZIOSE C, COHEN OJ, DEMAREST JF, MONTEFIORI D, ORENSTEIN JM, FOX C, SCHRAGER LK, MARGOUCK JB, BUCHBINDER S, GIORGI JV, FAUCI AS. Studies in subjects with long-term non progressive human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1995, 332: 209-216
- PANTALEO G, FAUCI AS. Tracking HIV during disease progression. *Cur Op Immunol* 1994, 6: 600-604
- PIATAK M, SAAG MS, YANG LC, CLARK SJ, KAPPES JC, LUK KC, HAHN BH, SHAW GM, LIFSON JD. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* 1993, 259: 1749
- WEI X, GHOSH SK, TAYLOR ME, JOHNSON VA, EMINI EA, DEUTSCH P, LIFSON JD, BONHOEFFER S, NOWAK G, HAHN BH, et coll. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995, 373: 117-122

Une atteinte cérébrale

Le VIH pénètre tôt dans le système nerveux et y persiste presque exclusivement dans les macrophages intra-cérébraux (cellules microgliales). Si l'infection chronique du cerveau est quasi systématique, ses conséquences cliniques sont inconstantes, et l'on ne maîtrise pas encore les raisons de cette variabilité. Le VIH peut également pénétrer dans les nerfs périphériques et participer à l'éclosion de signes neurogènes dont l'aspect clinique varie selon le stade de la maladie. Les neuropathies douloureuses posent les problèmes pratiques les plus aigus. Lorsqu'un déficit immunitaire s'installe, d'autres atteintes cérébrales dites secondaires sont observées; à ce stade, il est souvent difficile de distinguer l'effet direct du virus des conséquences d'autres lésions cérébrales.

Données cliniques

L'éclosion de symptômes cliniques neurologiques n'est pas constamment observée, ce qui signifie que la simple présence du virus dans certaines cellules du cerveau n'est pas suffisante pour induire des lésions importantes.

Au niveau du système nerveux central, certains symptômes sont cependant probablement attribuables directement au VIH 1:

- Chez l'adulte au stade de déficit immunitaire sévère, une baisse des performances intellectuelles avec une perte progressive des capacités d'autonomie est observée chez environ 15 % des patients après 18 mois. En revanche, avant le stade de déficit immunitaire sévère, une baisse des capacités intellectuelles suffisante pour avoir des conséquences pratiques est exceptionnelle.
- Chez l'enfant 18 % des enfants nés de mère séropositive sont eux-mêmes infectés et 20 % d'entre eux développent entre 6 et 18 mois un déficit immunitaire sévère et une atteinte grave des fonctions intellectuelles, aboutissant vers l'âge de 15 mois à un handicap important.

La durée de vie habituelle des enfants ayant ce type d'atteinte est de 4 ans. Quatre vingts pour cent des enfants ont peu de signes neurologiques et, en moyenne, une intelligence normale à l'âge de 10 ans. Il existe probablement un parallélisme entre la gravité des atteintes immunes et cérébrales le taux de lymphocytes CD4⁺ circulants à l'âge de 4 ans est, par exemple, prédictif de l'état intellectuel à 10 ans. Les symptômes secondaires au niveau du système nerveux central sont très divers: infections en particulier à cytomegalovirus et à toxoplasme, tumeurs - lymphomes - sarcomes, accidents vasculaires cérébraux... Les symptômes observés au niveau de la moelle et du système nerveux périphérique peuvent être précoces et réversibles - syndrome de Guillain-Barré, paralysie faciale...; d'autres sont plus tardifs et permanents. L'atteinte médullaire et certaines neuropathies périphériques douloureuses ont souvent les conséquences les plus graves.

Données biologiques

La pénétration du virus dans le cerveau est précoce. L'existence de souches virales ayant un tropisme cérébral particulièrement important n'a pu être réellement établie. De même, la manière dont le virus pénètre dans le système nerveux n'est pas établie avec certitude. Il est probable qu'il existe une pénétration de virions libres, mais très rapidement captés par les macrophages périvasculaires et une pénétration de monocytes, voire de lymphocytes infectés.

Les situations cliniques sont variables et il ne saurait exister une seule physiopathologie commune à tous les symptômes cliniques.

La principale cellule infectée dans le cerveau est le macrophage. Il est probable que la microglie ait besoin d'être activée au préalable pour pouvoir répliquer le virus. Une infection directe des neurones n'a jamais pu être démontrée avec certitude. Les astrocytes pourraient dans certains cas accumuler des produits viraux (protéine *nef* par exemple).

L'existence d'une mort neuronale est maintenant très probable, bien que la liaison entre l'intensité de la mort neuronale et l'éclosion de symptômes soit difficile à établir. L'ampleur de la réponse inflammatoire intracérébrale au moment du décès est variable d'un sujet à l'autre, mais peut être très faible. Les mécanismes de la mort neuronale font l'objet de recherches intenses, en particulier sur :

- Le rôle direct de produit viraux, en particulier de la protéine d'enveloppe gpl20, mais aussi des protéines *tat* et *nef*, dans la mort neuronale. La gpl20 est neurotoxique et la neurotoxicité passe directement ou indirectement par l'amplification des mécanismes neurotoxiques liés au glutamate,

en particulier par l'intermédiaire des récepteurs au N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA). La gpl20 modifie l'homéostasie du calcium intra-neuronal.

- Le rôle neurotoxique des facteurs sécrétés par les macrophages infectés ou activés - cytokines (en particulier le *Tumor Necrosis Factor* (TNF)), monoxyde d'azote (NO), acide arachidonique...
- Le rôle cytotoxique des cellules immunes infectées ou activées présentes ou ayant pénétré dans le système nerveux un rôle neuro- et astro-toxique des monocytes infectés a été établi. Le rôle potentiel des lymphocytes T cytotoxiques n'a été qu'à peine étudié alors que ces cellules ont été isolées dans le liquide céphalorachidien de patients.

Les conséquences des co-infections de voisinage dans la neurotoxicité et surtout dans l'activation des macrophages cérébraux (les rendant vulnérables au virus) n'ont guère été étudiées.

Prévention des lésions intra-cérébrales ou intra-neurales et traitements des symptômes existants

Pour servir ces objectifs, différentes stratégies peuvent être envisagées

- Réduire la virémie circulante le développement d'antiviraux nouveaux ne peut que favoriser la diminution du nombre de patients ayant des signes neurologiques. D'après plusieurs résultats un peu parcellaires, l'AZT aurait probablement un rôle bénéfique sur les symptômes d'encéphalopathie liée au VIH1. L'AZT pénètre relativement mal dans le parenchyme cérébral, les autres antiviraux (ddC, ddI) n'y pénétrant pas du tout. Ce problème de pénétration limitée des substances solubles dans le parenchyme cérébral est un phénomène dont il faut tenir compte; de ce fait, la galénique des antiviraux et de modificateurs de la barrière hémato-encéphalique devrait être soigneusement étudiée.
- Réduire la pénétration des cellules immunes, infectées mais surtout activées, à travers la barrière hémato-céphalique.
- Moduler l'activation du macrophage et modifier la sécrétion de TNF ou de NO: ces stratégies seraient d'un intérêt considérable qui dépasserait largement le cadre de l'infection par le VIH.
- Agir sur l'homéostasie calcique intra-neuronale dans un but de prévention de la neurotoxicité de tels agents sont déjà étudiés et font l'objet d'un essai thérapeutique (mémantine, nimodipine).

En tout état de cause, un traitement préventif ou “ modulateur ” ne doit pas faciliter la réplication virale. Le développement de thérapeutiques des maladies opportunistes doit être accentué, en considérant là encore les problèmes de pénétration dans le système nerveux central. Des médicaments permettant une lutte plus efficace contre la douleur liée aux neuropathies restent à mettre au point.

Le nombre de comprimés à prendre et la forme galénique doivent être compatibles avec le maintien de la qualité de vie des patients, dans la mesure où le traitement durera plusieurs années.

En conclusion

L'allongement progressif de la durée de vie des sujets infectés ne peut qu'être accompagné d'une plus grande fréquence des symptômes et séquelles neurologiques, comme cela est observé dans de nombreuses autres pathologies chroniques, en particulier celles liées à l'hématologie maligne. La possibilité de voir persister le virus dans le cerveau alors que des progrès seraient obtenus au niveau périphérique doit aussi retenir l'attention. Enfin, la régulation de la réponse immune intracérébrale est probablement un élément majeur de la lutte contre la mort neuronale. Ces différents axes ont des conséquences qui dépasseront le seul cadre de l'infection par le VIH et pourraient bénéficier, pour certains d'entre eux, à des pathologies comme la sclérose en plaques.

BIBLIOGRAPHIE

- BACELLAR H, MUNOZ A, MILLER EN, COHEN BA, BESLEY D, SELNES OA, BECKER JT, MCARTHUR JC. Temporal trends in the incidence of HIV-1-related neurologic diseases: multicenter ATDS cohort study, 1985-1992. *Neurology* 1994, 44: 1892-1900.
- BENOS DJ, MCPHERSON S, HAHN BH, CHAIKIN MA, BENVENTSTE EN. Cytokines and HIV envelope glycoprotein gp120 stimulate Na⁺/H⁺ exchange in astrocytes. *J Biol Chem* 1994, 269: 13811-13816
- BLUMBERG BM, GELBARD HA, EPSTEIN LG. HIV-1 infection of the developing nervous system: central role of astrocytes in pathogenesis. *Virus Res* 1994, 32: 253-267
- BREW BJ, CURRIE JN. HIV-related neurological disease. *J Med Aust* 1993, 158: 104-108
- BREW BJ. HIV-1-related neurological disease. *J Acquir Immun Defic Syndr* 1993, 6 (Suppl 1): S10-S15
- DAWSON VL, DAWSON TM, UHL GR, SNYDER SH. Human immunodeficiency virus type 1 coat protein neurotoxicity mediated by nitric oxide in primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90: 3256-3259
- EPSTEIN LG, GENDELMAN HE. Human immunodeficiency virus type 1 infection of the nervous system: pathogenetic mechanisms. *Ann Neurol* 1993, 33: 429-436
- GENDELMAN HE, LIPTON SA, BUKRTNSKY MI, NOTTET HSLM. *J Leuk Biol* 1994, 56: 389-398
- HURTREL B, CHAKRABARTT L, HURTREL M, MONTAGNER L. Targets cells during early STV encephalopathy. *Res Virol* 1993, 144: 41-46
- LANNUZEL A, LIEDO PM, LAMGHTTNTA HO, VTNCENT JD, TARDTEU M. HIV-1 envelope proteins gp120 and gp160 potentiate NMDA-induced [Ca²⁺]_i increase, alter [Ca²⁺]_i homeostasis and induce neurotoxicity in human embryonic neurons. *Eur J Neurosci* 1995, 7: 2285-2293.

LIPTON SA, GENDELMAN HE. Dementia associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1995,332: 934-940

LIPTON SA. HIV displays its coat of arms. *Nature* 1994,367 : 113-114

NUOVO GJ, GALLERY F. MACCONNELL P. BRAUN A. In situ detection of polymerase chain reaction-amplified HIV- 1 nucleic acids and tumor necrosis factor-alpha RNA in the central nervous system *Am J Pathol* 1994,144: 659-666

SITDIS JJ, GATSONIS C, PRICE RW, SINGER EJ, COLLIER AC, RICHMAN DD, HIRSCH MS, SCHAERF FW, FISCHL MA, KIEBURTZ K. SIMPSON D, KOCH MA, FEINBERG J. DAFNI U and the AIDS Clinical Trials Group. Zidovudine treatment of the AIDS dementia complex : results of a placebo-controlled trial. *Ann Neurol* 1993,33 : 343-349

TARDIEU M, MAYAUX MJ, SEIBEL N. FUNCK-BRENTANO I, STRAUB E. TEGLAS JP, BLANCHE S. Cognitive assessment of school-age children infected with maternally transmitted human immunodeficiency virus type 1. *J Pediatr* 1995,126: 375-379

WILEY CA. Pathology of neurologic disease in AIDS. *Psychiatr Clin North Am* 1994, 17: 1-15

7

Un spectre d'infections opportunistes de plus en plus large

Les infections opportunistes jouent un rôle essentiel dans l'aggravation clinico-biologique et dans la mortalité par sida. Elles sont la cause directe de la mort de plus de 80 % des patients séropositifs (Lo et coll., 1992) et contribuent significativement à la pathogénie du sida. En conséquence, il est essentiel de poursuivre les efforts vers le développement de mesures de prévention et de contrôle efficaces contre ces agents.

Malgré l'importance de l'état immunodépressif du patient séropositif, seuls quelques pathogènes sont capables de l'envahir. Par exemple, des 120 protozoaires et métazoaires parasites et des 200 espèces fongiques pathogènes connues (Dei-Cas et Vernes, 1986), seulement 12 espèces parasitaires et moins de 10 espèces fongiques sont capables d'infecter le patient séropositif, de se développer dans ses tissus et de déterminer une pathologie. Ceci suggère que, même dans des circonstances de détresse extrême des mécanismes immunitaires, seules des espèces pré-adaptées à l'envahissement tissulaire et au développement dans le milieu intérieur seront capables d'exercer un parasitisme pathogène.

Ces organismes habituellement “ non pathogènes ” franchissent les barrières déficitaires de l'hôte et entraînent une pathologie souvent grave. Ces micro-organismes - virus, bactéries, microchampignons, protistes, métazoaires - sont appelés “ pathogènes opportunistes ”. Une liste des agents pathogènes opportunistes rencontrés au cours du sida est montrée dans le Tableau 7-I.

En France, chez les patients séropositifs suivis à l'hôpital en 1994, la pneumonie à *Pneumocystis carinii* (PCP) demeure dans plus de 16 % des cas l'infection opportuniste principale à l'entrée dans le sida, suivie de la candidose œsophagienne (15 %), des infections à cytomegalovirus (CMV) (12,7 %), de la toxoplasmose (11,5 %), des infections à Herpes simplex (HSV) (7,6 %) et des atteintes à mycobactéries atypiques (7,1 %) (Costagliola et coll., 1995). Selon d'autres sources, la tuberculose serait l'infection inaugurale chez environ 20 % des patients européens.

Tableau 7-I : Procaryotes et eucaryotes opportunistes associés au sida.

1. VIRUS	
1.1	Virus Herpes :
	Hcmv (« human cytomegalovirus »)
	HSV-1 (Herpes simplex virus 1)
	HSV-2 (Herpes simplex virus 2)
	Varicella Herpes Zoster
	EBV (Virus d'Epstein-Barr)
	HHV-6 (Human Herpes virus 6)
	HHV-7 (Human Herpes virus 7) recepteur CD4
1.2	Papovavirus (LEMP)
1.3	Papilloma virus
1.4	Poxvirus (molluscum contagiosum)
2. BACTERIES	
2.1	Mycobacterium tuberculosis
2.2	Mycobacterium avium-intracellulare (« M. avium-intracellulare complex » = MAIC)
2.3	Mycobacterium ulcerans, M. kansasii, M. chelonae, M. gordonae, M. xenopi, M. fortuitum, M. chelonae, M. gordonae, M. xenopi et M. fortuitum ont été plus rarement rapportés.
2.4	Nocardia
2.5	Rochalimaea henselae
2.6	Mycoplasma spp (M. fermentans incognitus)
2.7	Autres bactéries : Salmonella spp, Shigella, Campylobacter, Clostridium difficile, Corynebacterium jeikeium, Rhodococcus equi, Listeria monocytogenes et Legionella pneumophila
3. PROTISTES	
3.1	Pneumocystis carinii sp.f. hominis
3.2	Toxoplasma gondii
3.3	Cryptosporidium parvum (et C. baileyi)
3.4	Isospora belli
3.5	Microsporidies :
	Enterocytozoon bienewisi
	Septata intestinalis
	Encephalitozoon hellem
	Enc. cuniculi
	Pleistophora sp
	Nosema sp
3.6	Leishmania donovani, L. infantum, L. chagasi
4. METAZOAIRES	
4.1	Nématodes
4.1.1	Strongyloides stercoralis
4.2	Arthropodes
4.2.1	Demodex folliculorum
4.2.2	Sarcoptes scabiei
5. FUNGI	
5.1	Candida albicans (C. glabrata, C. krusei)
5.2	Cryptococcus neoformans
5.3	Aspergillus fumigatus
5.4	Histoplasma capsulatum
5.5	Coccidioides immitis
5.6	Penicillium marneffei
5.7	Blastomyces dermatitidis
5.8	(Paracoccidioides brasiliensis)
5.9	(Sporothrix schenckii)

Depuis le début de la pandémie, l'allongement sensible de la longévité des patients atteints de sida et l'amélioration considérable de leur qualité de vie sont en grande partie liés aux progrès effectués dans la thérapeutique et dans la prévention primaire et secondaire des infections opportunistes, surtout pneumocystose et toxoplasmose. Ainsi, l'incidence de la PCP est passée de 60 à 80 % au début de la pandémie à 20 % dans les années 1990.

À l'heure actuelle, d'autres infections opportunistes acquièrent une importance croissante: la tuberculose, les infections à mycobactéries atypiques, les viroses opportunistes, notamment les infections à CMV. Enfin, l'incidence d'autres infections émergentes comme les microsporidioses et la cryptosporidiose, deux causes importantes de diarrhée chronique contre lesquelles nous ne disposons pas de traitements efficaces, est sûrement sous-estimée.

viroses

Herpesvirus

- Le cytomegalovirus (CMV) est responsable d'atteintes viscérales chez de nombreux patients séropositifs (jusqu'à 40 % des patients ayant un taux de lymphocytes $CD4^+ < 50/mm^3$). Il cause des rétinites au cours desquelles la réaction inflammatoire, qui s'accompagne de micro-hémorragies périvasculaires importantes, peut conduire à l'infarctus rétinien et à la cécité. Le CMV est en plus responsable d'hépatite et peut donner des lésions cérébrales comparables à celles causées par *Toxoplasma* (Emery et coll., 1992). Il est fréquemment associé avec *P. carinii*, mais les atteintes pulmonaires primaires à CMV semblent plutôt rares. Ce virus peut aussi donner des lésions œsophagiennes ulcérées ou être à l'origine de colites avec émission de selles sanguinolentes (Wiselka, 1993). Etant donné la haute prévalence et les difficultés thérapeutiques qu'elle présente, l'infection par le CMV sera traitée plus longuement dans la partie II, “ Traitements ”.

- Les virus *Herpes simplex* (HSV 1 et HSV 2) déterminent des lésions cutanées et muqueuses sévères et récidivantes - ulcérations orales, génitales, rectales - ou des encéphalites. Après la primo-infection, ces virus demeurent latents dans les neurones des ganglions nerveux sensitifs et autonomes.

- Le virus de la varicelle (*Herpes Zoster*) peut être responsable de complications précoces chez le sujet séropositif (zona). Après la primo-infection, ce virus demeure latent dans les neurones des ganglions nerveux sensitifs et autonomes.

- Le virus d'Epstein-Barr (EBV) est impliqué dans des lésions de leucoplasie villeuse de la langue, dans des lymphomes cérébraux et est l'agent d'une pneumonite lymphoïde interstitielle. Après la primo-infection, ce virus demeure latent dans les lymphocytes B.
- Le virus Herpès Humain 6 (HHV-6), virus lymphotropique, peut infecter les cellules T CD4⁺, T CD8⁺, lymphocytes *natural killer* et moins efficacement d'autres types cellulaires. Il serait responsable d'*exanthema subitum*, une maladie fébrile bénigne de l'enfant. Le HHV-6 subit fréquemment une réactivation lors de la survenue d'un état immunodépressif, étant potentiellement pathogène et cofacteur du syndrome chez le patient atteint de sida (Lusso et coll., 1994).
- Le virus Herpès Humain 7 (HHV-7) a une spécificité marquée pour les lymphocytes T CD4⁺ mais n'a été associé à aucune pathologie. En revanche, le phénotype CD4 est un composant essentiel du récepteur lymphocytaire pour l'HHV-7, au point de bloquer in vitro l'infection des lymphocytes par le VIH, qui utilise la glycoprotéine CD4 comme récepteur (Lusso et coll., 1994). Des séquences d'ADN d'herpesvirus-like ont été isolées de lésions de sarcome de Kaposi chez des patients infectés par le VIH (Chang et coll., 1994; Huang et coll., 1995).

Papilloma virus et poxvirus agent de *molluscam contagiosum*

Ces virus sont fréquemment impliqués dans des lésions étendues et spectaculaires chez les patients atteints du sida.

Papovavirus

Ils sont responsables de leuco-encéphalopathie multifocale progressive (LEMP) chez 2 à 4 % des patients séropositifs. Dysphasie, ataxie, symptômes focaux et lésions traduisant une démyélinisation - astrocytes et oligodendrocytes dilatés contenant des corps d'inclusion éosinophiles - caractérisent ce tableau (Richardson, 1988; Wiselka, 1993).

Bactérioses

Mycobacterium tuberculosis

Il y a 8 millions de nouveaux cas de tuberculose par an (2,5 millions de décès en 1994). Quatre à 5,6 millions de personnes seraient co-infectées par *Mycobacterium tuberculosis* et le VIH (80 % en Afrique) (Xe Conférence Internationale sur le sida, Yokohama, 7-12 Août 1994). La séroprévalence du VIH chez les tuberculeux est 30 fois celle de la population générale. La probabilité de faire une tuberculose est multipliée par 113 en cas d'infection par le VIH et par 170 en cas de sida avéré.

Le taux de survie après traitement est plus bas quand *M. tuberculosis* et VIH sont associés (40 % chez les séropositifs au VIH; 90 % chez les séronégatifs au VIH).

L'origine de l'infection par *M. tuberculosis* chez le patient séronégatif au VIH est endogène (par réactivation) dans 70 % des cas et exogène (primo-infection) dans 30 % des cas. Chez le patient séropositif au VIH, ces proportions sont inversées 30 % d'infections sont endogènes et 70 % sont exogènes.

L'évolution de la tuberculose est souvent sévère au cours du sida et elle tend à donner des formes extrapulmonaires - atteintes encéphaliques, digestives, cutanées. Chez 30 % des patients africains séropositifs au VIH, la tuberculose est la première manifestation de l'infection. Aux Etats-Unis, 12 % des patients tuberculeux sont séropositifs au VIH. Dans ce pays, l'incidence de la tuberculose est de 2 à 20 % chez les patients séropositifs au VIH (chiffres provenant de plusieurs sources, citées par Ralphs et coll., 1992). Comme pour *Mycobacterium avium-intracellulare complex* (MAIC), les formes cutanées sont fréquentes et se caractérisent par la présence d'un grand nombre de micro-organismes et par une faible tendance à la formation de granulomes (Wiselka, 1992). L'infection persistante par des mycobactéries, qui stimule d'abord une réponse immune, est suivie d'un état d'anergie ou d'immunotolérance qui rendrait l'hôte plus susceptible à de nouvelles infections par ces micro-organismes.

***Mycobacterium avium-intracellulare complex* (MAIC)**

L'incidence de l'infection par le MAIC chez les patients séropositifs au VIH est très variable 5 % dans le Royaume Uni, 17 à 56 % aux Etats-Unis (Ralphs et coll., 1992). Les sources d'infection sont exogènes - aérosolisation d'eau chaude dans les hôpitaux, invasion tissulaire via les muqueuses respiratoire ou digestive. MAIC est fréquemment isolée du tube digestif où elle peut être cause de diarrhée fébrile. Ces bactéries donnent fréquemment des atteintes cutanées caractérisées par un grand nombre de micro-organismes et une faible tendance à la formation de granulomes (Wiselka, 1992). L'infection à mycobactéries pourrait accélérer la progression vers le stade de sida en activant les lymphocytes CD4 et en amplifiant la réplication virale. Les MAIC pourraient ainsi faciliter l'évolution de l'infection par le VIH vers sa phase terminale. En même temps, l'élimination progressive de lymphocytes et macrophages CD4⁺ favorise de nouvelles infections à mycobactéries.

Mycoplasma pneumoniae

Mycoplasma pneumoniae appartient à un groupe de procaryotes caractérisés par l'absence de paroi cellulaire (Division *Tenericutes*; Classe *Mollicutes*) (Lo et coll., 1992). L'absence de paroi cellulaire explique la résistance de ces organismes aux antibiotiques tels que les pénicillines qui agissent sur la synthèse de paroi.

Ils sont entourés par une membrane plasmique trilaminaire, présentent de nombreux ribosomes étroitement compactés et leur ADN est une molécule en double brin circulaire comme chez d'autres procaryotes. Dans beaucoup d'espèces, la membrane contient du cholestérol (absent chez les autres bactéries). Leur génome représente environ 1/6e de celui d'*Escherichia coli* et le contenu en G + C est en général faible (24-35 %). *M. pneumoniae* est l'agent des pneumonies atypiques. *M. hominis* et *Ureoplasma urealyticum* sont impliqués dans des infections génito-urinaires chez l'adulte (transmission sexuelle) et dans des tableaux de pneumonie et de méningite chez le nouveau-né. Au cours du sida, c'est *M. fermentans incognitus* qui est le plus fréquemment isolé.

Parasitoses

Pneumocystis carinii

Les résultats d'études comparatives de séquences nucléiques montrent que *Pneumocystis* est un champignon. Il demeure cependant difficilement assimilable aux groupes fongiques connus. De plus, ce micro-organisme est capable de synthétiser de novo des folates à partir de l'acide para-amino-benzoïque, comme *Toxoplasma gondii* (Kovacs et coll., 1989) et sa membrane plasmique n'a pas d'ergostérol, molécule typique des membranes de nombreux champignons (Dei-Cas et coll., 1987).

La question taxonomique n'a pas seulement un intérêt " académique ". Classer les pneumocystoses comme des protozooses ou comme des mycoses pulmonaires peut avoir des conséquences sur le plan médical. Effectivement, bien que la pneumocystose, surtout si l'on considère la forme extrapulmonaire, partage quelques caractéristiques communes importantes avec les mycoses profondes à porte d'entrée respiratoire (Dei-Cas et coll., 1992, 1995), la transmission de son agent, sa physiopathologie et ses manifestations histopathologiques et cliniques se révèlent différentes, ceci entraînant la mise en place de stratégies distinctes sur les plans diagnostique, thérapeutique et préventif.

La pneumonie à *Pneumocystis carinii* a une distribution géographique cosmopolite. Avant 1989, la pneumocystose atteignait en Europe ou en Amérique du Nord 50 à 65 % des sujets séropositifs au VIH (Selik et coll., 1987). Malgré les progrès réalisés dans sa prévention, elle demeure, en 1995, une parasitose majeure chez les sujets séropositifs. De plus, cette pneumonie a une importance croissante en dehors du sida, notamment chez des patients cancéreux, atteints d'hémopathies malignes, receveurs de greffe ou souffrant de maladies inflammatoires chroniques (Sepkowitz et coll., 1995).

P. carinii est un eucaryote unicellulaire capable d'adhérer spécifiquement aux cellules épithéliales alvéolaires de type 1 et de proliférer dans le poumon de patients immunodéprimés, provoquant une pneumonite sévère. Une perturbation profonde de l'immunité cellulaire est nécessaire à la prolifération parasitaire et le sida est actuellement la principale cause favorisante. Tous les stades connus de *P. carinii* sont observés dans le poumon, mais la présence du parasite dans d'autres organes (pneumocystose extra-pulmonaire) est rapportée de plus en plus fréquemment (Raviglione, 1990; Cohen et coll., 1991).

Pneumocystis peut être transmis d'un hôte infecté à un autre par voie aérienne, la porte d'entrée étant respiratoire (Hughes, 1987; Soulez et coll., 1991); cependant, la ou les formes infectantes n'ont pas été déterminées. L'infection par *P. carinii* pourrait aussi être acquise par voie inhalatoire à partir de sources environnementales non définies. Des formes infectantes éliminées par des hôtes de *P. carinii* pourraient garder leur infectivité dans l'environnement. De plus, un hypothétique stade édaphique de *P. carinii* pourrait produire des formes infectantes analogues aux spores fongiques. Des séquences d'ADN identiques à celles de *Pneumocystis* ont été amplifiées dans des échantillons d'air ambiant par deux équipes travaillant dans différents continents et en utilisant des amorces différentes (Bartlett et coll., 1994; Wakefield, 1994). Des évidences sérologiques suggèrent que la primo-infection à *P. carinii* a lieu habituellement chez l'enfant de 2 à 4 ans en bonne santé (Hughes, 1987; Wakefield et coll., 1990). La transmission transplacentaire serait aussi possible (Hughes, 1987).

Des données récentes montrent que les diverses lignées parasitaires de *P. carinii* sont étroitement inféodées aux différentes espèces-hôtes. Il existe en effet des différences génétiques marquées entre les souches de *Pneumocystis*, qui sont fonction de l'espèce du mammifère hôte (Mazars et coll., 1995). Sur le plan épidémiologique, cette diversité génétique du parasite traduit l'existence d'une spécificité parasitaire étroite, dont témoigne le fait que la transmission de l'infection est possible uniquement entre hôtes de la même espèce (Aliouat et coll. 1993; Gigliotti et coll., 1993). Ainsi, le seul réservoir connu de l'agent de la pneumocystose à *P. carinii* serait l'homme et la pneumocystose, en conséquence, ne serait pas une zoonose (Dei-Cas et coll., 1995). Des épidémies nosocomiales de cette pneumopathie, touchant des patients immunodéprimés (Santiago-Delpin et coll., 1988; Chave et coll., 1991) ou non (Cacobs et coll., 1991), ont été rapportées (Walzer et coll., 1991), mais seul le typage d'isolats de *P. carinii* permettrait de confirmer le caractère nosocomial de ces épidémies.

Toxoplasma gondii

La toxoplasmose constitue encore un problème majeur chez les patients séropositifs au VIH. L'incidence est comprise entre 12 et 30 % chez les patients séropositifs vis-à-vis du parasite (Grant et coll., 1990). La localisation cérébrale est la plus fréquente, mais des formes pulmonaires et disséminées sont aussi observées.

Les lésions cérébrales sont en général multiples et apparaissent à la tomographie computerisée (TC) ou à l'imagerie par résonance magnétique (IRM) comme des masses bien délimitées, à contour dense. En utilisant des inhibiteurs des enzymes dihydrofolate réductase (DHFR, qui catalyse la conversion de dihydrofolate en tétrahydrofolate) et dihydroptéorate synthétase (DHPS, qui catalyse la formation de dihydroptéorate, nécessaire à la synthèse de folate, à partir de l'acide paraaminobenzoïque et d'un dérivé de ptéridine), la chimioprophylaxie a permis d'abaisser considérablement l'incidence de cette forme clinique redoutable. Cependant, comme dans le cas de la pneumocystose, ces médicaments induisent souvent des effets secondaires.

T. gondii est un protozoaire parasite intracellulaire du groupe *Apicomplexa*. Le cycle biologique de *T. gondii* a lieu entre un hôte définitif spécifique, le chat, et des hôtes intermédiaires peu spécifiques - rongeurs, bétail, primates, oiseaux. Le parasite développe chez le chat un cycle sexué qui conduit à la formation de l'oocyste. Ce stade est éliminé dans les selles et contamine l'environnement, où il subit une maturation qui conduit au développement de sporozoïtes intra-oocystiques infectants, aussi bien pour l'hôte définitif que pour les hôtes intermédiaires. Les sporozoïtes gagnent les cellules réticulo-histiocytaires, prolifèrent dans leur cytoplasme en donnant lieu à de nombreux tachyzoïtes (formes à division rapide) qui disséminent dans les divers tissus. Après cette phase d'intense prolifération et de dissémination tissulaire, les tachyzoïtes se différencient en bradyzoïtes (formes à division lente) qui donnent lieu à la formation de kystes intracellulaires quiescents, infectants pour le chat mais aussi pour d'autres mammifères, hôtes intermédiaires potentiels ou accidentels (comme l'homme).

Le mécanisme de différenciation bradyzoïte-tachyzoïte est réversible. Il est donc possible que la survenue d'un état immunodépressif chez un hôte immunocompétent porteur de kystes permette la différenciation des bradyzoïtes intrakystiques en tachyzoïtes. Dans la pathogénie de la toxoplasmose chez le patient immunodéprimé, le phénomène clé est apparemment cette transition. En conséquence, deux objectifs thérapeutiques peuvent être formulés:

- tuer les bradyzoïtes intrakystiques chez les patients immunodéprimés;
- bloquer la différenciation bradyzoïte-tachyzoïte.

Cryptosporidium parvum

Cryptosporidium parvum est une coccidie monoxène (cycle à un seul hôte), responsable de diarrhées importantes mais autorésolutives chez le patient immunocompétent.

Par contre, chez le patient atteint de sida, elle occasionne une diarrhée chronique, grave, résistant à tout traitement antiparasitaire connu.

C. parvum parasite de nombreux mammifères - rongeurs, carnivores, bétail - et l'on admet en général que la cryptosporidiose est une zoonose. Ce parasite développe son cycle dans l'épithélium intestinal où ses différents stades adoptent une localisation intracellulaire sous-membranaire (intracellulaire mais extracytoplasmique), restant dans le pôle apical ou microvillositaire des entérocytes. Dans l'épithélium, le parasite subit différents processus de division asexuée et sexuée, conduisant à la formation d'oocystes infectants, qui seront éliminés avec les selles, et d'autres stades qui, responsables d'auto-infestation interne, assureront la persistance de l'infection.

Chez le patient atteint de sida, *C. parvum* est responsable de diarrhée souvent grave - 1 à 17 litres/jour - dont le mécanisme n'a pas été établi (entérotoxines ? épuisement énergétique des entérocytes ? autres mécanismes ?). Cette diarrhée peut s'associer à un syndrome de malabsorption. Des cas de cryptosporidiose pulmonaire ont aussi été signalés au cours du sida.

Microsporidies

Les microsporidies sont des protozoaires parasites obligatoires très répandus chez les vertébrés et chez les invertébrés. Ils exercent un parasitisme intracellulaire qui entraîne une activité pathogène importante et qui conduit à la formation de spores contenant la forme infectante (sporoplasme) et un filament creux (tube polaire) (Dei-Cas, 1994).

Six genres de microsporidies ont été rapportés chez l'homme (Tableau 7.II). Les espèces importantes observées chez le patient atteint de sida sont *Enterocytozoon bienersi*, *Septata intestinalis* et *Encethalitozoon hellem*. Avant la pandémie de sida, seuls quelques cas mondiaux de microsporidiose humaine étaient connus. Des données séro-épidémiologiques montraient cependant que le portage asymptomatique, au moins d'*Enc. cuniculi*, n'était pas rare. Cette parasitose s'est révélée fréquente chez les patients séropositifs au VIH. Ainsi, l'incidence de la microsporidiose intestinale chez des patients séropositifs avec diarrhée chronique pourrait atteindre 30 %. La distribution géographique est cosmopolite.

Les microsporidies développent en général leur cycle chez un seul hôte. Habituellement, les spores infectantes contaminent l'hôte par voie orale. Lorsque ces spores à paroi épaisse parviennent chez un hôte susceptible, le filament polaire est projeté avec force et traverse la membrane cellulaire de la cellule cible en injectant le sporoplasme dans le cytoplasme. Les parasites initient alors une phase de multiplication intracellulaire shizogonique.

À un moment donné, certaines cellules (sporontes) développeront un processus de division (sporogonie ou sporogénèse), puis de maturation, qui donnera les spores, formes qui assureront la transmission. Éliminées avec les selles et/ou les urines selon les espèces, les spores matures demeureront infectieuses pendant plusieurs mois dans le milieu extérieur, contaminant l'eau et les aliments.

Le premier cas de microsporidiose chez un patient séropositif au VIH a été rapporté en 1985 (Desportes et coll., 1985). L'agent, *Ent. bienewisi*, parasite les entérocytes au niveau de l'intestin grêle et induit une diarrhée chronique résistante à tout traitement, souvent accompagnée d'anorexie. Cette espèce est rarement observée en dehors de l'appareil digestif. Ce parasite serait l'agent de cholangite sclérosante chez les patients atteints de sida (Pol et coll., 1992). Plus récemment, une autre espèce, *S. intestinalis*, responsable aussi de diarrhée mais pouvant disséminer vers d'autres organes (rein, vessie, foie, épithélium branchial), a été décrite chez des patients séropositifs au VIH. À l'heure actuelle, les microsporidies posent deux types de problèmes leur détection dans des prélèvements biologiques, qui demeure difficile étant donné leur très petite taille (1-3µm) et le traitement des affections qu'elles déterminent.

Leishmania donavani

La leishmaniose viscérale touche 1 % des patients séropositifs au VIH en Espagne (Alvar, 1994). En France, dans une série de 21 487 patients séropositifs au VIH, la leishmaniose viscérale a atteint 41 patients (0,2 %) (Dedet, GPLF, Montpellier, 1993). Cette parasitose peut s'observer à tous les stades de l'infection par le VIH. Près de 30 % des cas surviennent chez des patients séropositifs asymptomatiques ou ayant plus de 200 cD4⁺/µl.

Tableau 7-II : Microsporidioses humaines.

Espèce	Organes cibles	Diagnostic	Contexte clinique	Hôtes connus
Enterocytozoon bienewisi	Intestin voie biliaire	Selles, bile, biopsie intestinale	VIH ⁺	Homme
Septata intestinalis	Intestin, sinus, rein, vessie, foie, voie aérienne	Selles, urine, biopsies intestinales et d'autres organes	VIH ⁺	Homme
Encephalocytozoon hellem	Œil, sinus, tractus respiratoire, rein ou biopsie	Urine, mucus nasal ou sinusal, culture	VIH ⁺	Homme
Encephalocytozoon cuniculi	SNC ¹ , rein, péritoine, foie, œil	LCR ² , urine, culture, biopsie	VIH ⁺ ou non	Mammifères
Nosema spp	Œil et atteintes systémiques	Histopathologie, culture	Varié	Vertébrés et invertébrés
Pléistophora	Muscle	Histopathologie	VIH ⁺	Poissons

La leishmaniose viscérale du patient séropositif touche en général les adultes et adopte des formes clinico-pathologiques inhabituelles (localisations digestives ou pleuropulmonaires). Les souches responsables de leishmaniose au cours du sida semblent plus sensibles à l'amphotéricine-B qu'à l'antimoniote de méglumine (Glucantime®).

Mycoses

Candida albicans

Candida albicans donne des lésions oropharyngiennes chez plus de 80 % des patients séropositifs elles constituent une des premières manifestations de l'infection par le VIH. Des lésions œsophagiennes sévères sont observées chez 14 % des patients séropositifs au VIH. Chez ces patients, le fait le plus surprenant est la faible tendance de cette levure à disséminer à partir du tube digestif, ce qui se traduit par la rareté de candidoses systémiques au cours du sida. Bien que des abcès pulmonaires et cérébraux aient été rapportés chez ces patients (Snider et coll., 1984), leur survenue est largement plus fréquente dans d'autres contextes d'immunodépression.

Les atteintes muqueuses de *Candida* au cours du sida sont néanmoins préoccupantes à plusieurs titres

- leur forte fréquence;
- leur caractère invalidant: l'atteinte œsophagienne empêche souvent le patient de s'alimenter, contribuant ainsi au développement de la cachexie;
- la nécessité d'employer sans cesse des antifongiques facilite la sélection de nouvelles espèces fongiques résistantes devant lesquelles nous sommes démunis;
- leur contribution probable à l'augmentation de la réplication virale via l'aptitude de glycoconjugués de la levure à induire des taux élevés de TNF- α (Trinel et coll., 1993; Jouault et coll., 1994a et 1994b).

Les anomalies des lymphocytes T favoriseraient les candidoses superficielles (cutanées ou muqueuses) mais ne prédisposent pas au développement de candidoses systémiques. Les sérums de patients séropositifs contiennent des anticorps dirigés contre un antigène de 47 kDa (p47) de *C. albicans*, associé à la candidose systémique. Ces anticorps jouent sans doute un rôle dans la défense contre cette forme clinique de candidose, car ils sont plus rares chez des patients immunodéprimés, mais séronégatifs. Cependant, les anticorps anti-p47 ne protègent pas le patient séropositif contre la progression de la candidose orale et/ou œsophagienne. Son système immunitaire est alors chroniquement hyperstimulé par la forte charge antigénique, devenant de plus en plus impuissant à lutter contre d'autres agents infectieux.

De plus, mannanes et glycoprotéines fongiques pariétales inhiberaient la réponse cellulaire en aggravant, en définitive, le déficit en cellules T (Matthews, 1992). Par ailleurs, des travaux récents (Miyakawa et coll., 1992; Li et Cutler, 1993; Trinel et coll., 1993; Jouault et coll., 1994a et 1994b; Kanbe et Cutler, 1994) montrent que des séquences de résidus mannose (oligomannosides) de la paroi de la levure jouent un rôle prépondérant dans les phénomènes d'adhérence et d'immunomodulation induits par la levure.

Cryptococcus neoformans et autres agents

Cryptococcus neoformans atteint 6 à 10 % de patients séropositifs au VIH. Cette levure encapsulée, particulièrement fréquente chez le patient africain séropositif au VIH, donne en général des atteintes méningo-encéphaliques, comme au cours d'autres types d'immunodépression. Cependant, les lésions pulmonaires, cutanées et d'autres organes ne sont pas rares. En France, 85 % des cas actuels de cryptococcose sont diagnostiqués chez des patients infectés par le VIH. Ces patients ont un taux moyen de 44 cD4⁺/μl. Les sérotypes A et D de *C. neoformans*, qui correspondent à la variété la plus pathogène (*neoformans*) du champignon, sont les seuls isolés; le sérotype A (79.5 %) est plus fréquent que le sérotype D (20.5 %) qui semble associé à des lésions cutanées. Cette mycose constitue en Afrique la troisième infection opportuniste au cours du sida (la première étant la tuberculose et la deuxième la toxoplasmose) (Dromer et coll. 1994).

BIBLIOGRAPHIE

- ALIOUAT EM, MAZARS E. DEI-CAS E. CESBRON JY, CAMUS D. Intranasal inoculation of mouse, rat or rat-derived *Pneumocystis* in SCID mouse. *J Protozool Res* 1993, **3**: 94-98.
- ALVAR J. Leishmaniasis and AIDS co-infection: the Spanish example. *Parasitol Today* 1994, **10**: 160-163.
- BARTLETT MS, LEE CH, LU JJ, BAUER NL, BRADY SL, BELTZ JF, Mc LAUGHUN GL, SMITH JW. *Pneumocystis carinii* detected in air. *J Euk Microbiol* 1994, **41**: S75.
- BLOOM BR, MURRAY CJ. Tuberculosis: commentary on a reemergent killer. *Science* 1992, **257**: 1055-1064
- CHAN Y, CESARMAN E. PESSIN MS, LEE F. CULPEPPER J. KNOWLES DM, MOORE PS. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994, **266**: 1865-1869
- COHEN OJ, STOECKLE MY. Extrapulmonary *Pneumocystis carinii* infections in the acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 1991, **151**: 1205-1214.
- COSTAGLIOLA D, LIEVRE L, MARY-KRAUSE M. Retour d'informations clinico-épidémiologiques préparé à partir de la base de données clinico-épidémiologiques du sujet séropositif suivi à l'hôpital. INSERM SCA, Paris 1995.

DEI-CASE Infections ‡ *Pneumocystis carinii* biologie *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* Masson, Paris (sous presse), 1996

DEI-CAS E. AJANA F. DELDICQUE P. BONALY R. VERNES A. Place actuelle de l'amphotéricine B dans le traitement des mycoses profondes. *Ann Biol Clin* 1987, **45**: 673-679.

DEI-CAS E. CAILLIEZ JC, PALLUAULT F. ALIOUAT EM, MAZARS E. SOULEZ B. SUPPIN J. CAMUS D. Is *Pneumocystis carinii* a deep mycosis-like agent ? *Eur J Epidemiol* 1992, **8**: 460-470

DEI-CAS E. MAZARS E. ALIOUAT EM, ODBERGFERRAGUT C, DURAND 1, DENIS CM, CAMUS D. Infection sources reservoir and transmission of pneumocystosis. In Oczel et Alkan (eds): *Parasitology for the 21st Century: ICOPA VIII*, CAB International, Oxford, 1995, 175-186

DEI-CAS E. VERNES A. Parasitic adaptation of pathogenic fungi to mammalian hosts. *CRC Critical Reviews in Microbiology* 1986, **13**: 183-218

DESORTES I LE CHARPENTIER Y, GALAN A, BERNARD F. COCHAND PRIOLET B. LAVERGNE A, RAVISSE P. MODIGLIANI R. Occurrence of a new microsporidian: *Enterocytozoon bie-neusi* n.g., n.sp., in the enterocytes of a human patient with AIDS. *J Protozool* 1985 **32**: 250-254

DROMER F. VARMA A, BONIN O, MATHOULIN S. DUPONT B. Molecular typing of *Cryptococcus Neoformans* serotype D clinical isolates. *J Clin Microbiol* 1994 **32**: 2364-2371

EMERY VC, WEBSTER A, GRIFFITHS PD. Herpesvirus. In S. Myint et A. Cann (Eds): *Molecular and Cell Biology of Opportunistic Infections in AIDS*, Londres: Chapman & Hall, 1992

GIGLIOTTI F. HARSAN AG, HAIDARIS CG, HAIDARIS P. *Pneumocystis carinii* is not universally transmissible between mammalian species. *Infect Immun* 1993, **61**: 2886-2890

GRADON JD, TIMPONE JG, SCHNITTMAN 8M. Emergence of unusual opportunistic pathogens in AIDS: a review. *Clin Infect Dis* 1992, **15**: 134-157

GRANT IH, GOLD JW, ROSENBLUM M, NIEDZWIEKI D, ARMSTRONG D. *Toxoplasma gondii* serology in HIV infected patients, the development of central nervous system toxoplasmosis. *AIDS* 1990, **4**: 519-521

HUANG YQ, LI JJ, KAPLAN MH, POIESZ B. KATABIRA E. ZHANG WC, FEINER D, FRIEDMAN-KIEN AE. Human herpesvirus-like nucleic acid in various forms of Kaposi's sarcoma. *Lancet* 1995, **345**: 759-761

HUGHES WT. *Pneumocystis carinii* Pneumonitis. *CRC Press, Boca Raton* 1987

JOUAULT T, BERNIGAUD A, LEPAGE G. TRINEL PA, POULAIN D. The *Candida albicans* phospholipomannan induces in vitro production of TNF alpha from human and murine macrophages. *Immunology* 1994a, **83**: 268-273

JOUAULT T, LEPAGE G. BERNIGAUD A, TRINEL PA, WIERUSZESKI JM, STRECKER G. POULAIN D. Relationship between degree of polymerisation of homopolymers of beta-1,2 linkedmannoaligosaccharides from *C. albicans* cell wall mannan and induction of TNF alpha production by murine macrophages. *Infect Immun* 1994b, sous presse

- KANBE T, CUTLER J. Evidence for adhesin activity in the acid-stable moiety of the phosphomannoprotein cell wall complex of *Candida albicans*. *Infect Immun* 1994, **62**: 662-668
- KNOX KK, CARRIGAN DR. HHV-6 and CMV Pneumonitis in immunocompromised patients *Lancet* 1994 **343**: 1647
- LI RK, CUTLER J. 1993. Chemical definition of an epitope/adhesin molecule on *Candida albicans*. *J Biol Chem* 1993 **268**: 18293-18299
- LO S, KOTANI H, HU Ws. 1992. Mycoplasmas and AIDS. In S. Myint et A. Cann (Eds): *Molecular and Cell Biology of Opportunistic Infections in AIDS*, Chapman & Hall, Londres
- LUSO P, MALNATI MS, GARZINO-DEMO A, CROWLEY RW, LONG EO, GALLO RC. Infection of natural killer cells by human herpesvirus 6. *Nature* 1993: **362**, 458
- LUSO P, SECCHIERO P, CROWLEY RW, GARZINO-DEMP A, BERNEMAN ZN, GALLO RC. CD4 is a critical component of the receptor for human herpesvirus 7: Interference with human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, **91**: 3872-3876
- MAZARS E, ODBERG-EERRAGUT C, DEI CAS E, KAYAGA K, SUZUKI M. Role of specific determinants in mannan of *Candida albicans* serotype A in adherence to buccal epithelial cells. *Infect Immun* 1992, **60**: 173-183
- MIYAKAWA Y, KURIBAYASHU T, KAGAYA K, SUZUKI M. Role of specific determinants in mannan of *Candida albicans* serotype A in adherence to buccal epithelial cells. *Infect Immun* 1992, **60**: 173-183
- ODDS FC. Pathogenesis of *Candida* infections. *J Am Acad Dermatol* 1994, **31**, 3 Pt 2, S2-S5
- OKSENHENDLER E, CHARREAU I, TOURNERIE C, AZIHARY M, CARBON C, ABOULKER JP. *Toxoplasma gondii* infection in advanced HIV infection. *AIDS* 1994, **8**: 483-487
- POL S, ROMANA C, RICHARD S, CARNOT F, DUMONT JL, BOUCHE H, PIALOUX G, STERN M, PAYS JF, BERTHELOT P. Enterocytozoon bienersi infection in Acquired Immunodeficiency Syndrome-related sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 1992 **102**: 1778-1781
- RALPHS NT, BOULNOIS GJ, ANDREW PW. Mycobacteria. In S. Myint et A. Cann (Eds): *Molecular and Cell Biology of Opportunistic Infections in AIDS*, Chapman & Hall, Londres 1992
- RAVIGLIONE MC. Extrapulmonary pneumocystosis: the first 50 cases. *Rev Infect Dis* 1990 **12**: 1127-1138
- RELKIN E, ARANDA CP, GARAY SM, SMITH R, BERKOWITZ KA, ROM WN. Pleural tuberculosis and HIV infection. *Chest*, 1994 **105**: 1338-1341
- RICHARDSON EP. Progressive multifocal lencephalopathy 30 years later. *N Engl J Med* 1988 **318**: 315-316
- SEPKOWITZ KA, BROWN AE, ARMSTRONG D. *Pneumocystis carinii* pneumonia without acquired immunodeficiency syndrome. More patients, same risk. *Arch Int Med* 1995, **155**: 1125-1128
- SNIDER WD, SIMPSON DM, NIELSON S, GOLD JW, METROKA CE, POSNER JB. Neurological complications of acquired immune deficiency syndrome. *Ann Neurol* 1984, **14**: 403-418

- SOULEZ B, PALLUAULT F, CESBRON JY, DEI-CAS E, CAPRON A, CAMUS D. Introduction of *Pneumocystis carinii* in a colony of SCID mice. *J Protozool* 1991 **38**: 123S-125S
- SPITZER ED, SPITZER SG, FREUNDLICH LF, CASADEVALL A. Persistence of initial infection in recurrent *Cryptococcus neoformans* meningitis. *Lancet* 1993, **341**: 8845, 595-596
- TRINEL PA, BORG VON-ZEPELIN M, LEPAGE G, JOUAULT T, MACKENZTE D, POULAIN D. Isolation and preliminary characterization of the *Candida albicans* 14 to 18-kDa antigen as a phospholipomannan containing fl(1-2) linked oligomannosides. *Infect Immun* 1993 **64**: 4398-4405
- WAKEFIELD AE. Detection of DNA sequences identical to *Pneumocystis carinii* in samples of ambient air. *J Euk Microbiol* 1994 **41**: S116
- WALZER PD. *Pneumocystis carinii* - New clinical spectrum ? *N Engl J Med* 1991, **324**: 263-265
- WISELKA MJ. A clinical overview of opportunistic infections in patients with ATDS. In S. Myint et A. Cann (Eds): *Molecular and Cell Biology of Opportunistic Infections in ATDS*, Chapman & Hall, Londres 1993

8

Un syndrome de dénutrition spécifique

La dénutrition est une des complications majeures du sida. Son importance est telle que le centre de contrôle des maladies d'Atlanta (CDC) considère qu'au cours du sida, une perte de poids supérieure à 10 % a la même valeur pronostique qu'une infection opportuniste ou une néoplasie secondaire. Le *wasting syndrome* est ainsi caractérisé par une perte supérieure ou égale à 10 % par rapport au poids habituel, avec asthénie, fièvre ou diarrhée chronique et ce en l'absence d'autre étiologie que l'infection rétrovirale elle-même (Grunfeld et Kotler, 1991).

Alors que les thérapeutiques spécifiques antirétrovirales et que les traitements des infections et néoplasies secondaires du sida progressent, les aspects nutritionnels de la maladie sont sous-évalués et restent confidentiellement du domaine de quelques spécialistes. Pourtant, en attendant la mise au point de thérapeutiques permettant l'éradication du virus ou l'arrêt de sa réplication, l'amaigrissement et la dénutrition restent une cause importante de morbidité et de mortalité au cours du sida (Kotler et coll., 1985; Kotler et coll., 1989; Chlebowski et coll., 1989).

La dénutrition est la première cause d'immunodépression dans le monde. Hughes et coll. (1974) ont montré que la malnutrition protéique augmente l'incidence de pneumopathies à *Pneumocystis carinii* chez les enfants immunodéprimés. La mortalité infantile dans les pays en voie de développement passe ainsi de 1 % à 18 % en cas de malnutrition sévère, les causes de mortalité étant essentiellement infectieuses (Chandra et coll., 1983).

En l'absence de facteurs d'agression de l'organisme, la dénutrition par carence d'apport exclusive conduit chez l'homme à une adaptation métabolique visant à épargner la masse maigre; la privation alimentaire conduit à la mort lorsque le poids atteint 66 % du poids idéal (Brozec et coll., 1946; Cahill, 1970; Fliednerbaum, 1979). L'analyse de la relation entre la perte de poids et la survie au cours du sida a également montré que la mort survient en moyenne à 66 % du poids idéal (Kotler et coll., 1989). La perte de masse cellulaire active, qui est le principal composant fonctionnel de la masse non grasse - muscles et viscères essentiellement, pourrait être un meilleur déterminant du décès des malades. Ainsi, en l'absence d'intervention nutritionnelle, le décès des malades atteints de sida survient quant ils ont perdu environ la moitié de leur masse maigre (Kotler et coll., 1989). Chez les patients cancéreux, la mort survient également après déplétion de la masse musculaire (Heymsfield et coll., 1992).

Ces études suggèrent que l'importance de l'amaigrissement, plutôt que sa cause, conditionne la survie. En théorie, les thérapeutiques qui permettraient de maintenir la masse cellulaire active pourraient prolonger la survie. Cependant, plusieurs travaux ont montré qu'il n'y avait pas de lien direct entre l'amaigrissement et l'évolution de l'immunodépression au cours du sida, même si l'amaigrissement est un facteur d'immunodépression.

Contrairement aux observations faites dans le jeûne, la perte de masse grasse ne semble pas proportionnelle à la perte de poids (Kotler et coll., 1989). Les malades atteints du sida perdent préférentiellement de la masse maigre en épargnant relativement leurs réserves adipeuses. L'adaptation métabolique visant à préserver les réserves protéiques ne semble pas efficace. La composition corporelle de patients séropositifs - mesurée par impédancemétrie à deux fréquences, selon la technique de Boulier et coll. (1990) - montre en effet une perte de masse maigre supérieure à celle de la masse grasse, et l'existence d'une hyperhydratation extracellulaire qui conduit à sous-estimer et même masquer la perte de masse cellulaire active. Les mêmes résultats sont retrouvés par d'autres méthodes de mesure de la composition corporelle telles que celle utilisant le potassium 40 (Kotler et coll., 1989).

Balance énergétique

La stabilité pondérale nécessite un parfait équilibre entre les dépenses énergétiques totales et les ingesta. C'est la notion de balance énergétique. Les dépenses énergétiques sont en fait la somme de trois postes principaux

- la dépense énergétique de repos (DER), qui représente chez le sujet normal 70 à 75 % des dépenses quotidiennes;
- la thermogenèse alimentaire, qui représente 10 % des dépenses journalières;
- la dépense énergétique liée à l'activité physique, qui représente 15 à 20 % des dépenses du nycthémère.

Si le niveau des ingesta excède les dépenses quotidiennes, l'excédent calorique est stocké dans la masse cellulaire ou dans le tissu adipeux. à l'inverse, lorsque le niveau des ingesta est inférieur à celui des dépenses énergétiques, le déficit conduit à une perte de protéines viscérales et/ou de tissu adipeux, qui sont alors utilisées comme substrat énergétique.

Ce déficit de la balance énergétique peut être dû soit à une augmentation des dépenses énergétiques (hypermétabolisme), soit à une diminution des ingesta (anorexie) ou de leur absorption intestinale. Dans la plupart des états d'agression aiguë de l'organisme, la cause de l'amaigrissement se situe entre ces deux extrêmes. L'interprétation d'un amaigrissement et d'une diminution du stock des protéines viscérales doit donc toujours prendre en compte cet équilibre entre les ingesta, les pertes et les dépenses énergétiques.

Plusieurs groupes ont rapporté l'existence d'une augmentation significative de la DER chez les patients séropositifs asymptomatiques, même à un taux normal en lymphocytes CD4⁺ (Hommes et coll., 1990; Melchior et coll., 1991; Hommes et coll., 1991). Cette dépense énergétique de repos augmente de 10 % en moyenne, et peut atteindre 30 à 40 % au cours des infections opportunistes au sida (Melchior et coll., 1993); cette augmentation n'est alors plus compensée par une augmentation parallèle de la prise alimentaire.

En l'absence d'infection secondaire surajoutée, la stabilité pondérale peut être obtenue (Kotler et coll., 1990; Hommes et coll., 1991), probablement grâce à une compensation de l'hypermétabolisme par l'augmentation des ingesta (Dworkin et coll., 1990). En cas de surinfection, l'amaigrissement est très sensible sur une courte période; il est alors secondaire à la conjonction des modifications métaboliques et de la diminution des ingesta (Grunfeld et coll., 1992a).

Cependant, pour d'autres auteurs, l'hypermétabolisme ne semble pas être la cause majeure du wasting syndrome, sa contribution quantitative restant faible. En fait, le rôle de l'augmentation de la dépense énergétique de repos dans le phénomène d'amaigrissement reste inconnu et, théoriquement, une élévation de la prise de calories pourrait compenser toute perte d'énergie.

Récemment, une étude chez des patients infectés, pour lesquels la dépense énergétique totale est mesurée par la technique du double marquage de l'eau montre qu'il n'y a pas d'augmentation de la dépense énergétique des 24 heures même chez les sujets ayant perdu du poids et présentant une augmentation de la dépense énergétique de repos (Macallan et coll., 1995a). Selon ce travail, c'est la réduction de la prise de calories qui est le facteur déterminant du changement de poids. La même équipe a démontré une augmentation du turn-over protéique mesuré par le marquage à la leucine ¹³C, c'est-à-dire une augmentation du catabolisme protéique musculaire à jeun (Macallan et coll., 1995b). Celle-ci serait l'explication de l'augmentation de la dépense énergétique de repos. Dans la même étude, les auteurs ont démontré qu'une perfusion d'un mélange ternaire de macronutriments (glucose, acides aminés et lipides) inhibe le catabolisme de jeune comme chez les sujets témoins.

Ceci permet de mieux comprendre comment s'installe la dénutrition de l'infection par le VIH. L'augmentation du coût énergétique du turn-over protéique fragilise d'autant plus le malade que la prise alimentaire diminue. On peut ainsi comprendre l'efficacité " nutritionnelle " de la nutrition artificielle.

Presque toutes les études métaboliques ont exclu les patients avec diarrhée sévère. Anomalies de l'architecture intestinale, malabsorption et diarrhées sont fréquentes au cours du sida (Chlebowski et coll., 1989). Même si l'agent pathogène est identifié dans certains cas (cryptosporidies, microsporidies, isospora...), bon nombre de patients présentent une diarrhée d'étiologie inconnue. Si le virus VIH peut être retrouvé en grande quantité dans la muqueuse intestinale, aucune relation claire n'a pourtant été établie entre sa présence et les perturbations fonctionnelles observées. La contribution de la malabsorption au déficit de la balance énergétique n'a pas été étudiée. Il est probable qu'un certain nombre de malades ayant une diarrhée sévère, au moins en partie liée à une malabsorption, diminuent leur ingesta afin de diminuer leur diarrhée (Martin et coll., 1991).

Métabolismes protéique et lipidique au cours du sida

Alors qu'au cours du sida, l'amaigrissement porte essentiellement sur la masse protéique, très peu d'études ont été consacrées à ce sujet. En l'absence d'infection secondaire, la synthèse et la dégradation protéique diminueraient chez les patients atteints du sida (Stein et coll., 1990), situation qui ressemble plus à l'adaptation au jeûne qu'à d'autres modèles d'infection. Les auteurs émettent l'hypothèse que la diminution de synthèse protéique serait à l'origine des difficultés de ces malades à maintenir leur stock de protéines viscérales. Il en serait autrement au cours des infections secondaires, situation dans laquelle la négativation de la balance azotée serait liée à un hypercatabolisme transitoire. Pour d'autres, le turn-over protéique pourrait être globalement augmenté au cours du sida (Macallan et coll., 1992). Chez les patients, l'apport énergétique par voie veineuse freinerait le catabolisme protéique et positiverait la balance azotée comme elle le fait chez les témoins. Quoi qu'il en soit, et contrairement à ce que l'on observe dans les états infectieux aigus, la sensibilité à l'insuline semble plutôt augmentée dans le sida (Hommes et coll., 1991).

Les taux de triglycérides plasmatiques sont élevés chez les patients atteints de sida, même à un stade précoce de l'infection et de façon totalement indépendante de l'amaigrissement (Robin et coll., 1988; Grunfeld et coll., 1989a; Grunfeld et coll., 1992b). La synthèse hépatique des triglycérides est augmentée et le catabolisme des VLDL (lipoprotéines riches en triglycérides) est ralenti (Grunfeld et coll., 1992b). Les acides gras libres plasmatiques augmentent, suggérant une augmentation de la lipolyse périphérique.

Il n'y a cependant aucun lien évident entre ces perturbations et l'amaigrissement.

Médiateurs de l'amaigrissement

Il semble que la réponse de l'hôte à une infection puisse directement entraîner des perturbations métaboliques par le biais de médiateurs telles que les cytokines, parmi lesquelles le Tumor Necrosis Factor (TNF ou cachectine) (Grunfeld et Feingold, 1991). Beutler et Cerami (1987) ont montré que de nombreuses infections accompagnées d'un amaigrissement sont associées à une hypertriglycémie. Les auteurs ont émis l'hypothèse qu'une diminution de l'élimination des VLDL, par diminution de l'activité de la lipoprotéine-lipase, conduirait à la diminution de l'intégration et du stockage des triglycérides (TG) dans le tissu adipeux. Le surnageant de macrophages activés fait maigrir des rongeurs auxquels il est administré quotidiennement et diminue l'activité de la lipoprotéine-lipase de cultures d'adipocytes. Dans ces mêmes cellules, la lipogenèse est inhibée et la lipolyse accrue. Le facteur "cachectisant" isolé fut identifié comme étant le TNF. Ce facteur purifié, obtenu par recombinaison génétique, diminue la synthèse des acides gras et augmente in vitro la lipolyse dans les adipocytes (Patton et coll., 1986; Grunfeld et Feingold, 1991). Il a également été démontré que l'interleukine 1 et différents interférons ont les mêmes effets catabolisants (Keay et Grossberg, 1980; Beutler et Cerami, 1985; Patton et coll., 1986; Grunfeld et Feingold, 1991). Il semble cependant que ces perturbations observées in vitro ne reflètent pas les anomalies in vivo.

Les effets in vivo du TNF ont été étudiés sur modèle animal. L'administration de TNF au rat induit une augmentation de la synthèse hépatique des VLDL (Feingold et Grunfeld, 1987) sans affecter l'activité des lipoprotéine-lipases adipocytaire et musculaire (Semb et coll., 1987; Grunfeld et coll., 1989b). Les doses de cytokines qui augmentent la synthèse hépatique d'acides gras sont les mêmes que celles qui induisent la fièvre, suggérant ainsi qu'il s'agit là de la réponse normale à l'infection (Feingold et coll., 1989; Adi et coll., 1992). L'interleukine 6 et l'interféron γ sont également capables de stimuler la lipogenèse (Feingold et coll., 1989; Grunfeld et coll., 1990). La lipogenèse hépatique augmente normalement lorsqu'un excès d'hydrates de carbone est consommé, afin que l'énergie en excès puisse être stockée facilement sous forme de TG dans le tissu adipeux. Il faut remarquer qu'un tel stockage serait inapproprié en cas de malnutrition, puisque l'énergie est nécessaire au maintien et à la restauration du stock de protéines musculaires. En stimulant la lipolyse le TNF mobilise également les acides gras périphériques, qui sont estérifiés en TG dans le foie et sécrétés sous forme de VLDL. Il en résulte la constitution d'un cycle futile du fait d'une augmentation de l'utilisation des VLDL ainsi produites et d'un taux d'élimination normale (Wolfe et coll., 1985; Feingold et coll., 1990).

L'injection quotidienne de TNF entraîne une perte de poids progressive chez les rongeurs (Socher et coll., 1988), alors que l'administration de TNF recombinant induit au contraire un amaigrissement rapide et transitoire, dû à une diminution de la prise alimentaire (Socher et coll., 1988; Mahoney et coll., 1988; Grunfeld et coll., 1989c; Mullen et coll., 1990). Malgré la reprise pondérale liée à l'épuisement des effets anorexigènes, l'hypertriglycéridémie persiste. Ainsi les perturbations lipidiques induites par les cytokines n'entraînent-elles pas forcément un amaigrissement.

En dépit de toutes ces incertitudes sur les effets des cytokines prises isolément, il est probable que les cytokines agissent en synergie pour favoriser l'amaigrissement. Une étude de Lähdevirta et coll. (1988) a mis en évidence l'existence de taux élevés de TNF chez des patients atteints de sida et attribué la responsabilité de la cachexie de cette maladie au TNF. De nombreuses études plus récentes ont pourtant montré l'absence de relation entre les taux plasmatiques de TNF et l'amaigrissement des malades atteints de sida (Grunfeld et coll., 1992b). En fait, le taux de TNF plasmatique s'élève dans les infections aiguës alors qu'il n'est pas ou peu délectable dans les infections chroniques (Hughes et coll., 1974; Lahdevirta et coll., 1988; Hommes et coll., 1991). D'ailleurs, une analyse plus fine de l'étude de Lahdevirta et coll. (1988) permet de constater que les taux de TNF étaient élevés chez les malades qui souffraient d'une infection secondaire. L'interféron est également élevé dans le plasma des patients atteints de sida et ces taux seraient mieux corrélés que ceux du TNF aux modifications du métabolisme lipidique ainsi qu'à l'hypertriglycéridémie (Lahdevirta et coll., 1988; Grunfeld et coll., 1991; Mildvan et coll., 1992).

Il faut cependant admettre qu'aucune corrélation n'a pu être mise en évidence jusqu'à ce jour entre l'amaigrissement des sujets séropositifs au VIH et les anomalies observées au niveau du métabolisme des cytokines.

BIBLIOGRAPHIE

ADI S. POLLOCK AS, SHIGENAGA JK, MOSER AH, FEINGOLD KR, GRUNFELD. Role for monokines in the metabolic effects of endotoxin: interferon gamma restores responsiveness of C3H/HeJ mice in vivo. *J Clin Invest* 1992 **89**: 1603-1609

BENTATA M. Les mécanismes de la dénutrition. *Le Journal du SIDA* 1994, **66**: 16-17

BEUTUER B. CERAMI A. Cachectin: more than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987, **316**: 379-3785

BEUTUER B. CERAMI A. Recombinant interleukin 1 suppresses lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 cells. *J Immunol* 1985; **135**: 3969-3971

BOULIER A, FRICKER J. THOMASSET AL, APFELBAUM M. Fat free mass estimation by the two electrode impedance method. *Am J Clin Nutr* 1990, **52**: 581-585

BROZEC J. WELLS S KEYS A. Medical aspects of semi starvation in Leningrad (siège 1941-1942). *Am Rev Soviet Med* 1946, 70-86

BURGER B. OLUENSCHLAGER G. SCHRAPPE M, STUTE A, FISCHER M, WESSEL D, SCHWENK ADIEHL V. Nutrition behavior of malnourished HIV-infected patients and intensified oral nutritional intervention. *Nutrition* 1993, **9**:43-44

CAHILL GF. Starvation in man. *N Engl J Med* 1970, **282**: 668-75

CHANDRA RK, SCRIMSHAW NS. Nutrition, Immunity and Infection: present Knowledge and Future Directions. *Lancet* 1983, **1**: 688-691

CHLEBOWSKI RT, GROSVENOR MB, BERNHARD NH, MORALES LS, BULCAVAGE LM. Nutritional status, gastrointestinal dysfunction, and survival in patients with AIDS. *Am J Gastroenterol* 1989, **84**: 1288-1293

COODLEY GO, LOVELESS MO, NELSON HD, COODLEY MK. Endocrine function in the HIV wasting syndrome, *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994, **7**: 46-51

DWORKIN BM, WORMSER GP, AXELROD F. PIERRE N. SCHWARTZ E. SCHWARTZ E. SEATON T. Dietary Intake in patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), Patients with AIDS-Related complex, and Serologically Positive Human Immunodeficiency Virus Patients: Correlations with Nutritional Status. *J Parent Enteral Nutr* 1990; **14**: 605-609

FEINGOLD KR, ADI S. STAPRAMS I et coll. Diet affects the mechanisms by which TNF stimulates hepatic triglyceride production. *Am J Physiol* 1990, **259**: E177-E184

FEINGOLD KR, GRUNFELD C Tumor necrosis factor- α stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo. *J Clin Invest* 1987, **80**: 184-90

FEINGOLD KR, SOUED M, SERIO MK, MOSER AH, FIERIS W. DINAREUO CA, GRUNFELD C. Multiple cytokines stimulate hepatic lipid synthesis in vivo. *Endocrinology* 1989, **125**: 267-74

FLIEDERBAUM J. Clinical aspects of Hunger disease in adults. In Winick M, (ed) *Hunger disease: studies by the Jewish physicians in the Warsaw ghetto*. Osnos M, trans. New York: John Wiley, 1979: 11-43

GRUNFELD C, GULLI R. MOSER AH, GAVIN LA, FEINGOLD KR. Effect of tumor necrosis factor administration in vivo on lipoprotein lipase activity in various tissues of the rat. *J Lipid Res* 1989a, **30**: 579-85

GRUNFELD C, KOTUER DP, HAMADEH R. TIERNEY A, WANG J. PIERSON RN. Hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1989b, **86**: 27-31

GRUNFELD C, WILKING H. NEESE R et al. Persistence of the hypertriglyceridemic effect of tumor necrosis factor despite development of tachyphylaxis to its anorectic/cachectic effects in rats. *Cancer Res* 1989c, **49**: 2554-2560

GRUNFELD C, ADI S. SOUED M, MOSER AH, FIERIS W. FEINGOLD KR. Search for mediators of the lipogenic effects of tumor necrosis factor: potential role of interleukin 6 *Cancer Res* 1990, **50**: 4233-4238

GRUNFELD C, FEINGOLD KR. The metabolic effects of tumor necrosis factor and other cytokines. *Biotherapy* 1991, **3**: 143~158

GRUNFELD C, KOTLER DP. The wasting syndrome and nutritional support in AIDS. *Seminar in Gastrointestinal Disease* 1991, **2**: 25-36

GRUNFELD C, KOTLER DP, SHIGENAGA JK, et coll. Circulating interferon alpha levels and hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1991 **90**: 154-162

GRUNFELD C, PANG M, SHIMIZU L SHIGENADAJK, JENSEN P. FEINGOLD KR. Resting energy expenditure, caloric intake and weight change in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Clin Nutr* 1992a, **55**: 455-460

GRUNFELD C, PANG M, DOERRLER W. SHIGENAGA JK, JENSEN P. FEINGOLD KR. Lipids, lipoproteins, triglycerides clearance and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Clin Endocrinol Metab* 1992b, **74**: 1045-1052

HECKER LM, KOTLER DP. Malnutrition in patients with AIDS. *Nutr Rev* 1990, **48**: 393-401

HEISE C, DANDEKAR S. KUMAR P. DUPLANTIER R. DONOVAN RM, HALSTED CH. Human immunodeficiency virus infection of enterocytes and mononuclear cells in human jejunal mucosa. *Gastroenterology* 1991, **100**: 1521-1527

HEYMSFIELD SB, MC MANUS C, SMITH J. STEVENS V, NIXON DW. Anthropometric measurement of muscle mass: revised equations for calculating bone-free arm muscle area. *Am J Clin Nutr* 1992, **36**: 680-690

HOMMES MJT, ROMIJN JA, ENDERT E. SAVERWEIN HP. Resting energy expenditure and substrate oxidation in human immunodeficiency virus (HIV)-infected asymptomatic men: HIV affects host metabolism in the early asymptomatic stage. *Am J Clin Nutr* 1991, **54**: 311-315

HOMMES MJT, ROMIJN JA, GODFRIED MH, EEFTINC K. SCHATTENKER JKM, BURMAN WA, ENDERT E. SAUERWEIN HP. Increase resting energy expenditure in human immunodeficiency virus-infected men. *Metabolism* 1990, **39**: 1186-1190

HUGHES WT, PRICE RA, SISKI F. HAVRON Ws, KAFATOS AG, SCHONLAND M, SMYTHE PM. Protein-Calorie Malnutrition: A Host Determinant for *Pneumocystis carinii* Infection. *Am J Dis Child* 1974, **128** :4452

KEAY S. GROSSBERG 8E. Interferon inhibits the conversion of 3T3-L1 mouse fibroblasts into adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980, **77**: 4099-4103

KEUSCH GT, THEA DM. Malnutrition in AIDS. *Med Clin North Am* 1993, **77**: 795-814

KOTLER DP, TIERNEY AR, BRENNER SK, COUTURE S. WANG J. PIERSON RN JR. Preservation of short-term energy balance in clinically stable patients with AIDS. *Am J Clin Nutr* 1990, **51**: 7-13

KOTLER DP, TIERNEY AR, WANG J. PIERSON RE. Magnitude of body cell mass depletion and the timing of death from wasting in AIDS. *Am J Clin Nutr* 1989, **50**: 444-447

KOTLER DP, WANG J, P[ERSON R. Studies of body composition in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Clin Nutr* 1985, **42**: 1255-1265

LAHDEVIRTA J, MAURY CPJ, TEPPA A, REPO H. Elevated levels of circulating cachectin/tumor necrosis factor in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1988, **85**: 289-291

MACALLAN DC, MC NURLAN MA, MILNE E, GARLICK PJ, GRIFFIN GE. Whole body turnover from leucine kinetics and the response to nutrition in human immunodeficiency virus infection. *Am J Clin Nutr* 1995 **61**: 818-826

MACALLAN DC, NOBLE C, BALDWIN C, JEBB SA, PRENTICE AM, COWARD A, SAWYER MB, MCMANUS TJ, GRIFFIN GE. Energy expenditure and wasting in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1995, **333**: 83-87

MA HONEY SM, TISDALE MJ. Induction of weight loss and metabolic alterations by human recombinant tumor necrosis factor. *Br J Cancer* 1988, **58**: 345-349

MARTIN Z, ULLRICH R, HEISE W, BERGS C, L'AGE M, RIECKEN EO. Malabsorption is found in early stages of HIV infection and independent of secondary infections. *Abstracts of the Seventh International Conference on AIDS, Florence, Italy, June 16-21, 1991. Vol. 1*. Rome: Istituto Superiore di Sanità, 1991: 46 abstract

MELCHIOR JC, RAGUZZI G, BOULIER A, BOUVET E, RIGAUD D, MATHERON S, CASALINO E, VILDE JL, VACHON F, COULAUD JP et al. Resting energy expenditure in human immunodeficiency virus-infected patients: comparison between patients with and without secondary infections. *Am J Clin Nutr* 1993, **57**: 614-619

MELCHIOR JC, SALMON D, RIGAUD D, LEPORT C, BOUVET E, DETRUCHIS P, VILDE JL, VACHON F, COULAUD JP, APFELBAUM M. Resting energy expenditure is increased in stable, malnourished HIV-infected patients. *Am J Clin Nutr* 1991, **53**: 437-441

MILDEVAN D, MACHADO SG, WILETS I, GROSSBERG SE. Endogenous interferon and triglyceride concentrations to assess response to zidovudine in AIDS and advanced AIDS related complex. *Lancet* 1992, **339**: 453-456

MULLEN BJ, HARRIS RBS, PATTON JS, MARTIN RJ. Recombinant tumor necrosis factor alpha chronically administered in rats: lack of cachectic effect. *Proc Soc Exp Biol Med* 1990, **193**: 318-325

PATTON JS, SHEPARD HM, WILKING H. et coll. Interferons and tumor necrosis factor have similar catabolic effects on 3T3-L1 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, **83**: 8313-8317

ROBIN JP, FRAZER M, SARDET C, GROCOLAS R, LE MAHO Y. Protein and lipid utilization during long-term fasting in emperor penguins. *Am J Physiol* 1988, **254**: R61-R68

SCHWENK A, BUGER B, WESSEL D, STUTZER H, ZIEGENHAGEN D, DZEHL V, SCHRAPPE M. Clinical risk factors for malnutrition in HIV-1-infected patients. *AIDS* 1993, **7**: 1213-1219

SEMB H, PETERSON J, TAVERNIER J, OLIVECRONA T. Multiple effects of tumor necrosis factor on lipoprotein lipase in vivo. *J Biol Chem* 1987, **262**: 8390-8394

SOCHER SH, FRZEDMANN A, MARTINEZ D. Recombinant human tumor necrosis factor induces acute reductions in food intake and body weight in mice. *J Exp Med* 1988, **167**: 1957-1962

SOLOMONS NW. Pathways to the impairment of human nutritional status by gastrointestinal pathogens. *Parasitology* 1993, **107 Suppl**: S19-S35

STEZN TP, NUTINSKY C, CONDOLUCZ D, SCHLUTER MD, LESKZW MJ. Protein and energy substrate metabolism in AIDS patients. *Metabolism* 1990, **39**: 876-881

SUTTMANN U. OCKENGA J. SELBERG O, HOOGESTRAAT L, DEICHER H. MULLER MJ. Incidence and prognostic value of malnutrition and wasting in human immunodeficiency virus-infected outpatients. *J Acquir Immun Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995, **8**: 239-246

WINSON G. Gastrointestinal problems in patients with AIDS: **Nurs. Times** 1994, **90**: 36-39

WOLFE RR, SHAW JHF, DURKO r MJ. Effect of sepsis of VLDL kinetics: responses in basal state and during glucose infusion. *Am J Physiol* 1985, **248**: E732-E740

II

Traitements actuels

9

Des antirétroviraux en évolution

Des médicaments homologués insuffisants en nombre et en activité

En 1987, il a été montré que la zidovudine (AZT) prolonge la vie des malades atteints de sida, au prix d'une toxicité notable et de contraintes liées à une administration très fréquente. L'AZT est le précurseur d'un analogue désoxynucléosidique triphosphate, substrat de la transcriptase inverse du VIH. Incorporé dans la chaîne d'ADN en cours de formation, il bloque son élongation. Dans les années qui ont suivi la première publication, les cliniciens ont appris à mieux utiliser l'AZT: prises quotidiennes moins nombreuses, doses plus faibles et moins toxiques, mais conservant le même effet antiviral. Deux autres médicaments inhibiteurs de la transcriptase inverse sont disponibles en France en 1995, la didanosine (ddI) et la zalcitabine (ddC). Leur efficacité est du même ordre que celle de l'AZT, mais ils ont des profils toxiques différents rendant possible leur association à l'AZT. Les progrès, dans ce domaine, ont donc été lents.

Donné seul en première intention, l'AZT était considéré comme étant plus actif que la ddI et la ddC, qui n'étaient donc prescrits, en monothérapie, qu'en relais d'un traitement par l'AZT devenu inefficace. La supériorité de l'AZT n'est plus, à présent, aussi évidente. En fait, tous ces médicaments sont particulièrement peu efficaces à un stade évolué de la maladie, où leur activité est difficile à démontrer dans les essais thérapeutiques. De façon générale, ils n'augmentent que peu le nombre de lymphocytes CD4 circulants (moins de 50/mm³) et diminuent modérément la charge virale plasmatique (de l'ordre de 0,6 log décimal). C'est dire que l'efficacité de ces trois traitements est insuffisante en monothérapie.

Vers des médicaments plus nombreux et plus actifs ?

Deux médicaments appartenant également à la famille des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse du VIH sont sur le point d'être enregistrés la stavudine (D4T) et la lamivudine (3TC). Leur niveau d'activité est vraisemblablement du même ordre que celui des précédents.

De nombreux médicaments, correspondant à deux familles thérapeutiques distinctes de celle des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, sont en cours d'essais thérapeutiques de phase III. Parmi eux, les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse qui se fixent à distance du substrat et du site catalytique, et agissent vraisemblablement par inhibition stérique. Il s'agit de la névirapine, la première évaluée, de la delavirdine et du loviride. Leur niveau d'activité clinique n'est pas encore bien connu. Certaines de ces molécules exposent à une toxicité cutanée parfois fréquente.

D'autres médicaments appartenant à une autre famille thérapeutique, les inhibiteurs de protéase, sont en cours de développement et certains seront disponibles dès 1996. Le niveau d'activité de certains inhibiteurs de protéase (indinavir, ritonavir) est nettement plus élevé que celui des analogues nucléosidiques (diminution de la charge virale plasmatique de 1 à 2 log décimaux). La toxicité et l'activité des antiprotéases sont encore mal connues mais il est probable que ces molécules bénéficient d'un rapport activité/toxicité supérieur à celui de l'AZT et qu'elles pourront tenir une place importante parmi les médicaments anti-VIH dans un avenir proche. L'efficacité de ces médicaments est malheureusement brève, moins d'un an, lorsqu'ils sont administrés en monothérapie. Ceci est probablement à rapprocher des résistances virales observées in vitro chez tous les malades en cours de traitement. Ces résistances correspondent à des mutations ponctuelles sur le génome de la transcriptase inverse ou de la protéase virale selon le médicament utilisé. Cette résistance n'est guère surprenante compte tenu du taux de réplication très élevé du virus. De nombreuses mutations ont été identifiées pour les inhibiteurs de la transcriptase inverse. Elles sont en cours d'identification pour les inhibiteurs de la protéase. Les degrés de résistance croisée, dans chaque famille thérapeutique, sont encore mal connus.

Objectifs thérapeutiques

L'insuffisance de la puissance et du nombre des médicaments anti-VIH dont nous disposons aujourd'hui doit conduire à la mise au point d'autres molécules. A côté de médicaments agissant sur des cibles différentes de la transcriptase inverse et de la protéase virale, de nouveaux médicaments

appartenant aux familles thérapeutiques déjà explorées seraient également les bienvenus, avec la réserve, toutefois, des résistances croisées éventuelles. Des modifications galéniques de médicaments existants peuvent permettre d'augmenter leur activité intrinsèque et l'étendue des cellules accessibles (prodrogue monophosphate par exemple).

Mais le clinicien peut déjà espérer améliorer l'efficacité du traitement anti-rétroviral de deux façons en affinant les indications thérapeutiques et en augmentant l'effet des traitements disponibles. La mise à disposition récente de techniques simples de quantification de la charge virale plasmatique peut conduire, lorsque cet outil sera maîtrisé, à mieux déterminer la date de début d'un traitement et le moment d'en changer. Les premières données disponibles suggèrent que l'intérêt de ces techniques est indépendant de celui de la mesure du déficit immunitaire par les CD4. La mise au point de nouveaux outils d'aide à la décision thérapeutique est donc indispensable, à côté de la recherche médicamenteuse proprement dite.

Pour augmenter l'efficacité (activité et durée) des traitements, lorsque les médicaments disponibles ont une activité insuffisante et induisent l'émergence de résistance, les associations thérapeutiques sont largement utilisées dans le domaine des maladies infectieuses et de la cancérologie. De nombreux essais thérapeutiques ont donc été effectués, évaluant l'intérêt d'associations doubles voire triples de médicaments dont les profils de toxicité diffèrent et dont les résistances induites ne proviennent pas des mêmes mutations. Il est maintenant clairement démontré que certaines associations exercent un effet plus important et surtout plus prolongé que les monothérapies. Ceci était établi depuis plusieurs années sur les données virologiques et les CD4 circulants et vient d'être confirmé par l'évaluation de l'efficacité clinique, dans deux essais thérapeutiques internationaux de phase III (Delta et ACTG 175), qui ont montré que les associations AZT + ddI et AZT + ddC retardent l'évolution des symptômes de la maladie et en diminuent la mortalité, par rapport à l'AZT donnée seule. La recommandation officielle est donc dorénavant de traiter par des associations et non par l'AZT seul ces associations sont pour le moment des bithérapies; cependant des renseignements sur l'intérêt des trithérapies commencent à être disponibles. Il est déjà démontré que la puissance de ces associations est encore augmentée par l'utilisation des antiprotéases.

Il est à présent établi que la notion de latence clinique, qui s'écoule entre la primo-infection et la maladie symptomatique ultérieure conduisant au sida n'est pas sous-tendue par une faible répllication virale. Il est donc logique d'envisager de traiter les malades à un stade précoce où la charge virale est encore peu élevée, mais où la répllication du virus est déjà rapide. Ceci pourrait diminuer la fréquence d'émergence des mutants résistants. L'application de cette logique reste cependant encore limitée par le nombre insuffisant des médicaments disponibles, compte tenu de leur activité transitoire qui contraste avec la durée de la maladie.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAMS DI, GOLDMAN AI, LAUNER C, KORVICK JA, NEATON JD, CRANE LR, GRODESKY M, WAKEFIELD S, MUTH K, KORNEGAY S, COHN DL, HARRIS A, LUSKIN-HAWA R, MARKOWITZ N, SAMPSON JH, THOMPSON M, DEYTON L and the Terry Bein community Programs for Clinical Research on AIDS. A comparative trial of didanosine or zalcitabine after treatment with zidovudine in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Eng J Med* 1994, 330: 657-662
- BRANSON BM. Early intervention for persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*, 1995, 20 Supp 1: 3-22
- FISCHL MA, RICHMAN DD, GRIECOM H, GOTTLIEB MS, VOUBERDING PA, LASKIN OL, LEEDOM JM, GROOPMAN JE, MILDVAN D, SCHOOUEY RT, JACKSON GG, DURACK DT, PHIL D, KING D and the AZT Collaborative Working Group. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1987, 317: 185-191
- FISCHL MA, RICHMAN DD, HANSEN N, COLLIER AC, CAREY JT, PARA MF, HARDY WD, DOLIN R, POWDERLY WG, ALLAN JD, WONG B, MELLIGAN TC, McAULIFFE VJ, HYSLOP NE, RHAME FS, BALLOUR HH, SPECTOR SA, VOLBERDING P, PETTINELLI C, ANDERSON J and the AIDS Clinical Trials Group. The safety and efficacy of Zidovudine (AZT) in the treatment of subjects with mildly symptomatic human immunodeficiency virus type 1 (HIV) infection. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Int Med* 1990, 112: 727-737
- FISCHL MA, STANLEY K, COLLIER AC, ARDUINO JM, STEIN DS, FEINBERG JE, ALLAN JD, GOUDSMITH JC, POWDERLY WG and the AIDS Clinical Trials Group. Combination and monotherapy with Zidovudine and Zalcitabine in patients with advanced HIV disease. *Ann Int Med* 1995, 122 :2432
- HAMMER S et coll. Nucleoside monotherapy versus combination therapy in HIV infected adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in persons with CD4 cell counts of 200-500/mm³. *35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. San Francisco CA, Abstract LB-1
- HO D. Time to hit, early and hard. *N Engl J Med* 1995, 333: 450-451
- JOHNSON VA. Nucleoside reverse transcriptase inhibitors and resistance of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 1995, 171 Supp 2: 140-149
- KAHN JG, LAGAROS SW, RICHMAN DD, CROSS A, PETTINELLI A, LIOU SH, BROWN M, VOLBERDING PA, CRUMPACKER CS, BEALL G, SACKS HS, MERIGAN TC, BELTANGADY M, SMALDONE L, DOLIN R and the NIAID AIDS Clinical Trials Group. A controlled trial comparing continued zidovudine with didanosine in human immunodeficiency virus infection. *N Eng J Med* 1992, 327: 581-587
- KATLAMA C. The european lamivudine HIV working group. Combination 3TC/ZDV vs ZDV monotherapy in naive HIV-1 positive patients with a CD4 count of 100-400 cells/mm³. *Second National Conference on Human Retroviruses and Related infections*. **LB 31**. Washington DC, 29 January-2 February 1995.
- KEMPF DJ, MARSH KC, DENISSEN JF, McDONALD E, VASAVANONDA S, FLENTGE CA, GREEN BE, FINO L, PARK CH, KONG XP, WIDEBURG NE, SAUDIVAR A, RUIZ L, KATI WM, SHAM HL, ROBINS T, STEWART KD, HSU A, PLATINER JJ, LEONARD JM, NORBECK DW. ABT-538 is a potent inhibitor of human immunodeficiency virus protease and has high oral bioavailability in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, 92: 2484-2488

- KINLOCH-DE LOES S, HIRSCH B, HOEN B, COOPER DA, TINDALL B, CARR A, SAURAT JH, CLUMECK N, LAZZARIN A, MATHIESEN L, RAFFI F, ANTUNES F, VON OVERBECK J, LUTHY R, GLAUSER M, HAWKINS D, BAUMBERGER C, YERLY S, PERNER TV, PERRIN L. A controlled trial of zidovudine in primary human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1995, 333: 408-413
- KITCHEN Vs, SKINNER C, ARIYOSHI K, LANE E.A, DUNCAN IB, BURCKHARDT J, BURGER HU, BRAGMAN K, PINCHING AJ, WEBER JN. Safety and activity of saquinavir in HIV infection. *Lancet* 1995, 345: 952-955
- LARDER BA, KEMP SD, HARRIGAN PR. Potential mechanism for sustained antiretroviral efficacy of AZT-3TC combination therapy. *Science* 1995, 269: 696-699
- MENG TC, FISCHL MA, BOOTA AM, SPECTOR SA, BENNET D, BASSIAKOS Y, LAI SH, WRIGHT B, RICHMAN DD. Combination therapy with Zidovudine and Dideoxycytidine in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *Ann Int Med* 1992, 116: 13-20
- RICHMAN DD, MENG TC, SPECTOR SA, FISCHL MA, RESNICK L, LAI S. Resistance to AZT and ddC during long-term combination therapy in patients with advanced infection with human immunodeficiency virus. *J Acquir Imm Def Synd* 1994, 7: 135-158
- VOLBERDING PA, LAGAROS SW, KOCH MA, PETTINELLI C, MYERS MW, BOOTH DK, BALFOUR HH, REICHMAN RC, BARTLETT JA, HIRSCH MS, MURPHY RL, HARDY WD, SOEIRO R, FISCHL MA, BARLETT JG, MERIGAN TC, HYSLOP NE, RICHMAN DE, VALENTINE FT, COREY L and the AIDS Clinical Trials Group of The National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. A controlled trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells per cubic millimeter. *N Engl J Med* 1990, 322: 941-949
- VOLBERLING PA, LAGAKOS S.w, GRIMES JM, STEIN DS, ROONEY K, MENG TC, FISCHL MA, COLUER AC, PHAIR JP, HIRSCH MS, HARDY WD, BALFOUR HH, REICHMAN RC. A comparison of immediate with deferred zidovudine therapy for asymptomatic HIV-infected adults with CD4 cell counts of 500 or more per cubic millimeter. *N Engl J Med* 1995, 333: 401-407
- YEN P. Preliminary results of the European/Australian Delta Trial based on data up to 31st May 1995. *5th European Conference on Clinical Aspects and treatment of HIV Infection*. Copenhagen, September 1995.
- YERLY S, KAISER L, BAUMBERGER C, HIRSCH B, PERRIN LH. Early and prolonged decrease of viremia in HIV-1-infected patients treated with didanosine. *J Acquir Imm Def Synd Hum Retrovirol* 1995, 8: 358-364

Des infections à herpesvirus

difficiles à traiter

Jusqu'aux années 1990, les deux infections opportunistes “ phares ” étaient la toxoplasmose et la pneumocystose; depuis, l'introduction de traitements prophylactiques a induit une diminution de la prévalence de ces pathologies. En France, les infections à herpesvirus prédominent, en particulier celles dues au cytomegalavirus (CMV). Toutes les infections virales sont endogènes et sont liées à un processus de réactivation dû à l'immunodépression. Les traitements virucides n'existant pas, la progression et les récides de ces infections sont constantes. La gestion de ces infections est chronique.

Parmi les infections à herpesvirus, l'infection par le cytomegalovirus est un exemple frappant des difficultés rencontrées. Il s'agit d'une infection opportuniste majeure par sa fréquence croissante, par les risques de cécité et de létalité qu'elle entraîne et par ses répercussions immédiates sur la qualité de vie des patients.

Infection par le cytomegalavirus

Le risque de survenue de maladie viscérale à CMV à 2 ans est d'environ 25 % chez les sujets ayant moins de 100 lymphocytes CD4/mm³ et de 30 à 40 % lorsque les CD4 sont inférieurs à 50/mm³ (Gallant et coll., 1992; figure 1.2 p 9). La prévalence des infections par le CMV est probablement sous-estimée du fait de l'insuffisance des outils de diagnostic. En effet, des progrès dans ce domaine permettent de mettre en évidence de nouvelles localisations telles que les atteintes neurologiques. D'ailleurs, les données autopsiques montrent l'existence de localisations de l'infection à CMV chez 70 % des patients (Reichert et coll., 1993). Actuellement, une virémie positive de façon répétée est fortement indicative d'une maladie à CMV.

Une fois patente, l'infection par le CMV évolue de façon chronique, avec rechutes, sans maîtrise thérapeutique durable du processus infectieux.

De nombreux éléments plaident en faveur du rôle aggravant du CMV sur l'histoire naturelle de l'infection par le VIH (Webster et coll., 1989). Le choix d'une thérapeutique ou d'une prophylaxie toujours contraignante mérite une approche très globale de la part du clinicien type de l'atteinte par le CMV, mode de vie et activité du patient, traitements concomitants, pronostic global...

Différentes thérapeutiques

Il existe actuellement deux molécules efficaces contre le CMV: le foscarnet et le ganciclovir, utilisables sous trois formes intraveineuse en administration quotidienne, locale par injections intravitréennes en cas de rétinite et, plus récemment, orale pour le ganciclovir.

Les connaissances scientifiques acquises jusqu'à maintenant concernent essentiellement les atteintes rétinienes qui constituent environ 80 % des pathologies dues au CMV. Ainsi, il est parfaitement établi que

- En l'absence de traitement d'entretien, les atteintes rétinienes périphériques progressent dans près de 90 % des cas, dans un délai médian de 1 mois (Palestine et coll., 1991; Spector et coll., 1993). L'infection par le CMV ne peut se stabiliser spontanément.
- Le traitement d'entretien des atteintes par le CMV est efficace car il diminue le taux de progression de la maladie; cependant, il est relativement imparfait, avec un délai médian de progression variant entre 6 et 14 semaines selon les études, signifiant que 50 % des patients traités ont eu une rechute dans ce délai, malgré une administration thérapeutique quotidienne (Palestine et coll., 1991; Studies of Ocular Complications of AIDS (SOCA) Research Group, 1992; Spector et coll., 1993).
- Le foscarnet (Foscavir) et le ganciclovir (Cymévan) ont une activité antivirale comparable, comme l'a montré une large étude randomisée nord-américaine (Étude SOCA) dans l'indication du traitement d'entretien des rétinites (SOCA, 1992). Cependant, ces deux produits se distinguent par un mécanisme d'action différent. L'action antivirale du ganciclovir nécessite une étape de phosphorylation sous la dépendance d'une kinase cellulaire - lieu de mutation potentielle et de développement de résistance au produit (Stanat et coll., 1991). Ainsi, un traitement par ganciclovir depuis plus de 3 mois conduit à l'isolement de souches résistantes chez près de 10 % des patients (Drew et coll., 1991). En revanche, le foscarnet inhibe directement l'ADN-polymérase virale sans étape intermédiaire. Deux souches de CMV résistant au foscarnet ont été rapportées (Knox et coll., 1991; Leport et coll., 1993). Les deux antiviraux présentent également une toxicité différente, essentiellement hématologique pour le ganciclovir et métabolique

pour le foscarnet, ce qui rend leur utilisation en clinique très complémentaire. Enfin, le foscarnet possède une action spécifique *in vitro* sur la transcriptase inverse du VIH, comme l'ont montré des travaux antérieurs (Oberg, 1983; Sandstrom et coll., 1985). Plusieurs études *in vivo* ont mis en évidence une réduction de l'antigénémie p24 et une augmentation des lymphocytes CD4 chez les patients recevant du foscarnet (Reddy et coll., 1992; Fletcher et coll., 1994). Le foscarnet et les analogues de nucléosides (zidovudine et stavudine) ont une activité antirétrovirale synergique (Eriksson et Schinazi, 1989). Cette activité pourrait rendre compte du bénéfice de survie en faveur du foscarnet (12 mois) comparé au ganciclovir (8 mois), démontré par l'étude SOCA (1992).

L'administration intraveineuse de foscarnet ou de ganciclovir représente le traitement d'entretien de référence des atteintes viscérales. Son intérêt majeur est de traiter de manière systémique l'infection par le CMV, dont la rétinite est le mode d'expression le plus fréquent. Des études ont mis en évidence une relation dose-efficacité du foscarnet. L'ensemble des données suggère que la dose totale administrée, dès lors que la souche est sensible, est un élément déterminant de l'efficacité (Hall et coll., 1991; Jacobson et coll., 1993).

Compte tenu de leur activité anti-CMV comparable, le choix entre le foscarnet et le ganciclovir doit prendre en compte leurs avantages et inconvénients respectifs. Ainsi, le foscarnet est plus indiqué dans quatre situations principales

- chez un patient recevant un traitement potentiellement myélotoxique (pyriméthamine, sulfadiazine, chimiothérapie antinéoplasique, zidovudine);
- en cas de résistance du CMV au ganciclovir, démontrée ou suspectée;
- chez un patient ayant une progression ou une absence de cicatrisation malgré un traitement adéquat;
- enfin, pour son action antirétrovirale et le bénéfice induit sur la survie.

En revanche, compte tenu de sa souplesse et de sa rapidité d'administration, le ganciclovir sera plus volontiers utilisé chez un patient actif ou ayant une insuffisance rénale ou des troubles métaboliques importants.

Le traitement local ne s'adresse qu'aux formes rétinienne du CMV. L'administration de ganciclovir ou de foscarnet dans le vitré s'effectue sous forme d'injections répétées 1 fois/semaine ou grâce à l'installation d'un implant intravitréen, essentiellement évalué avec du ganciclovir, et permettant une diffusion pendant une période de 4 mois ou de 8 mois. En l'absence d'essais randomisés, les différentes études ouvertes réalisées ont démontré une efficacité des injections intravitréennes très comparable à celle du traitement intraveineux quotidien (Ussery et coll., 1988; Cochereau-Massin et coll., 1991).

Les avantages de ce traitement local sont l'absence d'effets secondaires systémiques, sa relativement bonne tolérance locale et une plus grande autonomie du patient grâce à la fréquence hebdomadaire des injections. En revanche, ils ne permettent pas une thérapeutique globale de la maladie, d'où un risque de survenue de manifestations extra-oculaires. Ils requièrent une équipe compétente d'ophtalmologistes et des structures d'accueil de type chirurgical. Enfin, les conséquences à long terme sur la rétine, dont un risque accru de décollement, ne sont pas connues précisément.

Les résultats préliminaires d'une étude récente, comparant l'efficacité des implants et celle des traitements intraveineux, démontrent une supériorité des premiers par rapport aux seconds (Martin et coll., 1995). Cependant, les sorties d'étude étant beaucoup plus précoces chez les patients traités par voie intraveineuse, la comparaison à long terme des deux traitements est difficile. On note que 25 % des patients traités par implant ont développé, sur une période de suivi de 11 mois, une atteinte extra-oculaire à CMV. Les complications de ce traitement sont le décollement de rétine (9,7 %), les hémorragies (8 %) et les infections (4 cas).

Un traitement efficace de la maladie CMV disponible par voie orale constitue un enjeu thérapeutique prioritaire. Il représente un élément fondamental de l'amélioration de la qualité de vie et le moyen d'envisager l'avancée thérapeutique majeure que représenterait une prophylaxie primaire de cette infection. Actuellement, le ganciclovir oral a fait l'objet de 3 études cliniques nord-américaines et européennes dans le traitement d'entretien des rétinites. L'analyse finale montre une supériorité de la forme intraveineuse (10 mg/kg/j) sur la forme orale (3 g/j), si l'on juge la progression de la maladie sur l'aspect du fond de l'œil, avec respectivement un délai médian de rechute de 96 à 109 jours avec la forme intraveineuse, et de 68 à 86 jours avec la forme orale; si l'évaluation est réalisée grâce à des photographies rétinienues, il persiste une différence entre les deux groupes. La forme orale de ganciclovir paraît efficace, cependant, un peu moins que la forme intraveineuse. Venant d'obtenir son autorisation de mise sur le marché, elle devrait être facilement disponible en pratique dans un délai proche.

Prophylaxie primaire

La prévalence et la morbidité de l'infection par le CMV justifient pleinement d'envisager une prophylaxie primaire.

Le ganciclovir oral a été évalué dans une importante étude multicentrique, randomisée, à la dose de 3 g/j et comparé à un placebo chez des patients ayant moins de 100 CD4⁺/mm³ (Spector, 1995).

Les résultats récemment communiqués montrent qu'après 11 mois, une infection par le CMV survient chez 17 % des patients traités par ganciclovir

contre 31 % dans le groupe placebo. Après 18 mois, l'incidence est respectivement de 24 % et de 48 % ($p < 0,001$; odds ratio = 0,5). Ainsi, le ganciclovir oral permet une réduction de 50 % de l'incidence de la maladie à CMV. La fréquence des rétinites est de 18 % versus 39 % ($p = 0,0004$) et celles des colites de 4 % versus 12 % ($p = 0,003$).

Les principaux effets secondaires sont la survenue d'une leucopénie plus fréquente dans le groupe ganciclovir (17 % versus 9 %), d'une neutropénie inférieure à 800 cellules/mm³ (10 % versus 6 %; $p = 0,01$) et la nécessité plus grande de l'administration plus fréquente de facteurs de croissance hématopoïétiques (22 % versus 8 %; $p = 0,0001$).

Cette étude montrerait une tendance à une survie supérieure bien que celle-ci ne soit pas statistiquement significative. Les données encore préliminaires de cette étude ne permettent pas de répondre à la question d'un impact potentiel sur le développement de souches résistantes au ganciclovir.

Les résultats illustrent bien les difficultés que peuvent poser une prophylaxie dont le taux d'échec est de 50 %. En effet, son administration à tous les patients ayant moins de 100 CD4/mm³ expose au risque de traiter, avec un médicament dont la prise quotidienne n'est pas anodine, des patients dont environ 80 % n'en auront aucun bénéfice.

Dans la mesure où la toxicité hématologique, le mode de traitement (3 gélules 4 fois/jour), et les médicaments associés ne permettront pas une prophylaxie large et globale, il importe de mieux définir la population la plus à risque de développer cette maladie. En ce sens, des marqueurs virologiques précoces témoignant de la réactivation virale (virémie, antigénémie CMV, PCR quantitative) pourraient être utiles et sont en cours d'évaluation.

Le ganciclovir oral vient en France d'obtenir une autorisation temporaire d'utilisation (ATU), dans le traitement de la prophylaxie primaire. Il est disponible sur demande nominale auprès de l'Agence du Médicament.

Molécules en développement clinique

Il existe plusieurs molécules actives sur le CMV, à l'heure actuelle en phase de développement clinique.

Le cidofovir il s'agit d'un analogue de nucléoside possédant un large spectre in vitro sur les virus du groupe Herpès dont les souches de CMV sont résistantes au ganciclovir. Sa longue demi-vie (36 heures) est un atout pharmacocinétique potentiellement intéressant car il permet une administration discontinue. Des études de phase I/II ont confirmé son activité in vivo sur l'excrétion de CMV et révélé sa toxicité néphrologique (protéinurie, insuffisance rénale). Dans une étude évaluant le cidofovir chez des patients ayant une rétinite, le taux médian de progression était de 60 jours

chez les sujets traités, versus 21 jours chez les sujets non traités (Lalezari et coll., 1995).

Le lobucavir: cette molécule développée par Bristol Myers Squibb possède, elle aussi, un spectre large contre les Herpesvirus. Son activité antivirale est comparable à celle du ganciclovir. Elle possède une biodisponibilité élevée (70-80 %). Son activité anti-CMV est en cours d'évaluation chez l'homme.

L'aciclovir ne possède aucune activité anti-CMV et s'est révélé inefficace dans la survenue de la maladie à CMV.

Le valaciclovir prodrogue de l'aciclovir permettant d'obtenir par voie orale des taux sériques équivalents à ceux obtenus avec l'aciclovir par voie intraveineuse. Cette molécule est en cours d'évaluation dans une étude de prophylaxie actuellement interrompue. L'évaluation de son efficacité sur le CMV est en cours.

Les infections par le CMV représentent un poids clinique considérable, d'une part compte tenu de leur fréquence, d'autre part compte tenu de leur chronicité. Les thérapeutiques doivent donc pouvoir répondre à des contraintes

- d'efficacité, en particulier dans les traitements d'entretien (80 % d'échec 2 mois pour les traitements systémiques);
- de convivialité, pour peser le moins possible sur la qualité de vie;
- de tolérance clinique ou biologique;
- de sécurité virale, c'est-à-dire être peu inductrice de souches résistantes.

Il importe de développer un éventail large de thérapeutiques. En effet, des modalités thérapeutiques différentes peuvent être adaptées à chaque situation clinique.

Infections par d'autres herpesvirus

Herpes simplex

Les infections à *Herpes simplex* sont fréquentes dans la population des patients infectés par le VIH, à la fois en raison d'un terrain épidémiologique similaire et de la réactivation engendrée par l'immunodépression.

Elles posent peu de problèmes thérapeutiques en dehors de cas - relativement peu fréquents - d'infection à *Herpes simplex* résistant à l'aciclovir. Le foscarnet est, dans ces cas-là, une alternative intéressante.

Sarcome de Kaposi lié à un herpesvirus

Dans des lésions de sarcome de Kaposi, la mise en évidence récente de séquences d'acides nucléiques d'un nouveau virus appartenant à cette famille permet d'envisager sa responsabilité dans la genèse de cette maladie

(Chang et coll., 1994; Huang et coll., 1995). Cela soulève la question de l'investigation de molécules ayant une large action sur les herpesvirus.

Le sarcome de Kaposi s'observe dans 20 à 50 % des cas; sa prévalence est très corrélée dans les pays occidentaux à l'homosexualité, contrairement à l'Afrique. Même si l'on constate une baisse de la prévalence du sarcome de Kaposi, on observe actuellement des formes plus extensives et beaucoup plus tardives, apparaissant à des taux de lymphocytes CD4 aussi bas que 30 cellules/mm³. Cela rejoint le fait que, d'une manière générale, le taux de lymphocytes CD4 au moment du diagnostic de sida a considérablement baissé, de 96 cellules/mm³ avant 1990 à 30 cellules/mm³ après 1992.

Il n'existe actuellement aucune thérapeutique étiologique de cette maladie, la chimiothérapie représentant seulement une thérapeutique palliative. En outre, la survenue de plus en plus tardive de la maladie de Kaposi au cours de l'infection VIH rend l'efficacité des thérapeutiques plus aléatoire. L'interféron, efficace à un stade précoce, médiocrement toléré, est aussi moins utilisé.

Ainsi, la mise en évidence d'un agent étiologique doit conduire à relancer l'investigation thérapeutique de cette maladie dévastatrice et prévalente.

BIBLIOGRAPHIE

AKULA SK, MA PE, PEYMAN GA, RAHIMY MH, HYSLOP NE JR, JANNEY A, ASHTON P. Treatment of cytomegalovirus retinitis with intravitreal injection of liposome encapsulated ganciclovir in a patient with AIDS. *Br J Ophthalmol* 1994, 78: 677-680

BENHAMOU Y, DOHIN E, LUNEL-EABIANI E, POYNARD T, HURAU JM, KATLAMA C, OPOLON P, GENTILINI M. Efficacy of lamivudine on replication of hepatitis B virus in HIV-infected patients. *Lancet* 1995, 345: 396-397

CHANG Y, CESARMAN E, PESSIN MS, LEE E, CULPEPPER J, KNOWLES DM, MOORE PS. Identification of Herpesvirus-like DNA sequences in AIDS associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994, 266: 1865-1869

COCHEREAU-MASSIN I, LEHOANG P, LAUTHIER-FRAU M, ZAZOUN L, MARCEL P, ROBINET M et coll. Efficacy and tolerance of intravitreal ganciclovir in cytomegalovirus retinitis in acquired immune deficiency syndrome. *Ophthalmology* 1991, 98: 1348-1355

CORBEIL J, RAPORT E, RICHMAN DD, LOONEY DJ. Antiproliferative effect of retinoid compounds on Kaposi's sarcoma cells. *J Clin Invest* 1994, 93: 1981-1986

CORBEIL J, RICHMAN DD, WRASIDLO W, NICOLAOU KC, LOONEY DJ. Antiproliferative effects of enediynes on AIDS-derived Kaposi's sarcoma cells. *Cancer Res* 1994, 54: 4270-4273

DREW WL, IVES DD, LALEZARI JP, CRUMPACKER C, FOLLANSBEE SE, SPECTOR SA, BENSON CA, FRIEDBERG DN, HUBBARD DL, STEMPHEN MJ, SHADMANA, BUHLES W. Oral ganciclovir as maintenance treatment for cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS. *N Engl J Med* 1995, 333: 615-620

DREW WL, MINER RC, BUSCH DF, et coll. Prevalence of resistance in patients receiving ganciclovir for serious cytomegalovirus infection. *J Infect Dis* 1991, 163: 716-719

ERIKSSON BFH, SCHINAZI R. Combinations of 3'-Azido-3'-Deoxythymidine (Zidovudine) and phosphonophormate (Foscarnet) against human immunodeficiency virus type 1 and cytomegalovirus replication in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1989, 33: 663-669

FLETCHER Cv, COLLIER AC, RHAME FS, BENNETT D, PARA MF, BEATTY Cc, JONES CE, BALFOUR HH. Foscarnet for suppression of human immunodeficiency virus replication. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, 38: 604-607

GALLANT JE, MOORE RD, RICHMAN DD, et coll. Incidence and natural history of cytomegalovirus disease in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine. *J Infect Dis* 1992, 166: 1223-1227

GUO WX, GILL PS, ANTAKLY T. Inhibition of AIDS-Kaposi's sarcoma cell proliferation following retinoic acid receptor activation. *Cancer Res* 1995, 55: 823-829

HALL AJH, JENNENS ID, LUCAN CR, MACLEAN H. SANDLAND AM. Low frequency maintenance ganciclovir for cytomegalovirus retinitis. *Scand J Infect Dis* 1991, 23: 43-46.

HUANGY Q, LI JJ, KAPLAN MH, POIESZ B, KATABIRA E, ZHANG WC, FEINER D, FRIEDMANKIEN AE. Human herpesvirus-like nucleic acid in various forms of Kaposi's sarcoma. *Lancet* 1995, 345: 759-761

KNOX KK, DROUYSKY WR, CARRIGAN DR. Cytomegalovirus isolate resistant to ganciclovir and foscarnet from a marrow transplant patient. *Lancet* 1991, 337: 1292-1293

JACOBSON MA, CAUSEY D, POLSKY B, HARDY D, CHOWN M, DAVIS R, O'DONNEU JJ, KUPPERMANN BD, HEINEMANN MH, HOLLAND GN, MILLS J, FEINBERG JE. A dose-ranging study of daily maintenance therapy intravenous foscarnet therapy for cytomegalovirus retinitis in AIDS. *J Infect Dis* 1993, 168: 444-8.

LALEZARI JP, DREW WL, GLUTZER E, JAMES C, MINER D, FLAHERTY J, FISHER PE, CUNDY K, HANNIGAN J, MARTIN JC, JAFFE HS. (S)-1 [β -hydroxy-2-(Phosphonyl-methoxy) propyl] cytosine (Cidofovir): results of a phase I/II study of a novel antiviral nucleotide analogue. *J Infect Dis* 1995, 171: 788-796

LAUZARI J, STAGG R, KUPPERMANN B, KRAMER F, HOUAND G, IVES D, YOULE M, ROBINSON M, NORTHELT D, ERON J, FORTHALL D, JAFFE HS. A phase II/III randomized study of immediate versus deferred intravenous (IV) cidofovir (CDV, HPMPC) for the treatment of peripheral CMV retinitis (CMV-R) in patients with AIDS. 2nd National Conference on Human Retroviruses and Related infection, January 29 - February 2 1995, Washington (abstract LB18)

LEPORT C, PUGET S, PEPIN JM et coll. Cytomegalovirus resistant of foscarnet: clinicavirologic correlation in a patient with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 1993, 68: 1329-30

MARKHAM A, FAULDS D. Ganciclovir. An update of its therapeutic use in cytomegalovirus infection. *Drugs* 1994, 48: 3, 455-484

MARTIN DF, PARKS DJ, MEUOW SD, FERRIS FL, WALTON RC, REMALEY NA, CHEW EY, ASHTON P, DAVIS MD, NUSSENBLATT RB. Treatment of cytomegalovirus retinitis with an intraocular sustained-release ganciclovir implant. 2nd National Conference on Human Retrovirus and Related infection, January 29 - February 2 1995, Washington (abstract LB17)

OBERG. Antiviral effects of phosphonophormate (PEA, foscarnet sodium). *Pharmacol Ther* 1983, 19: 387-415

PALESTINE AG, POLIS MA, DE SMET MD, BAIRD BF, FALLOON J. KOVACS JA, DAVEY RT, ZURLO JJ, ZUNICH KM, DAVIS M, HUBBAR L, BROTHERS R. FERRIS FL, CHEW E. DAVIS JL, RUBIN BI, MELLOW SD, METCALF JA, MANISCHEWITZ J. MINOR JR, NUSSENBLATT RB, MASUR H. LANE HC. A randomized, controlled trial of foscarnet in the treatment of cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS. *An Intern Med* 1991, 9: 665-673

REDDY MM, GRIECO MH, AMCKINLEY GF, CAUSEY DM, VAN DER HORST CM, PARENTI DM, HOOTON TM, DAVIS RB, JABSON M. Effect of foscarnet therapy on human immunodeficiency virus p24 antigen levels in AIDS patients with cytomegalovirus retinitis. *J Infect Dis* 1992, 166: 607-610

REICHERT CM, O'LEARY TJ, LEVENS DL, SIMRELL CR, MACHER AM. Autopsy pathology in the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Path* 1993 112: 357-382

SANDSTROM EG, BYINGTON RE, KAPLAN JC, HIRSCH MS. Inhibition of human T-cell lymphotropic virus type III in vitro by phosphonophormate. *Lancet* 1985, 1: 1480-1482

SNOECK R. ANDREI G. GERARD M, SILVERMAN A, HEDDERMAN A, BALZARINI J. SADZOT DELVAUX C, TRICOT G. CLUMECK N. DE CLERCQ E. Successful treatment of progressive mucocutaneous infection due to acyclovir and foscarnet-resistant herpes simplex virus with (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl) cytosine (HPMPC). *Clin Infect Dis* 1994, 18: 570-578

SPECTOR S. Oral ganciclovir in primary prophylaxis of CMV infection. 2nd National Conference on Human Retroviruses and Related infection, January 29 - February 2 1995, Washington

SPECTOR SA, WEINGEIST T, POLLARD RB, DIETERICH DT, SAMO T, BENSON CA, BUSH DE, FREEMAN WR, MONTAGUE P. KAPLAN HJ, KELLERMAN L, CRAGER M, DE ARMOND B. BUHLES W. FEINBERG J. AIDS Clinical Trials Group, and Cytomegalovirus Cooperative Study Group. A randomized, controlled study of intravenous ganciclovir therapy for cytomegalovirus peripheral retinitis in patients with AIDS. *J Infect Dis* 1993, 168: 557-63

STANAT Sc, REARDON JE, ERICE A, JORDAN MC, DREW WL, BIRON KK. Ganciclovir-resistant cytomegalovirus clinical isolates: mode of resistance to ganciclovir. *Antimicrob Agents Chemother* 1991, 35: 2191-2197

Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group, in collaboration with the AIDS Clinical Trial Group. Mortality in patients with the acquired immunodeficiency syndrome treated with either foscarnet or ganciclovir for cytomegalovirus retinitis. *N Engl J Med* 1992, 326: 213-20

USSERY FM III, GIBSON SR, CONKLIN RH, PIOT DE, STOOL EW, CONKLIN AJ. Intravitreal ganciclovir in the treatment of AIDS associated cytomegalovirus retinitis. *Ophthalmology* 1988, 95: 640-648

WEBSTER A, LEE CA, COOK DG et coll. Cytomegalovirus infection and progression towards AIDS in hemophiliacs with human immunodeficiency virus infection. *Lancet* 1989, 2: 63-66

Des infections parasitaires et fongiques inégalement maîtrisées

Des succès indéniables dans la chimioprophylaxie primaire et secondaire des affections parasitaires opportunistes au cours du sida ont eu lieu, notamment contre la pneumocystose et la toxoplasmose. Cependant, de nombreuses difficultés subsistent. Elles sont liées au faible nombre de principes actifs, à leur toxicité et à leur inefficacité vis-à-vis d'agents parasitaires “ nouveaux ” ou émergents. En général, les connaissances fondamentales sur la biologie des agents parasitaires et fongiques opportunistes sont insuffisantes. Il apparaît nécessaire de développer des méthodes de détection utiles aux recherches sur de nouvelles stratégies thérapeutiques, mais aussi au diagnostic et au contrôle du traitement de parasitoses opportunistes. D'une façon générale, des systèmes de culture *in vitro* et des modèles animaux reproductibles font encore défaut.

Pneumocystose

Les modèles animaux classiques de pneumocystose ont permis de mettre au point des protocoles thérapeutiques et préventifs actuellement utilisés chez l'homme. *Pneumocystis carinii* est sensible à des médicaments comme l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim (SMZ-TMP), pentamidine ou d'autres molécules anti-protistes. La plupart des antifongiques sont inefficaces, mais echinocandines et papulocandines se sont montrées actives chez l'animal (Schmatz et coll., 1990). Le SMZ-TMP ou la pentamidine en aérosol sont les médicaments les plus utilisés en prévention primaire et secondaire chez les patients atteints par le VIH. Malheureusement, les effets indésirables du SMZ-TMP sont amplifiés chez ces patients et la pentamidine en aérosol pourrait favoriser le développement de foyers pulmonaires atypiques et/ou extrapulmonaires.

D'autres molécules sont actives sur le parasite - pyriméthamine, triméthexate, disulone, DFMO, atovaquone, associations clindamycine-primaquine, clarithromycine-TMP -, mais en apparence moins que l'association SMZ-TMP; leur utilisation est plutôt conseillée dans les formes modérées de pneumocystose ou en chimioprophylaxie.

Il faut signaler que les recherches dans le domaine de la thérapeutique et de la prévention de la pneumocystose chez le patient atteint du sida doivent tenir compte de l'importante hétérogénéité génétique des populations naturelles de *P. carinii*. En effet, les isolats de *P. carinii* provenant de différentes espèces d'hôte ne sont pas identiques. Ainsi, des différences génomiques (Sinclair et coll., 1991; Wakefield et coll., 1992; Mazars et coll., 1995), caryotypiques (Yoganathan et coll., 1989; Lundgren et coll., 1990; Hong et coll., 1990; Weinberg et Bartlett, 1991), antigéniques (Furuta et UeJa, 1987; Linke et coll., 1989; Lundgren et coll., 1991; Gigliotti, 1992), ultrastructurales (Dei-Cas et coll., 1994), d'infectivité (Furuta et Ueda, 1987; Aliouat et coll., 1993c, 1994) ou dans le comportement du parasite in vitro (Aliouat et coll., 1993b) ont été rapportées. L'importance médicale de ces différences, qui sont souvent corrélées avec l'espèce de l'hôte, est aujourd'hui indiscutable. Par exemple, elles doivent être considérées dans le choix de sondes nucléiques pour le diagnostic de pneumocystose par PCR ou par hybridation in situ. De plus, les différences entre isolats peuvent être corrélées avec leur virulence - pouvant par exemple, expliquer la moindre incidence de la pneumocystose chez le patient atteint de sida en Afrique (Carme et coll., 1991) - ou avec leur susceptibilité aux molécules anti-Pneumocystis. En effet, les *P. carinii* provenant du rat semblent plus sensibles in vitro à la pentamidine que les parasites provenant de la souris (Aliouat et coll., 1993b).

Pour conclure, l'association TMP-SMZ ou la pentamidine en aérosol utilisée à titre prophylactique ont permis d'abaisser considérablement la prévalence de pneumocystose chez le patient atteint de sida avéré. Elle était de 60 à 80 % avant 1989; elle est actuellement d'environ 20 à 40 % dans les pays dont l'infrastructure sanitaire est acceptable. Cependant, la mortalité due à la pneumocystose au cours du sida, et même en dehors du sida, reste alarmante (Sepkowitz et coll., 1995).

Il faut souligner le fait que des efforts sont encore nécessaires pour améliorer la thérapeutique et la prophylaxie de la pneumocystose. L'efficacité thérapeutique des médicaments disponibles est significative mais elle est loin d'atteindre 100 %; surtout, elle ne permet pas d'éviter les récives. De plus, ces médicaments ont une toxicité considérable qui se trouve amplifiée chez le patient séropositifs au VIH.

Toxoplasmose

Rappelons que dans la pathogénie de la toxoplasmose chez le patient immunodéprimé, le phénomène-clef est apparemment la transition brady-zoïte-tachyzoïte. En conséquence, deux objectifs thérapeutiques peuvent être formulés

- tuer les bradyzoïtes intrakystiques chez les patients immunodéprimés;
- bloquer la différenciation bradyzoïte-tachyzoïte.

Cependant, aucune molécule inhibant cette différenciation n'est connue. Les traitements disponibles pour traiter la toxoplasmose chez les patients présentant un sida avéré font appel aux associations anti-DHPS/DHFR, dont la plus utilisée est pyriméthamine/sulfadiazine. Ces molécules agissent sur les tachyzoïtes mais pas sur les bradyzoïtes. L'atovaquone pourrait avoir une action sur les formes intrakystiques, qui ne semble pourtant pas significative. De plus, l'atovaquone induirait la différenciation tachyzoïte-bradyzoïte (Tomavo et coll., 1995).

Cryptosporidiose

Les connaissances fondamentales sur ce parasite sont encore embryonnaires. Les systèmes de culture sont imparfaits et il n'y a pas de modèles animaux standardisés, ce qui rend difficile toute recherche thérapeutique. Le seul médicament actif chez l'homme est la paromomycine, un aminoglycoside qui n'est pas absorbé mais qui agit dans la lumière intestinale. Cet antibiotique a indéniablement une action sur le parasite (White et coll., 1994), entraîne une diminution des diarrhées mais n'évite pas les récives. De plus, la paromomycine n'agit pas sur le côlon et la voie biliaire, deux localisations possibles de *Cryptosporidium* (Rehg, 1994). L'azithromycine a montré expérimentalement une certaine activité sur ce parasite (Rehg, 1994). Les autres molécules pour lesquelles une certaine activité a été rapportée sont l'octréotide et le colostrum de bovin hyper-immunisé (Bonnin et coll., 1992).

Autres parasitoses et mycoses

Isusporose

Isospora belli est sensible à l'association SMZ-TMP et à d'autres associations d'antifolates. Cependant, deux problèmes se posent vis-à-vis de cette parasitose chez l'immunodéprimé

- la toxicité des molécules actives pour les patients atteints de sida;
- les récurrences, qui sont fréquentes pourraient être dues à la réactivation de formes quiescentes tissulaires (qui évoquent l'hypnozoïte de *Plasmodium*) (Markus, 1991).

Microsporidioses

En ce qui concerne le traitement de ces affections, il faut signaler que les anti-parasitaires disponibles s'avèrent inactifs ou insuffisants. Un benzimidazole, l'albendazole, a une certaine action sur *S. intestinalis* et *Enc. hellem* mais il est très faiblement actif contre *Ent. bienewi*, l'espèce la plus fréquente. La fumagilline s'avère efficace en traitement local (microsporidiose oculaire).

Cryptococcoses et candidoses

L'amphotéricine B. donnée par voie parentérale, fut longtemps le seul traitement des cryptococcoses et des candidoses œsophagiennes. Ce médicament pose toutefois de difficiles problèmes de maniabilité et de tolérance, que diverses formulations lipidiques contribuent à améliorer. Les triazolés, bien tolérés et actifs par voie orale autant qu'intraveineuse, ont cependant transformé le traitement de ces mycoses.

Le problème actuel le plus important concerne les candidoses oropharyngées, beaucoup moins graves mais beaucoup plus fréquentes (incidence voisine de 100 %) que les candidoses œsophagiennes et les cryptococcoses, et dont la prophylaxie est nécessaire pour éviter les récurrences, spontanément constantes. Cette prophylaxie repose classiquement sur des traitements topiques d'efficacité insuffisante et peu maniables (goût, fréquence des prises dans la journée); elle est donc progressivement remplacée par des triazolés donnés par voie orale qui, dans cette indication discutable, posent des problèmes d'une autre nature risque d'émergence de mutants résistants, coût élevé.

BIBLIOGRAPHIE

- ALDER J. MITTEN M, SHIPKOWITZ N. HERNANDEZ L. HUI YH, MARSH K CLEMENT J. Treatment of experimental *Pneumocystis carinii* infection by combination of clarithromycin and sulphamethoxazole. *J Antimicrob Chemother* 1994, 33: 253-263
- ALIOUAT A, DEI-CAS E. OUAISSI MA, PALLUAULT F. SOULEZ B. CAMUS D. In vitro attachment of *Pneumocystis carinii* from mouse and rat origin. *Biol Cell* 1993a, 77: 209-217
- ALIOUAT A, CAILLIEZ JC, SÉGUY N. DEI-CAS E. POLONELLI L, GERLONI M, CONTI S. CAMUS D. Inhibitory effect of a yeast killer toxin to the in vitro *Pneumocystis carinii* attachment. *Serodiagnosis and Immunotherapy in Infectious Disease* 1993b, 5: 102-106

- ALIOUAT EM, MAZARS E. DEI-CAS E. CESBRON JY, CAMUS D. Intranasal inoculation of mouse, rat or rabbit-derived *Pneumocystis* in SCID mice. *J Protozool Res* 1993c, 3: 94-98
- BISSUEL F. COTTE L, DE MONTCLOS M, RABODONIRINAM, TREPO C. Absence of systemic absorption of oral paromomycin during long-term, high-dose treatment for cryptosporidiosis in AIDS letter. *J Infect Dis* 1994, 170: 749-750
- BONNIN A, DEI-CAS E. CAMERLYNCK P. *Gyptosporidium* and *Isospora*. *Molecular and Cell Biology of Opportunistic Infections in AIDS*, S. Myint et A. Cann, Eds, Chapman & Hall, Londres 1992
- CARME B. MBOUSSA J. ANDZIN L, MBOUNI E. MPELE P. DATRY A. *Pneumocystis carinii* is rare in AIDS in Central Africa. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1991, 85: 80
- DEI-CAS E. Infections à microsporidies, *Isospora* et *Sarcocystis*. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Maladies Infectieuses)*, Paris: Editions Technique 1994, 8-503-A-10, 6p
- DEI-CAS E. MAZARS E. ODBERG FERRAGUT C, ALIOUAT EM, DURAND I, DRIDBA M, PALLUAULT F. CAILLIEZ JC, SEGUY N. CREUSY C, CAMUS D. Ultrastructural, genomic, isoenzymatic and biological features make it possible to distinguish rabbit *Pneumocystis carinii* from other mammal *Pneumocystis* strain. *J Euk Microbiol* 1994, 41 (Suppl.): 84
- DENNING DW. Treatment of invasive aspergillosis. *J Infect* 1994, 28 Suppl 1: 25-33
- DIETERICH DT, LEW EA, KOTLER DR, POLES MA, ORENSTEIN JM. Treatment with albendazole for intestinal disease due to *Enterocytozoon bieneusi* in patients with AIDS. *J Infect Dis* 1994, 169: 178-183
- FURUTA T, UEDA K. Intra- and inter-species transmission and antigenic difference of *Pneumocystis carinii* derived from rat and mouse. *Jpn J Exp Med* 1987, 57: 11-17
- GIGLIOTTI F. HARSAN AG, HAIDARIS CG, HAIDARIS P. *Pneumocystis carinii* is not universally transmissible between mammalian species. *Infect Immun* 1993, 61: 2886-2890
- JACOBSON MA, BESCH CL, CHILD C, HAFNER R. MATTS JP, MUTH K. WENTWORTH DN, NEATON JD, ABRAMS D, RIMLAND D et coll. Primary prophylaxis with pyrimethamine for toxoplasmic encephalitis in patients with advanced human immunodeficiency virus disease: results of a randomized trial. Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. *J Infect Dis* 1994, 169: 384-394
- LARSEN RA, BOZZETTE SA, JONES BE, HAGHIGHAT D, LEAL MA, FORTHAL D, BAUER M, TILLES JG, MCCUTCHAN JA, LEEDOM JM. Efluconazole combined with floctosine for treatment of cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *Clin Infect Dis* 1994, 19: 741-745
- LEHMANN ED, HOPKINS KD, GOSLING RG. Treatment of opportunistic infections in AIDS. *Lancet* 1995, 346: 588-590
- LIDMAN C, BERGLUND O, TYNELL E. LINBACK S. ELVIN K. Aerosolized pentamidine as primary prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia: efficacy, mortality and morbidity. *AIDS* 1994, 8: 935-939
- LUND-GREN B. COTTON R. LUND-GREN JD, EDMAN JC, KOVACS JA. Identification of *Pneumocystis carinii* chromosomes and mapping of five genes. *Infect Immun* 1990, 58: 1705-1710

MARKUS MB. Origin of extra-intestinal stages of *Isospora belli* in the Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Medical Hypotheses* 1991,35: 278

MAZARS E. ODBERG FERRAGUT C, DEI-CAS E. FOURMAUX MN, ALIOUAT EM, BRUN-PASCAUD M, MOUGEAOT G. CAMUS D. Polymorphism of the thymidylate synthase gene of *Pneumocystis carinii* from different host species. *J Euk Microbiol* 1995, 42: 26-32

MILLON L MANTEAUX A, REBOUX G. DROBACHEFE C, MONOD M, BARAU T, MICHELBIAND Y. Fluconazole-resistant recurrent oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive patients: persistence of *Candida albicans* strains with the same genotype. *J Clin Microbiol* 1994, 32: 1115-1118

POWDERLY WG, FINKELSTEIN DM, FEINBERG J. FRAME P. HE W. VAN DER HORST C, KOLETAR SL, EYSTER ME, CAREY J, WASKIN H. HOOTON TM, HYSLOP N. SPECTOR SA, BOZZETTE SA. A randomized trial comparing fluconazole with clotrimazole troches for the prevention of fungal infections in patients with advanced human immunodeficiency. *N Engl J Med* 1995, 332: 700-705

REHG JE. A comparison of anticytopsporidial activity of paromomycin with that of other aminoglycosides and azithromycin in immunosuppressed rats. *J Infect Dis* 1994, 170: 934-938

SCAGLIA M, ATZORI C, MARCHETTI G. ORSO M, MASERATI R. ORANI A, NOVATI S. OUIARO R Effectiveness of aminosidine (paromomycin) sulfate in chronic *Cryptosporidium* diarrhea in AIDS patients: an open, uncontrolled, prospective clinical trial *J Infect Dis* 1994, 170: 1349-1350

SCHMATZ D, ROMANCHECK M, PITTAREUI L, SCHWARTZ R. FROMTLING R. NOUSTADT K. VANMIDDLESWORTH F. WILSON K. TURNER M. Treatment of *Pneumocystis carinii* with 1,3-glucan synthesis inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87: 5950-5954

SEPKOWITZ KA, BROWN AE, ARMSTRONG D. *Pneumocystis carinii* pneumonia without acquired immunodeficiency syndrome: more patients, same risk. *Arch Int Med* 1995,155: 1125-1128

SINCLAIR K. WAKEFIELD AE, BANERJI S, HPKIN JM. *Pneumocystis carinii* organisms derived from rat and human hosts are genetically distinct. *Mol Biochem Parasitol* 1991, 45: 183-184

STERNBERG S. The emerging fungal threat news. *Science* 1994, 266, 5191, 1632-1634

TOMAVO S. SOETE M, DUBREMETZ JF, BOOTHROYD JC. *Toxoplasma gondii* mutant predisposed to the bradyzoite form is resistant to drugs targeted to mitochondrial function. *Proc Nat Acad Sc (USA)*, soumis. 1994

WEINBERG GA, BARTLETT MS. Comparison of pulsed field gel electrophoresis karyotypes of *Pneumocystis carinii* derived from rat lung, cell culture and ferret lung. *J Protozool* 1991, 38 (Suppl.): 64-65

WHITE AC JR, CHAPPELL CL, HAYAT CS, KIMBALL KT, FLANIGAN TP, GOODGAME RW. Paromomycin for cryptosporidiosis in AIDS: a prospective, double-blind trial *J Infect Dis* 1994, 170: 419-424

Des infections à mycobactéries

souvent résistantes

aux traitements

Les mycobactéries représentent la première cause d'infection bactérienne au cours de l'infection par le VIH. On distingue les mycobactéries du complexe tuberculosi ou bacilles de la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis* et dans une moindre mesure *M. africanum*, *M. bonis*) et les autres mycobactéries dites atypiques. Ces dernières sont des bacilles de l'environnement peu ou non pathogènes pour l'homme. Les mycobactéries ont la capacité de survivre et même de se multiplier dans les macrophages. Cette multiplication est favorisée par un déficit de l'immunité cellulaire. L'infection à VIH ne semble pas favoriser la lèpre dont l'incubation est trop longue. Les bacilles de la tuberculose, plus virulents que les mycobactéries atypiques, provoquent une infection plus précoce dans l'évolution de la maladie à VIH.

Tuberculose

L'épidémie d'infection par le VIH a contribué au réveil de l'endémie tuberculeuse dans le monde. La présentation de la tuberculose est volontiers atypique, souvent extrapulmonaire. Les règles générales de traitement ne sont pas modifiées, mais celui-ci est souvent mal toléré du fait de l'infection par le VIH. La mauvaise observance est la principale cause de rechute ou de sélection de mutants résistants. Les deux points cruciaux pour le contrôle de la tuberculose à l'heure du VIH sont un accès facile et gratuit des malades aux médicaments antituberculeux et une vérification de l'observance du traitement jusqu'à son terme.

Classiquement, la culture des bacilles de la tuberculose est longue, en moyenne trois à six semaines, et de nouvelles techniques sont en cours de

développement pour raccourcir ce délai. La principale technique de culture rapide développée actuellement est la méthode radiométrique Bactec, dont les inconvénients majeurs sont le coût et la pollution radioactive qu'elle entraîne; le développement d'automates capables d'effectuer la culture de *Mycobacterium tuberculosis* en quelques jours, utilisant une technologie non radioactive (infrarouges, ou autres...) serait tout à fait intéressant. La méthode Bactec est maintenant adaptée pour raccourcir les délais d'antibiogrammes. D'autres techniques d'antibiogramme rapide seraient donc primordiales.

Les traitements actuels de la tuberculose chez le patient infecté par le VIH reposent sur une poly-antibiothérapie. Le traitement de référence associe la rifampicine, le pyrazinamide et l'isoniazide. Les deux premiers médicaments sont actifs sur les BK intracellulaires dormants. Le problème est lié au fait que le traitement est long et que l'observance n'est pas bonne, comme en témoignent les nombreuses rechutes. Il existe des associations fixes de ces médicaments comprimés contenant rifampicine, pyrazinamide et isoniazide pour la phase d'attaque du traitement et comprimés contenant rifampicine et isoniazide pour la phase d'entretien. Les antituberculeux de secours sont

- l'éthionamide (plus commercialisée en France), la cyclosérine, la clofazimine et la capréomycine;
- l'amikacine;
- les nouvelles quinolones ofloxacin, sparfloxacin. Cette dernière se révèle un antituberculeux remarquable bien qu'il n'y ait pas encore eu d'étude clinique concernant la tuberculose;
- la rifabutine, active aussi sur les mycobactéries atypiques.

En matière de chimioprophylaxie courte de la tuberculose, le traitement de référence est l'isoniazide pendant 6 mois. Des études ont montré l'intérêt de traitements plus courts (2 ou 3 mois) reposant sur des associations qui améliorent considérablement l'observance. L'avenir serait dans l'association de rifapentine et d'isoniazide en une seule prise hebdomadaire.

Il semble indispensable pour les laboratoires pharmaceutiques de tester systématiquement l'activité antimycobactérienne des nouveaux antibiotiques en développement, surtout ceux appartenant à la famille des macrolides ou des quinolones.

En vue de raccourcir les durées du traitement antituberculeux, il serait intéressant de trouver un moyen d'éradiquer relativement rapidement les bacilles dormants, qui persistent avec un métabolisme ralenti dans les macrophages et qui échappent à l'action bactéricide des antibiotiques anti-tuberculeux. Des études sur le contrôle du stress oxydatif seraient intéressantes dans ce domaine.

Infections à mycobactéries atypiques

Les mycobactéries atypiques responsables d'infections au cours de l'infection à VIH sont essentiellement représentées par les mycobactéries du complexe avium incluant surtout l'espèce *Mycobacterium avium* et dans une moindre mesure *Mycobacterium intracellulare*. Ces mycobactéries sont des germes de l'environnement, peu virulents, responsables de l'infection tardive au cours du sida lorsque la concentration des lymphocytes CD4 est très diminuée. Là encore, des techniques de diagnostic rapide et d'antibiogramme rapide seraient très utiles. Jusqu'à une période récente, ces infections étaient peu accessibles au traitement car beaucoup de souches étaient peu ou pas sensibles aux antituberculeux classiques. Depuis quelques années, l'introduction de nouveaux macrolides du type de la clarithromycine a transformé l'activité thérapeutique. Le traitement actuel repose sur des associations incluant la clarithromycine souvent prescrite en association avec l'éthambutol et la clotazimine. Deux études récentes ont montré la bonne efficacité de cette triple association (May et coll., 1995; Shafran et coll., 1995). Les antibiotiques antimycobactériens de deuxième ligne sont la rifampicine, la ciprofloxacine ou l'amikacine. Là encore, il est important que toutes les nouvelles molécules provenant de l'industrie soient évaluées vis-à-vis des principales mycobactéries atypiques, car les molécules dont nous disposons à l'heure actuelle (y compris la clarithromycine) sont relativement peu bactéricides vis-à-vis de ces espèces.

La rifabutine est utilisée en traitement préventif chez les sujets infectés par le VIH présentant un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 100/mm³. La rifampicine est également indiquée dans le traitement de différentes infections respiratoires et dans les infections cutanées bénignes.

BIBLIOGRAPHIE

- BENSON CA. Treatment of disseminated disease due to the *Mycobacterium avium* complex in patients with AIDS. *Clin Infect Dis* 1994, 18 Suppl 3: S237-S242
- BOTTGER EC, WALLACE RJ JR. Lack of rifabutin resistance with prophylaxis for disseminated *Mycobacterium avium* complex. *Lancet* 1994, 344: 8935, 1506-1507
- BROGDEN RN, FITTON A. Rifabutin. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1994, 47: 983-1009
- CO M JR. Treatment review. Rifabutin. *J Assoc Nurses AIDS Care*, 1994, 5: 45-50
- DENIS M. Interleukin-12 (IL-12) augments cytolytic activity of natural killer cells toward *Mycobacterium tuberculosis*-infected human monocytes. *Cell Immunol* 1994, 156: 529-536
- FOSTER S, KELLY P. Use of thiacetazone. *Lancet* 1995, 345 8941: 62-63
- GROSSET J H. Assessment of new therapies for infection due to the *Mycobacterium avium* complex: appropriate use of in vitro and in vivo testing. *Clin Infect Dis* 1994, 18 Suppl 3: S233-S236

HEYM B, HONORE N, TRUFFOR-PERNOT C, BANERIEE A, SCHURRA C, JACOBS WR JR, VAN EMBDEN JD, GROSSET JH, COLE ST. Implications of multidrug resistance for the future of short-course chemotherapy of tuberculosis: a molecular study, see comments. *Lancet* 1994, 344,8918, 293-298

MAY T, BREL F, BEUSCART C, VINCENT V, PERRONNE C, SAINT-MARC T, DAUTZENBERG B, GROSSET J and the CURAVIUM Group. A French randomized open trial of 2 clarithromycin combination therapies for MAC bacteremia: first results. *35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Francisco, 17-20 September 1995*, abstract LB-19.

PAPE JW, JEAN SS, HO JL, HARNER A, JOHNSON W D JR. Effect of isoniazid prophylaxis on incidence of active tuberculosis and progression of HIV infection. *Lancet* 1993, 342 8866: 268-272

REICHMAN LB, MCDONALD RJ, MANGURA BT. Rifabut in prophylaxis against *Mycobacterium avium* complex infection. *N Engl J Med* 1994, 330: 437-438

SHAFRAN SD, SINGER J, PHILLIPS P and the Canadian MAC Study Group. The canadian randomized open-labeled trial of combination therapy for MAC bacteremia: final results. *35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Francisco 17-20 September 1995*, abstract LB-20

Des protocoles thérapeutiques évolutifs

L'homologation d'un nouveau médicament nécessite, pendant plusieurs années, une succession de protocoles thérapeutiques de nature très différente (phase I, II et III), depuis la première administration au patient d'une molécule issue de la recherche préclinique, jusqu'à la confirmation de son efficacité et de sa tolérance dans des conditions d'utilisation qui correspondent à l'affection traitée. Dans le cas de l'infection par le VIH, les protocoles de phases I et II ont pour objectifs essentiels de déterminer la dose appropriée et son rythme d'administration, de recueillir les premières données de tolérance ainsi que les premiers indices d'activité sur des paramètres essentiellement biologiques (virologiques et immunologiques). Ces protocoles ont une durée de quelques mois, pour les plus longs d'entre eux, et peuvent recruter une centaine de patients. Les protocoles plus tardifs, de phase III, ont pour buts principaux de confirmer la bonne tolérance au cours d'une administration prolongée, et l'intérêt du médicament sur les paramètres cliniques de l'affection (mortalité, évolution vers le sida...), par rapport à un traitement de référence. Du fait de l'évolution clinique lente de l'infection, leur durée dépasse souvent un an, et le nombre de patients inclus est d'autant plus élevé (souvent plus de mille) que l'avantage attendu du traitement testé est modéré par rapport au traitement de référence. En règle générale, ce sont ces derniers protocoles qui servent de base à la décision d'homologation.

Un nombre croissant de protocoles thérapeutiques

Le nombre des protocoles portant sur les familles thérapeutiques déjà explorées connaît une progression variable. Alors que la recherche clinique sur les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse marque le pas, plusieurs nouveaux analogues nucléosidiques ou nucléotidiques

ont atteint le stade de l'évaluation clinique. En ce qui concerne les antiprotéases, plus d'une dizaine de molécules sont en développement thérapeutique précoce (phase I). ou sont sur le point de l'être, à côté de celles qui sont déjà en phase III. Il est donc vraisemblable que le nombre des essais thérapeutiques connaîtra un développement rapide, en particulier dans le domaine des antiprotéases.

D'autre part, les résultats récents de certains protocoles thérapeutiques de phase III (Delta et ACTG 175) ont montré que les bithérapies par analogues nucléosidiques sont plus efficaces que les monothérapies, et il est probable que cette notion sera élargie aux autres familles de médicaments, en particulier aux antiprotéases. Ceci multiplie donc également le nombre de traitements à évaluer.

Une séquence de protocoles thérapeutiques qui peut être à reconsidérer

L'augmentation du nombre de protocoles thérapeutiques devrait porter davantage sur les protocoles précoces (phase I/II) que sur les protocoles de phase III, pour plusieurs raisons. Les protocoles précoces répondent à des contraintes stables et resteront indispensables à l'évaluation de tout nouveau traitement; leur importance est d'autant plus grande qu'on ne dispose pas de modèle expérimental fidèle de l'affection humaine. Il faut noter, à ce sujet, que ce sont essentiellement les patients n'ayant jamais été traités qui sont recrutés dans ces protocoles. La complexité qui résulte de l'hétérogénéité des traitements antérieurs a malheureusement limité le nombre de protocoles précoces destinés aux patients traités, alors que ces patients posent un réel problème thérapeutique.

En revanche, les protocoles de phase III seront confrontés à des difficultés plus importantes que dans le passé, et qui seront de plusieurs ordres

- La multiplication des traitements à évaluer nécessitera des arbitrages, en raison du nombre de patients nécessaires pour réaliser chaque protocole la relative pénurie de médicaments avait permis d'échapper à ces choix, jusqu'à ce jour.
- En outre, du fait de la durée des protocoles, les malades pourront avoir la tentation d'abandonner un protocole en cours pour bénéficier de progrès thérapeutiques plus récents (environ 40 % des patients de Delta qui ont interrompu leur participation à ce protocole l'ont fait pour des " raisons personnelles "). Ces problèmes d'observance pourront rendre difficiles les conclusions de l'étude.
- Enfin, la portée des conclusions d'un protocole prolongé pourra être limitée par l'évolution des pratiques thérapeutiques, entre sa conception et son achèvement.

La disponibilité prochaine de techniques relativement simples de quantification de la charge virale (ARN viral plasmatique) pourrait permettre d'extrapoler les données biologiques obtenues en phase II aux données cliniques attendues d'un protocole de phase III. Il sera alors possible de diminuer le recours aux essais de phase III. Il reste, cependant, à s'assurer que la variation de la charge virale sous traitement, mesurée précocement (phase II), est bien corrélée à l'évolution clinique ultérieure (phase III). Les premières évaluations disponibles vont dans ce sens.

En conclusion, dans les prochaines années l'augmentation du nombre des protocoles thérapeutiques sur les antirétroviraux portera davantage sur les phases I et II que sur la phase III. Pour un même nombre de patients inclus, ces protocoles seront plus complexes, sur les plans clinique et biologique, que les protocoles de phase III. Une adaptation des moyens sera donc probablement nécessaire pour les mener à bien.

Problèmes d'observance

Aux États-Unis, la réalisation d'essais cliniques, notamment sur l'AZT, chez des patients asymptomatiques a révélé des taux élevés d'abandons et de perdus de vue (de l'ordre de 30 %) qui ont suscité l'inquiétude des responsables américains, en particulier au sein des NIH. Des investigations psycho-sociales plus approfondies ont été menées auprès de 240 patients de San Francisco initialement inclus dans l'essai P019, dont près de la moitié n'ont pas terminé l'essai. Elles suggèrent que la grande majorité des abandons n'est pas directement liée aux effets toxiques et secondaires de l'AZT, mais plutôt à la volonté du sujet, elle-même fortement corrélée à l'appartenance à des groupes communautaires et à un niveau d'information élevée (Chesney et Folkman, 1994). De plus, près d'un quart des sujets demeurant dans l'essai ont reconnu ne pas avoir respecté les consignes de l'essai en recourant à des prises indépendantes d'AZT. Des données concordantes suggèrent l'élaboration, par certains patients, de stratégies individuelles de “ jeu ” avec les objectifs des essais cliniques certaines de ces stratégies pourraient même opérer un retournement de l'usage de l'information médicale, comme la mesure du volume globulaire moyen (VGM), dont l'élévation pour macrocytose, reliée à la prise d'AZT, permet d'identifier les bras d'un essai en double aveugle (Becker et coll., 1993).

Il est difficile, en l'état actuel, de mesurer l'ampleur de tels phénomènes en France. Tout porte cependant à croire que notre pays n'y échappe pas totalement. Selon une recherche en cours (Souville et coll., à paraître), fondée sur des interviews de soignants dans un service de soins du Sud-Est, la sélection médicale des patients susceptibles d'être inclus dans des essais est conditionnée non seulement par les “ critères officiels ” d'inclusion,

mais aussi par des “ critères psychologiques ” construits “ spontanément ” par les praticiens et résultant d'une culture collective “ de service ”.

Une quarantaine d'entretiens semi-directifs ont également été conduits auprès de patients participant à l'essai thérapeutique DELTA, ayant respecté ou non et poursuivi ou non le protocole, de patients ayant refusé de participer à ce même essai, et enfin de patients, éligibles sur les critères médicaux d'inclusion, mais à qui le médecin n'a pas proposé l'essai DELTA. Très schématiquement, et dans l'attente d'analyses plus approfondies, la décision individuelle de participer ou non à un essai thérapeutique semble à la fois liée à l'influence

- de l'entourage - groupe d'appartenance, soutien familial, soutien médical... - qui joue un rôle moteur dans l'acceptation ou le refus de l'essai;
- de l'état psychologique du patient, qui le rend plus ou moins “ combattif ”, plus ou moins prêt à accepter des contraintes supplémentaires dans sa vie quotidienne;
- de l'association “ traitement / maladie ” interprétée par certains patients comme “ si je prends un traitement c'est que je suis malade ” ou “ si je prends un traitement, je vais devenir malade ” (association souvent faite avec l'AZT) en relation avec la représentation que les patients ont du traitement; e de la représentation de “ l'essai ” on retrouve essentiellement quatre grands types de perceptions l'essai “ chance supplémentaire ”, l'essai “ meilleur suivi ”, l'essai “ participation à la recherche ”, l'essai “ être un cobaye ”;
- du médecin, plus ou moins importante en fonction de l'ascendant qu'il a sur ses patients.

Dans le cours du déroulement de l'essai, plusieurs catégories de patients peuvent être distinguées

- Les patients suivant à la lettre les prescriptions du médecin rendez-vous, nombre de médicaments à prendre par jour et fréquence des prises de médicaments, restrictions alimentaires ou médicales (par exemple, pas de traitement parallèle), restrictions concernant la consommation de tabac, d'alcool et/ou de drogue.
- Les patients, jugés “ observants ” par les médecins, mais adaptant leur traitement à leurs mode et rythme de vie, c'est-à-dire distinguant l'objectif “ prendre la quantité X de médicaments ” de l'objectif “ prendre toutes les X heures X médicaments ”. Dans ce cas de figure, l'important pour eux est de respecter le contrat du nombre de médicaments à prendre par jour plutôt que la fréquence de prise de médicaments (par exemple, le patient qui prend son traitement en bloc, en une seule prise, tous les soirs).
- Les patients jugés “ non-observants ” par les médecins, car percevant le traitement comme une contrainte supérieure (prises répétées de médicaments, à heures fixes, avec des préparations) aux gains attendus (prévention mais pas guérison).

- Les patients jugés “ non-observants ” par les médecins et vivant le traitement très difficilement, physiquement et psychologiquement, car les effets secondaires sont perçus d'une telle manière qu'ils les empêchent de penser à autre chose et d'avoir une activité parallèle.

Le développement de recherches socio-comportementales devrait viser à la fois

- à mieux décrire la variabilité des comportements d'observance dans le cadre des essais cliniques et à mieux documenter des différences éventuelles par rapport aux problèmes d'observance dans le suivi médical du VIH en général (hors essai);
- à évaluer différentes formes d'intervention susceptibles de renforcer l'observance en général et/ou dans les essais.

BIBLIOGRAPHIE

BECKER R et coll. Unblinding a double-blind Zidovudine clinical trial by analysis of MCV values. *IXth International Conference on AIDS*, Berlin, June 6-11, 1993 (POB442574)

CHESNEY MA, FOLKMAN SA. Psychological impact of HIV disease and implications for intervention. *Psych Clin North America* 1994, 17: 163-181

SOUVILLE M, MUNZNERBERGER N. MORIN M, MOATTI JP. Approche psychosociale de l'observance thérapeutique et de l' “adhérence ” aux essais cliniques chez les patients infectés par le VIH. *Rapport à l'ANRS* (à paraître)

Une analyse approfondie de la non-adhésion thérapeutique

Les recherches en matière d'observance des prescriptions thérapeutiques et d'adhésion à la participation et au suivi des essais cliniques de nouvelles molécules soulèvent une double interrogation: dans quelle mesure l'épidémie de sida révèle-t-elle, de façon plus ou moins exacerbée, les difficultés générales de la relation médecin/malade et de l'observance thérapeutique ? Serait-elle à l'origine de phénomènes radicalement nouveaux, telle que la revendication des mouvements associatifs d'être partenaires du développement de la recherche ?

Interactions médecin/malade

Le bon fonctionnement social de la relation médecin/malade suppose le respect d'un certain nombre de normes, constitutives de la profession médicale telle qu'elle émerge historiquement dans la seconde moitié du XIX^e siècle. Ces normes ont depuis longtemps été décrites dans le détail par les sociologues qui se sont intéressés à la profession médicale (Freidson, 1970; Parsons, 1975)

- L'autonomie, c'est-à-dire “ le droit d'exercer un contrôle sur son propre travail ” par opposition au contrôle exercé par une autorité extérieure, est véritablement constitutive de la profession médicale et la distingue du simple métier et des professions paramédicales, dans la mesure où l'autonomie accordée à ces dernières demeure toujours partielle.
- La responsabilité prioritaire à l'égard de l'individu-patient plutôt qu'envers la collectivité est exercée par référence à l'éthique d'Hippocrate qui demeure universelle et constante.
- La neutralité affective à l'égard du patient, par opposition à l'investissement émotionnel dans la relation, demeure encore aujourd'hui l'un des objectifs de la formation initiale des médecins (Gordon, 1983).

- L'altruisme professionnel implique de faire passer les intérêts de l'“ autre ” - ceux du patient - avant l'intérêt individuel égoïste du médecin. De multiples études économiques (Phelps, 1986) ont permis de constater l'existence d'un effet d'induction de la demande par l'offre médicale - c'est-à-dire de prescriptions ne correspondant pas véritablement à l'intérêt du patient mais relevant de la fonction d'objectifs propres du médecin, soit en tant qu'acteur individuel, soit en tant que “ représentant ” des intérêts de son groupe corporatif. Ce constat révèle les limites pratiques de cette référence altruiste, en même temps qu'il en souligne a contrario l'importance dans la légitimité sociale de la profession médicale.

- Enfin, la norme de compétence scientifique et technique, condition d'existence même de la médecine en tant que profession distincte, établit la capacité du savoir spécialisé et de l'expérience clinique à traiter plus efficacement la maladie que toute autre forme de prise en charge sociale.

Les évolutions récentes de nos sociétés n'ont pas attendu le sida pour déstabiliser, au moins partiellement, chacune de ces normes de références et pour susciter des contradictions internes au corps médical, mais aussi entre celui-ci et d'autres secteurs de la société, sur chacune de ces dimensions (Conrad et Schneider, 1980). Ces normes, si indispensables soient-elles au fonctionnement du système médical, relèvent en partie d'une illusion sociale. En effet, elles n'ont jamais empêché l'influence de facteurs sociaux “ extra-médicaux ”, sur les attitudes et les comportements des prescripteurs et sur leurs relations avec les patients. De multiples travaux économiques et sociologiques ont mis en lumière la variabilité de la décision thérapeutique en fonction de la classe sociale du patient (Boltanski, 1971), et le recours du médecin à un langage différent selon les caractéristiques sociales du patient-interlocuteur (Anspach, 1988).

Ainsi, les enquêtes menées sur les attitudes et les comportements de médecins généralistes français face au sida confirment, de façon prévisible, que le niveau de leur engagement dans la prise en charge de patients infectés par le VIH ne dépend pas exclusivement de la prévalence de l'infection dans leur zone géographique d'exercice ni de l'importance numérique de leur clientèle (Obadia et coll., 1994). En effet, différents facteurs constituent autant de barrières à un investissement actif des médecins généralistes

- l'insuffisance des connaissances et de la formation,
- l'existence d'attitudes de gêne, de rejet, voire de stigmatisation face à ces patients,
- les difficultés personnelles à faire face au stress suscité par la prise en charge de cette pathologie ou/et de la toxicomanie,
- les craintes des risques de contamination professionnelle et des risques sociaux associés à l'infection - peur d'un effet de dissuasion sur le reste de la clientèle.

Au contraire, une certaine proximité “ culturelle ” avec les patients - réalisation d'un test de dépistage du VIH pour soi-même, expérience personnelle d'utilisation de préservatifs... - caractérisent les généralistes les plus impliqués dans le suivi de la pathologie associée au VIH.

Interface recherche clinique, recherche socio-comportementale

En fonction des constatations rapportées ci-dessus, les recherches appliquées à l'infection par le VIH se sont intéressées aux domaines suivants

- l'impact de l'infection et de sa progression sur la psychologie et la qualité de vie des patients;
- l'impact de facteurs socio-comportementaux sur le recours aux soins, l'observance (compliance) des traitements, et l'adhésion (adherence) aux essais cliniques; l'évaluation d'interventions psychosociales pour améliorer l'observance et la qualité de vie.

Ces recherches convergent vers la question dans quelle mesure des facteurs socio-comportementaux influencent-ils l'évolution clinique, soit par l'intermédiaire de la non-observance, soit (comme le suggèrent les recherches dites de psycho-neuro-immunologie) par la relation directe avec l'histoire naturelle de l'infection par le VIH ?

Impact psychologique et psycho-social de l'infection par le VIH

Dans les débuts de l'épidémie, soit avant 1988, plusieurs études nord-américaines avaient établi une relation très forte entre la notification d'un diagnostic de séropositivité et des symptômes d'anxiété et de dépression, ainsi que des plaintes somatiques voire des pulsions suicidaires chez les patients concernés. Deux études, l'une new-yorkaise et l'autre californienne, avaient même souligné une incidence de suicide très élevée chez les hommes infectés par le VIH (Marzuk et coll., 1988; Kizer et coll., 1988). Cependant, après 1988, ces conséquences psychologiques de la découverte de la séropositivité n'ont plus été retrouvées; cette évolution pourrait résulter de progrès accomplis en matière de *counselling* associé à la notification du diagnostic et de prise en charge médicale. La plupart des études ultérieures confirment l'absence d'une incidence accrue de l'anxiété et de la dépression chez les personnes infectées par le VIH, du moins à la phase asymptomatique (Chesney et Folkman, 1994).

Impact de facteurs socio-comportementaux sur l'observance dans l'infection à VIH

Trois raisons principales ont contribué à relancer l'intérêt pour les phénomènes de non-observance

- La concentration initiale des cas dans la population homosexuelle des pays développés explique que la mobilisation de cette communauté ait été un moteur essentiel dans la prise de conscience de l'épidémie et la mise en place des politiques de prévention et de prise en charge (Pollak, 1988). La stigmatisation sociale dont étaient victimes, antérieurement à l'épidémie, les premiers groupes touchés (homosexuels et toxicomanes) a d'emblée associé des débats sociaux, politiques et idéologiques à la prise en charge médicale (Calvez et coll., 1994). En liaison avec la couverture médiatique sans précédent dont bénéficient les informations médicales et scientifiques sur le sida (Herzlich et Pierret, 1989), on a donc assisté à une interférence active d'une partie des patients dans les choix thérapeutiques, voire dans les choix de recherche. On peut donc émettre l'hypothèse que l'observance individuelle est particulièrement influencée, dans le cas du VIH, par les représentations et les enjeux collectifs.
- Les phénomènes de non-observance thérapeutique dans le cadre de l'infection par le VIH sont devenus très saillants et exacerbés aux yeux de nombreux cliniciens confrontés à certains groupes de patients, notamment toxicomanes, censés présenter des difficultés particulières dans ce domaine. Ceci a conduit en pratique à limiter la participation aux essais thérapeutiques de patients - toxicomanes, membres de minorités ethniques... suspectés a priori d'être peu susceptibles de se soumettre aux protocoles (Broers et coll., 1993; Meisler et coll., 1993).
- Les progrès des thérapeutiques qui ont allongé la survie des patients en phase sida et ont permis des interventions préventives de plus en plus précoces chez les patients infectés, tendent à rendre chronique l'infection à VIH et donc à prolonger la période d'adhésion des patients à un régime de surveillance et de suivi complexes.

Observance thérapeutique en général

De nombreuses études psycho-sociales nord-américaines, en particulier dans les cohortes déjà citées, ont fait état de délais importants dans le recours au test de dépistage du VIH ainsi que dans le recours ultérieur au système de santé après notification du diagnostic initial de séropositivité ou après apparition des premiers symptômes cliniques. Une étude récente détaillée, portant sur une soixantaine de patients, établissait, par exemple, un délai médian de 104 jours entre l'annonce du diagnostic et la première visite médicale, 25 % des patients attendant un an ou plus. Les raisons invoquées pour ce " retard " étaient l'absence de couverture, la méconnaissance

de la nécessité d'un suivi médical et la “ peur ” d'être confronté au médecin (Katz et coll., 1992).

On peut logiquement suspecter que la non-observance se traduit par des conséquences négatives sur l'évolution de l'infection: ainsi, dans l'étude de Coben et coll. (1993) portant sur le suivi pendant un an de 415 patients séropositifs, le fait d'avoir manqué une ou plusieurs visites de suivi était associé à une probabilité significativement élevée ($RR = 2,4$) d'avoir une chute des $CD4^+/mm^3$ supérieure à 50.

Une très vaste littérature de sciences humaines et sociales appliquées à la santé a depuis longtemps montré une relation entre la perception subjective de leur état de santé et de leurs symptômes par les individus d'une part, et leurs comportements effectifs de demande de soins adressée au système médical d'autre part, ainsi que la grande variabilité socio-culturelle de ces perceptions tous les individus n'interprètent pas un même symptôme d'une façon identique et n'en tirent pas les mêmes conclusions en termes de décision ou non de consulter un médecin (Leventhal et coll. 1983; Mach et Cebe, 1991). Il a également été montré comment différentes formes de “ détresse psychologique ” pouvaient affecter ces perceptions et, de ce fait, les comportements individuels d'accès aux soins (Tessier et coll., 1976). Il faut souligner l'intérêt potentiel d'études françaises sur l'observance parmi les toxicomanes infectés, dans la mesure où dans le contexte d'une assurance-maladie généralisée, il sera plus aisé de différencier les déterminants de la non-observance (entre problèmes de couverture sociale et propension individuelle à la non-observance).

Au-delà des caractéristiques des patients, celles des traitements de l'infection sont susceptibles d'accroître les problèmes de non-observance (Chesney et Folkman, 1994) complexité des doses et des prises, effets secondaires, horizon temporel incertain, précocité de la prescription par rapport au vécu subjectif de l'évolution de la maladie - “ un patient sans signes cliniques a une probabilité plus grande de se sentir moins bien à court terme avec un traitement que sans ” -; concomitance de l'initiation du traitement anti-viral et de “ l'entrée subjective dans la maladie ”. Selon une étude de 1992, 25 % de l'échantillon avaient des problèmes de non-observance avec l'AZT; les facteurs corrélés étaient la croyance dans la “ non-efficacité du médicament ”, la crainte de développer une résistance, et le souci de préserver un accès à d'autres thérapeutiques (Samet et coll., 1992).

Évolution des thérapeutiques et problèmes d'observance

Une intervention thérapeutique de plus en plus précoce, voire dès la phase de primo-infection, risque de soulever des difficultés majeures et de créer un “ divorce ” entre le corps médical et les communautés de malades.

Il est indéniable que la distinction entre séropositivité et maladie a été un élément déterminant dans l'émergence de la perception sociale de la maladie dans l'espace public (Calvez et coll., 1994). Surtout, comme l'a montré la première recherche sociologique approfondie sur la vie quotidienne des personnes infectées en France, cette distinction dépend d'abord de la gestion individuelle de l'infection par la majorité des patients. Carricaburu et Pierret (1995) notent en conclusion de leur recherche que

“ le sens donné à la séropositivité diffère selon l'origine de la contamination, même si elle se traduit pour tous par un renforcement des composantes identitaires antérieures. Pour les hommes hémophiles, elle est associée à l'idée de maladie et de mort. Pour les hommes homosexuels, elle permet de tenir la maladie à distance et constitue une phase de leur vie pendant laquelle ils vont reconstruire les différentes composantes de leur histoire. ”

On peut donc s'attendre à ce qu'un bouleversement du message médical conduisant à réintégrer, pour légitimer la prise en charge précoce, la totalité de l'histoire naturelle de l'infection dans la catégorie “ maladie ” ne provoque une “ crise ”, au moins temporaire, des relations médecin/malade. Si l'hypothèse d'une crise des relations médecin/malade s'avère exacte, il sera nécessaire de combler rapidement l'insuffisance notoire, en France, de recherches sur l'évaluation de différentes formes d'interventions psychologiques, psychothérapeutiques et d'accompagnement social, destinées à renforcer l'observance (Chesney, 1993).

Il pourrait en tout cas être recommandé que tout nouvel essai clinique soit accompagné de modalités précises de suivi psychologique, cette condition créant alors la possibilité de recherches évaluatives et comparatives sur différentes modalités d'intervention.

Les recherches en psycho-neuro-immunologie dans le cadre de l'infection par le VIH restent en France très peu développées, alors qu'elles connaissent un réel essor outre-Atlantique (Kemeny, 1994).

De telles recherches s'intéressent à la relation entre la dépression et l'évolution de l'infection par le VIH. Certaines ont montré que la dépression semble associée à une chute plus rapide du pourcentage ou du nombre absolu des cellules CD4⁺ (Kemeny, 1994; Burack et coll., 1993). Cependant, une autre étude n'a pas retrouvé cette association (Lyketsos et coll., 1993). A ce jour, aucune de ces études n'a pu établir de relation entre dépression, morbidité et mortalité des patients. Il faut cependant souligner que la dépression était mesurée seulement lors de l'inclusion dans le suivi longitudinal. Une critique majeure de toutes ces études est qu'aucune n'a mesuré la consommation individuelle d'antidépresseurs qui, par leur action, pourraient moduler les effets de la dépression sur l'évolution de l'infection et sur la survie. Ce manque de prise en compte de la variable “ traitements antidépresseurs ”, largement prescrits aux États-Unis, même chez les patients ne présentant pas de signes dépressifs,

pourrait expliquer les résultats contradictoires obtenus, et montre en tout état de cause l'intérêt de poursuivre ce type d'investigation.

L'ensemble de ces études souligne l'importance d'une intégration précoce de la recherche socio-comportementale à la recherche clinique et thérapeutique.

BIBLIOGRAPHIE

AIACH P. CEBE D. Expression des symptômes et conduites de maladie. Paris: INSERM/Doin, 1991

ANSPACH RR. The language of case presentation. *J Health Soc Behav* 1988, 29: 319-338

BOLTANSKI L. Les usages sociaux du corps. *Revue Annales* 1971, 26-1

BROERS B. & coll. Factors determining compliance of intravenous drug users with zidovudine treatment. IXth International Conference on AIDS, June 6-11, 1993, Berlin (POD08-3621)

BURACK JH, BARRETT DC, STALL RD et coll. Depressive symptoms and CD4 lymphocyte decline among HIV-infected men. *JAMA* 1993, 270: 2568-2573

CALVEZ M, PAICHELER G. SOUTEYRAND Y. Connaissances, représentations, comportements: sciences sociales et prévention du Sida. Paris: ANRS, 1994

CARRICABURU D, PIERRET J. From biographical disroption to biographical reinforcement: the case of HIV-positive men. *Soc Heulth & III* 1995, 17: 65-88

CHESNEY MA. Health psychology in the 21st century: Aids as a hartinger of things to come. *Health Psychol* 1993, 12: 259-268

CHESNEY MA, FOLKMAN SA. Psychological impact of HIV disease and implications for intervention. *Psych Clin North America* 1994, 17: 163-181

COHEN, D, KISSINGER P. CLARK R. BRANDON W. Characteristics associatod with 50 % reduction in CD4 cell count among HIV infected patients. IXth International Conference on AIDS, Berlin, June 6- 11, 1993

CONRAD P. SCHNEIDER JW. Deviance and medicalization. Saint-Louis: The cv Mosty Co, 1980

FREIDSON E. Profession of medicine. New York: Dodd, Mead, 1970

GORDON HH. The doctor-patient relationship. *J Med Philos* 1983, 8: 243-245

HERZLICH C, PIERRET J. The construction of a social phenomenon: Aids in the French press. *Soc Sci Med* 1989, 29: 1235-1242 105

KATZ M, BINDMAN A, KOMAROMY M. Coping with Hiv infection: why people delay care. *Ann Intern Med* 1992, 117: 797

KEMENY ME. Psychoneuroimmunology of HIV infection. *Psych Clin North America* 1994, 17: 55-69

KIZER K. GREEN M, PERKINS CI, DOEBBERT G. HUGHES MJ. Aids and suicide in California. *JAMA* 1988, 260 1881

LEVENTHA, H. SAFER MA, PANAGIS DM. The impact of communications on the self-regulation of health beliefs, decisions, and behavior. *Health Educ Quart* 1983, 10: 3-29

LYKETSOS CG, HOOVER DR, GUCCIONE M. et coll. Depressive symptoms as predictors of medical outcomes in HIV infection. Multicenter AIDS Cohort Study. *JAMA* 1993, 270: 2563-2567

MARZUK PM, TIERNEY H. TARDIFF I et coll. Increased risk of suicide in persons with Aids. *JAMA* 1988, 259: 1333-1337

MEISLER A, ICKOVICS J. SKOWRONSKI C et coll. Adherence to clinical trials among women minorities and IV drug users. *IXth International Conference on AIDS*, Berlin, June 6-11, 1993. (Pos 442538)

OBADIA Y, MOATTI JP, BRECHEAULT A. Sida: l'importance du médecin généraliste. *La Recherche* 1994, 268: 912-914

PARSONS T. The sick role and the role of physician reconsidered. *Milbank Mem Fund Q.* 1975, summer: 257-278

PHELPS CE. Induced demand Can we ever know its extent ? *J Health Eco* 1986, 5: 355-366

POLLAK M. *Les homosexuels et le Sida*. Paris: AM Métaillié, 1988

SAMET JH, LIBMAN H. STEGER K & coll. Compliance with zidovudine therapy in patients infected with HIV-1: a cross-sectional study in a municipal hospital clinic. *Am J Med* 1992, 92: 495-502

TESSLER R. MECHANIC D, DIMOND M. The effect of psychological distress on physician utilization: A prospective study. *J Health Soc Behv* 1976, 17: 353-364

III

Pistes de recherche et de développement

15

Les méthodes de criblage de molécules anti-VIH

La recherche de molécules capables de limiter la progression de la maladie a débuté dès l'identification, en 1983, de l'agent causal, le VIH. Les techniques mises en œuvre pour le criblage ne présentent aucune caractéristique particulière et utilisent les outils décrits pour tous les criblages pharmacologiques. Les molécules pharmaceutiques proviennent de deux sources principales:

- les molécules obtenues par synthèse chimique
- les molécules d'origine naturelle, microbienne, animale ou végétale.

Les molécules ainsi découvertes sont pour la plupart le fruit du hasard. Le rêve est dans tous les esprits d'être un jour capable de dessiner *ah initio* la molécule qui inhibera de façon spécifique l'enzyme ou le récepteur visé. Les outils informatiques qui le permettront commencent à apparaître, ce qui a permis à la modélisation moléculaire de contribuer de plus en plus ces dernières années à la mise au point de certains médicaments (Verlinde et Mol, 1994). Cette contribution a été particulièrement importante dans le cas des inhibiteurs de la protéase du VIH.

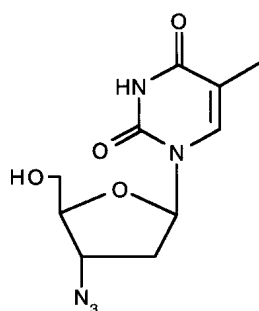
Après analyse du processus de découverte des médicaments aujourd'hui disponibles pour le traitement de l'infection par le VIH, seront définies les grandes lignes permettant la mise en place d'un test de criblage sur une nouvelle cible pour laquelle il n'existe pas d'inhibiteur connu.

Historique des molécules anti-VIH disponibles

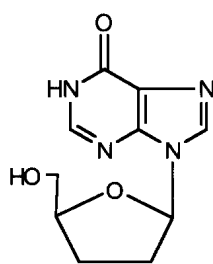
Les seules molécules commercialisées aujourd'hui comme anti-VIH appartiennent à la classe des nucléosides et inhibent la transcriptase inverse du virus. L'AZT (3'-azido-3'-didésoxythymidine, Wellcome) a été la première

molécule disponible dès 1987, suivie par la ddI (2', 3'-didésoxyinosine, Bristol-Myers Squibb) et du ddC (2', 3'-didésoxycytidine, Roche).

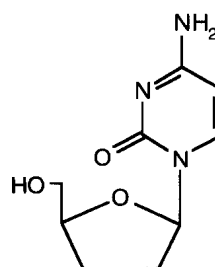
D'autres nucléosides sont sur le point d'être enregistrés il s'agit du d4T (2', 3'-didéhydro-2', 3'-didésoxythymidine, Bristol-Myers Squibb) et du 3TC (Glaxo).



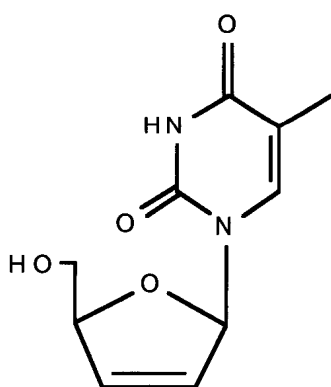
**Retrovir Zidovudine
(AZT) Wellcome**



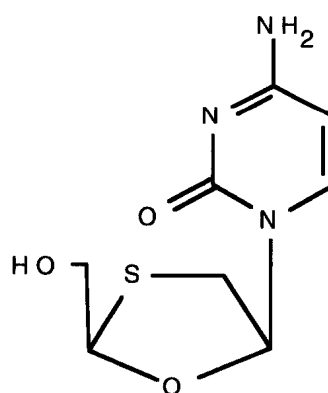
**Videx Didanosine
(ddI) BMS**



**Hivid Zalcitabine
(ddC) Roche**

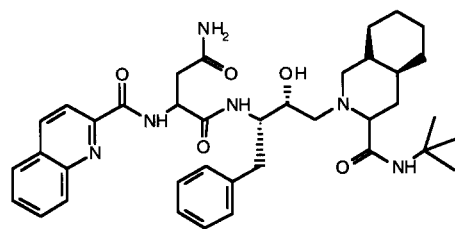


**Zerit Stavudine (d4T)
BMS**

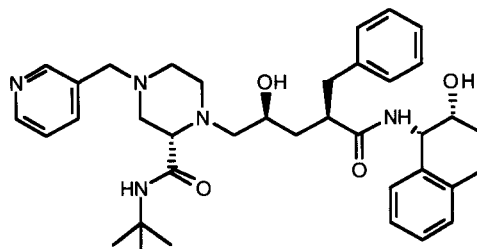


**Lamivudine (3TC)
Glaxo/Biochem**

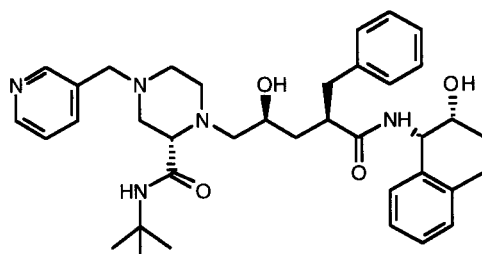
La deuxième famille de molécules à venir est celle des anti-protéases le saquinavir (Roche), l'indinavir (Merck) et le ritonavir (Abbott) sont les représentants les plus avancés dans leur développement.



Saquinavir (Roche)

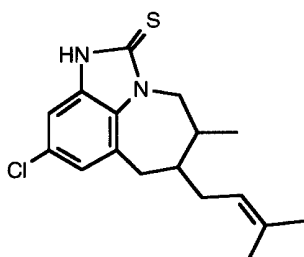


**L735, 524 (Merck)
Indinavir**

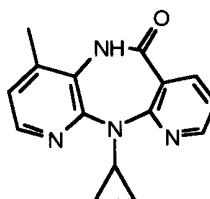


**ABT 538 (Abbott)
Ritonavir**

Enfin, les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse, dont il existe de nombreux représentants comme le TIBO (Janssen) et la névirapine (Boehringer Ingelheim), bien que très puissants sur l'enzyme, se heurtent à un problème majeur dû au développement extrêmement rapide de résistance et ne pourront être développés, s'ils le sont un jour, qu'en association avec d'autres molécules.



TIBO (Janssen)



**Nevirapine
(Boehringer Ingelheim)**

Comment ces molécules ont-elles été découvertes ?

Certaines molécules, comme l'AZT et les autres nucléosides, existaient et provenaient de la recherche d'anticancéreux. L'activité de ces molécules sur la transcriptase inverse des rétrovirus murins était bien connue (Ostertag et coll., 1974). C'est donc très rapidement qu'elles ont été testées sur le VIH. Ces nucléosides entrent en compétition avec les nucléosides naturels et induisent la terminaison de l'élongation de la chaîne.

Les autres inhibiteurs de la réplication du VIH, à l'exception des inhibiteurs de la protéase, sont issus d'un criblage au hasard. Dès l'identification du VIH et sa culture in vitro, des criblages sur l'infection aiguë de lymphocytes ont été entrepris dans les différents laboratoires. Ce test très global, puisqu'il mesure la production de particules virales, aurait dû permettre de détecter des molécules agissant aux différentes étapes du cycle viral. Curieusement, toutes les molécules qui ont été découvertes dans ce type d'essai n'agissent que sur des étapes très précoces du cycle. Ont ainsi été identifiés

- des inhibiteurs de la liaison du VIH à la cellule (polyanions, dextran)
- des inhibiteurs de fusion (dérivés bétuliniques, bicyclams),
- des inhibiteurs non compétitifs de la transcriptase inverse (TIBO, névirapine, a-APA).

Toutes ces molécules sont en cours d'évaluation préclinique.

La recherche des inhibiteurs de la protéase a bénéficié d'une connaissance préalable dans un domaine voisin. La protéase du VIH est une aspartyl protéase qui présente une forte analogie avec la rénine, et sa structure a rapidement été résolue après cristallisation (Wlodawer et coll., 1989). Comme les autres protéases, l'enzyme du VIH fonctionne en interagissant avec son substrat pour former un état transitionnel qui facilite le clivage du substrat pour donner les produits de réaction. La recherche sur la protéase du VIH a donc bénéficié de toute l'expérience existant dans ce domaine, et notamment des connaissances acquises par la recherche de molécules peptidomimétiques inhibitrices du système rénine-angiotensine, recherche très active au début des années 1980 dans de nombreuses firmes pharmaceutiques.

Les premières molécules ont donc été des molécules peptidomimétiques capables de mimer l'état de transition et d'entrer en compétition avec les protéines endogènes. Ces molécules très actives in vitro mais assez complexes sont souvent peu biodisponibles et/ou difficiles à synthétiser à une échelle industrielle. Pour certains de ces inhibiteurs, l'activité in vivo peut considérablement diminuer du fait de l'interférence d'une glycoprotéine sérique, l' α -1 glycoprotéine acide (Sommadossi et al, communication Washington). On trouve dans cette catégorie le Saquinavir de Roche, qui devrait être prochainement commercialisé.

Derrière le Saquinavir, deux autres molécules ont partiellement résolu les problèmes de biodisponibilité, l'indinavir de Merck et surtout le ritonavir d'Abbott, qui est probablement la molécule la plus prometteuse de cette première génération d'anti-protéases.

De nouvelles molécules, beaucoup plus innovantes, sont en cours d'évaluation - phases cliniques précoces - comme celles de Vertex et d'Upjohn.

Toutes ces molécules ont été optimisées à l'aide de la modélisation moléculaire, souvent en co-cristallisant l'enzyme en présence d'un premier inhibiteur et en analysant les points d'interactions.

Stratégie de recherche de nouvelles molécules

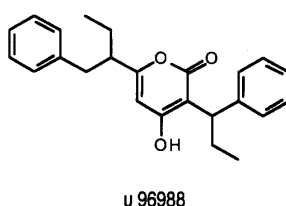
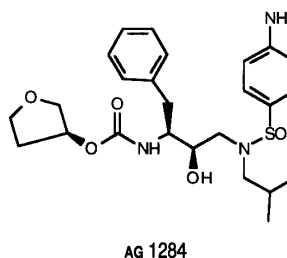
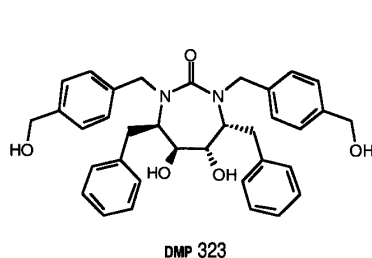
Malgré le nombre croissant de molécules anti-VIH, cela ne concerne que peu de cibles pharmacologiques - transcriptase inverse et protéase. De plus, l'apparition rapide de virus résistant à ces molécules plaide en faveur d'une polychimiothérapie associant des molécules agissant à différents stades du cycle viral. Il existe donc un besoin urgent de découvrir de nouveaux inhibiteurs de la réplication agissant sur de nouvelles cibles.

La première étape dans la recherche d'un médicament consiste à définir la cible (enzyme, récepteur ou autre protéine...) et à valider son intérêt thérapeutique potentiel. Quand il n'existe pas d'inhibiteur connu, on a souvent recours à des méthodes génétiques - mutagenèse, antisens.

Une fois la cible identifiée et validée, deux grand types de stratégies peuvent s'appliquer

- En théorie, si l'on dispose d'informations structurales suffisantes sur le récepteur ou le site catalytique de l'enzyme visée, on peut analyser les interactions possibles avec la protéine et tenter de dessiner et de synthétiser un certain nombre de molécules qui interagiront avec la cible choisie. Certains logiciels comme GRIB (Goodford et coll., 1985), ALLADIN (Van Drie et coll., 1989), DOCK (Kuntz et coll., 1982) et LUDI (Bohm et coll., 1992) permettent ce type d'étude. Ces outils ont permis de dessiner les nouvelles molécules anti-protéases qui ne sont plus des analogues peptidiques, comme le DMP 323 de Du Pont-Merck, le AG 1284 de Vertex et le u 96988 de Upjohn.

- Plus classiquement, on met en place un test de criblage, dont il importe de définir le principe. Ce criblage doit permettre d'identifier des représentants de familles chimiques qui pourront être améliorés par la suite. Il ne nécessite pas de connaissances structurales. La limitation du criblage systématique repose sur le nombre et la diversité des molécules que l'on est capable de passer dans le test. Toutes les grandes sociétés pharmaceutiques ont de grandes collections de molécules, souvent restreintes dans leur diversité par le fait qu'elles sont le reflet de l'histoire de la recherche thérapeutique de la société (collection de benzodiazépines chez Roche et de benzothiazines chez Rhône-Poulenc Rorer, par exemple).



Le criblage de molécules d'origine naturelle est un moyen d'avoir accès à des structures chimiques difficilement synthétisables au laboratoire.

Pour remédier au manque de diversité, de grands efforts sont entrepris depuis quelques années dans différents laboratoires pharmaceutiques pour réaliser des banques de produits résultant de la chimie combinatoire sur des répartiteurs. Ces banques sont réalisées sur le même principe que les banques de peptides et permettent de générer des millions de nouvelles structures.

En ce qui concerne le test de criblage proprement dit, deux grands types de tests peuvent être envisagés

- Un test biochimique qui a, en général, l'avantage d'être rapide et très spécifique, et d'avoir une très grande capacité, plusieurs milliers de produits/semaine pouvant être testés dans ce type de crible. En revanche, il faut disposer d'une enzyme de qualité suffisante, recombinante ou non, et en grande quantité. Bien sûr, seuls des produits agissant sur l'interaction de l'enzyme (ou protéine) avec son substrat pourront être identifiés dans ce type de tests. Le test biochimique s'affranchit des problèmes d'accessibilité de la cible pour la molécule étudiée, et notamment du problème de pénétration cellulaire, qui pourront être résolus dans un deuxième temps par des modifications chimiques.

- Un test cellulaire, qui sera un test fonctionnel dans le contexte cellulaire et qui devra donc intégrer les partenaires cellulaires de la protéine ciblée. C'est le type de test développé pour la recherche d'inhibiteurs de *tat* ou de *rev*. Ces tests, comparés aux premiers, ont une capacité souvent limitée, même si certaines automatisations sont possibles. En revanche, ils doivent permettre l'identification de molécules inhibant les partenaires cellulaires impliqués, ce qui dans le cas du VIH pourrait être un moyen de trouver des molécules moins susceptibles d'induire des résistances.

Dans un deuxième temps, et quelle que soit la stratégie retenue, il faudra mettre en place les tests secondaires, qui permettront de trier, parmi les molécules détectées dans le criblage, les molécules inhibant réellement la cible visée. Le choix des tests à réaliser à cette étape est capital. En effet, tous les tests de criblage présentent des biais méthodologiques. Ces tests secondaires doivent donc permettre d'éliminer tous les produits interférant avec le test de criblage et ne relevant pas du mécanisme recherché. Ce n'est que lorsque la molécule aura franchi ces différentes étapes qu'une synthèse chimique et une analyse de la relation structure-fonction pourront être envisagées.

C'est à cette phase que la connaissance des données structurales, et si possible la co-cristallisation avec l'inhibiteur potentiel, peut aider le chimiste à dessiner la molécule idéale.

BIBLIOGRAPHIE

- BÖHM HJ. The computer program LUDI = a new method for de novo design of enzyme inhibitor. *J Comput Aided Mol Des* 1992, **6**: 61-78
- DE CLERCQ E. Toward improved anti-HIV chemotherapy: therapeutic strategies for intervention with HIV infection. *J Med Chem* 1995, **38**: 2491-2517
- GOODFORD PJ. A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules. *J Med Chem* 1985, **28**: 849-857
- GOODY RS. Rational drug design and HIV: hopes and limitations. *Nature Medicine* 1995, **1**: 519-520
- LEVY JA. HIV research: a need to focus on the right target. *Lancet* 1995, **345**: 1619-1621
- KALISH V, KALDOR S, SHETTY B, TATLOCK J, DAVIES J, HAMMOND M, DRESSMAN B, FRITZ J, APPELT K, REICH S, MUSICK L, WU B QW, SU K. Iterative protein structure-based drug design and synthesis of H~V protease inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* 1995, **30**: 201S-214S
- KUNTZ ID, BLANEY JM, OATLEY SJ, LANGRIDGE R and FERRIN TE. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *J Mol Biol* 1982, **161**: 269-288
- MARUENDA H, JOHNSON F. Design and synthesis of novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *J Med Chem* 1995, **38**: 2145-2151

- OSTERTAG W, ROESLER G, KRIE CJ et coll. Induction of endogenous virus and of thymidine kinase by bromodeoxyuridine in cell culture transformed by friend virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974, **71**: 4980-4985
- VAN DRIE JH, WEININGER D, MARTIN YC. ALADIN: an integrated tool for computer-assisted molecular design and pharmacophore recognition from geometric, steric, and substructure searching of three-dimensional molecular structures. *J Comput Aided Mol Des* 1989, **3**: 225-251
- VERLINDE C, HOL W. Structure-based drug design: progress, results and challenges. *Structure* 1994, **2**: 577-587
- WAINBERG MA, GU Z. Targeting HIV reverse transcriptase in novel ways. *Nature Medicine* 1995, **1**: 628-629
- WLODAWER A, MILLER M, JASKOLSKI M et coll. Conserved folding in retroviral proteases: crystal structure of a synthetic HIV-1 protease. *Science* 1989, **245**: 616-621.

L'intérêt de la mise au point de modèles animaux

La mise au point de traitements efficaces des infections humaines par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) passe obligatoirement par le développement de modèles animaux permettant les études fondamentales et pharmacologiques aptes à assurer la pertinence de la stratégie choisie. L'évolution lente de l'infection par le VIH, la complexité de son agent causal et de son cycle biologique, le nombre considérable de dysfonctionnements immunitaires engendrés directement ou indirectement par la réplication virale, ainsi que l'atteinte du système nerveux central rendent impossible toute approche strictement *in vitro*. L'urgence de la situation, en particulier en Afrique, requiert un effort majeur et sans précédent pour espérer stabiliser, voire peut-être enrayer l'épidémie. Cet effort concerne aussi bien la recherche institutionnelle fondamentale et appliquée que l'industrie pharmaceutique, sans la coopération de laquelle le développement de nouvelles molécules est impossible. Compte tenu des coûts importants des essais cliniques d'une part et de l'absence d'appréhension globale des mécanismes physiopathologiques de l'atteinte immunitaire d'autre part, l'utilisation de modèles animaux apparaît indispensable et quasi obligatoire dans une rationalisation bien conduite du développement de la recherche thérapeutique.

En théorie, tout bon modèle animal des infections humaines à VIH doit répondre à un certain nombre de critères incluant

- la reproductibilité,
- l'appartenance des virus causals à la famille des rétrovirus,
- un cadre physiopathologique et clinique proche de celui décrit chez l'homme - en particulier, la présence d'une phase Symptomatique suffisamment longue pour mimer la latence clinique observée chez l'homme,
- la compatibilité avec l'étude expérimentale au laboratoire en termes de coût, d'éthique, de facilité de manipulation des animaux et de conformité aux normes de sécurité microbiologique,
- enfin, la nécessité de posséder l'arsenal biotechnologique permettant l'étude fine des fonctions supportées par les organes cibles des lentivirus.

Compte tenu de ces remarques, l'infection expérimentale des primates par des lentivirus humains ou simiens s'est imposée comme modèle d'étude privilégié de l'infection de l'homme par le VIH. Cependant, le coût de l'expérimentation et les exigences éthiques qu'imposent l'utilisation des primates laissent une place importante aux autres modèles impliquant essentiellement la souris ou le chat, en particulier dans les études fondamentales se situant en amont de l'élaboration des stratégies vaccinales et des thérapeutiques antivirales.

Dans ce qui va suivre, les modèles animaux ne seront envisagés que sous l'angle de leur application à la thérapeutique expérimentale.

Modèles “ non primates ”

De nombreux rétrovirus ont été isolés chez l'animal depuis la découverte de Rous au début du siècle. Ces rétrovirus sont le plus souvent des oncovirus mais aussi des lentivirus associés au développement de tumeurs, d'atteintes chroniques du système nerveux central et d'immunodéficiences. Sur le plan de la recherche thérapeutique, ces modèles ont pour caractéristiques d'être le plus souvent beaucoup plus maniables que les modèles “ primates ” et de permettre un criblage de familles de drogues dans un temps relativement restreint.

Modèles “ non primates ” impliquant un rétrovirus différent des lentivirus

Ces modèles sont dits incomplets, car ils ne reproduisent qu'une ou quelques phases du cycle biologique du VIH dans un organisme infecté. Le plus souvent, ils utilisent des *oncovirinae*, assez éloignés des *lentivirinae* tant au plan phylogénétique qu'à celui de la pathologie qu'ils induisent. Le plus souvent, il s'agit de l'infection de la souris par un *oncovirinae*. L'utilisation de cette espèce animale se justifie amplement par la modulation infinie et contrôlée des paramètres immunologiques apportée par l'utilisation des souris syngéniques et congéniques, constituant un outil souple et performant pour l'étude des réactions immunologiques à l'infection rétrovirale. Pratiquement la quasi-totalité des rétrovirus mutins peut être retenue, à un titre ou à un autre, comme des virus modèles partiels. Parmi toutes ces situations expérimentales, l'une des plus intéressantes est constituée par l'infection expérimentale de la souris C57/B16 adulte par la souche LP-BM5 de MULV (Mosier et coll, 1985); cette infection induit un syndrome d'immunodéficiência appelé *murine AIDS* (MAIDS) qui se caractérise par des manifestations cliniques proches des stades précoces du sida humain.

Cependant, la biologie très particulière de cette souche rétrovirale, utilisant en réalité l'association de plusieurs virus à activité auxiliaire, limite significativement son intérêt. Quoi qu'il en soit, ces modèles conservent toute leur utilité dans l'étude des thérapeutiques antivirales, lorsque l'objectif est de bloquer une phase du cycle commune à l'ensemble des rétrovirus telle que la transcription inverse, l'intégration provirale ou l'assemblage: les infections par les rétrovirus marins sont, à ce jour, la meilleure approche du criblage rapide et large in vivo de molécules ayant montré une efficacité in vitro ou dont le dessin laisse supposer une activité anti-transcriptase inverse in vivo.

Modèles a non primates ” utilisant un lentivirus animal

Ces modèles peuvent se Passer en deux catégories: les modèles impliquant de gros animaux et les modèles félins.

Les modèles utilisant de gros animaux ont pour caractéristique générale d'être peu maniables compte tenu des espèces dans lesquelles ils sont développés. Ce sont :

- l'infection du mouton par le Visna (Petursson et coll, 1989),
- l'infection de la chèvre par le virus de l'encéphalite et de l'arthrite infectieuse ou CAEV,
- l'infection des bovins par le virus de immunodéficience bovine ou BIV (Gonda, 1992),
- le virus de l'anémie infectieuse équine ou EIA.

Parmi ces lentivirus, le virus Visna est fort probablement le mieux connu et le plus proche du VIH; l'induction de troubles pulmonaires proches de la pneumopathie lymphoïde interstitielle observée chez l'homme infecté, ainsi que le développement de troubles neurologiques lents justifient qu'une attention toute particulière soit portée à ce virus et à ce modèle.

L'infection du chat par le virus de immunodéficience féline (FIV) possède de nombreux avantages: il s'agit d'une infection naturelle et répandue (Pedersen et coll, 1987) qui aboutit, dans 50 % des cas, à l'émergence d'une immunodéficience proche du sida humain. Le FIV est un lentivirus génétiquement et biologiquement proche du VIH. La limite du modèle tient essentiellement aux différences de tropisme cellulaire entre FIV et VIH: si le déterminant de surface CD4 est impliqué dans les infections par le FIV, on sait maintenant que, in vitro comme in vivo, le FIV infecte également d'autres types cellulaires CD4 négatifs, via la molécule CD9 (Neil, 1994). Le modèle est cependant le seul modèle d'immunodéficience naturelle disponible à ce jour, et la maniabilité du chat en fait un complément informatif aux autres modèles.

Modèles “ non primates ” utilisant un lentivirus humain

Ces modèles concernent les rongeurs le lapin ou la souris. L'infection du lapin par le VIH semble à ce jour d'un intérêt mineur, même pour ce qui est des lapins transgéniques pour la molécule CD4 humaine. En revanche, les modèles mutins sont très utiles et ils ont été considérablement améliorés ces dernières années. Les souris transgéniques possédant des parties du génome du VIH-1 telles que celle codant pour la protéine de régulation tat et les souris transgéniques exprimant le récepteur CD4 humain ou doubles transgéniques exprimant en plus le HLA -DR à la surface de leurs cellules représentent d'excellents modèles même si les essais d'infection ont toujours été infructueux par exemple, ils peuvent être utilisés dans l'optimisation d'une thérapeutique anti-sens, ou dans une approche thérapeutique du sarcome de Kaposi (souris transgéniques VIH-tat).

Les souris SCID (*Severe Combined Immune Deficiency*) humanisées sont probablement l'acquis majeur de ces dernières années (Namikawa et coll, 1988; Grandadam et coll. 1995). Ce sont des souris présentant une immunodéficiency combinée sévère génétiquement déterminée chez lesquelles la greffe d'organes lymphoïdes humains permet la régénération au moins transitoire d'un système immunitaire fonctionnel (70 à 100 semaines). Deux approches principales sont actuellement étudiées la reconstitution par l'injection de lymphocytes circulants humains, ou la greffe d'organes et de tissus tels que la moelle osseuse, le thymus, le poumon ou le ganglion lymphatique.

Dans la majorité des cas, ces souris reconstituées sont le siège d'une infection chronique ou d'une réplication transitoire VIH après injection de virus ou de cellules infectées. On conçoit aisément l'intérêt de ce modèle utilisant des cellules humaines, un virus humain et chez qui la modulation immunologique potentielle offre une adaptabilité considérable, particulièrement efficace dans la dissection du mécanisme d'action “ in vivo ” d'un antiviral ou d'un immunomodulateur. Les limites de ce modèle sont de trois ordres

- les difficultés rencontrées pour obtenir de façon reproductible des greffons stables restent encore importantes, même si des progrès considérables ont été faits depuis 2 ans;
- les faibles charges virales observées chez les animaux infectés,
- le fait que la reconstitution de la souris par des cellules humaines ne peut -être que partielle, privant ainsi le virus d'un certain nombre de ces cibles potentielles, notamment dans le système réticulo -endothélial ou dans le système nerveux central; cependant, on ne peut exclure que, dans un avenir proche, des greffes de cellules humaines d'origine nerveuse puissent être réalisées chez ces animaux. Enfin, le développement des méthodes de mesure de l'ARN et de l'ADN par amplification devrait permettre de mesurer l'efficacité des antirétroviraux chez ces animaux, malgré la faiblesse de leurs charges virales.

Modèles a primates ”

Ces modèles peuvent aussi être classés en deux grandes catégories

- les modèles impliquant l'infection de primates par un lentivirus humain, qui sont le plus souvent des modèles d'infection persistante non pathogène;
- les modèles impliquant l'infection de primates par un lentivirus simien, qu'il s'agisse de virus infectant leur hôte naturel (SIVagm chez le singe vert), ou de lentivirus infectant un hôte artificiel (SIVmac chez le macaque).

Modèles d'infection utilisant un lentivirus humain

INFECTION DU CHIMPANZÉ PAR LE VIH1

Dès l'isolement du virus par Barré-Sinoussi et coll. en 1983, des chimpanzés ont été infectés par le VIH-1 après inoculation de plasma ou de cellules provenant de patients atteints de sida (Gajdusek et coll, 1984). Rapidement, la susceptibilité du chimpanzé à l'infection par le VIH -1 et l'établissement d'une infection chronique durable a été confirmée par d'autres équipes mais, à ce jour, aucun des animaux infectés n'a développé de signes cliniques ou biologiques d'immunodéficience. On ne connaît toujours pas les raisons de cette absence de pathogénicité du VIH chez le chimpanzé pour certains, il s'agirait d'une absence d'induction de cellules CD8+ cytotoxiques spécifiques du VIH-1, alors que d'autres auteurs impliquent l'absence d'infection détectable dans le macrophage des chimpanzés, ainsi que l'absence d'apoptose des lymphocytes chez le chimpanzé infecté.

La rareté des individus et la protection légitime des chimpanzés font qu'ils ne peuvent être utilisés dans une approche thérapeutique de la maladie à VIH.

INFECTION DU MACAQUE PAR LE VIH1 ET PAR LE VIH-2

Le VIH-2 infecte le macaque (*Macaca mulatta*, *Macaca fascicularis* et *Macaca nemestrina*) de façon persistante et reproductible d'un animal à l'autre. Cependant, même si cette infection conduit parfois à un sida (Dormont et coll., 1990), les charges virales observées chez ces animaux sont très faibles et rendent le modèle peu maniable pour des essais thérapeutiques. Récemment, une équipe américaine a réussi à obtenir une infection de macaques *nemestrina* par le VIH-1: toutefois, la difficulté à se procurer des animaux de cette espèce et le manque de reproductibilité du modèle font que celui-ci ne peut pas être considéré comme performant dans une approche expérimentale de l'efficacité d'une molécule anti-virale.

Modèles d'infection utilisant un lentivirus simien

Plusieurs virus d'immunodéficience simienne ont été décrits; leur nature et leur pouvoir pathogène varient en fonction de l'espèce simienne qu'ils infectent, selon qu'elle représente ou non l'hôte naturel du virus considéré.

INFECTION DES SINGES AFRICAINS PAR LES LENTIVIRUS SIMIENS

Il s'agit principalement de deux lentivirus qui infectent naturellement leur espèce hôte - SIVmnd isolé chez le mandrill, SIVagm isolé chez le singe vert - et d'un lentivirus, SIVsmm, isolé chez le mangabey en captivité. L'organisation et la séquence du génome des SIV du mandrin ou du singe vert les placent à égale distance du VIH et du SIVmac. SIVsmm, quant à lui, est très proche du VIH-2 et du SIVmac. Le pourcentage des mandrins et des singes verts séropositifs dans leur habitat naturel est relativement élevé, et varie de 50 % à 75 % en moyenne. Cependant, aucun de ces animaux ne développe d'immunodéficience clinique ou biologique consécutive à l'infection naturelle ou expérimentale. L'infection expérimentale du macaque rhésus ou cynomolgus par le SIVsmm conduit à un sida, ce qui démontre que, si la structure de ces virus peut expliquer leur absence de pathogénicité, l'espèce hôte est dans certaines circonstances le facteur déterminant.

INFECTION DU MACAQUE PAR DES VIRUS SIMIENS PATHOGÈNES

L'infection expérimentale de diverses espèces de macaques par les souches SIVmac, SIVsmm ou SIVnme (pour le SIV isolé à partir du macaque nemestrina) se traduit toujours par l'apparition d'un sida. Les macaques ne sont pas infectés par ces SIV dans leur habitat naturel, et il est fort probable que le SIVmac et le SIVnme proviennent d'une transmission inter -espèces du SIVsmm, des mangabeys aux macaques en captivité dans les mêmes centres de primatologie.

À l'exception du clone PBj14 de SIVsmn, dont l'inoculation au macaque entraîne une diarrhée aiguë et la mort de l'animal en deux à trois semaines, l'infection expérimentale du macaque par l'une de ces trois souches virales se traduit par l'apparition d'un sida extrêmement proche de celui décrit chez l'homme infecté par le VIH-1 (Simon et coll., 1992). Par ailleurs, le macaque est infectable par voie veineuse, par voie rectale et par voie vaginale des stocks viraux - isolats et clones moléculaires - sont titrés pour leur pouvoir infectieux par voie veineuse et muqueuse (Le Grand et coll., 1995) et sont disponibles pour les études pharmacologiques.

Enfin, la symptomatologie clinique et biologique de l'infection expérimentale par l'un de ces SIV, et particulièrement le SIVmac, est strictement superposable à celle observée chez l'homme infecté par le VIH: les animaux développent une primo-infection parfois symptomatique, une longue phase asymptomatique associée fréquemment à une polyadénopathie persistante, présentent une chute progressive du nombre de leurs cellules CD4⁺ sanguines et ganglionnaires,

et la phase terminale de la maladie est associée à l'apparition de diarrhées chroniques, d'une perte de poids importante (jusqu'à 60 % du poids initial), d'une atteinte du système nerveux central et/ou de l'apparition d'infections opportunistes. La grande majorité des animaux infectés meurt dans un délai de 6 à 36 mois après l'inoculation expérimentale.

Le SIVmac possède une structure génétique très proche du VIH de type 2. Les homologies de séquences nucléotidiques sont de 87 % pour le gène gag, de 83 % pour le gène pol et de 75 % environ pour le gène env. Cette proximité est confirmée par la forte antigénicité croisée qui existe entre ces virus. Le tropisme cellulaire du SIVmac est principalement déterminé par le récepteur CD4⁺: le virus infecte donc les lymphocytes T, les monocytes circulants et les macrophages tissulaires.

L'ensemble de ces données moléculaires biologiques et cliniques justifie la place privilégiée réservée aujourd'hui au modèle de l'infection expérimentale du macaque par le SIVmac dans la majorité des essais thérapeutiques. En effet, les techniques virologiques, immunologiques et moléculaires permettent d'explorer l'animal infecté avec une précision identique à celle de la clinique humaine en particulier, on sait précisément mesurer les charges virales. La primo-infection du macaque par le SIVmac se caractérise, comme la primo-infection humaine, par un pic de réplication virale objectivé par les mesures de l'antigénémie, de la virémie cellulaire, de la virémie sérique et par la mise en œuvre des techniques de PCR quantitatives. Compte tenu de l'importance des charges virales observées, cette phase de l'infection expérimentale constitue un outil de choix dans l'appréciation de l'efficacité d'une molécule antivirale: l'efficacité de nombreux analogues de nucléosides a ainsi pu être démontrée in vivo (Le Grand et coll., 1994). Par ailleurs, le système immunitaire du macaque est maintenant explorable à un niveau quasi comparable au système immunitaire humain en particulier, le niveau de synthèse des cytokines est maintenant quantifiable, ce qui permet d'utiliser le modèle dans l'évaluation des effets des thérapeutiques immunomodulatrices (Clayette et coll., 1995; Benveniste et coll., 1995).

Modèles de l'avenir: les chimères de lentivirus

Un certain nombre de virus chimériques ont été construits ces dernières années leur génome code pour le virus SIVmac, à l'exception de la protéine de l'enveloppe qui est celle du VIH-1. Ces virus chimères sont appelés " SHIV ". L'infection des macaques par les SHIVs a été réalisée (Sakugari et coll., 1992 et communication personnelle du Dr Anne-Marie Aubertin, Faculté de Médecine de Strasbourg); à ce jour, aucun signe clinique d'immunosuppression n'a été rapporté, mais les délais d'observation sont encore trop courts. La construction par génie génétique de SHIVs contenant les gènes env et pol devrait en théorie permettre de tester l'efficacité de molécules antivirales dont le site d'action se situe au niveau de l'une des zones spécifiques de la transcriptase du VIH-1 et également pour sélectionner des inhibiteurs de la pénétration et des protéines *tat* et *rev*.

Il n'existe à ce jour aucun modèle utilisant un lentivirus humain qui permette l'induction systématique d'une immunodéficience clinique et biologique le modèle théorique parfait n'existe donc pas. Cependant, l'utilisation rationnelle des modèles animaux disponibles permet aujourd'hui d'évaluer précisément l'efficacité d'une stratégie anti-virale et/ou immunomodulatrice dans les infections à VIH. En effet, une fois la démonstration de l'efficacité in vitro apportée - spécificité, index thérapeutique satisfaisant..., la démarche suivante peut être proposée

- utilisation d'un modèle partiel spécifique (par exemple, évaluation de l'efficacité d'un antisens chez une souris transgénique exprimant le gène cible);
- criblage dans des modèles d'infection murins par des oncovirus (par exemple, inhibiteurs de la transcriptase inverse);
- utilisation des souris SCID dont les systèmes de reconstitution peuvent être variés, afin de déterminer ou de vérifier les mécanismes d'action et la globalité des effets en fonction des isolats viraux;
- utilisation possible des chats infectés par le FIV - effet sur une maladie naturelle;
- thérapeutique expérimentale des macaques *rhésus* ou *cynomolgus* infectés par le SIVmac ou par des SHIVs, lorsque ces derniers auront fait la preuve de leur intérêt; ces expériences doivent être menées en parallèle ou à l'issue des études de toxicité réglementaires.

Ainsi une progression rationnelle permettrait d'éviter à l'avenir les interprétations abusives de résultats partiels obtenus dans des essais cliniques que les connaissances actuelles n'autorisent pas toujours à dessiner avec rigueur. De plus, une telle approche aurait le mérite d'optimiser au mieux les stratégies thérapeutiques avant le passage à l'homme, réduisant ainsi considérablement les coûts financiers et humains.

BIBLIOGRAPHIE

ABIMTKU AG, FRANCHIN! G. ALDRICHK. MYAGKLKH M, MARKHAM P. GARD E. GAUO RG, ROBERT GUROFFM. Humoral and cellular immune responses in rhesus macaques infected with human immunodeficiency virus type 2. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995, **11**: 383-393

BABA TW, JEONG YS, PENN\NCK D, BRONSON R. GREENE ME, RUPRECHT RM. Pathogenicity of live, attenuated SIV after mucosal infection of néonatal macaques. *Science* 1995, **267**: 1820-1825

BARRÉ-SINOUSI FC, CHERMANN JC, REY F. NUGEYRE MT, GRUEST J DAUGUET C, AXLER-BLIN C, VÉZINET-BRUN F. Rouiloux C, ROZENBAUM W. MONTAGNIER L Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). *Science* 1983, **220**: 868-871.

BENNETT M, HART CA. Feline immunodeficiency virus infection - a model for HIV and AIDS ? *J Med Microbiol* 1995, **42**: 233-236

BENVENISTE O, VASLIN B. LE GRAND R. CHÉRET A, MATHEUX F. THÉODORO F. ROQUES P. DORMONT D. Comparing Interleukin responses during acute infection of macaques with an attenuated nef -deleted or a pathogenic SIVmac 251. *First International Conference on HIV & Cytokines*, Reims, France, March 14-17 1995

CHEN IS. ZACK JA. Modeling human retroviral pathogenesis and antiretroviral gene therapy in the SCID mouse. *Res Immunol* 1994, **145**: 385-392

CLAYETTE P. LE GRAND R. NOACK O, VASLIN B. LE NAOUR R. BENVENISTE O, THÉODORO F. FRÉTIER PH, DORMONT D. Tumor necrosis factor alpha in serum of macaques during SIVmac251 acute infection. *J Med Primatol* 1995, 24: in press

DORMONT D, LIVARTOWSKI J. VOGT G. CHAMARET S. NICOL 1, DWYER D, LEBON P. GUETARD D, MONTAGNIER L Second *in vivo* passage of HIV-2 in rhesus monkeys. *Animal Models in AIDS*. H. Schellekens and MC. Horzineck, Amsterdam: Elsevier 1990 ; p. 63-71

GAJDUSEK DC, AMYX HL, GIBBS CJJ, ASHER DM, YANAGIHARA RT. Transmission experiments with human T -lymphotropic retroviruses and human AIDS tissue. *Lancet* 1984, **1**:1415

GONDA MA. Bovine immunodeficiency virus. *AIDS* 1992, **6**: 759

GRANDADAM M, CESBRON JY, CANDOTTI D, VILATIER D, PAUCHARD M, CAPRON A, DEBRÉ P. HURAUX JM, AUTRAN B. AGUT H. Dose-dependent systemic human immunodeficiency virus infection of SCID -hu mice after intraperitoneal virus injection. *Res Virol* 1995, **146**: 101-112

LE GRAND R. CLAYETTE P. NOACK O, VASUN B. THEODORO F. MICHEL G. ROQUES P. DORMONT D. An animal model for antiretroviral therapy: effect of Zidovudine on viral load during acute infection after exposure of macaques to Simian Immunodeficiency Virus. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994, **10**: 1279-1287

LE GRAND R. NADAL M, CHÉRET A, ROQUES P. VASLIN B. MATHEUX F. THÉODORO F. GRAS G. GAUTHIER L, AUBERTIN AM, DORMONT D. Infection of macaques after vaginal exposure to a primary isolate of SIVmac251. *AZDS* 1995, **9**: 308-310

MOSIER DE, YETTER EA, MORSE 111 HC. Retroviral induction of acute lymphoproliferative disease and profound immunosuppression in adult C57BL/6 mice. *J Exp Med* 1985, **161**:766

NAMIKAWA R. KANESHIMA H. LIEBERMAN M, WEISSMANN IL, MCCUNEJM. Infection of the SCID-hu mouse by HIV-1. *Science* 1988, **242**: 1684

NEIL J. FIV-studies on *env* proteins and host cell receptors. *Workshop on "Animal models for AIDS research "* Hanover. (Germany) February 1994

PEDERSEN NC, Ho EW, BROWN ML YAMAMOTO JK. Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency -like syndrome. *Science* 1987,**235**: 790

PERSIDKY Y, STEFFAN AM, GENDRAULT JL, BOYER C, BEYER C, MUCHMORE E. KIRN A, AUBERTIN AM. Morphological changes in lymph nodes and expression of VCAM1 and cytokines at the last stages of SIV-induced disease in rhesus monkeys. *Res Virol* 1995, **146**: 185-200

PETURSSON G. PALSSON PA, GLORSSON G. MaediVisna in sheep: host interactions and utilization as a model *Intervirology* 1989 **30**, suppl 1: 36

SAKUGARI S. SHIBATA R. MUKAI R. KOMATSU T, FUKASAWA M, SAKAI H. SAKURAGI JI, KAWAMURA M, IKUBI K. HAYAMI M, ADACH' A. Infection of macaque monkeys with a chimeric human and simian immunodeficiency virus. *J Gen Virol* 1992, **73**: 2983-2987

SIMON MA, CHALIFOUX LV, RINGLER D. Pathologic features of SIV-induced disease and the association of macrophage infection with disease evolution. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992 **8**: 327

STONE JD, HEISE Cc, MILLER CJ, HALSTED CH, DANDEKAR S. Development of malabsorption and nutritional complications in simian immunodeficiency virus -infected rhesus macaques. *AIDS* 1994, **8**: 1245-1256

STOTT J. ALMOND N. Assessing animal models of AIDS. *Nature Medicine* 1995, **1**: 295-297

VITKOVIC L, STOVER E. KOSLOW SH. Animal models recapitulate aspects of HIV/CNS disease. *AIDS Res Hum Retrovirus* 1995, **11**: 753-759

Les stratégies de recherche de molécules antirétrovirales

Le traitement du sida, outre les thérapeutiques immunologiques, passe clairement par la mise au point de molécules antirétrovirales, capables de bloquer d'une manière aussi efficace que possible une étape du cycle du virus. Les virus, en tant que parasites, utilisent largement pour leur propre réplication la machinerie anabolique cellulaire - synthèse d'ADN, d'ARN, de protéines.... Le problème consiste donc à obtenir un produit sélectif, agissant sur le cycle viral sans altérer le bon fonctionnement des cellules de l'hôte. Pour cela, il est indispensable d'identifier clairement des cibles sélectives du virus et impliquées dans les étapes-clés du cycle viral. On peut distinguer deux types d'approche pour la recherche de molécules, l'approche de médicaments antirétroviraux classiques et celle s'appuyant sur le concept d'antisens.

Certaines protéines virales de même que des protéines cellulaires partenaires des protéines virales s'avèrent être des cibles potentielles. Dans le cadre de la recherche de médicaments antiviraux classiques, on peut envisager les molécules selon leur action sur les différentes étapes du cycle viral.

Quant à la stratégie antisens, elle met en jeu l'élaboration d'oligonucléotide formant des hétéroduplex avec les ARN viraux, et qui sont donc susceptibles d'intervenir à différentes étapes du cycle viral, principalement au niveau de l'expression des gènes viraux.

Le génome du VIH est constitué de neuf gènes. Trois gènes sont communs à tous les rétrovirus

- gag, qui code pour les protéines de la capsid,
- env. qui code pour les protéines d'enveloppe,
- pol, qui code pour la transcriptase inverse et l'intégrase.

Le génome du VIH est d'une complexité inhabituelle aux rétrovirus, car il contient au moins 6 gènes supplémentaires de petite taille.

Certains de ces gènes (rev, tat et nef) codent pour des protéines qui régulent l'expression des gènes viraux.

Cibles pharmacologiques virales et cellulaires

Transcriptase inverse

La transcriptase inverse, enzyme virale qui catalyse la synthèse d'ADN viral à partir du génome ARN, est actuellement la seule cible pharmacologique véritablement utilisée pour combattre le VIH. L'étape de la transcription inverse conduit d'un ARN viral à un ADN double brin qui comprend de nouvelles structures, les ETR (Long Terminal Repeat), indispensables à la bonne intégration du génome viral. La transcription inverse reste l'étape la plus importante sur le plan pharmacologique. Les analogues non hydrolysables de nucléosides, AZT, ddI, ddC, 3TC et D4T, constituent la classe thérapeutique actuellement la plus développée. Sous forme triphosphorylée, ils entrent en compétition avec les nucléosides naturels et entraînent la terminaison de l'élongation de la chaîne d'ADN.

Le problème de la phosphorylation est un problème-clef dans la recherche de nouveaux analogues de nucléosides anti-VIH. La première phosphorylation est catalysée par une nucléoside kinase cellulaire, puisque le VIH n'en possède pas. Le composé monophosphate est ensuite transformé en nucléoside di- puis tri-phosphate par deux autres kinases également cellulaires. Dans le cas de l'AZT par exemple, ces deux enzymes sont de faible efficacité, ce qui entraîne une accumulation du nucléoside monophosphate dans la cellule, accumulation compensée par son excrétion rapide, ce qui contribue à diminuer encore l'efficacité de la drogue.

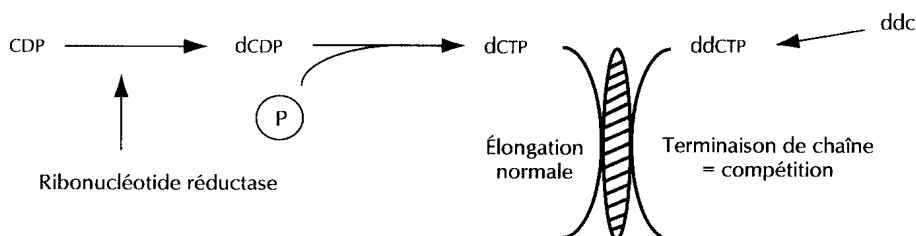
Pour évaluer les potentialités d'un analogue, il est donc important de savoir s'il sera phosphorylé et par quelle kinase il le sera. Cela peut être réalisé par des études in vitro de phosphorylation des analogues par les divers systèmes purifiés. L'autre facteur limitant l'activité antirétrovirale des analogues de nucléosides se situe au niveau de l'expression des kinases cellulaires, fonction de l'état métabolique des cellules en effet, le statut métabolique des cellules cibles en termes de réplication et d'activité transcriptionnelle conditionne l'activité antirétrovirale des analogues de nucléosides. De ce point de vue, les lymphocytes quiescents ont un état métabolique extrêmement défavorable à l'activité de ces composés. Le niveau de phosphorylation des différents substrats varie également d'une espèce à l'autre la ddC, par exemple, est bien phosphorylée dans les lignées humaines et très peu dans les lignées murines.

Afin de se libérer de cette dépendance par rapport à l'état métabolique des cellules, des composés mono-phosphorylés des molécules AZT, ddC et ddI sous forme d'esters ont été synthétisés et sont à l'étude ces ester mono-phosphates présentent un grand intérêt car ils passent très bien les membranes cellulaires.

Après action des estérases, les composés mono-phosphates sont ainsi obtenus indépendamment du niveau d'activité des kinases cellulaires. De telles prodrogues modifiées - esters monophosphates mais aussi dérivés lipophiles et molécules porteuses de radicaux diarylphosphates - font l'objet d'évaluation et de développement parfois déjà cliniques. D'autres voies de recherche sont en cours d'exploration, comme la mise au point de vecteurs d'administration ou la pharmaco-modulation contrôlée génétiquement.

Une deuxième approche consiste à associer deux molécules agissant l'une au niveau viral (inhibiteur de la transcriptase inverse), l'autre au niveau cellulaire. Au niveau cellulaire, la ribonudéotide réductase catalyse la réduction des ribonudéotides diphosphorylés (ribo-NDP) en désoxyribonudéotides (dNDP). Les dNDP sont ensuite phosphorylés en dNTP. Le flux de la biosynthèse des dNTP est le facteur limitant la synthèse d'ADN cellulaire et d'ADN viral lors de l'étape de transcription inverse.

Prenons l'exemple de la cytidine: la ribonucléotide réductase catalyse la réduction de la CDP en dCDP, qui est ensuite phosphorylée en dCTP. L'analogue nucléosidique ddc est triphosphorylé en ddCTP dans la cellule, et entre alors en compétition avec le nucléoside normal, le dCTP, pour l'incorporation dans la chaîne d'ADN. Ainsi, si l'on parvient à diminuer la biosynthèse des nucléosides endogènes normaux en inhibant la ribonucléotide réductase, on favorise alors l'incorporation des analogues de nucléoside qui entraînent la terminaison de chaîne et la formation d'ADN viral tronqué. On obtient cet effet avec l'hydroxyurée, antitumoral inhibiteur spécifique de la ribonucléotide réductase, ou avec la thymidine qui inhibe la réduction de la CDP en dCDP par un effet de rétrocontrôle d'une des sous-unités de la ribonucléotides réductase.



Cette approche expérimentale est très intéressante car elle produit un effet de potentialisation des analogues de nucléosides. Cependant, il reste nécessaire de tester la tolérance des patients à l'hydroxyurée et de vérifier son effet clinique.

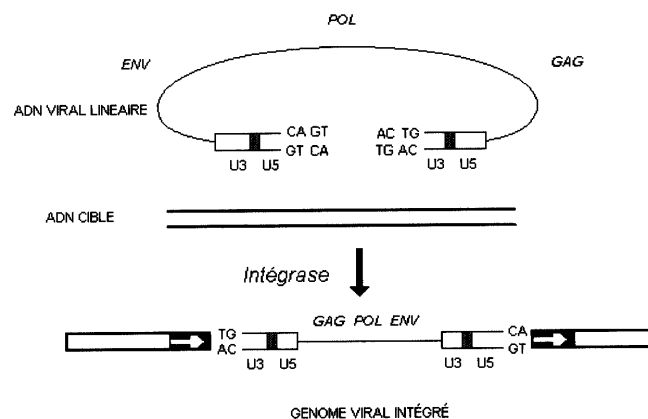
Récemment, des composés de la série des hydroxamates d'acides aminés ont également été proposés comme potentialisateurs des analogues de nucléosides et semblent également agir en inhibant la ribonucléotide réductase. Très intéressant en théorie, ce mécanisme d'inhibition reste cependant encore loin d'une application pratique optimale.

En fait, la mise en place de protocole de polychimiothérapie associant un inhibiteur de la biosynthèse des dNTP, par essence cytotoxique, avec un analogue de nucléoside reste très délicat. Néanmoins, les résultats obtenus actuellement sur la potentialisation de la ddI semblent prometteurs.

Une autre famille d'inhibiteurs de l'étape de transcription inverse sont les inhibiteurs non nucléosodiques de l'enzyme, qui agissent vraisemblablement par inhibition allostérique. Ils présentent une bonne activité in vitro mais ne semblent pas présenter d'intérêt clinique majeur, particulièrement en raison de l'apparition précoce de résistance. Un inhibiteur sélectif et très actif de la transcriptase inverse, utilisable en clinique, reste à découvrir.

Intégrase

Dans la cellule, l'ADN viral peut se trouver sous forme linéaire ou circulaire, à une ou deux extrémités LTR (*Long Terminal Repeat*). La forme linéaire est considérée comme la forme pro-intégrative. Le processus d'intégration est indispensable à l'expression des gènes viraux et, de ce fait, est une des étapes-clés du cycle viral. Elle conditionne la progression de l'infection virale (fig. 17-1).



130 Figure 17-1 – Intégration de l'ADN rétroviral du Mo. MLV dans l'ADN cible

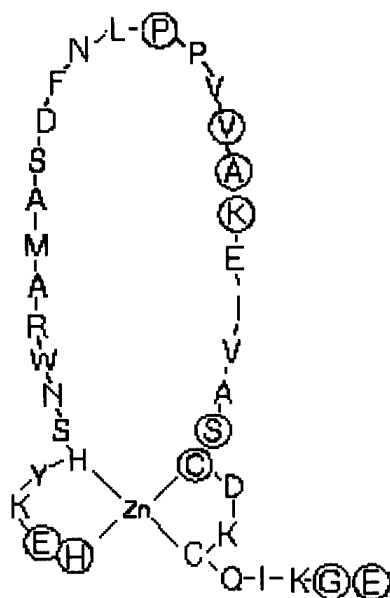


Figure 17-2 – Motif en doigt de zinc de l'intégrase du VIH-

L'intégrase, protéine de 32 KD codée par le gène pol (Panganiban et Temin, 1984), catalyse l'insertion du génome viral ADN dans le génome de la cellule cible. La structure du site de l'intégrase, qui appartient à la famille des polynucléotidyl-réductases, est connue depuis peu (Dyda et coll., 1994). La séquence primaire de la protéine présente du côté N-terminal un motif très conservé de type histidine-histidine-cystéine-cystéine (HHCC) (fig. 17-2). Comparées aux caractéristiques canoniques des motifs en doigt de zinc, celles de l'intégrase diffèrent sur trois points: l'orientation est HHCC au lieu de CCHH, la boucle liant la séquence H à la séquence C apparaît particulièrement longue (23 acides aminés) et, enfin, le motif est unique. Bien qu'indispensable à l'activité enzymatique, ce motif ne semble pas être impliqué dans la fixation de la protéine sur l'ADN.

L'intégration s'effectue en deux étapes l'une est la coupure sélective de deux nucléotides aux extrémités LTR situées sur l'ADN viral, l'autre est l'insertion de ces LTR dans l'ADN de la cellule cible.

La voie thérapeutique d'inhibition de l'étape d'intégration est encore très expérimentale en dépit de recherches actives dans ce domaine, il n'existe à ce jour aucun inhibiteur spécifique de l'intégrase du VIH susceptible d'entrer en essai clinique. Le meilleur composé actif *in vitro* reste la suramine qui inhibe les deux étapes de l'intégration à des concentrations pratiquement stœchiométriques à celles de l'enzyme. La suramine présentant six charges négatives se fixe par interactions électrostatiques sur la partie N-terminale cationique de l'enzyme.

Cette fixation perturbe la fixation non spécifique de l'enzyme sur l'ADN viral. Un certain nombre de composés présentent un effet inhibiteur sur l'intégrase *in vitro*, mais à des concentrations peu compatibles avec un effet pharmacologique sélectif. Il semble cependant que des composés hétérocycliques présentant des structures de type orthadiphénols ou ortho-phénol-carboxylates soient des inhibiteurs potentiellement intéressants. Dans presque tous les cas, ces composés sont inactifs sur le cycle viral *ex vivo*. La détermination récente de la structure tridimensionnelle de la partie catalytique de l'intégrase du VIH-1 donne accès à des études structurales prédictives et rationnelles pour définir de nouveaux inhibiteurs spécifiques. Il faut enfin mentionner que l'inhibition de l'intégration peut être obtenue *in vitro* par une stratégie anti-sens, en ciblant les séquences polypurines/polypyrimidines des extrémités LTR de l'ADN viral par des oligonucléotides formant des triples hélices. Ces oligonucléotides sont actifs à des concentrations inférieures à 1 μM et inhibent le cycle viral *ex vivo* à des concentrations identiques.

Protéase

Une fois traduites, les protéines virales vont s'associer au génome viral composé d'un dimère d'ARN pour produire de nouvelles particules infectieuses, qui quittent la cellule infectée par bourgeonnement au niveau de la membrane. L'étape finale de maturation des virions (assemblage de ses différents composants, constituants de la capsid, de la nucléocapsid et enzymes virales) implique une aspartyl-protéase virale, produit du gène pol. La structure tridimensionnelle de cette enzyme est connue celle-ci clive spécifiquement les liaisons Phe-Pro et Tyr-Pro, qui par contraste ne sont pas hydrolysées par les protéases des mammifères.

Les inhibiteurs peptidiques de protéases comportent une séquence peptidique analogue au substrat naturel, mais possède en P1 un acide aminé non hydrolysable il peut s'agir de peptides courts ou de peptidomimétiques. Première molécule de cette famille, le saquinavir vient de recevoir une autorisation de mise sur le marché aux Etats-Unis. D'autres molécules prometteuses sont en développement, comme l'indinavir et le ritonavir.

Il existe également beaucoup de recherches sur des inhibiteurs non peptidiques, de faible poids moléculaire, susceptibles d'inhiber la protéase en perturbant sa structure tridimensionnelle.

Protéine de nucléocapside

Diverses protéines virales peuvent à plus long terme devenir des cibles potentielles d'agents antirétroviraux. La nucléoprotéine NCP7, par exemple, assume un rôle fondamental dans le cycle viral, comme protéine de structure, cofacteur de la transcriptase inverse et vraisemblablement dans la facilitation de l'intégration.

Par ses fonctions d'hybridase et de transfert de brins, elle assure la dimérisation et la stabilisation du génome ARN viral et participe à l'initiation de la synthèse du provirus, au cours de la phase de transcription inverse. La nucléoprotéine, dont la structure est connue, est très basique et possède deux doigts de zinc. Des prodrogues stables et de faible toxicité, capables d'inhiber cette protéine par déplétion de son cofacteur, le zinc, sont actuellement en cours de développement. L'étude de ses fonctions in vitro permet également d'envisager le criblage d'agents inhibiteurs spécifiques, qui pourraient, une fois identifiés et testés, être indiqués en association avec d'autres agents anti-transcriptase inverse et anti-intégrase.

Tat et Rev

Tat et Rev, protéines de la phase précoce, sont traduites à partir d'un ARN doublement épissé.

Tat joue le rôle d'un transactivateur absolument nécessaire pour la réplication virale et l'expression des protéines de la phase tardive (gag, pol et env). De plus, il augmente la production de Rev. Tat exerce ses fonctions de transactivateur en agissant directement sur la séquence d'ARN TAR (*poly-Tat Activation Response*). Rev facilite l'exportation vers le cytoplasme et la traduction des ARN messagers contenant la séquence RRE (*Rev Responsive Element*). Rev agit également sur des séquences répressives pour lever l'inhibition de la traduction.

Phase précoce	Phases tardives
ARN doublement épissé Traduction de Tat et Rev Induction de la production de Tat et de Rev par Tat	ARN non mûré Gag/Pol ; maturation simple Env Traduction des protéines de structure dépendante de Rev

La séquence des événements peut se schématiser de la manière suivante:

Vif (*Virion Infectivity Factor*)

Vif est une protéine de 23 kDa codée par un transcrit de 5 Kb issu d'un épissage simple régulé par Rev. Sa localisation est essentiellement cellulaire. On détecte des anticorps anti-Vif chez les patients infectés par le VIH et ceci à tous les stades de l'infection. Le phénotype associé à l'expression de la protéine Vif est parfaitement défini. Les virions n'exprimant pas cette protéine présente un caractère infectieux environ mille fois plus faible que les virions exprimant Vif. Vif semble également impliquée dans la transmission de l'infection d'une cellule à l'autre. Vif n'est pas impliquée dans la production de particules virales. Vif ne semble pas agir sur la transcription ou la traduction des protéines virales mais plutôt sur la maturation ou l'assemblage des protéines de structure. Une anomalie de l'incorporation de la protéine d'enveloppe dans le virion a été observée dans des virus présentant une mutation de Vif. Ceci se traduit par des anomalies de l'architecture nucléoprotéine, ce qui peut perturber des événements tels que la décapsidation ou le début de la transcription inverse.

Un fait intéressant est que la dépendance de Vif est conditionnée par le phénotype de la cellule cible. Vif est indispensable pour la réplication du virus dans certaines lignées cellulaires, dont les lymphocytes circulants, mais ne l'est pas dans d'autres. Il reste des inconnues sur la structure et la fonction de Vif, en particulier sur l'association de sa partie C-terminale avec des protéines de la membrane plasmique et sur la fonction de ses séquences conservées 103-115 et 142-150.

Vpr (Viral Protein R)

Vpr est une protéine de 14 kDa qui confère un avantage de réplication significatif pour les virus qui l'expriment. Cet effet, négligeable dans les cellules en voie de multiplication active devient important dans les monocytes et macrophages en phase G₀. Les virions exprimant Vpr présentent un cycle réplcatif plus rapide et la production de particules est elle-même légèrement augmentée. Cette augmentation de production est nettement prononcée pour HIV-1 et HIV-2 dans les macrophages. Parmi toutes les protéines accessoires, Vpr est la seule qui soit incorporée dans le virion, probablement par une interaction avec le précurseur Gag p55 et la protéine p6. L'association de Vpr avec le virion indique clairement son niveau d'intervention dans les étapes précoces du cycle viral. On envisage que Vpr pourrait agir au niveau des étapes de transcription inverse, de translocation ou d'intégration en stabilisant les structures de type ADN-ARN ou ADNADN. Un effet de Vpr à l'étape de préintégration a été suggéré récemment en l'identifiant comme composant nadéophile participant avec la protéine de matrice Gag p17 au transport vers le noyau du complexe préintégratif dans les macrophages à l'état stationnaire. Dans les cellules infectées, Vpr a une localisation essentiellement nucléaire. Vpr semble interagir spécifiquement avec une protéine cellulaire et est transportée vers le noyau selon un mécanisme différent de celui observé en présence d'un signal de localisation. Vpr pourrait enfin agir également en transactivant modérément le LTR et augmenter ainsi le niveau de l'expression des gènes viraux.

La question de l'éventuelle formation d'un hétérodimère “ leucine zipper ” avec une protéine cellulaire reste non résolue.

Vpu (Viral Protein U)

Vpu est une protéine de 16 kDa exprimée par HIV-1 et non exprimée par HIV-2. Son principal effet semble se situer au niveau de la production de particules virales en augmentant la vitesse d'expulsion des particules virales de la membrane cellulaire. L'absence de Vpu se traduit par la production de virus d'architecture anormale et par le bourgeonnements de virions dans des vacuoles intracellulaires. L'expression de Vpu est associée à une réduction de la formation de syncytia, probablement en relation avec la vitesse d'expulsion des particules virales.

Il a été montré récemment que Vpu dégrade d'une manière spécifique le récepteur CD4 au niveau du réticulum endoplasmique. Des séquences sensibles à Vpu semblent présentes dans la partie cytoplasmique du récepteur CD4. L'effet de Vpu se situe cependant essentiellement au niveau de la membrane cytoplasmique. La phosphorylation de deux résidus sérine (52 et 56) affectent l'activité de Vpu. En fait, la phosphorylation affecte partiellement l'effet sur la production de virions au niveau membranaire mais est absolument indispensable à la dégradation du récepteur CD4. Il est intéressant de noter que sur le plan structural et biochimique, Vpu présente des analogies avec la protéine M2 du virus influenza. Comme la protéine M2, Vpu est capable de se multimériser au niveau membranaire.

Nef (*Negative Factor*)

Nef est une protéine de 25 kDa pouvant se trouver sous une forme myristylée de 27 kDa. Le gène codant pour Nef est localisé à l'extrémité 3' du génome viral et recouvre partiellement le début du LTR U3. Il existe quelques zones très conservées dans la séquence de Nef une séquence signal de myristylation à la partie N-terminale, une séquence répétée de praline (PXX)₄ flanquée de résidus acides et une séquence de 30 acides aminés (120-150).

Comme Tat et Rev, Nef est exprimée précocement. Cependant, cette protéine n'a pas d'effet notable sur la réplication virale in vitro. Initialement, Nef était considéré comme un élément de régulation négatif de l'expression des gènes viraux agissant éventuellement sur l'activation transcriptionnelle du LTR. A cause de la très grande variabilité de la séquence de Nef, de nombreuses controverses sont apparues concernant les effets de cette protéine. Actuellement, un certain nombre de faits semblent être acquis. Nef semble avoir une action facilitatrice de la réplication virale en particulier dans des lymphocytes primaires infectés en phase Go puis stimulés après infection. De plus, des mutants Nef du virus de l'immunodéficience simienne (SIV) ne peuvent développer un effet pathogène que s'ils sont capables d'effectuer une réversion de leur mutation. Nef induit également l'internalisation et la dégradation des récepteurs CD4. La courte queue intracytoplasmique de 38 acides aminés du récepteur CD4 est indispensable à l'effet de Nef. La myristylation de Nef d'autre part est indispensable à l'interaction avec le récepteur CD4. En diminuant le nombre de CD4, Nef inhibe la surinfection des cellules et facilite la dissémination de particules virales plutôt qu'elle ne facilite la réinfection des cellules.

L'interaction avec une sérine protéine kinase cellulaire est à démontrer. D'autre part, la fonction des séquences conservées reste à être identifiée. En résumé, les perspectives pharmacologiques se situant au niveau des protéines virales se présentent d'une manière très différente en fonction des protéines concernées. Dans le cas de Tat, Rev, NcP7 et de l'intégrase, on peut raisonnablement espérer obtenir des inhibiteurs spécifiques dans les cinq ans à venir.

Cela provient du fait que, d'une part, l'on connaît relativement bien les fonctions biologiques de ces protéines et que, d'autre part, leur structure tridimensionnelle complète ou partielle est connue. Dans le cas de la protéine de matrice p17 et de la protéine du core p24, la situation est moins favorable. Les structures ne sont pas déterminées et les tests pharmacologiques inexistantes. Ces protéines sont cependant des cibles potentielles devant être explorées. Enfin, dans le cas de Nef, Vif, Vpr voire Vpu, la situation est véritablement défavorable. Les fonctions biologiques de ces protéines restent ambiguës et leur structure encore plus mal connue. Seules des recherches à long terme pourront conduire à un éventuel ciblage pharmacologique.

Protéines cellulaires partenaires

L'étude des protéines cellulaires partenaires des composants viraux devient actuellement une voie de recherche importante pour déterminer de nouvelles perspectives thérapeutiques. Ainsi, plusieurs protéines ont été identifiées comme tenant des rôles parfois majeurs au cours du cycle de réplication virale.

Il existe à n'en pas douter des effecteurs protéiques cellulaires agissant au niveau des étapes précoces du cycle des rétrovirus. Ces effecteurs peuvent agir soit au niveau de l'étape mal connue de la décapsidation, soit au niveau du processus d'intégration. Concernant l'intégration, quelques éléments de réflexion peuvent être proposés. Deux protéines semblent pouvoir être considérées comme des effecteurs potentiels de l'intégration. Il s'agit de la polyADP-ribose polymérase et de la topoisomérase II. La première protéine, par ses propriétés d'interaction avec les histones, module l'accessibilité génomique qui semble être l'un des éléments déterminants de l'efficacité de l'intégration des génomes viraux. Son action est couplée avec les mécanismes de réparation de l'ADN. Cet aspect devrait faire l'objet de recherches actives à court terme. La topologie de l'ADN génomique de la cellule semble également être un paramètre important dans le contrôle de l'intégration des génomes viraux. Il a été observé que l'intégration de rétrovirus recombinants de type MoMLV était pratiquement nulle dans des lignées cellulaires sous-exprimant l'isoforme α de la topoisomérase II.

Récemment, la protéine Inl (*Integrase Interacting protein I*) a été identifiée grâce au système de criblage en double-hybride comme se liant à l'intégrase. Elle ferait probablement partie du complexe de préintégration et interviendrait dans la sélection des sites nucléiques pour l'intégration de l'ADN viral.

Etant donné les rôles potentiels de la protéine Nef dans le phénomène d'endocytose des récepteurs CD4 et dans l'augmentation de la production des particules virales par les cellules infectées, des recherches ont été menées visant à identifier ses partenaires cellulaires.

Identifiée également en système double-hybride, la protéine β -COP impliquée dans le transport intracellulaire des composants membranaires, semble interagir avec Nef (Benichou et coll., 1994).

Le repliement de la protéine Gag lors de l'assemblage des particules infectieuses semble requérir l'intervention d'une protéine cellulaire connue, la cyclophiline A. Inhiber cette protéine, cible de la ciclosporine A, pourrait concourir à limiter la production de particules virales infectieuses. Des inhibiteurs dérivés de la ciclosporine A, dénués toutefois d'activité immunosuppressive, font actuellement l'objet de recherches (Franke et coll., 1994).

Une autre protéine, la TDP-43, a récemment été identifiée comme interagissant avec des motifs TAR sur la molécule d'ADN viral (Ou et coll., 1995). Cette protéine serait capable de bloquer l'assemblage de complexes de transcription impliqués dans l'activation effectuée par Tat.

Les inhibiteurs de glycosydases cellulaires, largement expérimentés *in vitro*, semblent d'application très limitée *in vivo*, mais de nouvelles séries sont à l'étude.

D'un point de vue pharmacologique, l'identification de cibles cellulaires dans le but d'inhiber le cycle viral pose le problème de la sélectivité de l'effet. Il n'est pas exclu cependant que des polychimiothérapies associant des concentrations subtoxiques de composés actifs sur des cibles cellulaires à des antiviraux spécifiques puissent avoir un intérêt thérapeutique.

Stratégie antisens

Une autre voie d'approche de l'inhibition du cycle de réplication virale consiste à inhiber l'expression des gènes viraux. On peut ainsi avoir recours à une stratégie dite “ antisens ”, qui consiste à agir sur la transcription ou sur la traduction des acides nucléiques, par différents moyens.

- Des oligomères complémentaires des ARN messagers viraux peuvent perturber la traduction. Le GEM 91 (phosphorothioate) est un oligomère antisens (25 bases complémentaires d'une séquence du gène viral gag). Il empêche la synthèse de la protéine virale en formant un hétéroduplex avec l'ARN messager. Théoriquement, il peut également s'hybrider au génome du virus, bloquant ainsi ou limitant l'action de la transcriptase inverse et peut-être l'encapsidation. Le GEM 91, qui fait l'objet d'un essai de toxicité (phase I), se révèle bien toléré. Les effets virologiques des phosphorothioates paraissent actuellement très limités. Cependant, leur stabilité pourrait être améliorée par la formation de phosphodiester protégés contre les nucléases, qu'il conviendra de tester. D'autre part, la “ vectorisation ” de ces composés pourrait être un autre moyen d'augmenter leur stabilité et d'améliorer leur biodisponibilité. Des travaux importants de galénique restent à faire dans ce domaine.

Il faut noter que les phosphorothioates ont par ailleurs un effet antiviral de type “ polyanion ” en interagissant de manière non spécifique avec la membrane plasmique et diverses protéines.

Différentes voies peuvent théoriquement être envisagées pour inhiber la transcription des gènes viraux.

- Il est possible de recourir à des anti-sens ADN, natifs ou modifiés, d'anométrie β ou α . Ces ADN, généralement courts (20 à 30-mer), forment avec la séquence ARN-cible un hétéroduplex, suivi probablement par une dégradation subséquente du brin ARN par la RNase H. sauf dans le cas des ADN α qui donnent des hétéroduplex insensibles à cette enzyme.
- On sait que les facteurs transcriptionnels cellulaires, notamment NFkB, régulent le niveau d'expression des gènes viraux. Une action à ce niveau, par exemple par “ piégeage ” du facteur transcriptionnel NFkB, a été envisagée. La stratégie antisens reste l'approche la plus prometteuse en la matière.
Il est envisageable de cibler les ARN au niveau nucléaire, sur les sites d'épissage, ou au niveau cytoplasmique, par exemple sur le site d'initiation de la traduction.
- Le gène *tat* est une bonne cible, car son produit exerce une double action, intracellulaire (régulatrice de l'expression virale et de la réplication) et extracellulaire (transactivatrice dans le sarcome de Kaposi). Différentes séquences peuvent être ciblées la région de transactivation de *tat* et la séquence acceptrice d'épissage.
- L'interaction entre la protéine Rev et sa cible sur l'ARN viral (RRE: *Rev Responsive Element*), et par conséquent les étapes de transcription dépendantes de Rev, peuvent être diminuées en présence d'un oligodésoxynucléotide antisens compétiteur de la séquence RRE.
- Dans la stratégie triple hélice (ou anti-gène), l'oligonucléotide se fixe sur l'ADN et par formation locale d'une triple hélice, empêche la transcription d'un gène. Différents sites du gène peuvent être choisis pour cibles, selon que l'on désire inhiber la fixation de facteurs de transcription ou empêcher l'initiation ou l'élongation de l'ARN messager transcrit. Les oligonucléotides triple hélice, qui ciblent les séquences LTR très conservées de l'ADN viral, sont très efficaces in vitro dans l'inhibition de l'intégration et présentent une bonne sélectivité. Ils constitueraient actuellement le seul moyen d'éliminer un provirus intégré dans une cellule.

Par ailleurs, les triples hélices peuvent être utilisées comme anti-messagers lorsque ceux-ci forment une structure en épingle en cheveux.

Les ribozymes sont quant à eux des oligoribonucléotides possédant des structures tridimensionnelles particulières, contenant une séquence consensus à activité nucléasique. Après leur fixation, ces structures sont capables de River l'ARN messager.

La stratégie anti-sens constitue une approche nouvelle en thérapeutique humaine, puisqu'il s'agit d'utiliser un acide nucléique comme médicament, sur une cible qui, elle-même, est un acide nucléique et non plus une protéine. Les essais qui viennent d'avoir lieu ont été les premiers à utiliser un antisens par voie générale chez l'homme, quelle que soit la pathologie concernée.

Les deux problèmes majeurs de la " stratégie antisens " sont d'une part la stabilité des oligonucléotides et d'autre part le ciblage d'une séquence d'ARN appropriée. Une deuxième stratégie consiste à faire synthétiser dans la cellule un ARN antisens vrai (beaucoup plus long) par exemple en introduisant un vecteur rétroviral qui code pour l'anti-messager. Il est possible de déterminer les séquences devant être ciblées par criblage systématique en utilisant la technique des *genetic suppressor elements* (OSE). Cette approche relève cependant de la thérapie génétique et non de la pharmacologie.

En résumé, se dégage une série de pistes qui, sans avoir toujours d'application immédiate, représente à court, moyen ou long terme des espoirs sérieux. Les pistes plus accessibles semblent porter sur des inhibiteurs de protéines virales, intégrase, Rev, Tat et nucléocapside.

BIBLIOGRAPHIE

ANTONUCCI T, WARMUS JS, HODGES JC, NICKEU DG. Characterization of the antiviral activity of highly substituted pyrroles: a novel class of non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitor. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy* 1995, **6**: 98-108

BARAT C, SCHATZ O, LE GRICE S, DARLIX JL. Analysis of the interactions of HIV-1 replication primer tRNA Lys, 3 with nucleocapsid protein and reverse transcriptase. *J Mol Biol* 1993, **231**: 185-190

BAYER P, KRAFT M, EJCHART A, WESTEN DORP M, FRANK R, ROSCH P. Structural studies of HIV-1 tat protein. *J Mol Biol* 1995, **247**: 529-535

BEEN-TIKTAK AMM, VREHEN HM, SCHNEIDER MME, VAN DER FELTZ M, BRANGER T, WARD P, COX SR, HARRY JD, BORLEFFS JCC. Safety, tolerance and pharmacokinetics of atevirdine mesylate (U 87201E) in asymptomatic human immunodeficiency virus infected patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1995 **39**: 602-607

BENICHOUS S. BOMSEL M, BODEUS M, DURAND H. DOUTE M, LETOURNEUR F. CAMOMIS J. BENAROUS R Physical interaction of the HIV-1 nef protein with β -COP, a component of non-clathrin-coated vesicles essential for membrane traffic. *J Biol Chem* 1994, **269**: 30073-30076

BERKHOUT B. VAN WAMEL JLB. Inhibition of human immunodeficiency virus expression by sense transcripts encoding the retroviral leader RNA. *Antiviral Res* 1995, **26**: 101-115

BERTRAND E. PICTET R. GRANGE T. Can hammerhead ribozymes be efficient tools to inactivate gene function ? *Nucleic Acids Research* 1994, **22**: 293-300

BILLICHA A, HAMMERSCHMID F. PEICHL P. WENGER R. ZENKE G. QUESNIAUX V, ROZENWIRTH B. Mode of action of SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive cyclosporin A analog with activity against human immunodeficiency virus (HIV) type 1: interference with HIV protein-cyclophilin A interactions. *J Virol* 1995, **69**: 2451-2461

BONNAFFE D, DUPRAZ B. UGHETTO-MONFRIN J. NAMANE A, HUYNH DINH T. Synthesis of nucleotide lipophilic prodrugs containing two inhibitors targeted against different phases of the HIV replication cycle. *Nucleosides and Nucleotides*. 1995, **14**, 3-5, 783-785

BORMAN AM, QUILLET C, CHARNEAU P. DAUGUET C, CLAVEL F. Human immunodeficiency virus type 1 vif mutant particles from restrictive cells: role of vif in correct particle assembly and infectivity. *J Virol* 1995, **69**: 2058-2067

BRENNANT TM, TAYLOR DL, BRIDGES CG, LEYDA JP, TYMS AS. The inhibition of human immunodeficiency virus type I in vitro by a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor MKC-442, alone and in combination with other anti-HIV compounds. *Antiviral Res* 1995, **26**: 173-187

BRESLIN HJ, KLUKA MJ, LUDOVICI DW, MOHRBACHER R. HO W. MIRANDA M, RODGERS JD, HITCHENS TK, LEO G. GAUTHIER DA, HO CY, SCOTT MK, DE CLERCO E. PAUWELS R. ANDRIES K. JANSSEN MAC, JANSSEN PA. Synthesis and anti-HIV- 1 activity of 4, 5, 6, 7-tetrahydro-5-methylimidazo-[4, 5, 1jk] [1,4] benzodiazepin-2(1H)-one (T1BO) derivatives (3). *J Med Chem* 1995, **38**: 771-793

BUKRINSKY MI, HAGGERTY S. DEMPSEY MP, SHAROVA N. ADZHUBEL A, SPITZ L, LEWIS P. GOLDFARB D, EMERMAN M, STEVENSON M. A nuclear localization signal within HIV- I matrix protein that governs infection of non-dividing cells. *Nature* 1993, **365**: 666-669

BUSHMAN F. Targeting retroviral integration. *Science* 1995, **267**: 1443-1444

CHANG HK, GENDELMAN R. LISZLEWICZ J. GALLO RC, ENSOL! B. Block of HIV-1 infection by a combination of antisense tat RNA and TAR decoys: a strategy for control of HIV- 1 *Gene Therap*, 1994, **1**: 208-216

CHIRMULE N. THAN S. KHAN SA, PAHWA S. Human immunodeficiency virus Tat induces functional unresponsiveness in T-cells. *J Virol* 1995, **69**: 492-498

CHOWERS MY, SPINA CA, KWOH TJ, FITCH NJS, RICHMAN DD, GUATELLLC. Optimal infectivity in vitro of human immunodeficiency virus type 1 requires an intact nef gene. *J Virol* 1994, **68**: 2906-2914

COATES K. HAMIS M. The human immunodeficiency virus type 1 nef protein functions as a protein kinase C substrate in vitro. *J Gen Virol* 1995, **76**: 837-344

CONDR A JH, SCHLEIF WA, BLAHY OM, GABRYELSKI Y, GRAHAM DJ, QUNITERO JC, RHODES A, ROBBINS HL, ROTH E. SHIVAPRAKASH M, TOTUS D, YANG T, TEPLER H. SQUIRES KE, DEUTSCH PJ, EMINI EA. In vivo emergence of HIV-1 variants resistant to multiple protease inhibitors. *Nature* 1995, **374**: 569-571

CONNEL EV, HSU MC, RICHMAN DD. Combinative interactions of a human immunodeficiency virus (HIV) Tat antagonist with HIV reverse transcriptase inhibitors and an HIV protease inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, **38**: 348-352

CULLEN BR, HEITMAN J. Chaperoning a pathogen. *Nature* 1994, **372**: 319-320

CUPELLI LA, HSU MC. The human immunodeficiency virus type 1 tat antagonist, Ro 5-3335, predominantly inhibits transcription initiation from the viral promoter. *J Virol* 1995, **69**: 2640-2643

DARLL JL, VINCENT A, GABUS C, DE ROCQUIGNY H. ROQUES B. Trans-activation of the 5' to 3' viral DNA strand transfer by nucleocapsid protein during reverse transcription of HIV 1 RNA. *C R Acad Sci* 1993, **316**: 763-771

DONG CZ, JULLIAN N. YANG YS, DE ROCQUIGNY H. FOURNIE-ZALUSKI MC, ROQUES BP. Synthesis and conformational studies of a cyclic analog of the proximal zinc finger of HIV-1 NCP7 for antibody generation. *J Am Chem Soc* 1995, **117**: 2726-2731

DUDLEY MN. Clinical pharmacokinetics of nucleoside antiretroviral agents. *J Infect Dis* 1995, **171** Supp. 2: 99-112

FLETCHER RS, SYED K. MITHANI S. DMTTRIENKO GI, PARNIAK MA. Carboxanilide derivative non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase interact with different mechanistic forms of the enzyme. *Biochemistry* 1995, **34**: 4346-4353

FRANKE EA, YUAN HEH, LUBAN J. Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-virions. *Nature* 1994, **372**: 359-362

FRIDELL RA, H ARDING LS, BOGERD HP, CULLEN BR. Identification of a novel human zinc finger protein that specifically interacts with the activation domain of lentiviral tat proteins. *Virology* 1995, **209**: 347-357

GALLAY P. SWINGLER S. ALKEN C, TRONO D. HIV-1 infection of nondividing cells: C-terminal tyrosine phosphorylation of the viral matrix protein is a key regulator. *Cell* 1995, **80**: 379-388

GAO WY, CARA A, GALLO RC, LORI E. Low levels of deoxynucleotides in peripheral blood lymphocytes: a strategy to inhibit human immunodeficiency virus type 1 replication. *Med Sci* 1993, **90**: 8925-8928

GIAMMONA G. PUGLISI G. GAVALLORA G. SPADARO A, PITARRESI G. Chemical stability and bioavailability of acyclovir coupled to a, b-poly (N-2-hydroxyethyl)-DL-aspartamide. *Journal of Controlled Release* 1995, **33**: 261-271

GOLDFARB DS. Simply marvelous nuclear transport. *Current Biology* 1995, **5**: 570-573

GUDIMA SO, MEMELOVA LV, BORODULIN VB, POKHOLOK DK, MEDNIKOV BM, TOLKACHEV ON, KOCHETROV SN. Kinetic analysis of interaction of human immunodeficiency virus reverse transcriptase with some alkaloids. *Molecular Biology* 1995, **28**: 809-812

HARVIE P, DESORMEAUX A, GAGNE N, TREMBLAY M, POULIN L, BEAUCHAMP D, BERGERON MG. Lymphoid tissues targeting of liposome-encapsulated 2', 3'-dideoxyinosine. *AIDS* 1995, **9**: 701-707

HEINZINGER NK, BUKRINSKY MI, HAGGERTY SA, RAGLAND AM, KEWALRAMANI V, LEE MA, GENDELMAN HE, RATNER L, STEVENSON M, EMERMAN M. The Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 influences nuclear localization of viral nucleic acids in nondividing host cells. *Biochem* 1994, **91**: 7311-7315

Ho W, KUKLA MJ, BRESUN H], LUDOVICI DW, GROUS PP, DIAMOND CJ, MIRANDA M, RODGERS JD, HO CY, DE CLERCQ E, PAUWELS R, ANDRIES K, JANSSEN MAC, JANSSEN PAJ. Synthesis and anti-HIV-1 activity of 4, 5, 6, 7-tetrahydro-5-methylimidazo-[4,5,1j]1,4] henzodiazepin-2(1H)-one (TIBO) derivatives (4). *J Med Chem* 1995, **38**: 794-802

HOSTETLER KY, RICHMAN DD, FORSSEN EA, SELK L, BASAVA R, GARDNER MF, PARKER S, BASAVA C. Phospholipid prodrug inhibitors of the HIV protease. Antiviral activity and pharmacokinetics in rats. *Biochem Pharmacol* 1994, **48**: 1399-1404

HUANG LM, IOSHI A, WILLEY R, ORENSTEIN J, JEANG KT. Human immunodeficiency viruses regulated by alternative trans-activators: genetic evidence for a novel nontranscriptional function of tat in virion infectivity. *EMBO Journal* 1994, **13**: 2886-2896

JONES RJ, BISCHOFBERGER N. Minireview: nucleotide prodrugs. *Antiviral Res* 1995, **27**: 1-17

KALPANA GV, MARMON S, WANG W, CRABTREE GR, GOFF SP. Binding and stimulation of HIV-1 integrase by a human homolog of yeast transcription factor SNF5. *Science* 1994, **266**: 2002-2005

KAPPES JC, PARKIN JS, CONWAY JA, KIM J, BROUILLETTE CG, SHAW GM, HAHN BH. Intracellular transport and virion incorporation of vpx requires interaction with other virus type-specific components. *Virology* 1993, **193**: 222-233

KAUL S, MUMMANENI V, BARBHAIYA RH. Dose proportionality of stavudine in HIV seropositive asymptomatic subjects: application to bioequivalence assessment of various capsule formulations. *Biopharm Drug Dispos* 1995, **16**: 125-136

KAWAMURA M, SAKAI H, ADACHI A. Human immunodeficiency virus Vpx is required for the early phase of replication in peripheral blood mononuclear cells. *Microbiol Immunol* 1994, **38**: 871-878

KUIPERS ME, SWART PJ, HENDRIKS MMWB, MEIJER DKF. Optimization of the reaction conditions for the synthesis of neoglycoprotein-AZT-monophosphate conjugates. *J Med Chem* 1995, **38**: 883-889

KUMAR R, WANG L, WIEBE LI, KNAUS EE. Synthesis and antiviral (HIV-1, HBV) activities of 5-halo-6-methoxy(or azido)-5,6-dihydro-3'-fluoro-3'-deoxythymidine diastereomers. Potential prodrugs to 3'-fluoro-3'-deoxythymidine. *J Med Chem*. 1994, **37**: 3554-3560

KUMAR R, WANG L, WIEBE LI, KNAUS EE. Synthesis, in vitro biological stability, and anti-HIV activity of 5-halo-6-alkoxy(or azido)-5,6-dihydro-3'-azido-3'-deoxythymidine diastereomers as potential prodrugs to 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT). *J Med Chem* 1994, **37**: 4297-4306

LI CJ, FRIEDMAN DI, WANG C, METELEV V, PARDEE AB. Induction of apoptosis in infected lymphocytes by HIV-1 tat protein. *Science* 1995, **268**: 429-431

LI G. LISZIEWICZ J. SUN D, ZON G. DAEFLER S. WONG-STAAL E. GALLO RC, KLOTMAN ME. Inhibition of rev activity and human immunodeficiency virus type 1 replication by antisense oligodeoxynucleotide phosphorothioate analogs directed against the rev responsive element. *J Virol* 1993, **67**: 6882-6888

LISZIEWICZ J. SUN D, WEICHOLD EF, THIERRY AR, LUSSO P. TANG J. GALLO RC, AGRAWAL S. Antisense oligodeoxynucleotide phosphorothioate complementary to gag mRNA blocks replication of human immunodeficiency virus type 1 in human peripheral blood cells. *Med Sci* 1994, **91**: 7942-7946

LORI E. MALYKH A, CARA A, SUN D, WEINSTEIN JN, LISZIEWICZ J. GALLO RC. Hydroxyurea as an inhibitor of human immunodeficiency virus-type 1 replication. *Science* 1994, **266**: 801-805

MAKABI-PANZU B. LESSARD C, BEAUCHAMP D, DESORMEAUX A, POULIN L, TREMBLAY M, BERGERON MG. Uptake and binding of liposomal 2', 3'-dideoxycytidine by RAW 264.7 cells: a three-step process. *J Acquir Immune Defic Syndr Human Retrovirology* 1995, **8**: 227-235

MANKERTZ J. VON BAEYER H. ROKOS K. NUNDEL M, PAULI G. RIEDEL E. Cell specific uptake of antiretroviral drugs: AZT coupled to LDL inhibits HIV replication in human macrophages. *Int J Clin Pharmacol Therapeutics* 1995, **33**: 85-88

MATTEWS S. BARLOW P. BOYD J. BARTON G. RUSSEL L, MILLS H. CUNNINGHAM M, MEYERS N. BURNS N. CLARK N. KINGSMAN S. KINGSMAN A, CAMPBELL L Structural similarity between the p17 matrix protein of HIV-1 and interferon. *Nature* 1994, **370**: 666

MAYAUX S. BOUSSEAU A, PAUWEL S. HUET T, HENIN Y, DEREU N. EVERS M, SSOLER F. POUJADE C, DE CLERCQ E. LE PECQ JB. Triterpene derivatives that block entry of human immunodeficiency virus type 1 into cells. *Proc Natl Acad USA* 1994, **91**: 3564-3568

MCGUIGAN C, DAVIES M, PATHIRANA R. MAHMOOD N. HAY AJ. Synthesis and anti-HIV activity of some novel diaryl phosphate derivatives of AZT. *Antiviral Res* 1994, **24**: 69.-77

MEYERHANS A, VARTANIAN JP, HULTGREN C, PLIKAT U. KARLSSON A, WANG L, ERIKSSON S. WAIN-HOBSON S. Restriction and enhancement of human immunodeficiency virus type 1 replication by modulation of intracellular deoxynucleoside triphosphate pools. *J Virol* 1994, **68**: 535-540

MICHAELS EH, HATTORI N. GALLO RC, FRANCHINI G. The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) vif protein is located in the cytoplasm of infected cells and its effect on viral replication is equivalent in HIV-2. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993, **9**: 1025-1030

MILLER MD, BUSHMAN ED. Ini1 for integration ? *Current Biology* 1995, **5**: 368-370

MILLER MD, WARMERDAM MT, PAGE KA FEINBERG MB, GREENE WC. Expression of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Nef gene during HIV-1 production increase progeny particle infectivity independently of gp 160 or viral entry. *J Virol* 1995, **69**: 579-584

O'BRIEN C HIV integrase structure catalyzes drug search *Science* 1994,**266**: 1946-1946

OU SH , WU F. HARRICH D, GARCIA-MARTINEZ LF, GAYNOR R B. Cloning and characterization of a novel cellular protein, TDP-43, that binds to human immunodeficiency virus type 1 TAR DNA sequence motifs. *J Virol* 1995, **69**: 3584-3596

PANGANIBAN AT, TEMIN HM. The retrovirus pol gene encodes a product required for DNA integration: identification of a retrovirus int locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, **81**: 7885-7889

PARK IW, MYRICK K, SODROSKI J. Effects of vif mutations on cell-free infectivity and replication of simian immunodeficiency virus. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994, **7**: 1228-1236

PARK IW, SODROSKI J. Functional analysis of the vpx, vpr, and nef genes of simian immunodeficiency virus. *J Acquir Immune Defic Syndr and Human Retrovirology* 1995, **8**: 335-344

PIRRUCCELLO SJ, PERRY GA, BOCK PJ, LANG MS, NOEL SM, ZON G. IVERSEN PL. HIV-1 rev antisense phosphorothioate oligonucleotide binding to human mononuclear cells is cell type specific and inducible. *Antisense Res Dev* 1994, **4**: 285-289

PRIEL E, AFLALO E, SERI I, HENDERSON LE, ARTHUR LO, ABOUD M, SEGAL S, BLAIR DG. DNA binding properties of the zinc-bound and zinc -free HIV nucleocapsid protein: supercoiled DNA unwinding and DNA-protein cleavable complex formation. *FEBS letters* 1995, **362**: 59-64

REFAELI Y, LEVY DN, WEINER DB. The glucocorticoid receptor type II complex is the target of the HIV-1 vpr gene product. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92**: 3621-3625

REICH SH, MELNICK M, DAVIES II JF, APPELT K, LEWIS KK, FUHRY MA, PINO M, TRIPPE AJ, NGUYEN D, DAWSON H, WU BW, MUSICK L, KOSA M, KAHIL D, WEBBER S, GEHUHAAR DK, ANDRADA D, SHETTY B. Protein structure-based design of potent orally bioavailable, nonpeptide inhibitors of human immunodeficiency virus protease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92**: 3298-3302

RICHMAN DD. Playing chess with reverse transcriptase. *Nature* 1993, **361**: 588-589

RICHMAN D. Protease uninhibited. *Nature* 1995, **374**: 494-494

ROGEL ME, WU U, EMERMAN M. The human immunodeficiency virus type 1 Vpr gene prevents cell proliferation during chronic infection. *J Virol* 1995, **69**: 882-888

ROSE JR, BABEL LM, CRAIK Cs. Defining the level of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) protease activity required for HIV-1 particle maturation and infectivity. *J Virol* 1995, **69**: 2751-2758

SALASKI EJ. Synthesis of imidazobenzazepinones: a new series of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Tetrahedron letters* 1995, **36**: 1387-1390

SALGHETTI S, MARIANI R, SKOWRONSKI J. Human immunodeficiency virus type 1 Nef and p56(lck) protein-tyrosine kinase interact with a common element in CD4 cytoplasmic tail *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92**: 349-353

SARIN PS, GOU)STEIN AL Treatment of AIDS with drugs targeted to inhibit different stages of the HIV life cycle. *Immunopharmac Immunotoxicol* 1995, **17**: 217-245

SAWAI ET, BAUR A, STRUBLE H, PETERUN BM, LEVY JA, CHENG-MAYER C. Human immunodeficiency virus type 1 nef associates with a cellular serine kinase in T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, **91**: 1539-1543

SCHWARTZ O, DAUTRY VARSAT A, GOUD B, MARECHAL V, SUBTIL A, HEARD JM, DANOS O. Human immunodeficiency virus type 1 nef induces accumulation of CD4 in early endosomes. *J Virol* 1995, **69**: 528-533

SOBOL RW, HENDERSON EE, KON N. SHAO J. HITZGES P. MORDECHAL E. REICHENBACH NL, CHARUBALA R. SCHIRMEISJER H. PFEIDERER W. SUHADOLN}K RJ. Inhibition of HIV-1 replication and activation of RNase L by phosphorothioate/phosphodiester 2', 5'-oligoadenylate derivatives. *J Biol Chem* 1995, **270**: 5963-5978

SOUTHGATE CD, GREEN MR. Delineating minimal protein domains and promoter elements for transcriptional activation by lentivirus tat proteins. *J Virol* 1995, **69**: 2605-2610

SPENCE RA, KATI WM, ANDERSON KS, JOHNSON KA. Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by nonnucleoside inhibitors. *Science* 1995, **267**: 988-993

SPINA CA, KWOH TJ, CHOWERS MY, GUATELU JC, RICHMAN DD. The importance of nef in the induction of human immunodeficiency virus type 1 replication from primary quiescent CD4 lymphocytes. *J Exp Med* 1994, **179**: 115-123

STUTZ F. NEVIULE M, ROSBASH M. Identification of a novel nuclear pore-associated protein as a functional target of the HIV-1 rev protein in yeast. *Cell* 1995, **82**: 495-506

THALI M, BUKOVSKY A, KONDO E. ROZENWIRTH B. GOTTUNGER HG. Functional association of cyclophilin A with HIV-1 virions. *Nature* 1994, **372**: 363-365

TORTOLANI DR, RUSSEL JW, WHITEROCK VJ, HITCHCOCK MJ, GHAZOUU I, MARTIN JC, MANSOURI MM, STARRETT JE JR. Prodrugs of 2', 3'-didehydro-3' deoxythymidine (D4T): synthesis, antiviral activity, and rapid pharmacokinetics evaluation. *J Pharm Sci* 1994, **83**: 339-343

TRONO D. HIV accessory proteins: leading roles for the supporting cast. *Cell* 1995, **82**: 189-192

TUMMINO PJ, FERGUSON D, JACOBS CM, TAIT B. LUNNEY E. HUPE D. Competitive inhibition of HIV-1 protease by biphenyl carboxylic acids. *Arch Biochem Biophys* 1994, **316**: 523-528

VAN WIJK GMT, HOSTETLER KY, KRONEMAN E. RICHMAN DD, SRIDHAR CN, KUMAR R. VAN DEN BOSH H. Synthesis and antiviral activity of 3'-azido-3'-deoxythymidine triphosphate distearoylglycerol: a novel phospholipid conjugate of the anti-HIV agent AZT. *Chem. Phys Lipids* 1994, **70**: 213-222

ZELPHATI O, DEGOLS G. LOUGHREY H. LESERMAN L, POMPON A, PUECH F. MAGGIO AF, IMBACH JL, GOSSEUN G. Inhibition of HIV 1 replication in cultured cells with phosphorylated dideoxyuridine derivatives encapsulated in immunoliposomes. *Antiviral Res* 1993, **21**: 181-195

ZHAO y, WANG 11, MUKHERJEE S. NARAYAN O. Biochemical mechanism of HIV-I Vrp function-Oligomerization by the N-terminal domain. *J Biol Chem.* 1994, **269**: 32131-32137

Les cibles pharmacologiques potentielles des maladies opportunistes

Au cours de l'expertise, la recherche de cibles pharmacologiques communes à différents agents responsables des maladies opportunistes a été considérée comme l'une des stratégies à adopter pour la conception et le développement de nouvelles molécules.

Pneumocystose

Des recherches visant au développement de nouvelles stratégies de lutte contre la pneumocystose sont actuellement entreprises par plusieurs équipes. Elles comprennent d'une part l'étude en détail du phénomène *Ailler*, et d'autre part l'identification de cibles métaboliques spécifiques de *Pneumocystis*.

La constatation récente de l'effet inhibiteur d'une toxine *Killer* produite par la levure *Pichia anomale*, sur l'attachement et sur l'infectivité de *P. carinii*, permet d'envisager des nouvelles stratégies thérapeutiques et préventives (Séguy et coll., 1994, 1996; Cailliez et coll., 1994). Comme les toxines *Killer* de levure ne peuvent être utilisées directement chez l'hôte en raison de leur toxicité et de leur immunogénicité, une stratégie de recherche différente a été entreprise. Elle fait appel au phénomène *Killer* (Polonelli et coll., 1991). Son principe repose sur l'utilisation d'anticorps anti-idiotypiques (antiIds) possédant les propriétés *Killer* de la toxine de *P. anomale*. Cette stratégie a déjà été utilisée avec succès dans le domaine des candidoses expérimentales (Polonelli et coll., 1993, 1994) et représente à l'heure actuelle une perspective originale et intéressante dans le domaine des pneumocystoses et autres parasitoses et mycoses opportunistes.

La recherche de cibles métaboliques spécifiques de *Pneumocystis* a conduit à l'étude d'enzymes clés participant à la biosynthèse pariétale, aux métabolismes des sucres, stérols, acides aminés aromatiques et molécules antioxydantes.

Le groupe d'Ann Wakefield (Oxford) a cloné et séquencé le locus AROM, essentiel pour la biosynthèse d'acides aminés aromatiques chez *Pneumocystis* (Banerji et coll., 1993, 1994). Le même groupe, en collaboration avec Helen Jackson de GLAXO (Londres) a récemment abordé l'étude de la phosphomannose isomérase (PMI) du parasite (Chong et coll., 1994), enzyme impliquée dans la synthèse de la paroi cellulaire.

Pneumocystis se trouve dans un environnement riche en phospholipides et serait capable d'incorporer et d'utiliser des lipides exogènes (Sleight et coll., 1994). Cette hypothèse avait déjà été proposée sur la base d'observations ultrastructurales (Palluault et coll., 1992). Ellis et coll. (1994) ont montré la présence, chez *Pneumocystis*, d'un acide gras particulier, le *cis*-9,10 epoxy stéarate, présent seulement chez les Uredinales, groupe de champignons sans ergostérol (comme *P. carinii*). Cet acide gras serait synthétisé en faible quantité par le parasite. Comme *P. carinii* semble capable d'incorporer des lipides complexes provenant de l'hôte et de les utiliser directement, la synthèse de faibles quantités de cet acide gras indiquerait qu'il joue un rôle métabolique essentiel et qu'il ne se trouve pas chez l'hôte. Il serait donc une cible métabolique potentielle (Ellis et coll., 1994).

Le groupe de Kaneshiro a abordé le métabolisme des isoprénoïdes. Chez les eucaryotes, une même voie métabolique conduit à la synthèse de ces composés qui comprennent des molécules aussi importantes que les dolichols, les ubiquinones (CoQ) et les stérols. Un composé intermédiaire essentiel de cette voie est l'acide mévalonique. Cet acide est incorporé par le parasite et utilisé pour la synthèse de CoQ. Les quantités de CoQ chez *Pneumocystis* sont basses; cela suggère que son métabolisme énergétique n'est pas strictement aérobie (Guo et Kaneshiro, 1995). De plus, il est intéressant de constater qu'on retrouve chez le parasite surtout du CoQ₁₀, tandis que dans le poumon du rat, on retrouve CoQ₉ et CoQ₈ (Kaneshiro et coll., 1994). L'anneau benzoquinone du CoQ est synthétisé chez *Pneumocystis* à partir d'acides aminés aromatiques dont les gènes codant les enzymes qui les synthétisent ont été caractérisés (Banerji et coll., 1993). Cette voie métabolique (voie du shikimate) n'existe pas chez les mammifères elle constitue donc une autre cible parasitaire potentielle.

Quant aux stérols, il a été montré que le stérol dominant chez *Pneumocystis* est le cholestérol, qui serait obtenu par le parasite directement à partir du poumon de l'hôte. Mais *Pneumocystis* a aussi des C₂₈ et C₂₉ stérols, qui sont faiblement représentés dans les extraits. Absents dans le poumon de l'hôte, ils seraient synthétisés par le parasite. Ils pourraient jouer un rôle métabolique critique et représenter aussi des cibles potentielles (Kaneshiro et coll., 1994).

La synthèse des b-1,3 glucanes pariétaux constituerait une autre cible métabolique chez *Pneumocystis* dans la mesure où des inhibiteurs de leur synthèse comme les échinocandines et papulocandines, agissent sur le parasite (Schmatz et coll., 1990). Enfin, de rares études sur les mécanismes dont dispose le parasite pour lutter contre le stress oxydatif ont été faites. Pesanti (1984) a signalé la présence de superoxyde dismutase, catalase et glucose-6-phosphate déshydrogénase chez *Pneumocystis*. Des travaux non publiés de Denis et coll. semblent confirmer la présence d'au moins une superoxyde dismutase chez *Pneumocystis*. Si elle était dépendante du fer, elle constituerait également une cible potentielle. D'autres observations suggèrent la présence d'une activité oxydasique importante à la surface parasitaire. Il est probable que l'habitat de *Pneumocystis*, l'alvéole pulmonaire, soit riche en radicaux libres provenant de l'air respiré mais aussi des macrophages alvéolaires activés. Les mécanismes métaboliques antioxydants de *Pneumocystis* peuvent sans doute représenter des cibles thérapeutiques potentielles.

Toxoplasmose

Des progrès ont été effectués dans l'utilisation de modèles animaux pour tester l'activité de drogues anti-Toxoplasma. Des modèles animaux de co-infection, toxoplasmose/pneumocystose, toxoplasmose/mycobactériose, souris MAIDS (Murine Acquired Immuno Deficiency Syndrome) commencent à être utilisés (Brun-Pascaud et coll., 1994). L'étude de la charge parasitaire par organe s'avère plus intéressante que la simple survie des animaux traités par rapport aux témoins (Piketty et coll., 1990). Ces méthodes ont permis de mettre en évidence une activité certaine de l'azithromycine (Derouin et coll., 1992) et de l'atovaquone contre *Toxoplasma* (Romand et coll., 1993). Cependant, cette dernière molécule se révèle parfois décevante et ne permet pas de prévenir les récurrences. De plus, l'association avec d'autres molécules (pyriméthamine, sulfadiazine, clarithromycine ou minocycline) ne potentialise pas son action (Romand et coll., 1993). Par contre il existe une synergie entre clarithromycine et minocycline (Derouin et coll., 1992). Plus récemment, il a été expérimentalement montré que la rifabutine, un dérivé semi-synthétique de la rifamycine, a une action contre *Toxoplasma* qui est potentialisée par son association avec d'autres molécules actives contre le parasite (pyriméthamine, clindamycine, atovaquone) (Araujo et coll., 1994).

La clindamycine et autres macrolides ont un effet létal retardé sur *Toxoplasma* (Cleveland's Workshop on Opportunistic Protists, June 1994). Une exposition initiale du parasite *in vitro* à ces drogues pendant plus de 25 heures induit

- un doublement du temps du développement intracellulaire du premier cycle après traitement;
- la mort du parasite après l'invasion suivante. Des données récentes suggèrent que clindamycine et azithromycine inhibent la synthèse protéique de *Toxoplasma*. Comme cette action n'est pas exercée sur la synthèse protéique cytoplasmique ni mitochondriale, il a été suggéré que la clindamycine et l'azithromycine agiraient sur un organelle de type plaste, une seconde localisation d'ADN extra-chromosomique capable de conduire sa propre synthèse protéique. Cette hypothèse permet d'envisager un ancêtre végétal pour les *Apicomplexa* et ouvrirait de nouvelles voies dans la recherche de nouvelles molécules actives contre cet important groupe de protozoaires (Wilson et coll., 1994; Derouin, 1995).

L'exploration de la différenciation bradyzoïte-tachyzoïte nécessite le développement de marqueurs spécifiques. Quelques-uns sont actuellement disponibles (Soete et coll., 1994) et ils ont permis de montrer la co-existence de tachyzoïtes et de bradyzoïtes dans le cerveau d'hôtes immunodéprimés présentant une toxoplasmose cérébrale (Odaert, 1993). Elle nécessite aussi le développement de modèles. Dans ce domaine il est actuellement possible d'induire in vitro la différenciation tachyzoïte-bradyzoïte en augmentant le pH du milieu, la température ou en ajoutant de l'arsénite de sodium (Soete et coll., 1994). In vitro, le monoxyde d'azote (NO) induit la formation de bradyzoïtes, via la modification de la chaîne respiratoire mitochondriale du parasite (Bohne et coll., 1994). L'interféron-7 induit aussi l'enkystement, mais par l'intermédiaire de la stimulation de cellules immunocompétentes qui produisent du NO quand elles sont activées par cette cytokine (Suzuki et coll., 1989). Quant à la compréhension du mécanisme intime de la différenciation tachyzoïte-bradyzoïte, elle pourrait être abordée en utilisant des méthodes de transfection, possibles depuis peu chez *Toxoplasma* (Soldati et Boothroyd, 1993).

Cryptosporidiose

Des études récentes sur la sinefungine, un antibiotique produit par une espèce du genre *Penicillium*, sont assez encourageantes et mériteraient d'être approfondies. En effet, cette molécule s'est avérée significativement active sur *Cryptosporidium* chez le rat immunodéprimé (Lemeteil et coll., 1993) et agirait in vitro sur la phase sexuée de son cycle (Favennec et coll., 1994).

L'exploration de nouvelles pistes consiste, dans le cas de la cryptosporidiose, à développer des modèles reproductibles in vivo et in vitro, à mieux comprendre l'activité des rares molécules qui exercent un certain effet, comme la sinefungine, et à rechercher des nouveaux principes actifs.

Les relations phylogénétiques qui ont été établies entre *Cryptosporidium* et d'autres organismes, à partir des alignements de séquences du gène de la β -tubuline, le séparent des autres *Apicomplexa*, le rapprochant d'autres organismes - plantes, algues, ciliés et *Kinetoplastida* - et suggèrent que *Cryptosporidium* pourrait être sensible à des molécules anti-tubuline (Edlind et coll., 1994). Les benzimidazoles ne semblent pas actifs mais d'autres molécules anti-tubuline (di-nitroanilines ?) pourraient l'être.

Isosporose

Isospora belli est une coccidie exclusivement humaine, non cultivable. De plus, nous ne disposons pas de modèles animaux d'isosporose. À l'heure actuelle, la recherche thérapeutique dépend essentiellement du raisonnement analogique, puisqu'il existe de nombreuses coccidies animales monoxènes. L'anticoccidien diclazuril agirait sur *I. belli*.

Microsporidiose

La détection de microsporidies dans les selles, dans les urines, dans d'autres fluides biologiques ou dans les tissus nécessite des efforts soit dans la mise au point ou l'amélioration des réactifs utilisés en microscopie -colorants cytologiques, histologiques, anticorps monoclonaux, sondes nucléiques pour hybridation in situ, soit dans le développement d'autres méthodes – PCR-hybridation, antigènes solubles. L'identification certaine des espèces nécessite l'utilisation de la microscopie électronique à transmission. Des méthodes de détection fiables et reproductibles sont nécessaires, non seulement pour le diagnostic, mais aussi pour la surveillance post-thérapeutique.

En ce qui concerne le traitement de ces affections, il faut signaler que les anti-parasitaires disponibles s'avèrent inactifs ou insuffisants. Un benzimidazole, l'albendazole, a une certaine action sur *S. intestinalis* et *Enc. hellem* mais il est très faiblement actif contre *Ent. bienewisi*, l'espèce la plus fréquente. La fumagilline s'avère efficace en traitement local.

L'exploration de l'activité des molécules anti-tubuline sur les microsporidies est justifiée. Des efforts seront donc nécessaires pour développer des modèles expérimentaux. L'espèce la plus fréquemment observée chez les patients atteints de sida avéré, *Ent. bienewisi*, n'est pas cultivable et ne se développe pas chez l'animal. *S. intestinalis* pourrait être mis en culture tandis que *Enc. hellem* et *Enc. cuniculi* le sont déjà mais des modèles animaux existent que pour cette dernière espèce.

Candidose et mycoses profondes

La candidose muqueuse des patients atteints de sida avéré pose deux types de problèmes. D'une part, les conditionnements disponibles des antifongiques actifs ne sont pas adaptés à une administration locale efficace et confortable. D'autre part, vu le faible nombre d'antifongiques efficaces, de nouveaux principes actifs ou de nouvelles stratégies de prévention ou de traitement seraient souhaitables. Dans ce sens, le phénomène *Ciller*, analysé à propos de *Pneumocystis*, constitue une perspective intéressante et originale.

Contre la cryptococcose et autres mycoses viscérales, il existe des anti-fongiques efficaces utilisables par voie parentérale amphotéricine-B, 5-fluorocytosine, kétoconazole, fluconazole, itraconazole. Des efforts sont faits actuellement pour améliorer l'efficacité et diminuer la toxicité de l'amphotéricine-B, comme des préparations émulsifiées ou l'amphotéricine-B liposomale. Les imidazolés posent parfois des problèmes de toxicité et/ou de pharmacocinétique au niveau de l'absorption digestive et du passage de la barrière hémato-encéphalique. Le phénomène *killer*, évoqué plus haut, constitue ici aussi une perspective intéressante à explorer.

Antibiotiques

Il existe chez les vertébrés un réseau complexe de défense chimique contre les micro-organismes, réseau qui co-existe avec le système immunitaire classique. Cette défense chimique fait appel à un répertoire étendu de petits peptides antibiotiques à large spectre d'activité, produits aussi bien par les macrophages que par des cellules non myéloïdes comme celles de la peau ou de l'épithélium intestinal ou respiratoire. L'analyse des composants et des modes d'action de ce système de lutte chimique ouvre la voie à de nouvelles pistes thérapeutiques. Les défensines, les bactériosines et les dermaseptines sont les représentantes de cette famille. Les dermaseptines isolées de la peau de grenouille se sont révélées actives contre certains champignons et protozoaires flagellés. De nombreuses autres sources sont explorées, comme les insectes qui, représentant une classe extrêmement diversifiée, pourraient constituer un réservoir important de molécules à activité antibiotique.

Stratégies de recherche transversale

De nombreuses maladies infectieuses sont causées par des bactéries ou des protozoaires, certains passant une partie de leur vie à l'intérieur des

cellules de l'organisme infecté. Cette mise à l'abri du système immunitaire a pour contrepartie la nécessité de pouvoir s'y multiplier, ce qui exige une biosynthèse de nouvelles membranes. Un moyen pour exterminer ces agents infectieux est donc d'empêcher le parasite intra- ou extra-cellulaire de synthétiser ses membranes.

Ainsi, une étude approfondie du métabolisme phospholipidique de *Plasmodium falciparum* - voies métaboliques, accès des précurseurs, dynamique intracellulaire - a permis d'élaborer une pharmacologie d'interférence. Ce parasite possède des voies métaboliques propres à la fois aux procaryotes et aux eucaryotes. Actuellement, un modèle pharmacologique via des effecteurs du transport de la choline de l'érythrocyte infecté est en développement (Vial, 1990). La synthèse de nouveaux produits - plus de 350 - a conduit à des produits pilotes montrant une activité antipaludéenne puissante.

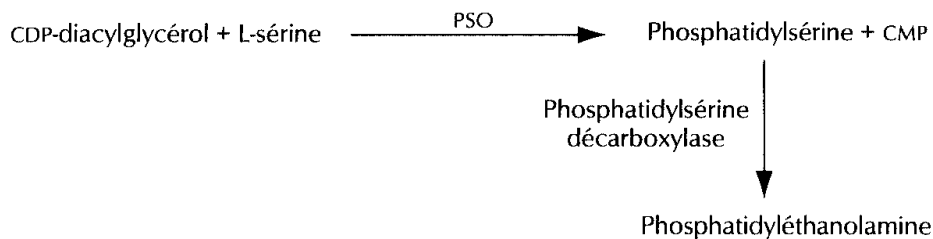
Les voies de biosynthèse et de dégradation des phospholipides sont bien conservées pour une grande variété d'organismes, des levures aux mammifères. Le modèle de levure mutée et les techniques de complémentation de gènes ont permis d'isoler les gènes et les ADNC impliqués dans les différentes voies biosynthétiques (Raetz, 1986; Carman et Henry, 1989; Nikoloff et Henry, 1991, Paltauf et coll., 1992). Des informations sur la séquence et les systèmes de régulation existent maintenant pour de nombreuses autres enzymes de synthèse des phospholipides.

Pharmacomodulation du métabolisme de la phosphatidylsérine

Les voies majeures de biosynthèse des phospholipides présentes chez les eucaryotes inférieurs sont également retrouvées dans les cellules de mammifères, à l'exception de l'activité sérine décarboxylase et de la voie de biosynthèse de la phosphatidylsérine via la phosphatidylsérine synthétase. Les stratégies d'intervention pharmacologique dans ce domaine, inexistantes actuellement, auraient des retombées potentiellement majeures contre les bactéries, les champignons et les parasites.

Dans les bactéries et les levures, la phosphatidylsérine est synthétisée par réaction entre la L-sérine et le CDP-diacylglycérol (CDP-DAG), grâce à une enzyme membranaire, la CDP-DAG - phosphatidyl transférase (ou phosphatidyl synthétase, EC 2.7.8.8, appelé PSO ci-après). La biosynthèse *de novo* de la phosphatidyléthanolamine se fait alors essentiellement par la décarboxylation de la phosphatidylsérine par la phosphatidylsérine décarboxylase (EC 4.1.1.65)(Steiner et Lester, 1972).

Chez les mammifères, la PSO n'étant pas présente, la phosphatidylsérine est synthétisée par une réaction d'échange de base entre la L-sérine libre et la tête polaire d'un phospholipide préexistant. Cette réaction est catalysée par au moins deux sortes d'enzymes appelées phosphatidylsérine



synthétases I et II. La phosphatidylsérine synthétase I peut utiliser la phosphatidylcholine comme donneur du groupement phosphatidyl et peut également catalyser l'incorporation de choline et d'éthanolamine dans la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine, respectivement. La phosphatidylsérine synthétase II ne peut utiliser que la phosphatidyléthanolamine comme donneur, et ne peut incorporer la choline.

Ces réactions d'échange de bases sont généralement indépendantes de l'énergie et nécessitent des ions Ca^{2+} . La phosphatidylcholine, la phosphatidylsérine et la phosphatidyléthanolamine, sous les formes diacyl, alkyl ou alkényléther, peuvent servir de substrats (Bell et Coleman, 1980; Bjerve, 1985; Kuge et coll., 1985). Néanmoins, il est important de noter que des synthèses de phosphatidylsérine, n'empruntant aucune des voies connues à ce jour, c'est-à-dire ATP-dépendantes, stimulées par le CMP ou CDP-diacylglycérol indépendantes, ont récemment été observées dans des cellules eucaryotes (Baranska, 1980; Pullarkat et coll., 1981).

Enzymes de défense antioxydantes

un système vivant doit se défendre contre les espèces activées de l'oxygène, d'origine endogène ou exogène, et dispose pour cela de dispositifs enzymatiques - superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et enzymes de régénération du glutathion réduit, catalase - ou non enzymatiques - piègeurs de radicaux. Les organismes pathogènes. n'échappent pas à cette règle, mais sont soumis en plus aux réactions spécifiques de l'hôte qu'ils attaquent - immunité cellulaire non spécifique - qui contribuent à les éliminer. Certaines des enzymes de défense de ces organismes pathogènes peuvent constituer des cibles intéressantes pour le développement de nouveaux médicaments, à condition qu'elles soient suffisamment distinctes de celles de l'homme pour pouvoir être visées sélectivement.

La superoxyde dismutase (SOD) constitue l'une des enzymes présentant un intérêt possible pour un ciblage spécifique. Chez de nombreux microorganismes pathogènes - bactéries, protozoaires -, le métal cofacteur de cette enzyme - le fer - est différent de celui des enzymes de l'homme - cuivre/zinc ou manganèse. Cette différence est associée à des particularités de la séquence peptidique

et de la structure, qui rendent les SOD à fer spécifiquement sensibles au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Un ciblage chimique orienté spécifiquement sur les structures en relation avec la sensibilité de ces enzymes vis-à-vis de H_2O_2 permettrait de les inhiber sélectivement.

Pour estimer de façon réaliste la pertinence de ce ciblage, il importe de connaître à la fois les structures des SOD considérées, mais aussi le rôle précis joué par ces enzymes dans la protection des organismes contre le choc oxydant. L'analyse des 65 séquences complètes de SOD-Fe et-Mn connues montre qu'il existe en réalité quatre familles distinctes d'enzymes dont la divergence phylogénétique est lointaine; ces SOD apparaissent comme de bonnes horloges moléculaires pour l'étude de l'évolution.

Hormis celle d'*Escherichia coli*, le mécanisme de régulation de la SOD à fer et son rôle dans la réponse au choc oxydant reste mal connu. Quelques résultats ont été obtenus avec *Entamoeba histolytica* où l'intervention d'une iron-box connue chez *E. coli* a pu être avancée. Chez *P. falciparum*, la présence d'une séquence proche de celle spécifique de l'iron-box a pu être montrée sur le plan génomique.

Plusieurs SOD à fer ont pu être cristallisées et leur structure déterminée par diffraction des rayons X. Les travaux montrent une grande similitude de structure au niveau du site actif entre les SOD à fer et les SOD à manganèse, mais ne rendent pas compte de la sensibilité sélective des SOD à fer à l'action de H_2O_2 . Toutefois, d'autres études montrent que cette sensibilité semble due à la position particulière de résidus tryptophane présents dans les SOD à fer et absents de la structure des SOD à manganèse.

Parmi les SOD à fer, certaines appartiennent à des organismes ayant un rôle pathogène important et/ou pour lesquels la chimiothérapie rencontre des difficultés chez les protozoaires, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania donovani*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*; chez les bactéries, *Helicobacter* et *Campylobacter*, *Coxiella* et divers organismes anaérobies. Un ciblage de l'enzyme aboutissant à de nouvelles possibilités thérapeutiques pourrait être intéressant.

Quelles études envisager pour tester la fiabilité de cette piste de recherche ?

Le développement de molécules pilotes peut se réaliser par deux voies différentes

- Le criblage d'un grand nombre de molécules disponibles dans des banques chimiques, grâce à un test miniaturisé et automatisé de mesure de l'activité SOD. Ce test pourrait utiliser une SOD à fer du commerce, ou une SOD recombinante d'un organisme pathogène important, comme *Plasmodium falciparum*. Il est possible de miniaturiser un test de criblage, obligatoirement peu sensible, mais bien adapté pour tester de nombreuses molécules.

- En se fondant sur la structure de la protéine déterminée à partir de la diffraction aux rayons x ou de la RMN à haute énergie, à l'aide de programmes appropriés, il est possible de rechercher, dans des banques de structures chimiques, les molécules les plus aptes à bloquer sélectivement l'enzyme. La connaissance de la structure de la SOD à manganèse permettra de contrôler le risque de réaction croisée sur l'enzyme humaine.

Ces deux approches devraient permettre de trouver des molécules inhibitrices pilotes dont il conviendrait de vérifier l'activité anti-infectieuse. Ces molécules pourraient être ensuite améliorées par modélisation moléculaire.

L'une des objections qui peut être soulevée est le risque de mutation du gène, qui peut aboutir à une protéine insensible à la drogue. Cet écueil est prévisible lors des tests systématiques la mutagenèse dirigée effectuée sur les gènes clonés permet de produire des protéines mutées sur les résidus visés par le ciblage médicamenteux et la sensibilité aux molécules pourra donc être testée en parallèle avec la protéine originale. Il sera possible également de vérifier si une protéine mutée et éventuellement résistante garde l'intégrité de ses propriétés enzymatiques.

Les interfaces possibles avec l'industrie se situent surtout, dans un premier temps, dans les banques de produits chimiques qui peuvent fournir les premières molécules candidates.

Des recherches très importantes ont été effectuées ces dernières années dans l'approche thérapeutique des lésions radicalaires utilisant des SOD ou des molécules mimant leur activité. Certaines de ces molécules pourraient constituer des modèles de base intéressants pour rechercher des inhibiteurs spécifiques.

BIBLIOGRAPHIE

- ALIOUAT EM, CAILLEZ JC, SEGUY N, DEI-CAS E, POLONELLI L, GERLONI M, CONTI S, CAMUS D. Inhibitory effect of yeast killer toxin to the in vitro pneumocystis carinii attachment. *Serodiagn Immunother Infect Dis* 1993, 5: 102-106
- AMICHE M, DUCANCEL F, MOR A, BOULAIN JC, MENEZ A, NICOLAS P. Precursors of vertebrate peptide antibiotics dermaseptin b and adenoregulin have extensive sequence identities with precursors of opioid peptides dermorphin, dermenkephalin, and del torphins. *J Biol Chem* 1994, 269: 17847-17852
- ARAUJO FG, SLIFER T, REMINGTON JS. Rifabutin is active in murine models of toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, 38: 570-575
- BANERJI S, LUGLI EB, WAKEFIELD AE. Identification of two genetically distinct strains of *Pneumocystis carinii* in infected ferret lungs. *J Euk Microbiol* 1994, 41: S73
- BANERJI, S, WAKEFIELD AE, ALLEN AG, MASKELL DJ, PETERS SE, HOPKIN JM. The cloning and characterization of the *arom* gene of *pneumocystis carinii*. *J Gen Microbiol* 1993 139: 2901-2914

- BARANSKA J. Phosphatidylserine biosynthesis in mitochondria from Ehrlich ascites tumor cells. *Biochim Biophys Acta* 1980, 619: 258-266
- BECUWE P. SLOMIANNY C, CAMUS D, DIVE D. Presence of an endogenous superoxide dismutase activity in three rodent malaria species. *Parasitol Res* 1993, 79: 349-352
- BELL RM, COUEMAN RA. Enzyme asymetry in hepatic microsomal vesicles. Criteria for localization of luminal enzymes with proteases. *Ann Rev Biochem* 1980, 59: 184-188
- BJERVE KS. The biosynthesis of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine from L3-14C serine in isolated rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 1985, 833: 396-405
- BOHNE W. HEESEMANN J. GROSS U. Reduced replication of *Toxoplasma gondii* is necessary for induction of bradyzoite specific antigen: a possible role for Nitric oxide triggering stage conversion. *Infect Immun* 1994, 62: 1781-1787
- BRUN-PASCAUD M, CHAU F. SIMONPOU AM, GIRARD PM, DEROUIN F. POCIDALO JJ. Experimental evaluation of combined prophylaxis against murine pneumocystosis and toxoplasmosis. *J Infect Dis* 1994, 170: 653-658
- BULET P. COCIANCICH S. DIMARCQ JL, LAMBERT J. REICHART JM, HOFFMANN D, HETRU C, HOFFMANN JA. Isolation from a coleopteran insect of a novel inducible antibacterial peptide and a new members of the insect defensin family. *J Biol Chem* 1991, 266: 24520-24525
- BULET P. COCIANCICH S. REULAND M, SAUBER F. BISCHOFF R. HEGY G. VAN DORSSELAER A, HETRU C, HOFFMANN JA. A novel insect defensin mediates the inducible antibacterial activity in larvae of the dragonfly *aeschna* (paleoptera, odonata). *Eur J Biochem* 1992, 209: 977-984
- CAILUEZ JC, SÉGUY N. AUOUAT EM, POLONELU L, CAMUS D, DE1-CAS E. A yeast killer toxin against *Pneumocystis carinii*: a hypothetical way to control pneumocystosis. *Medical Hypotheses* 1994, 43: 167-171
- CARMAN GM, HENRY SA. Phospholipid in yeast. *Ann Rev Biochem* 1989, 58: 635-669
- CHALK R. TOWNSON H. NATORI S. DESMOND H. HAM PJ. Purification of an insect defensin from the mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Mol Biol* 1994, 24: 403-410
- CHUNG V, WAKEFIELD AE, KINSMAN OS, JACKSON HC. DNA amplification of a portion of the phosphomannose isomerase (PMI) gene in *Pneumocystis carinii*-enriched extracts. *J Euk Microbiol* 1994, 41: S82-S83
- COCIACICH S. BULET P. HETRU C, HOFFMANN JA. The inductible antibacterial peptides of insects. *Parasitology Today* 1994, 10: 132-139
- COCIANCICH S. DUPONT A, HEGY G. LANOT R. HOLDER F. HETRU C, HOFFMANN JA, BULET P. Novel inductible antibacterial peptides from a hemipteran insect, the sapsucking bug *pyrrhacoris apterus*. *Biochem J* 1994, 300: 567-575
- DEROUIN F. Les nouveaux pathogènes et le mode d'action de l'azithromycine: *Toxoplasma gondii*. *Pathol Biol (Symposium Az.ithromycine)* 1992,

DEROUIN F. ALMADANY R. CHAU F. ROUVEIX B. POCIDALO JJ. Synergistic activity of azythromycine and pyrimethamine or sulfadiazine in acute experimental toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1992, 36: 997-1001

157

DEROUIN F. CAROFF B. CHAU F. PROKOCIMER P. POCIDALO n Synergistic activity of clarithromycine and minocycline in an animal model of acute experimental toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1992, 36: 2852-2855

DESSEN A, QUEMARD A, BLANCHARD JS, JACOBS WR, SACCHETTINI JC. Crystal structure and function of the isoniazid target of mycobacterium tuberculosis. *Science* 1995, 267: 1638-1641

DIMARCQ JL, HOFFMANN D, MEISTER M, BULET P. LANOT R. REICHART JM, HOFFMANN JA. Characterization and transcriptional profiles of a Drosophila gene encoding an insect defensin. A study in insect immunity. *Eur J Biochem* 1994, 221: 201-209

DOUGLAS KT. Rational drug design in parasitology. *Parasitology Today* 1994,10: 389-392

EDUND T, VISVESVARA G. LI J. KATIYAR S. Cryptosporidium and microsporidial β -tubulin sequences: predictions of benzimidazole sensitivity and phylogeny. *J Euk Microbiol* 1994, 41: 38S

ELLIS JE, REILLY MH, KANESHIRO ES. Identification of an epoxy fatty acid in *Pneumocystis carinii* lipids. *J Euk Microbiol* 1994, 41: 87S

EVANS TG, RASMUSSEN K. WIEBKE G. HIBBS JB JR. Nitric oxide synthesis in patients with advanced HIV infection. *Clin Exp Immunol* 1994, 97: 83-86

FAVANNEC L, EGRAZ-BERNARD M, COMBY E. LEMETEAU D, BALLESTIN P. BRASSEUR P. Immunofluorescence detection of *Cryptosporidium parvum* in Caco-2 cells: a new screening method for anticryptosporidial agents. *J Euk Microbiol* 1994, 41: 39S

GANZ T, LEHRER RI. Defensins. *Curr Opin Immunol* 1994, 6: 584-589

GOHEEN MP, BARTLETT MS, CURRENT WL, SHAW MM, SMITH JW. Immunoelectron microscopy of *Pneumocystis carinii* exposed to a β -1-3 glucan synthase inhibitor LY 302146. *J Eukaryot Microbiol* 1994, 41: 89S

GUO ZK, KANESHIRO ES. Phospholipid composition of *Pneumocystis carinii* and effects of methylprednisolone immunosuppression on rat lung lipids. *Infect and Immun* 1995, 63: 1286-1290

HUND W. HOFFMANN H. In vitro susceptibility and sterol biosynthesis of *Candida albicans* strains after long-term treatment with azoles in HIV-infected patients. *Infection* 1994, 22: 124-131

KANESHIRO ES, EUNS JE, ZHOU LH, RUDNEY H. GUPTA A, JAYASIMHULU K. SETCHELL KDR, BEACH DH. Isoprenoid metabolism in *Pneumocystis carinii*. *J Euk Microbiol* 1994,41: 93

KODAKI T, NIKAWA J. HOSAKA K. YAMASHITA S. Functional analysis of the regulatory region of the yeast phosphatidylserine synthase gene, *PSS*. *J Bacteriol* 1991,173: 7992-7995

KUGE O, NISHIJIMA M, AKAMATSU Y. Isolation of a somatic-cell mutant defective in phosphatidylserine biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci* 1985, 82: 1926-1930

KUGE O, NISHIJIMA M, AKAMATSU Y. A chinese hamster cDNA encoding a protein essential for phosphatidylserine synthase I activity. *J Biol Chem* 1991,266: 24184-24189S

LEAKE HA, APPLEYARD MN, HARTUEY JP. Successfull treatment of resistant cryptococcal meningitis with amphotericin B lipid emulsion after nephrotoxicity with conventional intravenous amphotericin B. *J Infect* 1994, 28: 319-322

LEMETEIL D, ROUSSEL F. FAVENNEC L, BALLETT JJ, BRASSEUR P. Assessment of candidate anti-cryptosporidial agents in an immunosuppressed rat model. *J Infect Dis* 1993, 167: 766-768

MOR A, AMICHE M, NICOLAS P. Structure, synthesis and activity of dermaseptin b. a novel vertebrate defensive peptide from frog skin: relationship with adenoregulin. *Biochem* 1994, 33: 6642-6650

MOR A, HANI K. NICOLAS P. The vertetrade peptide antibiotics dermaseptins have over-lapping structural features but target specific microorganisms. *J Biol Chem* 1994,269: 31635-31641

MOR A, NICOLAS P. Isolation and structure of novel defensive peptides from frog skin. *Eur J Biochem* 1994, 219: 145-154

MOR A, NICOLAS P. The NH₂-terminal α -helical domain 1-18 of dermaseptin is responsible for antimicrobial activity. *J Biol Chem* 1994, 269: 1934-1939

NICOLAS P. DELFOUR A. Les peptides de la défense chimique des vertébrés. *Path Biol* 1994, 42: 287-291

NIKOLOFF M, HENRY S. Genetic analysis of yeast phospholipid biosynthesis. *Ann Rev Genet* 1991, 25: 559-583

NOUSTADT KH, POWLES MA, FUJIOKA H. AIKAWA M, SCHMATZ DM. Use of beta-1,3-glucan-specific antibody to study the cyst wall of *Pneumocystis carinii* and effects of pneumocandin BO analog L-733, 560. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, 38: 2258-2265

ODAERT H. Toxoplasmose cérébrale murine: étude de l'interconversion bradyzoite - tachyzoïte lors de l'infection et de la réactivation. Mémoire DES Biologie Médicale, Université de Lille II 1993

PALLUAULT F. SLOMMIANNY C, DEI-CAS E. SOULEZ B. CAMUS D. High osmotic pressure enables fine ultrastructural and cytochemical studies on *Pneumocystis carinii*. I. Epon embedding. *Parasitol Res* 1992, 78: 437-444

PALTAUF P. KOHLWEIN SD, HENRY SA. Regulation and compartmentalization of lipid synthesis in yeast. In *The molecular and cellular biology of the yeast saccharomyces: gene expression*. Cold Spring Harbor. 1992

PIKETTY C, DEROUIN F. ROUVEIX B. POCIDALO JJ . In vivo assessment of antimicrobial agents against *Toxoplasma gondii* by quantification of parasites in the blood, lungs, and brain of infected mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1990, 34: 1467-1472

POLONELLI L, DE BERNARDIS F. CONTI S. BOCCANERA M, GERLONT M, MORACE G. MAGUANI W. CHEZZI C, CASSONE C. Idiotypic intravaginal vaccination to protect against candidal vaginitis by secretory, yeast killer toxin-Uke anti-idiotypic antibodies. *J Immunol* 1994, 152: 3175-3182

POLONELLI L, F LORENZINI F, DE BERNARDIS M, GERLONI S, CONTI G, MORACE W, MAGUANI M, CHEZZI F. Idiotype vaccination: immunoprotection mediated by anti-idiotypic antibodies with antibiotic activity. *Scand J Immunol* 1993, 37: 105-110

POLONNELLI L, MORACE G, CONTI S, GERLONI M, MENOZZI MG, CAILLIEZ JC. Conceptions et perspectives du phénomène " killer " chez les levures. *J Mycol Méd* 1991, 1: 284-295

PULLARKAT RK, SBASCHNIG M, RCHA H. Biosynthesis of phosphatidylserine in rat brain microsomes. *Biochim Biophys Acta* 1981, 664: 117-123

RAETZ CR. Enzymology, genetics and regulation of membrane phospholipid synthesis in *E. Coli*. *Microbiol Rev* 1978, 42: 614-659

RAETZ CR. Molecular genetics of membrane phospholipid synthesis. *Ann Rev Gen* 1986, 20: 253-295

ROMAND S, PUDNEY M, DEROUIN F. In vitro and in vivo activities of the hydroxynaphtho" quinone Atovaquone alone or combined with pyrimethamine, sulfadiazine, clarithromycin, or minocycline against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993, 37: 2371-2378

SCHLUGER NW, KINNEY D, HARKIN TJ, ROM WN. Clinical utility of the polymerase chain reaction in the diagnosis of infections due to *Mycobacterium tuberculosis*. *Chest* 1994, 105: 1116-1121

SCHMATZ D, ROMANCHECK M, PITTARELU L, SCHWARTZ R, FROMTUNG R, NOUSTADT K, VANMIDDLESWORTH F, WILSON K, TURNER M. Treatment of *Pneumocystis carinii* with 1,3- β glucan synthesis inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87: 5950-5954

SCHONWETTER BS, STOLZENBERG AD, ZASLOFF MA. Epithelial antibiotics induced at sites of inflammation. *Science* 1995, 267: 1645-1648

SÉGUY N, AUOUAT EM, DEI CAS E, POLONELLI L, CAMUS D, CAILLIEZ JC. Susceptibility of *Pneumocystis carinii* to a *Pichia anomala* killer toxin. *J Euk Microbiol* 1994, 41: 109S

SÉGUY N, CAILLIEZ JC, POLONELLI L, CAMUS D, DEI-CAS E. Inhibitory effect of a *Pichia anomala* killer toxin on the *Pneumocystis* infectivity to the SCID mouse. *Parasitol Res* 1996, sous presse

SLEIGHT RG, MEHTA MA, KANESHIRO ES. Uptake and metabolism of fluorescent lipid analogs by *Pneumocystis carinii*. *J Euk Microbiol* 1994, 41: 111S

SOETE M, CAMUS D, DUBREMETZ JF. Experimental induction of bradyzoite specific antigen expression and cyst formation by the RH strain of *Toxoplasma gondii* in vitro. *Exp Parasitol* 1994, 78: 361-370

SOLDATI D, BOOTHROYD JC. Transient transfection and expression in the obligate intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. *Science* 1993, 260: 349-352

SPERKA-GOTTLIEB C, FASCH B, KUCHLER K, BAILIS A, HENRY S, PALTAUF F, KOHLWEIN S. The hydrophilic and acidic N-terminus of the integral membrane enzyme phosphatidylserine synthase is required for efficient membrane insertion. *Yeast* 1990, 6: 331-343

STEINER MR, LESTER RL. In vitro studies of phospholipid biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim Biophys Acta* 1972, 260: 222-243

STRAHILEVITZ J, MOR A, NICOLAS P, SHAI Y. Spectrum of antimicrobial activity and assembly of dermaseptin-b and its precursor form in phospholipid membranes. *Biochemistry* 1994, 33: 1051-10960

SUZUKI Y, CONLEY FK, REMINGTON JS. Importance of endogenous IFN-gamma for prevention of toxoplasmic encephalitis in mice. *J Immunol* 1989, 143: 2045-2050

TRINEL PA, BORG VON ZEPEUN M, LEPAGE G, JOUAULT T, MACKENZIE D, POULAIN D. Isolation and preliminary characterization of the 14- to 18-kilodalton *Candida albicans* antigen as a phospholipomannan containing beta-1,2-linked oligomannosides. *Infect Immun* 1993, 61: 4398-4405

VIA L HJ, ANCEUN ML, PHILIPPOT JR, THUET MJ. Biosynthesis and dynamics of lipids in *Plasmodium*-infected mature mammalian erythrocytes. *Blood Cells* 1990, 16: 531-555

WAKEFIELD AE. Detection of DNA sequences identical to *Pneumocystis carinii* in samples of ambient air. *J Euk Microbiol* 1994, 41: S116

WILSON RJM, WILUAMSON DH, PREISER P. Malaria and other Apicomplexans: the "Plant" connection. *Infections Agents and Disease* 1994, 3: 29-37

ZHANG Y. Genetic basis of isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Res Microbiol* 1993, 144: 143-149

L'amélioration des molécules existantes pour alléger les traitements

Compte tenu des insuffisances thérapeutiques actuelles, de nombreux efforts sont déployés pour mettre au point de nouveaux médicaments, plus actifs et moins toxiques, aussi bien dans le domaine de l'infection par le VIH que dans celui des infections opportunistes. En revanche, peu d'efforts sont consacrés à l'amélioration de la maniabilité des traitements existants, bien que la qualité de vie des malades soit un objectif de recherche souvent reconnu. Il est pourtant probable qu'une réflexion dans ce domaine pourrait être source de progrès à divers niveaux.

À une phase avancée de leur maladie, les patients reçoivent souvent simultanément un ou deux antirétroviraux et deux ou trois traitements prophylactiques - contre *P. carinii*, *T. gondii*, *M. avium* et *C. albicans* en particulier. Les réflexions actuelles sur les associations antirétrovirales triples, et les progrès dans le domaine des prophylaxies primaires possibles - cyto-megalovirus, par exemple - incitent à penser que l'évolution se fera vers une augmentation du nombre de médicaments administrés quotidiennement. Encore ce nombre est-il un minimum, car il ne tient pas compte de certaines prophylaxies secondaires - toxoplasmose, par exemple - ou de traitements symptomatiques. La plupart des médicaments étant administrés en plusieurs prises, cela conduit les patients à ingérer quotidiennement un nombre considérable de comprimés et de gélules. Outre les risques mal mesurés d'interactions médicamenteuses qu'elle fait courir, il est clair que cette polymédication est difficile à supporter dans le contexte d'une affection chronique et qu'elle altère la qualité de vie des patients. De plus, elle entraîne des défauts de compliance qui compromettent l'efficacité thérapeutique. L'allègement des traitements est donc nécessaire et peut résulter de progrès dans différentes directions.

Le développement de médicaments actifs contre plusieurs agents pathogènes est un objectif prioritaire. Le cotrimoxazole, indiqué pour la prophylaxie primaire mixte des pneumocystoses et des toxoplasmoses, en est un exemple. Cette stratégie s'applique également au développement d'antirétroviraux, actifs contre d'autres virus que le VIH, comme par exemple le cytomegalovirus ou le virus de l'hépatite B.

Des progrès en galénique consisteraient à développer des traitements mixtes dans lesquels deux principes actifs seraient associés dans une même formulation. C'est déjà le cas du cotrimoxazole et d'associations de médicaments antituberculeux utilisés parfois dans une formulation unique. Il est vrai que de telles associations peuvent poser de difficiles problèmes de mise au point et de maniabilité pour le thérapeute, lorsque la pharmacocinétique des principes actifs est très différente. Pour le patient, en revanche, le gain en maniabilité est très appréciable.

Dans un même ordre d'idée, la diminution du nombre de prises unitaires contribuerait à améliorer la qualité de vie des patients. Certains médicaments sont administrés en trois prises quotidiennes. La recherche galénique visant à obtenir le même effet avec une prise unique participe à l'effort de réduction du nombre de médicaments ingérés.

La présentation du médicament représente également un enjeu important en matière d'acceptabilité du traitement. Les topiques utilisés pour la prophylaxie des candidoses orales, par exemple, cumulent tous les inconvénients possibles : le goût désagréable, la présentation en suspension qui est peu compatible avec la confidentialité du traitement, et le nombre élevé de prises quotidiennes nécessaires. Il en résulte un désintérêt croissant des malades et des thérapeutes pour ce type de traitement. Les triazolés en gélules, actifs par voie systémique, sont préférés. Les topiques ont pourtant de nombreux avantages : moindre coût, absence de risque d'interférence médicamenteuse et, probablement, risque d'émergence moindre de mutants résistants.

De façon générale, les problèmes de maniabilité peuvent limiter considérablement l'utilisation de certains médicaments, pour lesquels les contextes de prescription ont été insuffisamment pris en compte : polymédication et obstacle à la confidentialité, en particulier. La qualité intrinsèque de certaines molécules mériterait cependant que soit conduite une véritable réflexion galénique.

Les axes de recherche pour le traitement de la dénutrition

La dénutrition est encore peu prise en compte dans les protocoles thérapeutiques et reste encore du domaine de quelques spécialistes. Différentes stratégies thérapeutiques et de supplémentation ont été proposées. Seule la convergence de diverses modalités de prise en charge agissant à différents niveaux permettra une réelle amélioration de la dénutrition qui atteint la quasi-totalité des patients infectés par le VIH.

Stimulation de la prise alimentaire

Il n'existe actuellement aucune molécule ayant une AMM comme stimulant de l'appétit. Cette stimulation pourrait être effectuée par

- blocage des voies sérotoninergiques au niveau du système nerveux central;
- action sur les récepteurs des opiacés endogènes récepteurs μ des endorphines, enképhalines, cannabinoïdes. Le système des opiacés endogènes est en effet impliqué dans la régulation physiologique de la prise alimentaire chez le sujet normal. Cependant, agir sur les récepteurs des opiacés endogènes nécessiterait de stimuler ces récepteurs, ce qui pose le problème de l'administration d'agonistes opiacés ou opioïdes;
- des antagonistes des neuropeptides digestifs à effet satiétogène comme le neuropeptide Y, enképhalines, neurotensine, cholécystokinines...
- la modulation d'autres voies pharmacologiques dopamine, amphétamines...

Le rat, gourmand et omnivore est un très bon modèle animal pour étudier l'effet de ces différentes pistes sur la prise alimentaire.

Action sur les troubles digestifs

L'infection par le VIH s'accompagne de retards de la vidange gastrique qui conduisent à des phénomènes de satiété d'une durée anormale.

Les mécanismes physiopathologiques de la diarrhée chronique de l'infection par le VIH, accompagnée de phénomènes sécrétoires et d'une augmentation de la motricité intestinale, sont encore très mal connus. Il semble que le rôle de la diarrhée dans la dénutrition est plus lié à des modifications du comportement alimentaire en rapport avec ce syndrome diarrhéique qu'à l'importance de la malabsorption.

Toutefois, l'amélioration de l'absorption intestinale est un axe de recherche car une malabsorption amène une dégradation de l'état nutritionnel. L'amélioration passe par des diètes semi-élémentaires à base de petits peptides, de certains types de lipides (triglycérides à chaîne moyenne), de certains types de substrats comme la glutamine et l'arginine.

Ces voies de recherche ne sont pas spécifiques du sida. On constate au niveau des malades un grand manque d'appétence globale et un phénomène de nausée à la seule vue de la quantité de gélules à prendre.

Action sur le métabolisme

La cause de l'augmentation du turnover protéique est inconnue. Des recherches sur cet hypermétabolisme sont menées actuellement, avec le soutien de l'ANRS.

Il apparaît important de limiter le catabolisme protéique au niveau musculaire, en agissant sur la voie lysosomiale et sur le taux de différentes cytokines - tumor necrosis factor, interleukines 1 et 6... Il existe d'étroites relations entre la dénutrition et les phénomènes immunologiques, mais la question du niveau d'intervention reste ouverte et l'absence de modèle animal complique la situation.

Sur le plan qualitatif, les besoins biologiques en acides aminés importants à apporter au patient infecté par le VIH doivent être déterminés il serait important de conduire des travaux sur les acides aminés essentiels - glutamine, arginine, taurine... - au cours de l'infection par le VIH.

La perte de poids observée au cours de pathologies telles que le cancer, les infections virales, l'insuffisance rénale chronique ou la cirrhose porte essentiellement sur la masse protéique musculaire. Des travaux ont été menés sur des traitements visant à limiter le catabolisme protéique une cible intervenant dans les processus pathologiques qui induisent chez l'animal un excès de catabolisme protéique au niveau musculaire a été identifiée. Cette cible est un système enzymatique extra-lysosomal,

le protéasome. Des peptides inhibiteurs des protéasomes, capables de limiter, voire de bloquer le catabolisme accru que l'on observe lors de diverses situations pathologiques, sont en cours de recherche. Par ailleurs, ce système protéasome semble important dans la formation du facteur de transcription NF κ B, qui ensuite agit au niveau nucléaire.

Dans les cellules eucaryotes, la dégradation des protéines s'effectue par plusieurs systèmes protéolytiques servant différentes fonctions:

- les protéases acides du système lysosomal : elles dégradent les protéines ayant subi une endocytose et les protéines membranaires, et contribuent à la dégradation de certaines protéines cytosoliques;
- les protéases dépendantes du calcium (calpaïnes) elles sont activées par les traitements qui augmentent le taux de calcium intracellulaire et qui jouent un rôle important dans la dystrophie ou les traumatismes musculaires;
- un système n impliquant ni les lysosomes, ni le calcium et l'ATP;
- le système multienzymatique ubiquitine/protéasome, dépendant de l'ATP

Ce dernier système est constitué par un complexe enzymatique qui utilise l'ATP et un cofacteur de nature peptidique appelé l'ubiquitine (Hershko et Ciechanover, 1992). Les protéines qui doivent subir une dégradation se lient de façon covalente aux chaînes d'ubiquitine qui servent de signal pour le complexe " protéasome " ou " protéinase multicatalytique " [26S (1 500 kDa)]. L'activité protéolytique de ce système multienzymatique est portée par la fraction 20 S (600 kDa) qui contient 12 à 15 sous-unités (Goldberg, 1992) (figure 20-1).

Des études ont récemment montré que cette voie de dégradation des protéines, qui concernent normalement les protéines anormales ou à vie courte, pourrait jouer un rôle important dans certains états pathologiques (figure 20-1). Cette voie serait activée dans les conditions de jeûne (Medina et coll., 1991), dans le cas d'administration élevée de glucocorticoïdes (Wing et Goldberg, 1993), dans l'atrophie musculaire par dénervation (Medina et coll., 1991), dans le choc endotoxique et dans certaines cachexies du cancer.

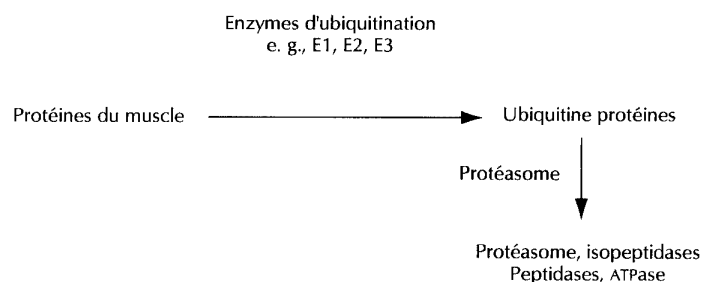


Figure 20-1 – Le complexe multicatalytique protéasome

On a pu montrer qu'il y avait une augmentation de l'expression des gènes codant pour l'ubiquitine et les sous-unités du complexe protéasome. Dans le cas du jeûne et de l'atrophie par dénervation, le contenu total en ARN messager diminue, alors que le taux en ARN messager du gène de l'ubiquitine est augmenté (Medina et coll., 1991). Parallèlement, on note une augmentation de l'ubiquitination des protéines myofibrillaires. L'activité protéolytique et le contenu en ARN messager de l'ubiquitine retournent à la normale quand les animaux à jeun sont à nouveau nourris.

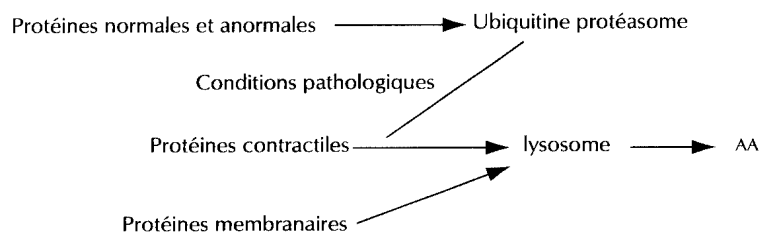


Figure 20-2 – Conditions pathologiques

Le complexe protéolytique ubiquitine/protéasome est également impliqué dans le fonctionnement du système immunitaire. La présentation des protéines intracellulaires au système immunitaire nécessite leur dégradation en petits peptides qui s'associent ensuite avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I. La production de ces peptides implique les fractions 20 S et 26 S des protéasomes qui contiennent des sites préférentiels pour le clivage de la fonction carboxylique des résidus hydrophobes, basiques ou acides. L'interféron γ induit l'apparition d'une activité peptidasique du protéasome qui aboutit à la production de peptides qui favorisent la présentation antigénique (Gaczynska et coll., 1993).

Le complexe ubiquitine/protéasome intervient également dans la formation du facteur de transcription NF κ B produit par les cytokines ou les virus. Les précurseurs p105p65 et p50p65 kDa subissent une " ubiquitination " suivie d'une protéolyse par les protéasomes en p50p65. On a pu montrer qu'un homogenat cytosolique de cellules cancéreuses HeLa transformait p105 en présence d'ATP et de Mg $^{2+}$, alors qu'un extrait de cellules normales, dépourvu d'activité protéasome, n'est pas actif. De même, les inhibiteurs spécifiques de protéasomes bloquent ce processus in vitro et in vivo.

En conclusion, l'ensemble de ces résultats indique un potentiel thérapeutique pour les inhibiteurs spécifiques du protéasome dans la perte de masse musculaire associée à l'infection par le VIH et au cancer, mais aussi dans l'insuffisance rénale chronique et les maladies neuromusculaires. Par ailleurs, l'implication de cette enzyme dans l'activation du système immunitaire suggère un intérêt des inhibiteurs dans le traitement des réjections de greffes et des maladies auto-immunes.

Correction de la perte de masse maigre

C'est là un objectif essentiel; les traitements disponibles pour augmenter la masse maigre concernent les progestatifs, qui augmentent la prise alimentaire et améliorant le confort des malades, mais n'ont que peu d'effet sur la masse maigre et les anabolisants, parmi lesquels les androgènes et l'hormone de croissance qui semble le traitement le plus prometteur, même si la molécule est encore coûteuse. Un essai est prévu pour le printemps 1996.

Supplémentation par voie orale et parentérale

L'acceptabilité des suppléments diététiques est très faible et il est urgent d'améliorer leurs propriétés organoleptiques. On ignore encore quelles protéines devraient être intégrées à ces produits. Les effets réels des diètes semi-élémentaires sont peu étudiés et il existe peu de produits sur le marché.

L'adjonction d'anti-oxydants pourrait permettre d'agir sur l'hypermétabolisme, voire sur l'apoptose cellulaire, bien que rien ne soit aujourd'hui réellement démontré. La supplémentation en acides gras de la série n-3 paraît un point important, car ils entrent dans la composition des membranes cellulaires.

Certaines vitamines comme la vitamine C, la vitamine PP, la vitamine E et certains oligo-éléments comme le zinc, le fer et le sélénium constituent des apports parfois utiles pour les malades infectés par le VIH. Il faut cependant être prudent. Dans le cadre d'une étude effectuée sur 281 sujets atteints par le VIH suivis pendant 7 ans, le risque relatif de passage au stade de sida a été étudié les patients consommant plus de 700 mg/j de vitamine C ont un risque relatif de 0,55; pour ceux consommant plus de 5 mg/j de vitamine B1, ce risque relatif s'élève à 0,66. Le bénéfice pour la vitamine A s'observe pour des consommations situées entre 9 et 20 UI/j. 169

La supplémentation en zinc, au-delà de 15 mg/j, entraîne un accroissement de l'immunodépression (Tang et coll., 1993).

La nutrition parentérale impose de lourdes contraintes mais elle peut être efficace (Melchior et coll., 1995). De plus, elle pose un grave problème puisqu'elle fait courir aux patients des risques infectieux liés à l'utilisation de la voie veineuse centrale. La diminution de l'osmolarité par la mise au point de di- ou tri-peptides devrait autoriser la perfusion des veines périphériques. L'association à l'hormone de croissance permettrait de diminuer le volume des perfusions.

Il semble prioritaire d'orienter la recherche vers une stimulation pharmacologique de la prise alimentaire, d'analyser les besoins protéiques spécifiques dus à l'infection par le VIH et de rechercher des traitements visant à limiter le catabolisme protéique.

BIBLIOGRAPHIE

- BAUM M, CASSETTI E, BONVEHI P, SHOR POSNER G, LU Y, SAUBERLICH H. Inadequate dietary intake and altered nutrition status in early HIV-1 infection. *Nutrition* 1994, **10**: 16-20
- CHLEBOWSKI RT, BEALL G, LILLINGTON L, RICHARDS EW, ABBRUZZESE BC, MCCAMISH MA, COPE FO. Nutritional intervention in the course of HIV disease. *Nutrition* 1995, **11**: 250-254
- DYNER TS, LANG W, GEAGA J, GOLUB A, STITES D, WINGER E, GALMARINI M, MASTERSON J, JACOBSON MA. An open-label dose-escalation trial of oral dehydroepiandrosterone tolerance and pharmacokinetics in patients with HIV disease. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993, **6**: 459-465
- FENTEANY G, STANDAERT RF, LANE WS, CHOI S, COREY EJ, SCHREIBER SL. Inhibition of proteasome activities and subunit-specific amino-terminal threonine modification by lactacystin. *Science* 1995, **268**: 726-731
- GACZYNSKA M, ROCK KL, GOLDBERG AL. Interferon and expression of MHC genes regulate peptide hydrolysis by proteasomes. *Nature* 1993, **365**: 264-267
- GOLBERG AL. Functions of the proteasome: the lysis at the end of the tunnel *Science* 1995, **268**: 522-523
- GOLBERG AL. The mechanism and functions of ATP-dependent proteases in bacterial and animal cells. *Eur J Biochem* 1992, **203**: 9-23
- HERSHKO A, CIECHANOVER. The ubiquitin system for protein degradation *Ann Rev biochem* 1992, **61**: 761-807
- KRENTZ AJ, KOSTER FT, CRIST DM, FINN K, JOHNSON LZ, BOYLE PJ, SCHADE DS. Anthropometric, metabolic, and immunological effects of recombinant human growth hormone in AIDS and AIDS-related complex. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993, **6**: 245-251

MACALLAN DC, MCNURLAN MA, MILNE E, CALDER AG, GARLICK PJ, GRIFFIN GE. Whole-body protein turnover from leucine kinetics and the response to nutrition in human immunodeficiency virus infection. *Am J Clin Nutr* 1995, **61**: 818-826

MALONE M, HOWARD L. Long-term hyperalimentation. *Curr Opin Gastroenterol* 1994, **10**: 227-234

MEDINA R, WING SS, HAAS A, GOLDBERG AL. Activation of the ubiquitine-ATP-dependent proteolytic system in skeletal muscle during denervation atrophy. *Biomed Biochim Acta* 1991, **50**: 347-353

MELCHIOR JC, GELAS P, CHASTANG C, CARBONNEL F, ZAZZO JF, BOUWER A, COSES V, BOULITEAU P, MESSING B. Efficacy of two month parenteral nutrition in AIDS patients: a controlled randomized prospective trial AIDS 1996, sous presse

MERRILL A. Home care of malnourished AIDS client. *Home Health Nurse* 1994, **12**: 39-42

MERRILL A. Nutrition interventions for the HIV positive client. *Home Health Nurse* 1994, **12**: 35-38

MULLIGAN K, GRUNFELD C, HELLERSTEIN MK, NEESE RA, SCHAMBELAN M. Anabolic effects of recombinant human growth hormone in patients with wasting associated with human immunodeficiency virus infection. *J Clin Endocrinol Metab* 1993, **77**: 956-962

PARISIEN C, GELINAS MD, COSSETTE M. Comparison of anthropometric measures of men with HIV: asymptomatic, symptomatic, and AIDS. *J Am Diet Assoc* 1993, **93**: 1404-1408

PERMAN JA. Nutritional considerations and management of the child with human immunodeficiency virus infection. *Nutrition* 1995, **11**: 121-128

PICHARD C. AIDS and nutrition: Weight loss prevention should begin during seropositivity. *Cah Nutr Diet* 1994, **29**: 117-121

RABENEK L, RISSER JMH, CRANE MM, MC CABE BK, WORSLEY JB. A comparison of anthropometry and bioelectrical impedance in the estimation of composition in HIV-infected individuals. *Nutr Res* 1993, **13**: 275-285

SEEMULLER E, LUPAS A, STOCK D, LOWE J, HUBER R, BAUMEISTER W. Proteasome from thermoplasma acidophilum: a threonine protease. *Science* 1995, **268**: 579-582

STEVEN A, LIEBERMAN SA, BUTTERFIELD GE, HARRISON D, HOFFMANN AR. Anabolic effects of recombinant insulin-like growth factor-I in cachectic patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol metab* 1994, **78**: 404-410

TANG AM, GRAHAM NM, KIRBY AJ, MCCALL LD, WILLETT WC, SAAH AJ. Dietary micro-nutrient intake and risk of progression to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infected homosexual men. *Am J Epidemiol* 1994, **138**: 937-951

WEINROTH SE, PARENTI DM, SIMON GL. Wasting syndrome in AIDS: pathophysiologic mechanisms and therapeutic approaches. *Infectious Agents and Disease* 1995, **4**: 7694

WING SS, GOLDBERG AL. Glucocorticoids activate the ATP-ubiquitine-dependent proteolytic system in skeletal muscle during fasting. *Am J Physiol* 1993, **264**: E668-E676

Synthèse

En France, l'infection par le VIH atteindrait actuellement 70 000 à 160 000 personnes. Même si l'incidence des cas de sida diminue dans tous les groupes de transmission, le nombre de cas continue à augmenter, sauf dans le groupe des hémophiles et des transfusés. Le nombre de nouveaux cas dans le groupe des homo-bisexuels a tendance à se stabiliser. L'analyse des données de la base DMI 2 montre que, chaque année, 20 à 25 % des sujets inclus développent un sida. Ce taux est cependant surestimé du fait de l'avancement des sujets dans la maladie; effectivement, le passage réel à la pathologie parmi les sujets contaminés toutes catégories confondues est de l'ordre de 5 %. Le suivi des patients de la base DMI 2 permet également de tracer l'incidence des principales pathologies opportunistes rencontrées au cours de la maladie on peut ainsi noter le recul de la pneumocystose, de la toxoplasmose et de la tuberculose, et l'augmentation relative des infections à cytomegalovirus, des mycobactérioses atypiques et des cryptosporidioses.

En termes de coûts, la lutte contre le VIH a représenté pour l'année 1993 5,348 milliards de francs, soit 0,7 % du budget de la dépense nationale de santé. Soixante-dix pour cent de cette dépense sont consacrés à la prise en charge médicale des patients. En 1993, le coût annuel total de l'hospitalisation d'un patient infecté par le VIH variait de 30 000 francs pour les sujets asymptomatiques à 140 000 francs pour les patients en phase de sida déclaré. La prise en charge extra-hospitalière (hospitalisation à domicile, hôpital de jour, consultations externes) a tendance à se développer aux dépens de l'hospitalisation classique. Cela démontre la contribution à l'activité de soins de l'entourage du patient, du patient lui-même et du secteur associatif. Enfin, les modes de prise en charge, et par conséquent les coûts, varient significativement d'un hôpital à l'autre.

Depuis plus d'une décennie, les programmes de recherche se sont diversifiés non seulement dans le domaine de la rétrovirologie, mais aussi dans le champ des pathologies associées du sida. L'amélioration de la qualité de vie est progressivement devenue un objectif de recherche important, car

les patients souffrent non seulement de l'infection elle-même, mais également des effets délétères, pénibles et invalidants de certains traitements.

Une infection virale persistante et progressive

L'Expertise collective s'est dès le départ appuyée sur des travaux éclairant d'une lumière nouvelle la physiopathologie de l'infection par le VIH. Parmi ceux-ci, les plus récents ont confirmé le caractère dynamique du processus infectieux, qui se manifeste par une réplication massive et ininterrompue du virus dès son entrée dans l'organisme. Cette réplication constante, longtemps mal évaluée, entraîne une réponse immunitaire intense, dont l'efficacité et la durée se mesurent à l'absence de manifestations cliniques, durant ce qui a été appelé, à tort, la phase latente de l'infection.

Pendant cette phase dite Symptomatique, les ganglions lymphatiques et la rate constituent les principaux réservoirs du VIH, la virémie ne reflétant que partiellement l'intensité de l'infection. La multiplication virale dans les organes lymphoïdes active de façon constante le système immunitaire. L'état inflammatoire chronique qui en découle conduit à la déstructuration des organes lymphoïdes périphériques et à l'installation subséquente d'une immunodéficience. Par analogie avec le modèle de l'hépatite B, l'infection à VIH peut donc être assimilée à une adénite rétrovirale chronique active. La destruction progressive du pool lymphocytaire, notamment des lymphocytes T mémoire, va permettre l'apparition des pathologies opportunistes.

Une telle conception de la dynamique virale nécessite que soit élucidé le phénomène de persistance de l'infection. Quels sont les rôles respectifs de la latence virale (arrêt de synthèse des protéines virales), de la variabilité antigénique considérable du VIH (permettant une évolution rapide par sélection naturelle), et de l'aptitude du VIH à se rendre invisible pour le système immunitaire ?

Il est également primordial de mieux apprécier la nature exacte des différentes cellules cibles de la réplication virale ainsi que les mécanismes et les conséquences fonctionnelles de la destruction des cellules et des tissus. Cet objectif ne se limite pas aux cellules du système immunitaire. Ainsi, l'infection des macrophages cérébraux par le VIH est presque constante et particulièrement précoce. Cependant, ni l'existence de souches virales à tropisme cérébral préférentiel, ni la manière dont le virus pénètre dans le système nerveux central n'ont pu être établies. Pendant la phase aiguë de l'infection (primo-infection), la réponse immune est essentiellement dominée par les lymphocytes T cytotoxiques (CTLs) qui détruisent, massivement et très tôt, les cellules infectées. L'effet des anticorps neutralisants susceptibles de bloquer l'entrée du virus dans les cellules reste, aujourd'hui encore, incertain.

Lorsque la réponse des lymphocytes T cytotoxiques est efficace, la quantité de virus circulant diminue rapidement. Ce point apparaît aujourd'hui particulièrement important à la lumière des recherches qui se sont concentrées sur les personnes infectées non malades, survivants à long terme, et sur les personnes à risque mais restant non infectées. Le niveau de virus résiduel pourrait jouer un rôle déterminant dans la durée de la phase asymptomatique qui suit la phase aiguë et qui est très variable d'un individu à un autre.

pour se maintenir à l'insu du système immunitaire, le virus dispose de plusieurs stratégies non exclusives qui, par altération de la quantité ou de la qualité de ses antigènes, contribuent à le rendre invisible.

Le passage de l'infection virale à la chronicité entraîne une activation persistante du système immunitaire qui, ne pouvant éliminer le virus, s'épuise peu à peu. La destruction des structures anatomiques ganglionnaires représente probablement un événement majeur dans l'épuisement du système immunitaire ayant pour conséquence la diminution du nombre de cellules CD4 et les altérations fonctionnelles des cellules T, B et accessoires.

L'effondrement du système immunitaire entraîne l'apparition des infections secondaires, des cancers ainsi que la détérioration du système nerveux.

Au cours de l'infection, le dysfonctionnement du système immunitaire est associée à une perturbation du réseau des cytokines qui entretient une dérégulation dans les différents compartiments immunitaires et ce, à tous les stades de la maladie. Les cytokines de type I (interleukine 2, interleukine 12, interféron γ) favorisent l'immunité cellulaire tandis que les cytokines de type II (interleukines 4, 6, 10 et 13) stimulent la réponse humorale. Les thérapeutiques actuelles qui font appel à l'immunothérapie non spécifique tendent à stimuler l'immunité cellulaire.

Un syndrome de dénutrition spécifique et précoce

Les questions relatives au syndrome de dénutrition ont été appréhendées au cours de cette expertise en tenant compte de la nouvelle perception physiopathologique de l'infection. L'expertise a accordé une place importante à ce problème, et si elle n'a pas su répondre à toutes les questions, elle a, au moins, eu le mérite de les poser.

L'amaigrissement accompagne souvent les infections opportunistes et les tumeurs qui compliquent l'évolution de l'infection par le VIH. Cependant, la cachexie est fréquente en l'absence de ces complications, et représente un des éléments de la définition du sida. La dénutrition, première cause de déficit immunitaire cellulaire dans le monde, aggrave vraisemblable

ment l'immunodépression provoquée par le VIH. La prévention et le traitement de la dénutrition sont donc des éléments majeurs de la prise en charge thérapeutique de l'infection par le VIH.

À la différence des dénutritions par carence d'apport, la perte de masse maigre l'emporte sur l'utilisation des réserves adipeuses chez les malades infectés par le VIH. L'augmentation des acides gras libres plasmatiques décelée au cours du sida, suggérant une lipolyse active périphérique, ne semble pas liée à l'amaigrissement. Le métabolisme protéique, encore trop peu étudié, est certainement la cible préférentielle, avec une augmentation combinée des synthèses et des dégradations. L'infection par le VIH est également caractérisée par une augmentation précoce de la dépense énergétique de repos, qui précède la diminution du nombre de lymphocytes CD4. À ce stade, l'amaigrissement est probablement compensé par une augmentation des ingesta. La survenue ultérieure d'infections opportunistes vient rompre cet équilibre en aggravant la dépense énergétique et en associant de nombreux autres facteurs de dénutrition. Il est cependant important de noter que l'ensemble des sujets présentent un amaigrissement en partie lié à une carence d'apport, et qu'ils devraient reprendre du poids à la suite d'une réalimentation.

Les déficits nutritionnels concernent, entre autres, les oligoéléments et les vitamines, ce qui peut en partie expliquer l'augmentation de la prévalence des complications infectieuses observées. Ces micronutriments interviennent également dans la régulation de divers systèmes enzymatiques et hormonaux.

Il n'a pas été montré, jusqu'à maintenant, de lien direct entre l'amaigrissement et l'effondrement du système immunitaire au cours du sida. En effet, le degré d'amaigrissement est très mal corrélé à l'importance de l'agression infectieuse. Les conséquences fonctionnelles liées à la présence du virus en grande quantité au niveau de la muqueuse intestinale restent à élucider.

Il est probable que la réponse de l'hôte à l'infection joue un rôle essentiel à l'origine des perturbations métaboliques observées. Toutefois, en dehors des infections opportunistes, la responsabilité prédominante de certaines cytokines comme le *Tumor Necrosis Factor* dans l'amaigrissement des malades infectés par le VIH n'est pas démontrée.

Un spectre d'infections opportunistes qui évolue et s'étend

Dans cette expertise, seules les maladies opportunistes les plus fréquentes, les plus graves et celles pour lesquelles aucun traitement efficace existe encore ont été envisagées.

Si les infections opportunistes restent la principale cause de mortalité des patients atteints du sida, leur incidence relative et les problèmes qu'elles posent se sont progressivement modifiés. Ainsi, les prophylaxies ont entraîné une diminution de l'incidence ou une modification du profil clinique ou thérapeutique de certaines infections. La prolongation de la survie des malades atteints de sida rend également plus fréquentes les infections caractéristiques d'un déficit immunitaire extrême (infections par le cytomégalovirus et par *Mycobacterium avium-intracellulare*).

La pneumocystose pulmonaire et, à un degré moindre, la toxoplasmose cérébrale sont devenues moins fréquentes depuis qu'une prophylaxie efficace est disponible. Parmi les autres infections parasitaires, mentionnons celles qui sont à l'origine de diarrhées chroniques (microsporidioses, cryptosporidioses), d'une part en raison de l'absence de traitement pour la plupart d'entre elles, et d'autre part parce que l'isolement récent des microsporidies a permis de leur attribuer un grand nombre de diarrhées chroniques jusqu'à présent inexplicables.

Malgré la prophylaxie, les candidoses oropharyngées et oesophagiennes restent très fréquentes; l'utilisation large de certaines prophylaxies fait craindre l'émergence de résistances primaires du *Candida* à certains anti-fongiques.

La tuberculose pose des problèmes différents selon les régions en Afrique, c'est l'infection opportuniste la plus fréquente; en Occident, son incidence est beaucoup moins élevée, mais on redoute l'émergence de bacilles multirésistants. Les mycobactérioses atypiques et les infections à cytomégalovirus, voient leur fréquence augmenter parallèlement à l'allongement de la survie des malades et continuent de poser de difficiles problèmes thérapeutiques.

Enfin, à côté de leurs particularités cliniques et thérapeutiques, les infections opportunistes contribuent significativement à l'aggravation de l'infection par le VIH.

Des médicaments antirétroviraux limités en nombre et en efficacité

Huit ans après la mise sur le marché de l'azidothymidine (AZT), deux autres médicaments anti-VIH ont été homologués, la didanosine (ddI) et la zalcitabine (ddC). Il était classique de considérer que l'AZT donné en première intention était plus efficace que les deux autres ddI et ddC n'ont donc jusqu'à très récemment été prescrits en monothérapie qu'en relais d'un traitement par l'AZT devenu inefficace. L'efficacité de ces médicaments reste cependant modérée et transitoire. Cela est dû, au moins en partie,

au développement de résistances virales, observées in vitro dans les souches isolées de malades en cours de traitement. Compte tenu du taux de réplication très élevé du virus, cette résistance n'est guère surprenante. La stavudine (D4T) et la lamivudine (3TC), également de la famille des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse du VIH, font l'objet de protocoles cliniques d'évaluation et devraient être prochainement homologuées.

Plusieurs autres médicaments, appartenant à des familles thérapeutiques distinctes, sont en cours d'essais cliniques de phase III. Certains, comme la névirapine, la delavirdine et le loviride sont des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse.

D'autres sont dirigés contre la protéase virale. Cette dernière famille fait déjà l'objet d'une évolution importante, en particulier vers une meilleure biodisponibilité orale par rapport à son premier représentant, le saquinavir, qui vient d'obtenir une AMM aux États-Unis. Il est probable que ces molécules (en particulier le ritonavir et l'indinavir) tiendront dans un proche avenir une place importante parmi les médicaments anti-VIH, car les premières données disponibles sur leur activité antivirale chez le malade sont extrêmement encourageantes.

Puisque les recherches les plus récentes montrent que la réplication virale est constante dès le début de l'infection, il paraît logique d'envisager de traiter les malades à un stade où la charge virale est encore peu élevée. L'insuffisance des médicaments aujourd'hui disponibles, en particulier leur brièveté d'action dans le contexte d'une maladie chronique, rend néanmoins théorique la notion de traitement précoce, sauf si de nouvelles molécules, sans résistance croisée avec les précédentes et permettant donc d'en prendre le relais, sont mises au point prochainement. Dès maintenant, le clinicien peut espérer améliorer l'efficacité du traitement antirétroviral de deux façons en affinant les indications thérapeutiques, grâce à un suivi amélioré de l'efficacité biologique des traitements, et en utilisant des associations thérapeutiques de médicaments dont les profils de toxicité diffèrent et qui induisent des résistances distinctes. Différentes associations sont à l'étude dans de nombreux essais thérapeutiques et la démonstration de la supériorité des associations AZT + ddI et AZT + ddC sur la monothérapie par l'AZT est d'ores et déjà acquise. Les recommandations sont, fin 1995, de débiter un traitement antirétroviral par une bithérapie. Dans l'espoir de contrôler un jour l'infection par le VIH de façon durable, des évaluations thérapeutiques portent déjà sur des trithérapies et les résultats préliminaires démontrent un avantage certain des associations incluant un antiprotéase.

Dans le domaine des paramètres biologiques évaluant l'efficacité thérapeutique, de grands espoirs sont placés dans les techniques, encore perfectibles, de la quantification génomique du virus plasmatique (" charge

virale” plasmatique), qui seront utilisées aussi bien pour le suivi individuel des patients que dans le cadre d'essais thérapeutiques.

Des traitements des infections opportunistes insuffisants et contraignants

Parmi les infections virales, l'infection à cytomegalovirus (herpesvirus) est un exemple des difficultés rencontrées pour la mise au point d'un traitement. C'est une affection grave, en particulier en raison des risques de cécité, de diarrhée chronique profuse et de mortalité qu'elle comporte, et aussi parce qu'elle aggrave l'histoire naturelle de l'infection par le VIH. C'est également une affection chronique qui nécessite, au-delà de la phase aiguë, un traitement d'entretien pour prévenir les rechutes. Les prophylaxies primaire et secondaire de cette infection opportuniste sont donc nécessaires, mais posent des problèmes plus difficiles que le traitement aigu.

Nous disposons à ce jour de deux médicaments et de trois modes d'administration. Le ganciclovir et le foscarnet sont deux inhibiteurs de l'ADN polymérase du cytomegalovirus, dont les mécanismes d'action et les profils toxiques diffèrent. Le traitement d'entretien peut être quotidiennement administré par voie intraveineuse ou orale (ganciclovir), par voie intravitréenne hebdomadaire ou grâce à l'installation d'implants vitréens avec diffusion prolongée du médicament (en cours d'évaluation). Le traitement local ne prévient que les localisations rétinienne de la maladie, contrairement au traitement intraveineux qui reste la référence thérapeutique. Il est cependant mieux toléré et moins contraignant. Le traitement oral, disponible depuis peu, devrait jouer un rôle majeur en prophylaxie secondaire même s'il n'atteint pas le niveau d'efficacité de la formulation intraveineuse. Il ouvre également la perspective d'une prophylaxie primaire qui pose encore, cependant, de nombreux problèmes toxicité induite compte tenu des taux d'échec de la prophylaxie et d'incidence de l'affection, développement éventuel de souches résistantes. Il importe donc de disposer de marqueurs virologiques précoces, permettant de mieux définir la population la plus à risque de développer cette infection. Ces marqueurs sont en cours d'évaluation.

Concernant les infections parasitaires, on dispose de traitements de la pneumocystose et de la toxoplasmose, aussi bien en prophylaxie qu'en phase aiguë, même si des problèmes persistent au niveau de l'efficacité et de la tolérance. *P. Carinii* est sensible à des médicaments comme l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim (SMZ-TMP), la pentamidine ou d'autres molécules anti-protozoaires. Le traitement de la toxoplasmose

repose essentiellement sur l'association pyriméthamine-sulfadiazine. Les traitements en cours d'évaluation pour ces deux parasites sont l'atovaquone, la clarithromycine et l'azithromycine.

Nous sommes, en revanche, assez démunis contre la plupart des parasitoses responsables de diarrhées chroniques, fréquentes et invalidantes. Les cryptosporidies et les microsporidies sont le plus souvent en cause. L'absence de techniques de culture cellulaire et de modèles animaux standardisés freine considérablement la recherche et l'évaluation de médicaments anti-parasitaires actifs. L'albendazole donne des résultats encourageants dans certaines diarrhées parasitaires.

Les infections à *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium avium intracellulare* requièrent des traitements associés, disponibles par voie orale. Les règles générales du traitement de la tuberculose sont les mêmes que chez le sujet non infecté par le VIH et le traitement des infections à *M. avium intracellulare* a considérablement bénéficié de l'introduction de nouveaux macrolides tels que la clarithromycine. Compte tenu de la chronicité et de la fréquence de ces infections (20 à 30 % en Occident), une prophylaxie doit être discutée. Si la prophylaxie secondaire de la tuberculose n'est pas toujours nécessaire, elle est indispensable, mais encore mal définie, pour l'infection à *M. avium intracellulare*. La prophylaxie primaire s'envisage différemment pour les deux infections pour la tuberculose, son intérêt n'est pas démontré et le type de malades devant en bénéficier est difficile à déterminer; pour *M. avium intracellulare*, son intérêt est démontré chez des malades ayant moins de 100 CD4/mm³. Reposant sur une monothérapie orale, elle pose cependant des problèmes encore non résolus, du même ordre que ceux rencontrés pour la prophylaxie primaire des infections à cytomegalovirus toxicité induite et risque d'émergence de mutants résistants.

L'amphotéricine B fut longtemps le seul traitement des mycoses systémiques (cryptococcoses et candidoses œsophagiennes); les délicats problèmes de maniabilité et de tolérance qu'elle pose sont susceptibles d'être considérablement améliorés par les nouvelles formulations lipidiques en cours d'évaluation. Ce sont cependant les triazolés, bien tolérés et actifs par voie orale autant qu'intraveineuse, qui ont transformé le traitement de ces mycoses. Le problème actuel le plus important concerne la prophylaxie secondaire des candidoses oropharyngées, beaucoup moins graves mais beaucoup plus fréquentes - incidence voisine de 100 % - que les précédentes, et dont les récurrences spontanées sont constantes. Cette prophylaxie repose classiquement sur des traitements topiques peu maniables (goût, fréquence des prises) et d'efficacité souvent insuffisante; le recours aux dérivés triazolés, donnés par voie orale, pose des problèmes d'une autre nature (émergence de mutants résistants, coût élevé).

Les difficultés actuellement rencontrées pour la prise en charge thérapeutique des infections opportunistes sont donc de deux ordres d'une part, pour les infections parasitaires responsables de diarrhées chroniques, l'absence de modèles expérimentaux, in vitro et in vivo, qui permettraient la mise au point de nouveaux médicaments; d'autre part, les phénomènes de toxicité, d'efficacité incomplète, de risque de sélection de formes résistantes et de définition insuffisante des populations de malades à risque.

D'une façon générale, l'augmentation progressive du nombre des prophylaxies disponibles entraîne une multiplication du nombre de médicaments prescrits simultanément chez un malade donné, s'ajoutant au traitement antirétroviral proprement dit. Les risques d'intolérance et de non-observance sont donc élevés. La recherche de médicaments actifs dans la prophylaxie des infections opportunistes doit donc s'attacher à prendre en compte, à côté de l'efficacité spécifique, la maniabilité - goût, nombre de prises quotidiennes - la tolérance et les interactions médicamenteuses, ainsi que la possibilité d'une prophylaxie simultanée de plusieurs infections différentes avec le même médicament.

Des protocoles thérapeutiques à adapter pour limiter les problèmes d'observance

Les protocoles thérapeutiques jouent un rôle considérable dans les infections chroniques, telles que l'infection par le VIH mais aussi certaines infections opportunistes qui l'accompagnent.

Jusqu'à présent, il n'a pas été possible de faire l'économie d'essais thérapeutiques prolongés (plusieurs années), puisqu'il s'agissait de mesurer l'efficacité des traitements dans une maladie chronique, dont les principaux critères étaient cliniques. Étant donné la faible activité des médicaments disponibles et leur durée d'action limitée dans le temps, il a été nécessaire de les évaluer chez un grand nombre de malades pour démontrer l'éventuelle supériorité de l'un sur les autres. Les conditions d'une grande fragilité des essais thérapeutiques - durée, nombre de patients - sont donc réunies. Dans le cas du sida, la situation est aggravée par la forte évolutivité des prises en charge thérapeutiques - mise à disposition de médicaments nouveaux, évolution rapide des connaissances - et la difficulté d'établir des consensus stables.

En raison de ces risques de fragilité et de péremption, les essais thérapeutiques de phase III (confirmation de l'effet thérapeutique et tolérance) ne peuvent plus prétendre, à eux seuls, démontrer l'activité d'un médicament anti-VIH, et cette constatation pourrait être prise en compte par les agences d'homologation. Il est possible, en revanche, que de tels essais se prêtent à la comparaison de stratégies thérapeutiques. Ils doivent alors

satisfaire à des contraintes dont certaines sont apparues récemment, en particulier à cause de la multiplication des traitements disponibles absence de période aveugle prolongée, prise en compte de l'aggravation biologique, mise à disposition des molécules après la fin du protocole.

La mesure de la charge virale plasmatique - quantification de l'ARN viral plasmatique - pourrait permettre de sélectionner les thérapeutiques les plus efficaces. Si la validité de cette technique se confirme en termes de valeur pronostique, elle pourrait permettre de raccourcir la durée des essais de phase III en servant de marqueur de substitution adéquat de l'évolution clinique. Les premières données, issues du dosage de la charge virale plasmatique dans des prélèvements conservés au cours d'essais thérapeutiques achevés, sont encourageantes.

Dans le même temps où se manifestent les phénomènes de non-observance aux protocoles thérapeutiques, liés à différents types de facteurs sociocomportementaux, apparaît la mobilisation de personnes atteintes ou de mouvements associatifs de malades, pour revendiquer un partenariat actif dans les choix thérapeutiques.

Les expériences récentes soulignent le fait que ces essais cliniques ne peuvent être gérés aujourd'hui indépendamment d'un soutien social et psychologique des patients, visant à renforcer l'observance.

De nouvelles cibles pharmacologiques pour la recherche et le développement d'antirétroviraux

Les médicaments disponibles à l'heure actuelle ne concernent finalement que peu de cibles pharmacologiques. Il existe donc une réelle nécessité d'élargir le champ des recherches en matière d'antirétroviraux, non seulement aux différentes étapes du cycle viral mais aussi aux protéines cellulaires partenaires du processus infectieux.

Les médicaments actuellement développés ne concernent que deux étapes du cycle viral la transcription inverse et la maturation des protéines virales lors de l'assemblage intracellulaire des particules virales. On peut donc considérer que la recherche thérapeutique antirétrovirale n'en est qu'à ses débuts. Théoriquement, toutes les étapes du cycle viral peuvent être ciblées pour la recherche de molécules inhibitrices.

La phase de transcription inverse, étape-clé de la réplication virale, constitue toujours une cible pharmacologique importante. Il n'est donc pas surprenant que, dès le départ, divers analogues de nucléosides comme l'AZT, provenant de la recherche anticancéreuse, aient été rapidement testés sur le VIH. À leur effet inducteur de terminaison de l'élongation de la chaîne 82 s'ajoute une action directe sur la transcriptase inverse, qui reste encore à

élucider. Toutes ces molécules sont des prodrogues et doivent être transformées par la cellule en dérivés triphosphates afin d'être actives. La phosphorylation de l'AZT et du D4T est largement dépendante de l'activation cellulaire, alors que celle des trois autres molécules (ddI, ddC, 3TC) semble indépendante du cycle cellulaire. Toutes ces molécules présentent des profils différents de toxicité. Ces médicaments font actuellement l'objet d'une recherche visant à améliorer leur efficacité et diminuer leur toxicité, en tenant compte de leurs propriétés moléculaires et cellulaires spécifiques. Ainsi, des prodrogues modifiées - esters monophosphates, dérivés lipophiles... - font l'objet d'évaluation, parfois à un stade déjà clinique. Certaines équipes étudient également la possibilité d'effectuer une phosphorylation intracellulaire de l'AZT grâce à une pharmacomodulation contrôlée génétiquement.

Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse agissent par inhibition allostérique. Bien qu'inducteurs de résistance très précoce, ils pourraient garder en association un intérêt thérapeutique. Des médicaments combinant plusieurs fonctions (analogue nucléosidique et inhibiteur non nucléosidique) pourraient être disponibles, mais dans un avenir plus lointain.

Une seconde étape qui a été ciblée pour la recherche de molécules inhibitrices de la réplication virale est celle qui implique une aspartyl-protéase virale, lors de la maturation finale des protéines virales. Les inhibiteurs de protéase, dont il existe aujourd'hui plusieurs prototypes issus de la modélisation moléculaire (indinavir, ritonavir, saquinavir), ouvrent une nouvelle voie thérapeutique prometteuse, complémentaire de celle des inhibiteurs de la transcriptase inverse.

Comme tout rétrovirus, le VIH doit, pour se répliquer, insérer son matériel génétique dans le génome de la cellule hôte. Cette étape nécessite l'action de l'intégrase, une enzyme sans équivalent fonctionnel chez l'homme, ce qui en fait une cible idéale pour le développement d'antirétroviraux. La détermination récente de la structure cristallographique du site actif de cette enzyme, qui appartient à la classe des polynudéotidyl-réductases, permet d'envisager la modélisation moléculaire d'inhibiteurs spécifiques. Certaines équipes réalisent actuellement un criblage orienté sur cette protéine.

La nucléoprotéine NCP7, protéine majeure de la nucléocapside, assure des fonctions essentielles dans la dimérisation du génome viral, dans l'assemblage, dans la stabilisation du virus infectieux et dans l'initiation de la transcription inverse du provirus. Il existe actuellement des prodrogues stables et de faible toxicité, capables d'inhiber cette protéine par déplétion de son cofacteur, le zinc. Les applications thérapeutiques restent cependant encore lointaines.

Des protéines de structure comme la protéine de capside et la protéine matricielle peuvent également devenir, à plus long terme, des cibles d'agents antirétroviraux. La phosphorylation de la protéine matricielle permet le transport du complexe de préintégration vers le noyau, étape nécessaire à l'infection des cellules quiescentes; des inhibiteurs de la protéine kinase responsable de cette phosphorylation pourraient constituer un moyen de s'opposer à la dissémination virale. Par ailleurs, la partie N terminale de la protéine de matrice assume un rôle lors de la maturation du virion, dans le transport et l'assemblage des composants du virion à la membrane cellulaire; cette fonction importante pourrait faire l'objet d'une recherche d'inhibiteurs.

Les protéines virales régulatrices constituent une autre piste potentielle de recherches. Les protéines Tat (*Transactivatrice*) et Rev (*Regulator of Viral protein expression*) activent la transcription du virus en se fixant respectivement sur les régions TAR (*poly-Tat Activation Response*) et RRE (*Rev Responsive Element*), situées sur l'ARN viral. Des inhibiteurs compétitifs de ces deux protéines (inhibiteurs protéiques ou oligonucléotides antisens) sont en cours de développement.

Les protéines dites “ accessoires ” comme Nef (*NEgative Factor*), Vpr (*Viral Protein R*) et Vif (*Virion Infectivity Factor*) devraient constituer, dans un avenir plus éloigné, des pistes thérapeutiques très prometteuses. En particulier, le blocage de la protéine Vif pourrait avoir des répercussions sur l'ensemble de la réplication virale *in vivo*. Les connaissances sur la structure et la fonction de ces protéines “ accessoires ” sont encore très limitées, mais des efforts considérables sont effectués aujourd'hui à ce sujet.

Indispensables à certaines étapes de l'infection virale, diverses protéines cellulaires sont également des cibles potentielles de la thérapie antirétrovirale. La synthèse de l'ADN viral dans les lymphocytes infectés est dépendante des concentrations intracellulaires en désoxyribonucléotides, produits *de novo* par l'action d'une enzyme cellulaire, la ribonucléotide réductase. Son inhibition permet donc de bloquer l'élongation des chaînes d'ADN, et donc de limiter la transcription inverse. L'hydroxyurée est un exemple d'inhibiteur actuellement en cours d'investigation dans cette indication.

Le repliement de la protéine Gag pour l'assemblage des particules virales infectieuses semble requérir l'intervention d'une protéine cellulaire, la cyclophiline A. La cyclophiline A est inhibée par la ciclosporine A et des analogues dérivés de la ciclosporine A, dénués toutefois d'activité immunosuppressive, constituent une famille de molécules en cours d'exploration.

Une phase terminale de maturation des protéines virales avant l'encapsidation est assurée par un autre type de protéines cellulaires, les α glycosidases. Les inhibiteurs d' α -glycosidases à l'étude ont pour l'instant démontré une trop grande toxicité.

Enfin, la recherche systématique de protéines cellulaires partenaires des protéines virales est un préalable important à la mise au point de nouveaux antiviraux. Deux protéines cellulaires partenaires ont ainsi été identifiées - INII (*INtograse Interactor 1*), **b** Cop (β Coat protein) - qui ouvrent une nouvelle voie à la recherche d'inhibiteurs.

Une autre famille d'inhibiteurs faisant appel à une approche de recherche très différente est constituée par les oligonucléotides anti-sens. Ils peuvent théoriquement être dirigés contre n'importe quel messenger viral dont ils assurent le blocage de la lecture. Le GEM 91, un oligonudéotide anti-gag, est actuellement en essai de phase II en France. Il faut souligner les limites de la thérapeutique anti-sens liée aux contraintes pharmacologiques encore incomplètement évaluées. Jusqu'à aujourd'hui, les anti-sens testés étaient des phosphorothioates, susceptibles de présenter une réelle toxicité rénale et d'efficacité douteuse. Il n'en est vraisemblablement pas de même pour les phosphodiesteres, à condition qu'ils soient protégés des nucléases. Ces molécules mériteraient d'être testées sur des modèles *in vivo* pour confirmer ou infirmer leur activité antirétrovirale. Des travaux importants de galénique seront nécessaires pour augmenter la stabilité des composés et améliorer leur biodisponibilité par exemple par vectorisation.

On peut construire sur le principe des anti-sens des oligomères nudéotidiques - leurres - reproduisant des sites de fixation pour les protéines transactivatrices, qui présenteraient un intérêt dans une stratégie de thérapie génique.

Enfin, on peut synthétiser des séquences nucléotidiques complémentaires de séquences d'ADN codantes - anti-gènes - formant triple hélice avec le provirus intégré. Cette méthode constitue aujourd'hui la seule approche théorique d'action sur le génome viral intégré.

D'une façon générale, se dégage une série de pistes qui, sans avoir toujours d'application immédiate, représente à plus ou moins long terme des espoirs sérieux.

Des stratégies de recherche transversale de molécules antiparasitaires, antifongiques, antibactériennes et antivirales

Dans le but de trouver de nouvelles pistes thérapeutiques communes contre les parasitoses, candidoses et bactérioses, la recherche d'inhibiteurs de cibles métaboliques spécifiques telles que les enzymes-clés impliquées

dans la biosynthèse de la paroi, dans le métabolisme des sucres, des stérols et des acides aminés aromatiques a été évoquée.

De même, les enzymes de la défense anti-oxydante des organismes pathogènes peuvent être des cibles tout à fait intéressantes pour le développement de nouveaux médicaments, à condition qu'elles soient suffisamment distinctes de celles de l'homme pour être visées de manière sélective. La superoxyde dismutase (SOD) des bactéries et des protozoaires, par exemple, pourrait constituer une cible de choix dans la mesure où son cofacteur, le fer, est différent de celui des SOD humaines; cette différence s'accompagne d'une modification de la séquence peptidique de l'enzyme qui la rend sensible au peroxyde d'hydrogène. Dès lors, un criblage chimique orienté devrait permettre la découverte d'inhibiteurs spécifiques. Le développement de molécules “ pilotes ” pourrait ainsi se faire soit par criblage de banques chimiques à l'aide d'un test miniaturisé et automatisé de mesure de l'activité SOD, soit, une fois la structure de l'enzyme déterminée, par la recherche de molécules aptes à bloquer sélectivement l'enzyme.

Le développement croissant du phénomène de résistance aux antibiotiques justifie pleinement la recherche de nouvelles molécules antibactériennes et antifongiques. Le réseau complexe de défense chimique qui co-existe avec le système immunitaire est constitué de petits peptides naturels de la famille des dermaseptines, des bacténécines et des défensines. Ces peptides constituent des pistes nouvelles et prometteuses.

Pour un certain nombre de pathologies telles que les infections à mycobactéries, des techniques rapides de diagnostic précoce ainsi que des techniques d'antibiogramme plus performantes seraient d'un grand intérêt.

Le problème se complique encore pour les microsporidies car, en raison de leur très petite taille, les microsporidies sont difficilement détectables dans les urines, les selles ou les sécrétions nasales. La mise au point de tests immunologiques ou de techniques de détection par amplification génique est aujourd'hui un objectif prioritaire. Actuellement, des modèles de cultures *in vitro* n'existent que pour certaines souches de ces protozoaires. Pour affiner les recherches sur le diagnostic et le traitement de ces infections, la mise au point de modèles animaux serait un grand pas.

Pour les infections virales opportunistes, la mise au point de molécules à activité multiple est un objectif prioritaire, d'autant plus que ces infections virales pourraient faire l'objet d'une prophylaxie primaire systématique. Certaines molécules ayant cette double activité sont déjà en phase d'évaluation clinique.

Des méthodes de criblage à optimiser

La voie empirique de recherche de nouvelles molécules est traditionnellement celle du criblage systématique d'un grand nombre de composés. La plupart des médicaments actuellement sur le marché sont issus d'une telle pratique. Contrairement à l'approche rationnelle qui s'appuie sur la modélisation moléculaire, cette voie ne dépend pas de l'existence d'informations sur la structure et la fonction de cibles prédéfinies. Quelle que soit la méthode employée, il s'agit d'identifier les représentants de familles chimiques - molécules "pilotes". L'identification de ces molécules n'est souvent que la première étape d'un long processus, qui fait intervenir la conception puis la synthèse chimique d'analogues plus efficaces et moins toxiques.

Les limites du criblage systématique sont liées au nombre et à la diversité des molécules que l'on est capable de tester. Toutes les grandes sociétés pharmaceutiques ont d'importantes collections de molécules, qui sont cependant restreintes dans leur diversité puisqu'elles sont le reflet de l'histoire de la recherche thérapeutique du laboratoire. Pour pallier cette limite, les laboratoires réalisent désormais des banques de molécules aléatoires résultant de la chimie combinatoire. Des systèmes biologiques peuvent être à l'origine de telles molécules aléatoires, mais cette approche est encore peu développée en France.

Dès l'identification du VIH et sa mise en culture *in vitro*, des criblages sur l'infection aiguë de lymphocytes ont été entrepris dans différents laboratoires. Toutes les molécules qui ont été découvertes dans ce type d'essai - polyanions, dextran, dérivés bétuliniques, bicyclams, TIBO, névirapine, α APA n'agissent que sur des étapes très précoces du cycle. La recherche des inhibiteurs de la protéase, dont la structure tridimensionnelle a été résolue, a tiré parti des connaissances acquises sur le système rénine-angiotensine et sur ses inhibiteurs peptidomimétiques. La modélisation moléculaire a joué un rôle majeur dans l'optimisation de ces molécules.

Le nombre croissant de molécules anti-VIH ne concerne cependant que deux cibles pharmacologiques, la transcriptase inverse et la protéase. L'apparition rapide de virus résistants à ces molécules plaide en faveur d'une polychimiothérapie, qui associerait des molécules actives à des stades différents du cycle viral.

Deux types de tests de criblage peuvent être utilisés biochimique ou fonctionnel le test biochimique, généralement rapide et spécifique, permet de tester un très grand nombre de produits. Ce test s'affranchit des problèmes d'accessibilité de la cible pour la molécule étudiée. Les problèmes de pénétration cellulaire pourront être résolus dans un deuxième temps par des

modifications chimiques. Le criblage des inhibiteurs de l'intégrase fait appel à ce type de test.

Le test cellulaire est un test fonctionnel qui intègre les partenaires cellulaires de la protéine ciblée. Ce type de test est développé pour la recherche d'inhibiteurs de Tat et de Rev. Comparés aux tests biochimiques, ils ont une capacité souvent limitée même si une automatisation est possible. En revanche, ils pourraient permettre d'identifier des molécules inhibant les partenaires cellulaires impliqués et donc moins susceptibles d'induire des résistances.

Des tests secondaires permettent ensuite de trier les molécules qui inhibent effectivement la cible visée et d'éliminer les produits qui interfèrent avec le test de criblage mais qui ne relèvent pas du mécanisme recherché.

La majorité des médicaments anti-protozoaires provient de molécules pilotes sélectionnées à partir de tests *in vivo*. La tendance actuelle est de recourir de manière plus systématique à des tests *in vitro*, qui utilisent beaucoup moins de matériel. En revanche, ils sont inadaptés lorsque le composé n'est actif que sous sa forme métabolisée ou lorsqu'il n'y a pas d'information sur le site et le mode d'action des molécules.

Intérêt de la mise au point de modèles animaux des infections par le VIH

Il n'existe à ce jour aucun modèle parfait utilisant un lentivirus humain qui permet l'induction systématique d'une immunodéficience clinique et biologique. Cependant, l'utilisation rationnelle des modèles animaux disponibles pourrait aujourd'hui permettre de mesurer précisément, après les tests *in vitro*, l'efficacité d'une stratégie anti-virale et/ou immunomodulatrice dans les infections à VIH. Un modèle partiel spécifique comme une lignée de souris transgéniques exprimant le gène viral cible pourrait être utilisé pour évaluer, par exemple, l'activité d'un anti-sens. Des modèles murins d'infection par des oncovirus, reproduisant une ou plusieurs phases du cycle biologique du VIH, peuvent être utiles pour le criblage large et rapide de molécules. Les souris SCID (*Severe Combined Immune Deficiency*) humanisées, présentant une infection chronique ou une réplication transitoire du VIH (après injection de virus ou de cellules infectées), devraient permettre de disséquer le mécanisme d'action *in vivo* d'un antiviral ou d'un immunomodulateur. Manifestant une immunodéficience proche du sida, les chats infectés par le virus de l'immunodéficience féline (FIV) constituent de bons modèles pour mesurer les effets d'une molécule sur une maladie naturelle. Enfin, les macaques *rhésus* ou

cynomolgus infectés expérimentalement par le virus de l'immunodéficience simienne (SIVmac) ou par des chimères SIV/HIV (SHIVs) sont des modèles d'évaluation privilégiés d'antiviraux et d'immunomodulateurs, car ils développent rapidement un sida qui, de plus, est proche de celui de l'homme infecté par le VIH1, en particulier au niveau du pic de réplication de la phase de primo-infection. Ces études peuvent se mener en parallèle ou à l'issue des études de toxicité. Une progression rationnelle dans le recours aux modèles animaux pourrait vraisemblablement permettre de mieux gérer les stratégies de mise en place d'essais cliniques.

Modulation de la réaction inflammatoire et de la réponse immunitaire

Face aux effets délétères de l'infection par le VIH sur le système immunitaire, et bien que les antiviraux restent l'arsenal thérapeutique prioritaire, l'immunothérapie présente un intérêt certain, particulièrement en association avec les antirétroviraux chez les patients dont le déficit immunitaire est encore modéré. La plupart des méthodes d'immunothérapie envisagées comporte cependant de nombreuses incertitudes. En effet, la stimulation de certains constituants du système immunitaire peut activer la réplication virale.

À l'heure actuelle, l'immunothérapie non spécifique utilisant l'interleukine 2 a donné lieu à des résultats encourageants. Quant à l'interleukine 12, les données expérimentales suggèrent un intérêt potentiel avec toutefois de sérieuses incertitudes sur sa toxicité.

L'immunothérapie passive, utilisée comme palliatif à un stade avancé de la maladie, n'est pas toujours concluante et présente des problèmes pratiques de mise en œuvre.

La recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques immunomodulatrices nécessite en particulier l'analyse du réseau complexe des cytokines impliquées dans les mécanismes immunopathologiques de l'infection par le VIH.

Les techniques d'immunorestauration (transfert de cellules cytotoxiques CD8⁺, greffe de moelle) sont encore à l'état d'études très préliminaires.

Des antagonistes de cytokines pourraient être exploités pour leurs propriétés anti-inflammatoires ou pour contrecarrer les effets secondaires des cytokines immunostimulantes. Des immunomodulateurs (ciclosporine) ou corticoïdes peuvent également être utilisés pour contrôler les conséquences de l'hyperactivité du système immunitaire. La thalidomide est actuellement testée comme agent anti-tumor necrosis factor α (TNF α). Il

est utile de rappeler que toute modulation pharmacologique du système immunitaire ou de ses messagers doit impliquer une évaluation des effets des drogues immunomodulatrices sur l'efficacité des antiviraux habituellement prescrits. Par exemple, certains inhibiteurs du tumor necrosis factor s'opposent aux effets anti-viraux de l'AZT et de la ddI.

Une prise en charge précoce de la dénutrition par des traitements adaptés

La dénutrition est encore peu prise en compte dans les protocoles thérapeutiques et reste confidentiellement du domaine de quelques spécialistes. L'évaluation du statut nutritionnel n'est pas, jusqu'à maintenant, menée de manière systématique chez les patients séropositifs, sans doute parce qu'il n'existe pas de standards clairement définis. Une perte de poids de plus de 10%, associée à de la fièvre et à une diarrhée, caractérise le *wasting* syndrome. La vitesse de perte pondérale est également un facteur pronostique péjoratif. Différentes méthodes d'appréciation de la perte de poids peuvent être utilisées, mais l'expertise ne s'est pas prononcée sur leur valeur respective.

Différentes possibilités thérapeutiques et de supplémentation ont été analysées au cours de cette expertise.

La supplémentation orale constitue une voie de traitement de la dénutrition; cependant, les compléments alimentaires actuellement proposés, étant peu appréciés, pourraient faire l'objet d'améliorations de leurs propriétés organoleptiques. Différentes études sur la valeur biologique des protéines, les effets de l'adjonction d'anti-oxydants et de la supplémentation en acides gras de la série n-3 restent à effectuer. En ce qui concerne la supplémentation en oligo-éléments et en vitamines, un effet bénéfique a pu être très nettement mis en évidence avec la famille des vitamines B. et de manière moins marquée avec les vitamines A et C. La question de la supplémentation systématique n'est pas encore résolue malgré des essais in vitro concluants. Des études complémentaires sont nécessaires, même si elles restent difficiles à mener. En attendant, une attitude thérapeutique correcte consiste à corriger les carences vraies et à ne pas dépasser un certain seuil. Ainsi, l'automédication des patients avec de fortes doses de micronutriments n'est pas recommandée.

L'alimentation parentérale, compte tenu de sa lourdeur et des risques infectieux associés, est souvent un traitement de dernier recours. Cependant, il pourrait être ponctuellement envisagé d'appliquer un tel traitement à des patients à un stade moins avancé de la maladie, pendant quelques semaines seulement. Les améliorations devraient porter sur la

diminution de l'osmolarité, par la mise au point de di- ou tri-peptides permettant la perfusion sur veines périphériques. L'association à l'hormone de croissance permettrait de diminuer le volume des perfusions.

Agir sur le métabolisme protéique supposerait de connaître la cause de l'augmentation du catabolisme protéique. Il est possible que la voie de dégradation des protéines impliquant le système multienzymatique ubiquitine/protéasome soit activée lors de l'infection par le VIH. Le développement de peptides inhibiteurs de protéasomes pourrait donc représenter un potentiel thérapeutique important dans la lutte contre la perte de masse musculaire. Une action sur certaines cytokines - tumor necrosis factor, interleukines 1 et 6 - reste également à étudier. De même, il serait essentiel de mieux comprendre les besoins protéiques qualitatifs - acides aminés essentiels - dans l'infection par le VIH.

Les troubles digestifs constituent une part importante des symptômes associés à la dénutrition. Des projets thérapeutiques pourraient s'attacher à améliorer l'absorption intestinale grâce à la conception de diètes semi-élémentaires - mise au point de petits peptides qui pourraient diminuer la stimulation immunologique du tube digestif - et à l'étude de substrats spécifiques qui pourraient avoir une action immunomodulatrice - glutamine, arginine, triglycérides à chaînes moyennes. D'autres projets pourraient concerner la vidange gastrique et la régulation des sécrétions et de la motricité intestinale.

Plusieurs médicaments destinés à corriger la perte de masse maigre sont en cours d'évaluation. Les progestatifs stimulent la prise alimentaire, améliorent le confort des malades mais ont peu d'effets sur la masse maigre. Quant aux anabolisants, il est encore trop tôt pour se prononcer. Cependant, beaucoup d'espoirs se tournent actuellement vers l'hormone de croissance, qui a un effet réel sur la synthèse protéique; un essai est en préparation en France.

D'autres pistes pourraient envisager la stimulation de la prise alimentaire par le blocage des voies sérotoninergiques, l'action sur le système opiacé endogène - endorphines, enképhalines, cannabinoïdes et par la modulation de différents neuropeptides digestifs - polypeptide pancréatique, enképhalines, neurotensine, colécystokinine, neuropeptide Y - ou d'autres voies pharmacologiques - dopamine, amphétamines...

Indépendamment de la recherche de nouvelles molécules, la galénique et les voies d'administration des médicaments constituent des points importants pour l'amélioration de la qualité de vie des patients. La multiplicité des prises médicamenteuses entraîne parfois des problèmes de toxicité qui obligent le prescripteur à réduire le dosage ce qui, par conséquence, diminue l'efficacité des traitements. L'amélioration des propriétés organoleptiques des médicaments est également un point important à prendre en compte.

Constats

Aujourd'hui, 2 millions de cas de sida ont été déclarés à l'OMS. Il y aurait actuellement 10 à 12 millions de patients séropositifs de par le monde; l'OMS prévoit qu'en l'an 2000, 30 à 40 millions d'individus auront été infectés par le virus. La France compte plus du quart des cas de sida déclarés en Europe. Les dépenses consacrées à la prise en charge médicale du sida représentent dans notre pays près de 4 milliards de francs.

L'Expertise collective s'est attachée à faire le point sur trois dimensions du problème médical posé par le sida : les aspects pathologiques de l'infection par le VIH et la morbidité induite, à savoir les maladies opportunistes et la dénutrition (chapitres 4 à 8); les traitements actuels et leurs limites (chapitres 9 à 14); enfin, les pistes de recherche et de développement de nouvelles thérapeutiques (chapitres 15 à 20). Cette démarche présentait l'avantage de tenir compte de l'histoire naturelle particulière de cette maladie (pathologies nombreuses, séquentielles, entraînant une polychimiothérapie) pour envisager la conception de nouvelles approches thérapeutiques. Le groupe a choisi de ne pas aborder les domaines de l'immunothérapie et de la stratégie vaccinale.

Le groupe d'experts a souhaité souligner un certain nombre de points représentatifs de la réflexion menée.

- L'infection à VIH est avant tout une maladie virale, chronique et active, et la baisse des lymphocytes CD4 en est une des conséquences directes.
- Le virus se réplique de façon persistante, principalement dans les cellules lymphoïdes des ganglions lymphatiques et autres organes lymphoïdes ou tissus contenant des cellules de type macrophagique. Il infecte également le système nerveux, les nerfs périphériques et les cellules intestinales.
- Il n'existe pas de véritable modèle animal spécifique du sida humain. Les animaux infectés par des lentivirus sont néanmoins des modèles précieux pour l'étude de l'infection par le VIH.
- Le spectre des maladies opportunistes s'élargit avec l'allongement de la survie. Des pathologies particulières sont devenues plus fréquentes, comme l'infection par le cytomegalovirus et les infections par les mycobactéries atypiques.
- La dénutrition est une cause importante de morbidité et de mortalité et reste insuffisamment prise en compte.
- Les antirétroviraux sont insuffisants, en nombre et en qualité. Seuls trois analogues de nucléosides (AZT, ddI, ddC) disposent d'une autorisation de mise sur le marché (AMM). Un petit nombre d'autres médicaments (D4T, 3TC et trois anti-protéases) peuvent être obtenus hors AMM (protocoles thérapeutiques et compassionnels) et devraient très vite être largement diffusés. Le développement de résistances du VIH à ces molécules

modifie la stratégie thérapeutique, justifiant le recours à différentes associations de ces médicaments. L'année 1995 a été marquée par des progrès thérapeutiques importants, en particulier avec les bithérapies, qui ouvrent une voie prometteuse à l'utilisation de polythérapies antirétrovirales (en particulier de trithérapies associant un antiprotéase).

- Les maladies opportunistes posent des problèmes thérapeutiques à la fois sur les plans curatif et prophylactique. Pour certaines pathologies chroniques, répétitives et invalidantes comme par exemple les cryptosporidioses, il n'existe aucun traitement efficace. Envisageables pour certaines pathologies (cytomegalovirus, par exemple), les traitements prophylactiques posent parfois le problème de l'identification préalable des groupes les plus à risque, en raison des effets secondaires des traitements et du taux parfois modéré de protection. Compte tenu des progrès thérapeutiques réalisés ou prévisibles dans le domaine de l'infection par le VIH, le groupe a conscience qu'il est difficile de prévoir la place que tiendront à l'avenir les maladies opportunistes.
- Les malades sont soumis à des traitements nombreux et prolongés, en raison du caractère polypathologique de la maladie et de l'allongement de leur durée de vie. Cet état de fait entraîne des problèmes d'observance des traitements.
- La qualité de vie des patients n'est pas toujours considérée dans leur prise en charge médicale, alors qu'elle est gravement affectée à la fois par les pathologies induites du sida et par les contraintes liées au suivi de traitements prolongés et nombreux.

Sur le plan fondamental, des connaissances restent à acquérir sur:

- certaines phases de la réplication du VIH;
- la structure et la fonction de plusieurs protéines régulatrices du VIH;
- les protéines cellulaires partenaires des protéines du VIH;
- la nature des cellules cibles de l'infection par le VIH au niveau des ganglions lymphatiques et du système nerveux central;
- l'interaction de ces cellules et les conséquences fonctionnelles de la destruction des organes lymphoïdes périphériques;
- le mécanisme exact de la destruction des lymphocytes CD4;
- la manière dont le virus pénètre dans le système nerveux;
- les liens réciproques entre le syndrome de dénutrition et l'immunodéficience, ainsi que les mécanismes moléculaires de la dénutrition;
- les méthodes pour étudier dans des modèles expérimentaux, in vitro et in vivo, les mécanismes infectieux des agents responsables de certaines maladies opportunistes (cytomegalovirus, microsporidies, cryptosporidies ...);

- les mécanismes de développement de résistance des micro-organismes vis-à-vis des médicaments.

Sur le plan thérapeutique, des progrès sont à réaliser pour:

- augmenter le nombre de molécules antirétrovirales agissant à des niveaux différents du cycle de réplication, pour lutter contre l'efficacité insuffisante des molécules actuelles et compenser les résistances induites qui limitent la durée d'efficacité des traitements;
- développer des prophylaxies plus efficaces et mieux tolérées communes à plusieurs pathogènes;
- promouvoir de nouvelles modalités de protocoles thérapeutiques (incluant en particulier la mesure de la charge virale plasmatique);
- améliorer les modalités d'interventions nutritionnelles, psychologiques, psychothérapeutiques et d'accompagnement social visant à soutenir les malades.

Recommandations

Conformément à l'objectif de l'expertise et sur la base des connaissances analysées, le groupe d'experts a sélectionné, parmi les pistes de recherche et de développement qui sont présentées dans les chapitres précédents, celles qu'il semble prioritaire d'explorer pour aboutir à de nouveaux traitements ou à l'amélioration des traitements actuels.

Développer des modèles expérimentaux pour ouvrir la voie à la recherche de nouvelles thérapeutiques

- Toutes les recherches actuellement engagées sur le VIH sont importantes pour identifier de nouvelles cibles pharmacologiques. La recherche de molécules actives sur ces cibles suppose la mise au point de modèles expérimentaux in vitro et in vivo pour tester leur efficacité. Les modèles animaux de l'infection par le VIH mériteraient probablement d'être mieux utilisés dans une optique thérapeutique.
- Parmi les nombreuses pistes de recherche concernant les pathologies opportunistes, la recherche de modèles expérimentaux, in vitro et in vivo, pour les microsporidioses et, les cryptosporidioses, qui provoquent des diarrhées chroniques et invalidantes résistantes aux médicaments classiques constitue aujourd'hui un axe prioritaire.
- Un modèle d'étude in vitro du cycle réplcatif du cytomegalovirus permettrait d'identifier les cibles potentielles de nouvelles molécules antivirales,

le cytomégalovirus provoquant une infection majeure par sa fréquence croissante et les risques de cécité et de létalité qu'elle entraîne.

- La multiplicité des prises médicamenteuses constitue un réel handicap pour le patient. La recherche de médicaments actifs sur plusieurs pathogènes présente donc un grand intérêt. Aussi, le développement de modèles de co-infection, comme par exemple toxoplasmose/mycobactériose, toxoplasmose/pneumocystose, permettrait d'étudier les interrelations entre pathogènes et de tester la sensibilité des différents micro-organismes à une même molécule.
- Plusieurs objectifs de recherche transversale s'appuient sur la mise en évidence récente, chez les bactéries et les parasites, de voies métaboliques spécifiques. L'étude de métabolismes communs à plusieurs pathogènes -métabolisme phospholipidique, enzymes du stress oxydatif... - pourrait permettre de découvrir des molécules capables d'interférer avec ces voies de synthèse.

Organiser le criblage des banques de molécules disponibles ou à synthétiser

- Le développement de nouvelles molécules dirigées contre l'infection par le VIH exige la mise au point de techniques de criblage hautement performantes. D'une façon générale, la coopération des équipes françaises travaillant sur les différentes protéines virales du VIH doit permettre la définition de tests de criblage appropriés et efficaces.
- Le criblage systématique de banques de molécules pré-existantes dans l'industrie demande la mise en commun et la standardisation de ces tests performants.
- La chimie combinatoire et la production de molécules aléatoires de type biologique doivent servir à produire de nouvelles banques de molécules. Le dessin moléculaire est surtout utilisé lorsque la structure tridimensionnelle du site actif d'une protéine virale est connue, afin de produire une famille de molécules inhibitrices qui seront testées pour leur efficacité. Cependant à partir d'une molécule issue d'un premier criblage systématique, le dessin moléculaire peut également constituer une étape complémentaire destinée à générer une famille de molécules dérivées plus efficaces.
- Le criblage peut être utilisé lorsque des tests fiables existent. Il doit s'appliquer en priorité à la recherche d'inhibiteurs des protéines virales dont la fonction est connue - protéase, intégrase, Ncp7, Tat, Rev.
- Le criblage doit également concerner la recherche de médicaments actifs sur plusieurs agents pathogènes responsables de maladies opportunistes fréquentes, afin de diminuer les prises médicamenteuses des patients, en particulier pendant les épisodes infectieux. Ceci doit concerner la

recherche d'antiviraux agissant à la fois sur le cytomegalovirus et le VIH et la recherche de médicaments actifs contre plusieurs agents responsables de maladies opportunistes fréquentes (mycoses, parasitoses, bactérioses).

Améliorer la qualité des molécules

- Certaines molécules antirétrovirales commercialisées, en particulier les analogues de nucléosides, sont des prodrogues dont on doit chercher à augmenter l'efficacité et réduire la toxicité par des procédés plus ou moins complexes (vectorisation, addition de fonction lipophile, pharmacomodulation génétiquement contrôlée...).
- La surcharge thérapeutique à laquelle sont soumis les patients nécessite que davantage d'efforts soient consacrés à la galénique et aux propriétés organoleptiques des médicaments. Ainsi, la recherche de topiques antifongiques de meilleure qualité mériterait d'être encouragée.
- Le développement de stimulants de l'appétit, comme les molécules orexigènes, et l'amélioration des propriétés organoleptiques des suppléments nutritifs constituent deux aspects importants d'une meilleure prise en charge de la dénutrition.

La mise en synergie du savoir-faire industriel et des compétences disponibles dans le domaine de la chimie devrait permettre de mener à bien ces perfectionnements.

Adapter la recherche thérapeutique

Pour ne pas perdre le bénéfice des efforts considérables développés en amont, la recherche clinique doit s'adapter au contexte évolutif particulier de l'affection à VIH.

La multiplication des traitements antiviraux en cours d'investigation conduisent à augmenter le nombre des essais thérapeutiques. Il est probable que cette augmentation concernera également le traitement des affections associées, y compris le traitement de la dénutrition et la prise en charge psychothérapeutique visant à améliorer la qualité de vie des patients.

Sur le plan de l'organisation, cette multiplication des protocoles de complexité croissante exige un plus grand nombre d'investigateurs formés à cette activité. Il est nécessaire de créer une discipline nouvelle (méthodologie des essais thérapeutiques) en milieu hospitalier, d'autant que l'essai thérapeutique est la recherche clinique essentielle des décennies à venir.

Le groupe d'experts recommande que, dans une prochaine étape, soient définies de nouvelles modalités opérationnelles recenser les compétences

de la recherche publique et privée en matière de modèles expérimentaux, créer les conditions d'une étroite coopération entre recherche publique et industrielle pour la mise en œuvre d'une stratégie optimisée de criblage et inciter les divers acteurs à promouvoir l'amélioration des médicaments existants.

Depuis plusieurs années, l'ANRS coordonne divers programmes de recherche thérapeutique d'amont concernant les thématiques évoquées dans ce document (AC4, ACI4, infections opportunistes) et soutient un grand nombre d'essais thérapeutiques rapportés dans les tableaux suivants.

Essais thérapeutiques terminés mais surveillance maintenue (1)

N°	Nature de l'essai
002	AZT chez les sujets asymptomatiques (Concorde, France-UK)
024	Prévention par l'AZT de la transmission mère-enfant (participation au protocole ACTG 076)
029	Pédiame : essai d'une combinaison de 3 antirétroviraux : AZT + ddI + interféron α (protocole BMS)
031	Vax Syn : immunothérapie active

Essais thérapeutiques en cours

N°	Nature de l'essai
011	Tuberculose, prophylaxie primaire
017 (A)*	DELTA 1 : comparaison AZT-ddI ou AZT+ddC vs AZT seul chez des patients vierges d'AZT
017 (B)*	DELTA 2 : comparaison AZT-ddI ou AZT+ddC vs AZT seul chez des patients ayant reçu au moins 3 mois d'AZT
021*	PENTA 1 : AZT précoce vs AZT différé chez l'enfant asymptomatique ou peu symptomatique
023	CYTOVR : traitement des viémies à CMV par 2 doses de Foscarnet
033	CURAVIUM : traitement curatif de MAIC
034	Traitement des diarrhées à E. Bieneus (microsporidie)
035	Traitement des diarrhées à S. intestinalis (microsporidie)
036	Association 3TC et AZT chez le nouveau-né et le nourrisson (protocole Glaxo)
037	NEURO CMV : Foscarnet + Ganciclovir dans les atteintes neurologiques du CMV
038*	PENTA III : AZT vs AZT + ddC
039	Traitement d'attaque de la toxoplasmose par atovaquone-pyriméthamine ou atovaquone-sulfadiazine (participation au protocole ACTG 237)
040	KOTRIMO : cotrimoxazole en prévention primaire de pneumocystose et toxoplasmose
041*	AZT seul vs AZT + ddC vs AZT + ddC + saquinavir (protocole Roche)
042	Traitement local des lésions cutanées dans la maladie de Kaposi, par cryochirurgie
043	GEN 91 phase Ib, II.

044*	Delavirdine-AZT vs AZT seul (protocole Upjohn M3331/0013-B). Études virologiques
045	Etude du G-CSF au cours des sarcomes de Kaposi pulmonaires ou cutanés étendus
046	DHEA chez les patients VIH+ à un stade avancé : essai pilote
047	Prophylaxie primaire de la toxoplasmose chez les patients intolérants au cotrimoxazole
048*	Immunothérapie chez les patients VIH par TIL-2
049(a)	Prévention de la transmission mère-fœtale en Afrique : 1) AZT/placébo
049(b)	Prévention de la transmission mère-fœtale en Afrique : 2) CbD chlorure de benzalkonium/placébo
050	Etude de l'efficacité et de la tolérance de la vaccination programmée dans la prévention de la transmission mère-enfant du VIH
051	Traitement des lymphomes par des cellules CD8 actives (Labo Applied Immune Sci)
052	Etude de l'indication du changement thérapeutique antirétroviral basée sur la mesure de l'ARN VIH plasmatique (AVL)
053	Traitement de la primo-infection VIH par les associations d'antiviraux
054	Infections à microsporidies (E. Bieneus). Recherche de dose optimale
055	Prophylaxie secondaire de la cryptosporidiose par la paromomycine
056*	PENTA 4 : addition de la 3TC ou placebo 3TC à AZT, ddI ou AZT + ddI
057 (Atlas 1)	DAT + 3TC chez des patients naïfs
058 (Atlas 2)	DAT + 3TC chez des patients déjà traités
059	COTRIMO-CI : prévention en Afrique des infections des patients VIH+
060	Protocole VIRCO-K : évaluation de la maladie de Kaposi chez des patients VIH+ traités par le Foscarnet ou le Ganciclovir pour réinite à CMV

* : au vu des résultats des essais cliniques américains (ACTG 075) et européens (Delta), la recommandation est actuellement de traiter d'emblée un sujet porteur du VIH en thérapie et non plus par l'AZT seul. Dans ces conditions, les comités de coordination des essais thérapeutiques ont décidé d'interrompre ou de modifier le bras "AZT" seul de tous les essais thérapeutiques menés.

(1) Source : ANRS, bulletin d'information n°17, janvier 1996

Recherches thérapeutiques d'amont : infections opportunistes (1)

Pneumocystose	<p>Développement et optimisation de PCR compétitives : application au diagnostic de trois parasitoses opportunistes au cours du sida : pneumocystose, toxoplasmoses et télanthrose.</p> <ul style="list-style-type: none">•Modèle murin de prophylaxie combinée de la pneumocystose et de la toxoplasmos.•Interactions entre une toxine Killer de <i>Pfisia anomala</i> et <i>Pneumocystis carinii</i>. Application au contrôle de la pneumocystose expérimentale par le développement d'un modèle d'immunisation idotypique.•Epidémiologie de la pneumocystose. Apport de la biologie moléculaire. <p>Analyse moléculaire de la différenciation tachyzoite-bradyzoite chez <i>Toxoplasma gondii</i>. Implications dans le contrôle de la réactivation toxoplasmique chez l'immunodéprimé.</p>
Toxoplasmoses	<ul style="list-style-type: none">•Etude du mécanisme biologique de la neurotoxoplasmos.•Identification et clonage des cibles de drogues anti-kystiques chez <i>Toxoplasma gondii</i>.
Cryptosporidioses	<p>Cryptosporidiose intestinale au cours du sida : production locale d'IFNγ et activité antiparasitaire de cette cytokine.</p> <p>Identification de marqueurs moléculaires caractéristiques de l'éclo marmifère de <i>Cryptosporidium parvum</i> par PCR-RFLP.</p> <ul style="list-style-type: none">•Effets des agents anti-cryptosporidium sur le parasite et sur les interactions parasite-cellule entérocytaire.•Co-infections expérimentales par LP-BMS (MAUS) et la bilharziose ou la cryptococcose.

Microsporidioses	<ul style="list-style-type: none"> Modèle expérimental in vivo des microsporidioses intestinales humaines. Etude immunopathologique. Diagnostic des microsporidies par PCR et diagnostic sérologique des microsporidies utilisant des antigènes recombinants. Epidémiologie, pathologie, détection immunologique et traitement de la microsporidiose intestinale au cours du sida. Immunodétection d'E. Biereusi.
Infection à mycobactéries	<ul style="list-style-type: none"> Nouveaux macrolides et fluoroquinolones : Etude des facteurs d'adhésion antibactérienne et mise au point des tests rapides de sensibilité chez Mycobacterium Avium et Mycobacterium Tuberculosis. Utilisation des sérophores de la classe des mycobactéries pour accroître et diversifier l'efficacité des agents antimycobactériens.
Leishmanioses	<ul style="list-style-type: none"> Traitement des co-infections leishmaniose-VIH : chimiosensibilité aux dérivés de l'antimoine des stades promastigotes de Leishmania infantum en culture axénique. Traitement de la leishmaniose au cours du sida : efficacité de formulations vectorisées d'amphotéricine B et de l'interféron gamma sur un modèle murin de leishmaniose viscérale. Traitement de la leishmaniose viscérale expérimentale par pentamidine vectorisée, perspectives dans les co-infections leishmaniose-sida. Modulation du système immunitaire par les dérivés de l'antimoine : perspectives thérapeutiques et prophylaxie. Interactions entre infection par le VIH et infection palustre à Brazzaville.
Infection palustre	
EBV	<ul style="list-style-type: none"> Interactions virus Epstein-Barr-HIV : étude des marqueurs EBV en fonction des stades de l'infection HIV.

(1) Source : ANRS, 1989-1993 : Les recherches soutenues

AC4 – Recherches d'amont : Utilisation des oligonucléotides comme agents thérapeutiques (1)

AC 4/1	Programme triple hélice Étude des possibilités pratiques d'utilisation d'oligonucléotides capables de former une triple hélice soit avec l'ADN, soit avec l'ARN viral.
AC 4/2	Vectorisation et ciblage cellulaire des oligonucléotides Étude des procédés de ciblage pour l'introduction de molécules dans les cellules infectées par le VIH.
AC 4/3	Nouveaux oligonucléotides Conception, synthèse et étude du mode d'action d'oligonucléotides synthétiques originaux dans leur structure chimique, leur cible ou leur mode d'action antivirale.
AC 4/4	Passage transmembranaire des oligonucléotides et aspect tridimensionnel des cibles nucléiques Biologie cellulaire des oligonucléotides : mécanismes de passage transmembranaire (étude de l'endocytose) et de transport cellulaire. Structure tridimensionnelle de l'ARN viral et ses interactions avec l'environnement.
AC 4/5	Utilisation des oligonucléotides antisens sur des modèles animaux Évaluation de l'intérêt de deux systèmes animaux différents (souris SCID/hu et singe Macaque infecté par le SIV) comme modèles pharmacologiques pour l'étude d'oligonucléotides comme agents thérapeutiques.

AC 14 – Recherches d'amont : Étude des protéines virales et cellulaires comme cibles éventuelles de futurs agents antiviraux (1)

AC 14/1	Transcriptase inverse Étude des mécanismes d'interaction entre l'enzyme et ses inhibiteurs, étude de l'efficacité insuffisante de ces inhibiteurs (pénétration cellulaire, phosphorylation...) et de leur toxicité.
AC 14/2	Nucléocapside (NCp7) Étude de la structure et des fonctions de la nucléocapside. Recherche d'inhibiteurs spécifiques de la protéine par criblage (RPR) et dessin moléculaire.
AC 14/3	Intégrase Étude enzymologique et structurale. Criblage systématique d'inhibiteurs (RPR).
AC 14/4	Régulation des protéines du VIH par Tat, Rev, les protéines cellulaires ou l'ARN anti sens
AC 14/5	Protéines virales régulatrices Vpr, Vif, Nef... Enveloppe virale et pénétration cellulaire

(1) Source : ANRS, bulletin d'information n°16, septembre 1995