

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 dénitritions 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 cytomegalovirus 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 cytomegalovirus, 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 récives 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 polynudétyl-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 capsid 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 (*INtégrase 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 messager 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.