

outils supplémentaires

parcours du médicament

Afin de mieux comprendre les questions liées aux traitements, il est nécessaire d'approfondir un peu une spécialité de la médecine qui décrit l'usage des médicaments : la pharmacologie. Il s'agit d'une discipline parfois un peu rébarbative pour celles ou ceux qui n'aiment pas les chiffres. Néanmoins, lorsqu'il s'agit de comprendre les études des nouveaux médicaments par exemple, il est au moins intéressant de connaître la signification des différents paramètres mesurés. Commençons par préciser les deux termes de pharmacologie les plus employés dans les études de médicaments :

- < La **pharmacocinétique** (**PK** - Pharmacokinetics) décrit les relations entre la dose de médicament administrée (définie par la **posologie**) et la concentration de ce médicament retrouvée dans le corps. Cette concentration est le plus souvent mesurée dans le sang.
- < La **pharmacodynamie** (**PD** - Pharmacodynamics) décrit la relation entre la concentration de médicament existant au lieu de son action et l'effet produit par ce médicament, voulu ou non.

On peut résumer cela en disant que la **PK** désigne ce que le corps fait au médicament alors que la **PD** est ce que le médicament fait au corps. L'objectif de la pharmacologie étant précisément de décrire ce que l'administration de tel médicament est capable de produire comme effet, bien connaître les paramètres de PK et PD constitue ici la base.

1 phase biopharmaceutique

Lorsqu'on prend un médicament, cela peut se passer sous diverses formes. La plus classique pour son confort et sa simplicité, est la voie orale, lorsqu'on avale une pilule. Mais ce n'est pas la plus simple. Le processus de digestion est fait pour dégrader les aliments et passer dans le sang les éléments nutritifs utiles. Y faire passer des molécules



pharmaceutiques nécessite une technique habile pour éviter leur destruction et faciliter leur passage. L'injection à l'aide d'une seringue est un peu plus complexe car elles nécessitent un geste professionnel. Il peut s'agir d'injection sous cutanée, intra musculaire, ou par perfusion intraveineuse, appelée voie parentérale, et permettent de moduler la diffusion du produit. D'autres formes d'administration utilisent la diffusion à travers la peau ou les muqueuses, le spray nasal, le patch cutané, les aérosols sont quelques exemples, ou encore la diffusion dans l'intestin, suppositoires. Quelle que soit sa forme, le parcours du médicament dans le corps commence par la phase biopharmaceutique. Pour l'analyser, on la décompose en trois étapes : Libération, Dissolution et Absorption (LDA).

Le médicament peut se décrire comme un ensemble de deux choses : d'une part le principe actif qui est constitué par la substance chimique destinée à agir sur l'organisme et divers composants destinés à permettre, à faciliter, à améliorer son passage dans l'organisme. Ces derniers prennent des formes très diverses selon le mode d'administration, c'est ce qu'on nomme la **forme galénique**.

Le principe actif du médicament est libéré et va se dissoudre dans les liquides de l'organisme. Il pourra alors être absorbé et traverser les membranes de l'organisme afin d'atteindre le sang, plus exactement la partie liquide aqueuse filtrable du sang. Pour simplifier la suite de ce propos, on parlera simplement du sang pour considérer le liquide dans lequel est dissous le principe actif et du médicament, de la molécule ou du produit pour désigner seulement le principe actif lui-même.

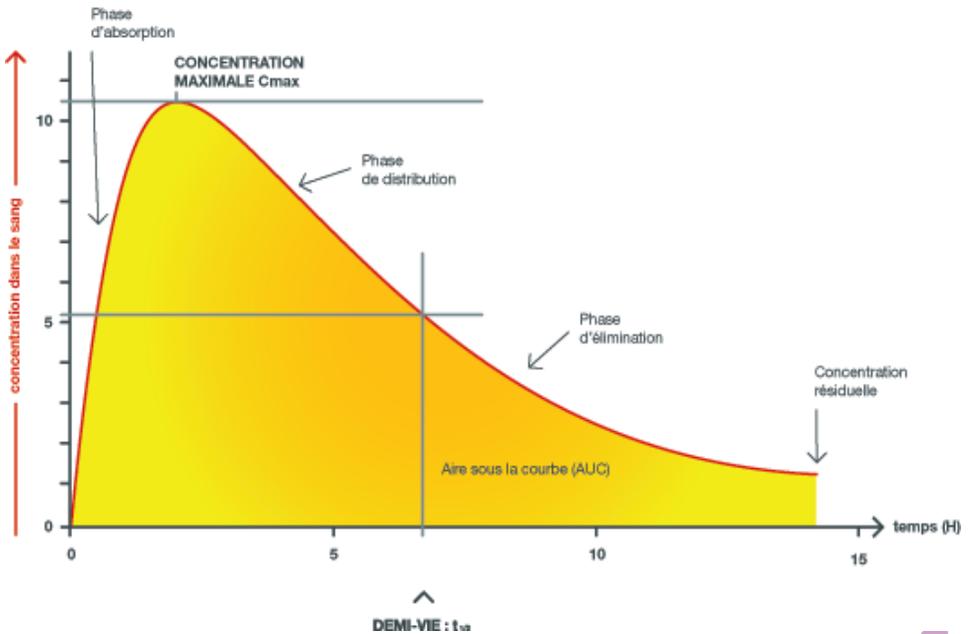
Bien que la plus utilisée, la voie orale n'est pas la plus simple : le passage de l'estomac ou l'intestin dans le sang est plus ou moins rapide et facile et une partie du produit peut être éliminée sans même passer dans le sang. La prise de nourriture ou non peut tout changer et constituer un facilitateur ou au contraire une gêne.

2 pharmacocinétique

Le passage d'un médicament dans le corps peut être analysé en quatre temps : l'Absorption, la Distribution, le Métabolisme et l'Excrétion (A D M E). En mesurant la concentration de médicament dans le sang, on peut établir la courbe d'évolution de cette concentration au fil du temps. Ceci permet d'analyser les différentes phases de la pharmacocinétique.

< **L'absorption** : quelle que soit la forme galénique du médicament, l'absorption étudie le passage du principe actif dans la circulation sanguine. Le résultat est une augmentation progressive de la concentration dans le sang jusqu'à un maximum, la concentration maximale ou C_{max} . Cette valeur peut varier d'une personne à l'autre selon de très nombreux paramètres. Ils dépendent bien entendu de la voie utilisée pour l'administration du médicament.

Fig. 46 Courbe de concentration - temps typique d'un médicament pris par voie orale



< La **distribution** : l'espace dans lequel un médicament va se diffuser dépend de la cible qu'il vise et donc de sa conception mais aussi de nombreux autres paramètres plus ou moins maîtrisés au départ, puis étudiés lors des recherches menées pendant la phase de développement du produit. En général, la baisse initiale de concentration dans le sang correspond à la diffusion du produit dans les tissus. Ce transfert peut éventuellement s'arrêter lorsqu'un équilibre existe entre la concentration dans le sang et celle dans les tissus. Les pharmaciens considèrent la distribution comme un volume. Il est proportionnel à la quantité de médicament absorbé et inversement proportionnel à la concentration dans le sang.

< Le **métabolisme** : c'est l'ensemble des réactions biochimiques catalysées par des enzymes spécifiques qui se décomposent en synthèses (**anabolisme**) et en dégradations (**catabolisme**). Le corps élimine inévitablement toutes les substances dont il n'a pas besoin. Les médicaments font partie la plupart du temps des substances à éliminer. Mais cette élimination nécessite parfois une transformation chimique, capable de faciliter, voire de permettre l'excrétion. Le foie est l'organe majeur pour le métabolisme des médicaments. Son rôle consiste principalement à rendre soluble dans l'eau des molécules qui ne le sont pas. Il favorise ainsi leur élimination. Cette opération a lieu généralement en deux phases. La première se nomme conjugation. Elle est réalisée par

une famille d'enzymes fabriqués par les cellules du foie, les cytochromes P-450 (CYP450). Cette famille est responsable du métabolisme de nombreuses substances chimiques. Six enzymes de cette famille sont responsables de la transformation de la plupart des médicaments. Ils sont siglés : CYP 1A2, 2C9/10, 2C19, 2D6, 2E1, 3A. La quantité produite varie avec de nombreux facteurs dont l'âge ou le sexe ou des différences génétiques comme les caractères ethniques des personnes. Cela rend la vitesse et l'efficacité de l'élimination très variable d'une personne à l'autre. La deuxième phase est assurée par d'autres enzymes appelées transférases. Elles assurent la solubilité dans l'eau des produits de la première phase.

Les unités de la pharmacologie

En pharmacologie, les quantités de produits mesurées sont souvent très petites. Les balances de pharmaciens sont, comme celles des diamantaires, bien connues pour être capables de mesurer des poids très petits. Ainsi, les mesures de concentration sont souvent exprimées avec des valeurs très faibles, soit en microgrammes (millionième de gramme) par millilitre, millième de litre) ou $\mu\text{g/ml}$ ou en milliardièmes de grammes (nanogrammes) par millilitre : ng/ml .

Mais une unité de quantité de matière particulière aux chimistes est souvent employée : la mole. Elle correspond à la quantité que représentent NA molécules du produit considéré. Le nombre NA, appelé nombre d'Avogadro, correspond au nombre d'atomes de carbone contenu dans 12 grammes de carbone pur. Dans le système de mesures international, il est égal à $6,022\ 141\ 79 \times 10^{23}$. Plus simplement exprimé, une mole contient environ six cent mille milliards de milliards de molécules.

On comprend donc bien que le poids de cette quantité varie d'une molécule à l'autre, puisqu'il dépend de la composition de cette molécule. Par exemple, l'AZT est une molécule ($\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$) qui contient 10 atomes de carbone, 13 atomes d'hydrogène, 5 atomes d'azote et 4 atomes d'oxygène. Tout additionné, la mole d'AZT pèse 267,241938 g, une bonne demi-livre, dirait-on chez l'épicier. Tandis que la mole de saquinavir ($\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_6\text{O}_5$) pèse 670,842501 g.

Ces quantités sont plutôt importantes comparées à une gélule. C'est pourquoi, les mesures de concentration s'expriment plus souvent en millionième de mole ou micro-mole par millilitre : $\mu\text{M/ml}$, voire en milliardième de mole ou nano-mole par millilitre : nM/ml . En effet, la nano-mole ne compte « plus que » six cent mille milliards de molécules ! Et la nano-mole d'AZT ne pèse plus que 0,000 000 267... grammes, soit encore 0,267 micro grammes ou 267 nano-grammes.

C'est encore un peu grand pour exprimer, par exemple, le poids de médicament qui pénètre dans une cellule, la quantité intracellulaire. Les pharmaciens utilisent alors le pico-gramme, soit un millième de nano-gramme ou le femto-gramme, un millionième de nano-gramme.

< **L'excrétion** : la plupart des produits, lorsqu'ils sont assez petits et solubles dans l'eau ou lorsqu'ils ont été métabolisés par le foie, sont éliminés par filtration du sang, excrétés, par les reins pour se retrouver dans les urines. D'autres voies d'excrétion existent : la transpiration, la bile, la matière fécale.

< **L'élimination en chiffres** : c'est un processus plus ou moins complexe qui comporte plusieurs aspects. Pour la plupart des médicaments, l'élimination est directement liée à la quantité de produit dans le sang. Ainsi, lorsque l'on observe l'évolution de la concentration du médicament dans le sang, on caractérise cette élimination par la mesure de ce qui est appelé la **demi-vie** ($t_{1/2}$) du produit. Il s'agit du temps qu'il faut pour diviser la concentration par deux. Ainsi, un produit dont la demi-vie est de quatre heures verra sa concentration passer de 80mg/l à 40mg/l en quatre heures. Puis il faudra encore quatre heures ($t_{1/2}$) pour atteindre 20mg/l. Au bout de cinq fois la demi-vie, on aura éliminé 97 % du médicament. Cette valeur de cinq fois la demi-vie est prise comme base de calcul pour évaluer le dosage des médicaments.

Pour exprimer l'élimination d'un médicament, les pharmacologues emploient aussi la **clairance**. Cette valeur exprime la proportion de produit éliminé du sang dans un organe en fonction du débit qui le traverse. Ainsi, on parle par exemple de clairance rénale pour exprimer en chiffres l'élimination d'un médicament par les reins. Il existe différentes manières de calculer la clairance. L'une d'elles consiste à diviser la dose de médicament administrée par autre paramètre : l'**aire sous la courbe** de concentration (**AUC - area under the concentration-time curve**). Les recherches s'intéressent donc à l'une ou l'autre de ces mesures puisqu'elles sont directement dépendantes l'une de l'autre. Ainsi, par exemple, si la valeur de l'aire sous la courbe est doublée par rapport à la normale à cause d'une interaction entre deux médicaments, il suffira de diviser la dose du médicament mesuré par deux pour retrouver sa valeur initiale.

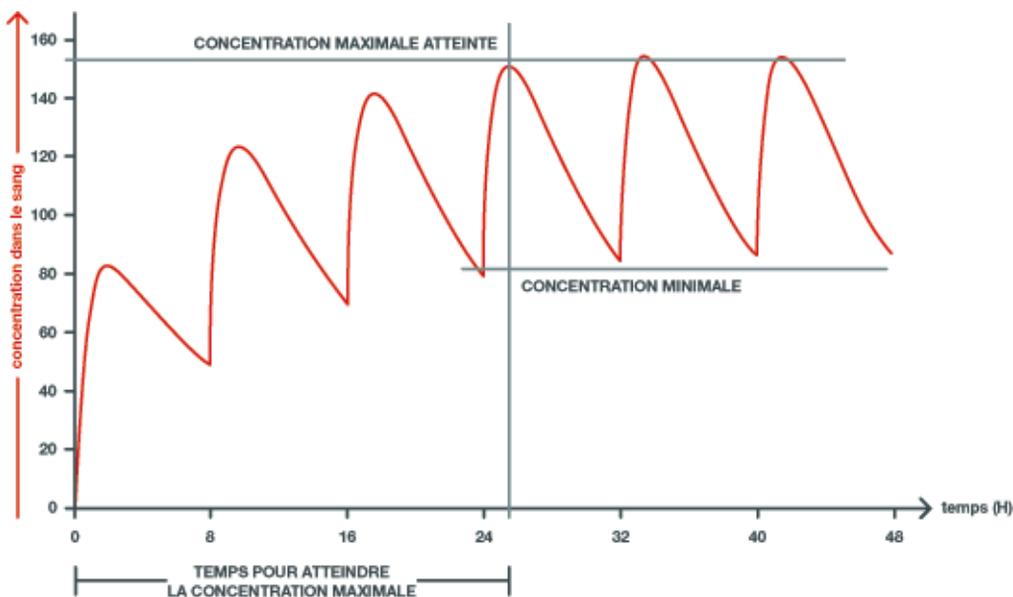
< **Traitement continu** : comme pour de nombreux traitements de maladies chroniques, les antirétroviraux sont des traitements pris au long cours. Dans le cas de prises successives, la courbe de concentration montre une succession de phases d'absorption et d'élimination qui progresse jusqu'à atteindre une valeur stable. Celle-ci délimite une concentration maximale et une concentration minimale permanente.

Ces valeurs dépendent de la quantité de médicament absorbée à chaque prise mais aussi du temps qui sépare deux prises consécutives. Plus les doses sont fortes, plus la concentration maximale sera élevée. Plus le temps est long, plus la concentration minimale est basse.

Les paramètres que l'on mesure dans le cas de traitements continus sont donc :

- < la concentration maximale atteinte
- < la concentration minimale,
- < le temps pour atteindre la concentration maximale.

Fig. 47 Courbe de concentration d'un traitement continu

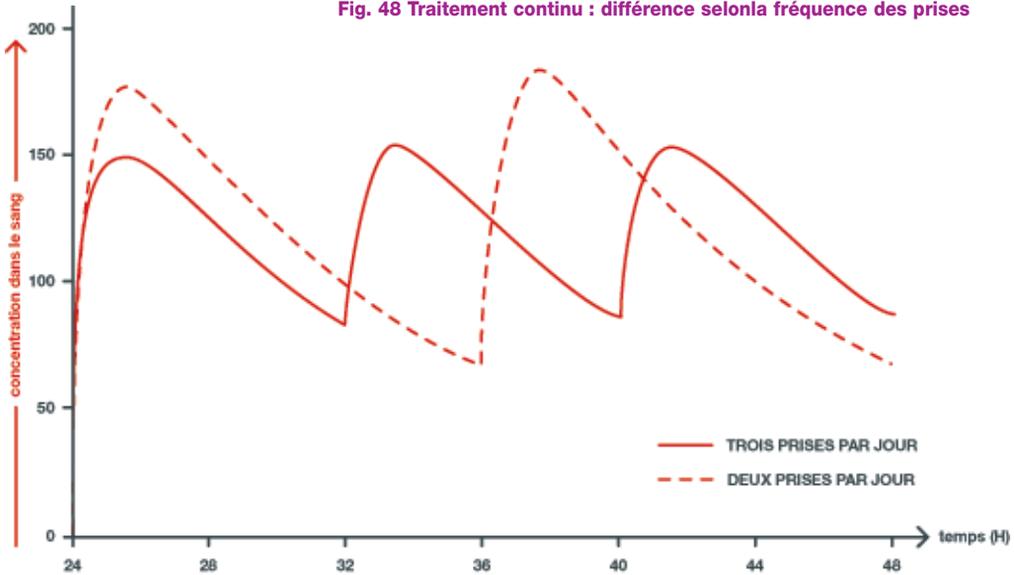


3 pharmacodynamie

Mesurer l'efficacité d'un médicament peut se faire de multiples manières. Ainsi, dans le cas des antirétroviraux, on peut très bien considérer l'effet produit sur le compte de lymphocytes T CD4+ dans le sang. Depuis 1995, la charge virale (le nombre de copies d'ARN viral trouvé par millilitre de sang) est considérée comme le meilleur **marqueur** de l'efficacité des traitements antirétroviraux. C'est donc le plus souvent cette mesure qui va permettre de caractériser leur pharmacodynamie par exemple en évaluant quelle concentration de médicament provoque quelle diminution de charge virale.

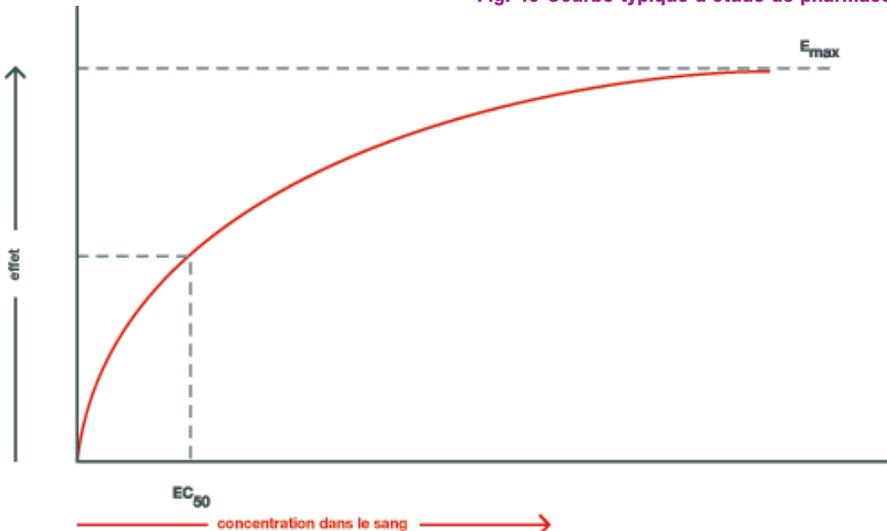
Le modèle généralement adopté pour caractériser cette efficacité est une courbe montrant la variation du paramètre qui caractérise le mieux l'effet recherché en fonction de la concentration de médicament.

Fig. 48 Traitement continu : différence selon la fréquence des prises



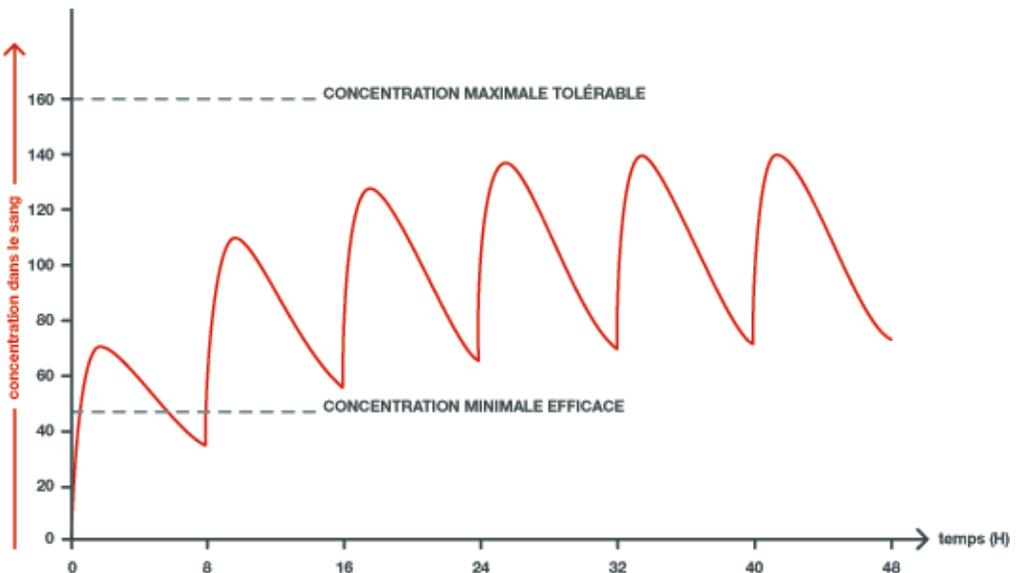
Ce modèle décrit l'efficacité maximale (E_{max}) comme une valeur limite au-delà de laquelle il ne sert plus à rien de chercher à augmenter la concentration. Pour caractériser la courbe de montée en puissance, on cherche souvent à connaître la concentration qui permet d'atteindre la moitié de cette efficacité maximale, soit donc 50 % de E_{max} . Cette valeur est appelée EC_{50} . On peut de même définir l'efficacité à 90 % de la concentration maximale : EC_{90} .

Fig. 49 Courbe typique d'étude de pharmacodynamie



L'étude de l'efficacité d'un antirétroviral se fait souvent au laboratoire, in vitro. Ce que l'on cherche alors à connaître, c'est la capacité du médicament à réduire la réplication du virus. On cultive donc le virus dans un milieu de cellules susceptibles d'être infectées et on mesure la quantité de virus produit. L'introduction du médicament à tester dans la même culture permet de mesurer de combien la molécule testée réduit la production de virus. On parle alors de concentration d'inhibition qui s'expriment en I_{max} , IC_{50} ou IC_{90} . Mais le niveau d'efficacité maximum ne correspond pas forcément à la concentration maximale dans le sang. D'une part, il faut se garder une marge de manœuvre pour que, malgré les différences entre personnes, l'efficacité soit toujours suffisante. D'autre part, pour un traitement en continu, il existe cette variation de concentration d'une prise à l'autre. Il est donc nécessaire lors des essais cliniques de déterminer la dose à administrer pour atteindre à la concentration minimale efficace qui atteint le seuil d'efficacité requis du médicament. Cependant, la plupart des médicaments sont aussi toxiques, tout au moins, ils provoquent des effets secondaires qui peuvent aller jusqu'à devenir intolérables. Les essais cliniques permettent de déterminer ce seuil de tolérance qui devient alors un maximum à ne pas dépasser : la concentration maximale tolérable. Lors des essais cliniques, les produits testés dont ce seuil de tolérance ne permet pas d'atteindre une efficacité suffisante au seuil de concentration minimale sont éliminés.

Fig. 50 Limites de concentration recherchées pour un traitement continu



4 quelques remarques supplémentaires

< **Multithérapie** : Le fait de mélanger plusieurs médicaments dont l'objectif est le même, comme dans le cas des trithérapies, pose différentes questions. Au niveau pharmacocinétique, les interactions médicamenteuses sont les modifications des concentrations dues à l'influence d'un médicament sur les autres. Au niveau pharmacodynamie, l'efficacité résulte de la combinaison des produits. Ce n'est pas forcément l'addition des effets des produits pris séparément. Il peut exister des synergies - l'ensemble est plus efficace que les composants additionnés - ou des antagonismes. Mais il faut aussi tenir compte des différences qui peuvent exister entre les temps mis pour atteindre la concentration maximale ou entre les demi-vies. En effet, lorsque ces différences sont importantes, l'exposition à la combinaison n'est que partielle au démarrage ou à l'arrêt du traitement combiné.

< **Compartiments** : cette description de la pharmacologie reste bien entendu plutôt simple. Elle ignore donc certains problèmes qui viennent compliquer la tâche des cliniciens. Ainsi, la concentration de médicament peut varier d'un endroit du corps à l'autre selon la facilité qu'ont les molécules utilisées à y parvenir. Or dans notre cas, le VIH est assez petit pour se disséminer assez largement en dehors de la circulation sanguine. Si le médicament ne parvient pas dans une zone où le virus pénètre, cela peut créer des compartiments où la réplication virale peut subsister. Avec une trithérapie, les choses se compliquent encore un peu plus parce que la pénétration des différents médicaments associés peut être différente. Cela revient alors à exercer une pression sur la réplication virale différente selon les compartiments.

L'effet booster

Malgré l'euphorie apparue avec le succès thérapeutique due aux premières antiprotéases, la vie des personnes qui ont eu accès aux premières trithérapies n'était pas facilitée par le nombre de gélules et de prises quotidiennes de ces traitements. En effet, ces molécules étaient rapidement éliminées par l'organisme et il fallait sans cesse rajouter du produit pour maintenir le seuil d'efficacité de produit dans le sang. Le traitement en trois prises par jour était à ce moment là une règle si l'on voulait atteindre le seuil de concentration minimale requise pour que les produits soient efficaces.

Or, le ritonavir posait aux pharmacologues un problème particulier : son élimination passe, comme beaucoup d'autres médicaments, par une transformation par le cytochrome P-450 3A4. Or la molécule de ritonavir se lie à l'enzyme pendant un temps particulièrement long. Ceci cause un ralentissement de la procédure mais accapare aussi plus longtemps les cytochromes en question, les rendant momentanément indisponibles. Conséquence : l'élimination du ritonavir est plus lente mais celle d'autres produits qui utiliseraient la même voie s'en trouverait également modifiés.

C'est ce qu'on a vite compris, notamment en étudiant des traitements combinant plusieurs inhibiteurs de protéase. Cette interaction médicamenteuse contraignait les utilisateurs de ritonavir à se voir contre indiqués toutes sortes d'autres médicaments qui auraient pu leur être utile.

Or, les cliniciens ont fini par faire de ce problème un bien. Puisque le ritonavir était capable de ralentir l'élimination de certains produits dont la plupart des autres antiprotéases, leur présence dans le sang s'en trouvait allongée. Après quelques essais cliniques pour mettre la technique au point, l'usage de petites doses de ritonavir, en général 100mg, en même temps qu'une autre antiprotéase s'est répandu au point de devenir une recommandation. En effet, non seulement cela permet de rallonger le délai entre prises de médicament, mais cela assure aussi une efficacité plus sûre puisque la concentration efficace est maintenue plus longtemps même si une prise est un peu en retard. C'est pourquoi le ritonavir est aujourd'hui qualifié de « booster ».

Mais cela a aussi fait du ritonavir un produit un peu incontournable pour l'utilisation des antiprotéases. Alors que c'était l'antiprotéase la moins appréciée des malades en raison de ses effets secondaires, le ritonavir à faible dose est devenu un des produits les plus utilisés dans les pays occidentaux pour le plus grand bénéfice de son fabricant, le laboratoire Abbott. En effet, ce médicament est assez instable et doit être conservé au frais. Il est donc difficile de l'employer dans les pays chauds surtout si la population ne dispose pas couramment de réfrigérateur.

Mais pour les autres industriels de la pharmacie, devoir systématiquement passer par l'usage du ritonavir constitue aussi une contrainte. Il aura fallu de nombreuses années pour que certains d'entre eux se mettent à rechercher une autre solution. Plusieurs firmes pharmaceutiques ont actuellement en chantier l'étude d'autres boosters.

Mais l'énorme firme Abbott a fini par sortir de l'inertie que lui conférait ce monopole. Elle devrait enfin proposer une forme stable du ritonavir ne nécessitant plus de réfrigération. Après avoir promis cela aux associations de malades depuis de nombreuses années, ce sera finalement l'inquiétude de la concurrence qui aura eu raison du géant de l'industrie.

résistances du virus

Comme tous les organismes, les virus ont un besoin vital de s'adapter pour survivre, particulièrement lorsqu'ils évoluent dans un milieu hostile. Ils possèdent pour cela des mécanismes d'évolution capables de générer de la diversité génétique. Même en l'absence de contraintes, la population virale contient de nombreux spécimens différents au plan génétique. Cette diversité est créée par la **mutation** d'un ou plusieurs nucléotides dans leur génome intervenant au moment de sa copie. Autrement dit, lorsque la transcriptase inverse procède à la copie de l'ARN viral en ADN, elle commet des erreurs, remplaçant un nucléotide par un autre. Les mutations qui leur confère une résistance à un médicament ne sont alors que des événements rares et dus au hasard dans une population importante.

Tout se passe en effet comme si certains virus présentant des mutations étaient naturellement résistants à un médicament particulier. En quoi consiste exactement la résistance ? Comme cela a été décrit dans la partie consacrée aux antirétroviraux (*voir les antirétroviraux p.97*), certains antirétroviraux agissent en bloquant le mécanisme d'une protéine virale bien précise parce que leur forme est complémentaire d'un endroit bien précis de cette protéine. Ils se fixent donc à cet endroit avec d'autant plus de facilité et de force que leur forme correspond avec précision à leur cible. Or, si le génome viral possède une ou plusieurs mutations précisément à l'endroit où la molécule médicament est supposée se fixer, cette affinité de l'un pour l'autre est moins bonne. Les formes ne correspondent plus exactement. La molécule risque donc au mieux de ne pas rester assez longtemps à l'endroit ciblé, au pire à ne pas du tout pouvoir s'y fixer : c'est le phénomène de **résistance**.

Mais, si le virus tire son avantage de ces mutations, il doit aussi en payer le prix. Les sites de fixation des molécules médicaments ont été sélectionnés parce qu'ils ont une fonction essentielle dans le cycle de reproduction du virus. Ce sont pour l'essentiel des sites de catalyse des enzymes viraux. Le fait de modifier ne serait-ce que légèrement leur aspect les rend aussi éventuellement moins efficaces. Leur fonction ne va pas s'effectuer à la même vitesse, ou bien moins souvent ou encore pas du tout. Et la reproduction virale s'en trouvera ralentie, voire bloquée. On parle alors de réduction de **vigueur** du virus (en anglais : fitness).

Ainsi, dans une population immense de virus, ceux qui sont capables de se reproduire le plus vite et le mieux vont voir leur nombre augmenter rapidement. Ils constituent alors la sous-population majoritaire. Il s'agit là souvent de virus ayant subi peu de mutations par rapport au virus initial que l'on nomme : **virus sauvage** (wild type virus). Au contraire, ceux dont la vigueur est moindre se reproduisant lentement, leur nombre sera faible et ils constitueront des sous-populations d'autant plus minoritaires que leur vigueur est réduite. À l'extrême, des virus ayant subi des mutations les rendant incapables d'infecter d'autres cellules disparaîtront totalement.

Dans ce contexte, si maintenant on introduit un antirétroviral, celui-ci étant capable de bloquer efficacement une enzyme virale, la transcriptase inverse par exemple, sa présence va créer une **pression de sélection** entre les différentes sous-populations. En effet, tous les virus dont la transcriptase inverse est sensible à ce médicament vont voir leur capacité de reproduction soudain bloquée. Et s'il en existe quelques uns dont la transcriptase inverse possède une ou quelques mutations lui permettant de refouler la molécule médicament, même si leur vigueur est réduite, ils se trouvent alors en capacité de devenir la population dominante parce que la seule à se reproduire.

Les virus résistant aux médicaments ont d'abord été sélectionnés expérimentalement en laboratoire dans des cultures dans lesquelles on augmentait les concentrations d'inhibiteurs. Puis le phénomène a été observé chez des personnes prenant un traitement. L'émergence de résistances virales aux médicaments est ainsi apparue comme une question centrale dans le succès des thérapeutiques antivirales.

1 une cible fortement mutante

La facilité avec laquelle émergent les résistances médicamenteuses chez un virus particulier est en partie déterminée par la variabilité de ce virus. Le taux de mutation du génome du VIH est élevé parce que la transcriptase inverse du VIH ne possède pas d'opération de vérification de lecture et est ainsi très enclin aux erreurs, comme le sont d'ailleurs tous les virus à simple chaîne d'ARN. En d'autres termes, la transcriptase inverse du VIH ne peut pas vérifier que la correspondance des paires de bases est correcte pendant la synthèse de la double chaîne d'ADN à partir du modèle du génome d'ARN du VIH et un nucléotide peut se substituer **par hasard** à un autre.

De simples changements dans la séquence de nucléotides originale constituent des mutations ponctuelles dans les codons (un groupe de trois nucléotides qui code pour un acide aminé précis) et peuvent provoquer une **substitution d'acides aminés** dans la protéine virale pour laquelle ils codent et en conséquence induire un changement de la structure et de la fonction de la protéine.

Le génome du VIH contient environ 10 000 bases nucléotidiques et l'on estime que le taux d'erreur de la transcriptase inverse se situe à **1 nucléotide pour 10 000 environ par réplication**. Il est aisé d'apprécier l'impact de ce taux de mutation sur la variabilité du VIH dans le contexte d'un renouvellement très élevé du virus chez les personnes infectées. On estime à 10 milliards le nombre de nouvelles particules VIH produites par jour chez une personne, ce qui signifie que **toutes les mutations ponctuelles peuvent être produites journallement**. C'est pour cette raison que le VIH existe sous la forme de multiples variants hétérogènes chez une personne infectée avec **plus de 1 000 sous-populations de VIH coexistant à tout instant**, même en l'absence d'une pression sélective.

La majorité des variants du VIH générés ne sont pas viables, mais d'autres mutations n'ont que peu ou pas d'effet sur la vigueur du virus. Les mutations de certains sites qui modifient notablement les protéines virales peuvent :

- < affecter sa virulence (la faculté qu'a le virus de rendre malade) ;
- < affecter sa vigueur (la faculté qu'a le virus à se répliquer et à concurrencer les autres populations virales) ;
- < conférer au virus une résistance aux médicaments antirétroviraux.

La prédominance de n'importe quelle simple mutation dépend à la fois du taux de mutation et de la vigueur du virus mutant résultant. La prédominance d'un variant viral peut évoluer dans le temps selon la pression sélective et le hasard. Un virus variant résistant qui fonctionne doit posséder une mutation lui conférant une résistance qui ne doit pas gêner la fonction normale de l'enzyme muté, de sorte que le virus soit capable de se répliquer et de produire d'autres virus variants en présence du médicament. Sous la pression sélective de médicament antirétroviral, différents variants résistants peuvent apparaître mais le mutant le plus robuste a de fortes chances de devenir dominant dans cet environnement. Une application au premier degré du proverbe : Au royaume des aveugles, les borgnes sont rois.

2 pression de sélection

Ainsi qu'il a été décrit, les mutations du génome viral qui confèrent une résistance se produisent fréquemment durant l'infection, indépendamment de la présence de médicaments. De plus, le taux de mutation de la population virale dépend du nombre de virus présents. Autrement dit, plus la charge virale est élevée, plus la diversification des virus est favorisée. Et en l'occurrence, le contraire est vrai ! une charge virale basse est défavorable à l'apparition de résistances. À l'extrême, lorsque la réplication du virus est bloquée, le risque de nouvelles mutations n'existe plus. C'est là exactement l'objectif des traitements antirétroviraux hautement actifs (HAART en anglais). Dès lors, il est clair que la moindre faiblesse du traitement est favorable à l'émergence de mutations conférant éventuellement une résistance à l'un des médicaments composant la thérapie.

Pour autant, il n'y a pas que les antirétroviraux qui puissent exercer une pression de sélection sur la population virale. Dès la contamination et les premiers cycles de réplication du VIH, les conditions de son environnement exercent plus ou moins une telle pression. Les observations récentes de l'évolution du virus pendant les premiers temps de la primo-infection montrent que le **virus s'adapte** à son hôte. Et puis, très vite, le **système immunitaire** commence à développer ses premières attaques. Comme pour les antirétroviraux, la reconnaissance de peptides viraux par les lymphocytes T cytotoxiques puis par des anticorps anti-VIH constituent aussi une pression de sélection

sur la population virale. La rapidité d'évolution du VIH constitue là un atout essentiel : la course est lancée. Tant que le virus est capable, en se reproduisant assez rapidement, de générer suffisamment de diversité pour qu'il en émerge toujours un virus capable d'échapper à ses poursuivants, c'est lui qui gagne la bataille. Les sous-populations se suivent ainsi et se remplacent à la faveur des attaques développées par le système immunitaire qui poursuit aussi la lutte avec acharnement.

Il est intéressant de noter au passage que l'évolution des lentivirus à l'origine du VIH l'ont doté de la structure la plus adaptée pour survivre aux attaques de l'immunité. Par exemple, la protéine la plus « visible » de l'extérieur, la protéine d'enveloppe gp120, est aussi celle qui subit le plus de mutations. La construction de ces protéines est telle que les parties sensibles, les sites d'accroche aux récepteurs cellulaires, sont protégés et leur temps d'apparition ne laisse que peu d'opportunité à d'éventuels anticorps de les « voir ». Par ailleurs, les enzymes et les autres protéines ont des fonctions assez grossières, supportant aisément des changements de forme. D'ailleurs, plus la transcriptase inverse est l'objet de mutations, plus elle est susceptible de se tromper en recopiant l'ARN et plus elle génère de diversité.

Mais nous sommes avant tout des observateurs de la réponse immunitaire connue et bien décrite pour être très variable d'une personne à l'autre. On a ainsi trouvé des personnes, trop rarement hélas, dont l'immunité est capable de maîtriser le développement du VIH, les **HIV-controllers**. Des études sont menées afin de découvrir s'il est possible d'apprendre de leurs mécanismes de défense des leçons capables d'aider les autres personnes. Par ailleurs, de nombreuses recherches ont eu lieu ou se poursuivent toujours pour trouver un moyen de renforcer l'immunité naturelle dans sa lutte contre le VIH. Mais il n'existe à ce jour aucune piste confirmée en **immunothérapie** capable de modifier efficacement le cours de la maladie. C'est pour cela que la question des résistances reste avant tout un obstacle à une thérapie antirétrovirale efficace.

Dans un cas comme dans l'autre, la prédominance d'une sous-population virale possédant des mutations lui conférant une résistance dépend :

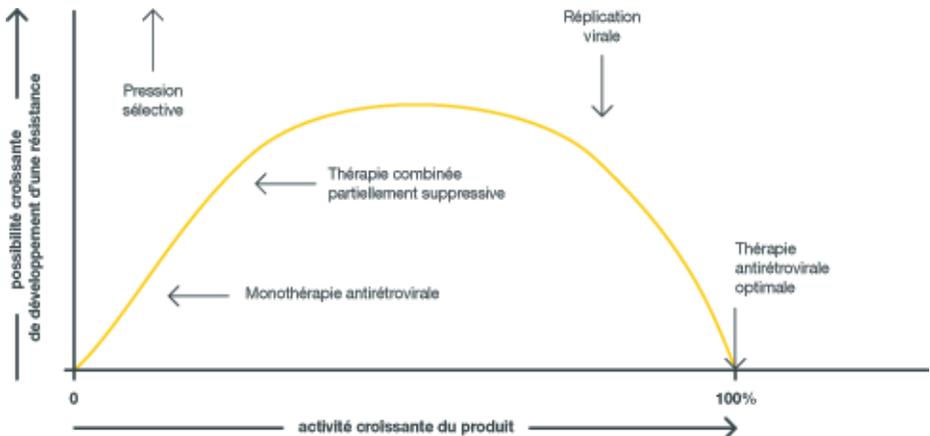
- < du taux de mutation ;
- < du taux de renouvellement du virus ;
- < de la vigueur des virus possédant cette mutation.

Dans les tubes à essais de laboratoire, on observe que des virus résistants ne s'accumulent en quantité détectable qu'en présence d'un médicament antirétroviral. Autrement dit, la pression de sélection d'un médicament est nécessaire pour faire

émerger une population possédant des mutations qui confèrent une résistance à cette pression. Si la dose de médicament utilisée n'est pas assez efficace pour supprimer totalement la réplication virale, elle permet la production de virus mutants parmi lesquels une sous-population résistante peut apparaître. Avec un médicament plus puissant, la pression sélective qui s'exerce sur la population virale est supérieure, provoquant une émergence plus rapide de variants résistants. En augmentant encore la puissance du médicament, la réplication virale décroît jusqu'à la limite à laquelle la probabilité d'apparition de résistance disparaît. Il s'agit là d'un raisonnement de principe qui ne doit pas masquer les nombreux facteurs capables d'influencer l'apparition de variants résistants du VIH.

Des VIH résistants à tous les antirétroviraux utilisés ont été isolés en laboratoire ainsi que chez les personnes infectées. Bien que de nombreuses causes à leur apparition puisse être invoquée tel que l'activité immunitaire, la résistance aux médicaments antirétroviraux est considérée comme la cause première de l'**échec thérapeutique** de l'infection à VIH. Il reste alors au clinicien à en déterminer l'origine. La première cause connue est l'irrégularité des prises de médicaments. Les effets indésirables des médicaments ressentis sont le plus souvent à l'origine de ces irrégularités surtout pour les personnes pour qui il s'agit d'un premier traitement, ce que les cliniciens appellent l'**adhérence** au traitement.

Fig. 51 Activité du médicament et développement de résistance



3 décrire les mutations

La description des mutations est une chose assez simple pour quelqu'un d'habitué à la biologie. Lorsque ce n'est pas le cas, cet exercice devient vite un jargon totalement incompréhensible. Toutes les difficultés de compréhension peuvent à ce stade être aisément vaincues en se référant, si le besoin s'en fait sentir, au premier chapitre de ce guide.

Pour le reste, le mieux est de prendre un exemple. la fig. 53 présente les différentes étapes de la reproduction du VIH à travers l'exemple du gène de la protéase : la copie de l'ARN viral en ADN par la transcriptase inverse au moment de l'infection puis la transcription de cet ADN en ARN messager par la transcriptase cellulaire et enfin la traduction de l'ARN messager en protéine par les ribosomes. Les acides aminés formant la protéase ont été numérotés de 1 à 99.

La première moitié de la figure représente ce schéma partant du génome du virus sauvage de référence. La deuxième moitié montre le même schéma mais dans lequel sont représentées les mutations connues comme étant capables de conférer une résistance de la protéase à un inhibiteur, le lopinavir. Bien entendu, puisqu'elles sont générées de manière aléatoire, toute autre mutation est possible. Ici, le schéma ne présente que les mutations conférant une résistance de la protéase au lopinavir.

En consultant la base française d'interprétation des résistances pour le lopinavir, on trouve le contenu suivant :

Fig. 52 R résumé des mutations associées au lopinavir

	Mutations associées à une résistance	Mutations associées à une « possible résistance »
LPV/r	- Au moins 6 mutations parmi : L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M - I47A - L76V	- 4 ou 5 mutations parmi : L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M

Les mutations présentées dans la fig.53 correspondent au tableau ci-dessus. Une mutation dans ce tableau, par exemple L76V doit se comprendre ainsi : l'acide aminé en position 76 de la protéase de référence est une Leucine, « L ». Remplacé par une Phenylalanine « F », la protéine devient résistance au lopinavir. L'écriture « L10F/I/R/V » signifie simplement qu'à la position 10, la résistance peut être due à un remplacement de la Leucine « L » par une Phenylalanine « F » ou une Isoleucine « I », une aRginine « R » ou encore une Valine « V ».

Fig. 53 Mutations de résistance au lopinavir dans la protéase

Le gène de la protéase et sa traduction

ARN viral >...AACUUCUCCAGAUACACUCUUUGGCAACGACCCUUGUCACAUAAAGAUAGGGGGGCAACUAAAGGAAGGCUAUUUUGAUACAGGACGACGAUGAUACAGUAUUA ---->
Copie ADN >...TTGAAGGGAGTCTAGTGAGAAACGTTGCTGGGAGCAGTGTATTCTTATCCCCCGTTGATTTCTTCCAGATAATCTATGTCCTCGTACTATGTCATAAT ---->
ARN messenger...AACUUCUCCAGAUACACUCUUUGGCAACGACCCUUGUCACAUAAAGAUAGGGGGGCAACUAAAGGAAGGCUAUUUUGAUACAGGACGACGAUGAUACAGUAUUA ---->
Protéase > P Q I T L W Q R P L V T I K I G G Q L K E A L L D T G A D D T V L ---->
position 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33

----> GAAGAAUAGUUUGGAGGAAAGGAAACCAAAAUAUGAGGGGAAUUGGAGGUUUUUUCAAAGUAGACGACGAUGAUACAGTACAGUACUCUAGAAAUUC ---->
----> CTCTTTTACTAAACGGTCTTACTACCTTTGGTTTTTACTATCCCTTAACTCCMAAATAGTTTCATCTGTCATACTAGTACTAGTACTTTTAG ---->
----> GAAGAAUAGUUUGGAGGAAAGGAAACCAAAAUAUGAGGGGAAUUGGAGGUUUUUUCAAAGUAGACGACGAUGAUACAGTACAGUACUCUAGAAAUUC ---->
----> E E M S L P G R W K P K M I G G I G G F I K V R Q Y D Q I L I E I ---->
34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66

----> UGUGACAUAAAGCUUAGGUACAGUAUUAGUAGGACCUACACUUGUCACUAAUUUGGAGAAAUUCUGUUGACUCAGAUUGGUUGCCUUAUUUUUUCCCAUU...
----> ACACCTGATTTCCGATCCATGTCATAATCATCTGGATGGACAGTGTATTAACTCTTTAGACAACTGAGTAAACCACGTAAGATTTTAAAGGTTAA...
----> UGUGACAUAAAGCUUAGGUACAGUAUUAGUAGGACCUACACUUGUCACUAAUUUGGAGAAAUUCUGUUGACUCAGAUUGGUUGCCUUAUUUUUUCCCAUU...
----> C G H K A I G T V L V G P T P V N I I G R N L L T K I G C T L N F
67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

Mutations dans le gène de la protéase conférant une résistance au lopinavir :

- en orange : la résistance est acquise pour au moins six mutations de cette série
- en blanc : la résistance est acquise avec seulement une seule de ces mutations

Les mutations ont lieu lors de la copie par la transcriptase inverse de l'ARN viral en ADN pro-viral

ARN viral >...AACUUCUCCAGAUACACUCUUUGGCAACGACCCUUGUCACAUAAAGAUAGGGGGGCAACUAAAGGAAGGCUAUUUUGAUACAGGACGACGAUGAUACAGUAUUA ---->
Copie ADN >...TTGAAGGGAGTCTAGTGAGAAACGTTGCTGGGAGCAGTGTATTCTTATCCCCCGTTGATTTCTTCCAGATAATCTATGTCCTCGTACTATGTCATAA ---->
ARN messenger...AACUUCUCCAGAUACACUCUUUGGCAACGACCCUUGUCACAUAAAGAUAGGGGGGCAACUAAAGGAAGGCUAUUUUGAUACAGGACGACGAUGAUACAGUAUUA ---->
Protéase > P Q I T L W Q R P L V T I K I G G Q L K E A L I D T G A D D T V F ---->
position 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33

----> GAAGAAUAGUUUGGAGGAAAGGAAACCAAAAUAUGAGGGGAAUUGGAGGUUUUUUCAAAGUAGACGACGAUGAUACAGTACAGUACUCUAGAAAUUC ---->
----> CTCTTTTACTAAACGGTCTTACTACCTTTGGTTTTTATCCCTTAACTCCMAAATAGTTTCATCTGTCATACTAGTACTAGTACTTTTAG ---->
----> GAAGAAUAGUUUGGAGGAAAGGAAACCAAAAUAUGAGGGGAAUUGGAGGUUUUUUCAAAGUAGACGACGAUGAUACAGTACAGUACUCUAGAAAUUC ---->
----> E E M S L P G R W K P K I . V . G V G L R K V R Q Y D Q I P I E I ---->
34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66

----> UGUGACAUAAAGCUUAGGUACAGUAUUAGUAGGACCUACACUUGUCACUAAUUUGGAGAAAUUCUGUUGACUCAGAUUGGUUGCCUUAUUUUUUCCCAUU...
----> ACACCTGATTTCTAGTCCATGTCATAATCATCTGGATGGACAGTGTATTAACTCTTTAGACTAACTCCMAAATAGTTTCATCTGTCATACTAGTACTAGTACTTTTAG...
----> UGUGACAUAAAGCUUAGGUACAGUAUUAGUAGGACCUACACUUGUCACUAAUUUGGAGAAAUUCUGUUGACUCAGAUUGGUUGCCUUAUUUUUUCCCAUU...
----> C G H K V I G T V . V . V G P T P A N V I G R N L R T Q I G C T L N F
67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99

La fig.53 montre que ces mutations ont bien pour origine des erreurs de copie de l'ARN viral par la transcriptase inverse et que la mutation d'un seul nucléotide suffit à changer le résultat de la traduction.

4 mesurer les résistances médicamenteuses

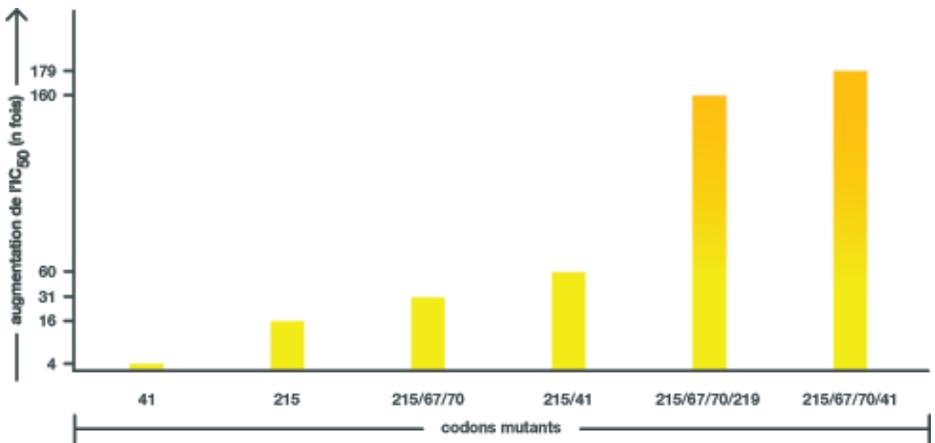
La **sensibilité du virus** aux différentes molécules médicamenteuses est mesurée en réalisant des cultures de virus *in vitro* sur des cellules cibles en présence de médicament. La mesure réalisée s'exprime généralement par l'indice IC₅₀ qui représente la quantité de médicament nécessaire pour réduire la croissance du virus de 50 % (ic = Inhibitory Concentration ou concentration d'inhibition). Elle est exprimée en µg/ml ou en µM/ml (voir le *parcours du médicament* p.117).

Fig. 54 Définitions de quelques termes relatifs aux résistances

IC ₅₀	Concentration de médicament nécessaire pour réduire la croissance du virus de 50%. Mesure de la sensibilité du virus au médicament <i>in vitro</i>
Résistance	Sensibilité décroissante du virus à un médicament
Résistance génotypique	Appellation simplifiée utilisée pour décrire la présence de changements génotypiques (de mutations) à l'origine d'une résistance phénotypique
Résistance phénotypique	Augmentation de l' IC ₅₀ , généralement exprimée comme une augmentation par un facteur n un médicament <i>in vitro</i> . Il a été montré que même une augmentation de 5 à 8 fois de l' IC ₅₀ est cliniquement significative
Résistance <i>in vitro</i>	Résistance phénotypique
Résistance croisée	C'est lorsqu'une mutation due à un médicament A provoque une résistance phénotypique à un médicament B
Test génotypique	Détermination <i>in vitro</i> des mutations ponctuelles du génome viral (séquençage génétique)
Test phénotypique	Détermination <i>in vitro</i> de la sensibilité à un médicament, exprimé en général par l' IC ₅₀

Lorsque les isolats cliniques du VIH, autrement dit les virus prélevés chez une personne, présentent un IC₅₀ supérieur à celui d'un virus sauvage, on dit qu'ils présentent une « **résistance phénotypique** ». Il ne faut pas perdre de vue que la résistance phénotypique est un **phénomène observé *in vitro***, qui se manifeste chez cette personne par une remontée de la charge virale. Mais attention ! L'inverse n'est pas vrai : une remontée de charge virale peut avoir de multiples causes, la résistance n'est qu'une possibilité.

Fig. 55 Diminution de l'efficacité de l'AZT avec l'accumulation de résistances



Dans la pratique clinique, l'analyse des résistances du virus ne se fait plus, en France du moins, à l'aide d'analyses phénotypiques mais en utilisant des tests génotypiques. Les analyses phénotypiques sont compliquées, délicates et prennent du temps, ce qui les rend coûteuses et, de plus, la recherche clinique a montré qu'elles n'étaient pas forcément pertinentes pour le prescripteur.

Les **tests génotypiques** consistent en une analyse de la séquence du génome du virus d'une personne afin d'établir la carte des mutations rencontrées par comparaison avec le génome d'un virus sauvage de référence. Ces analyses sont généralement rapides, simples et peu coûteuses parce que réalisées en routine à partir de kits fournis par des industriels. Souvent, ce n'est pas l'intégralité du génome qui est ainsi analysée mais certains secteurs bien précis susceptibles de présenter des mutations responsables des résistances aux antirétroviraux. Il s'agit surtout du gène *POL* et d'une partie du gène *ENV*. En effet, ce sont là d'une part des gènes des enzymes viraux, protéase, transcriptase inverse et intégrase et d'autre part des sites des protéines d'enveloppe permettant de déterminer les résistances aux inhibiteurs d'entrée, voire même le tropisme du virus.

Mais connaître la liste des mutations n'aide pas forcément le clinicien dans le choix des traitements qui marchent. Il faut savoir **interpréter** cette liste. C'est pour cela que de nombreux spécialistes se réunissent régulièrement afin de discuter de la meilleure interprétation d'une liste donnée de résistances en les associant aux effets sur l'efficacité des différents médicaments. Pour faciliter l'usage des tests, ces spécialistes proposent un **algorithme**, autrement dit, une grille de lecture qui aide à l'interprétation des

résultats. Bien entendu, ces algorithmes sont régulièrement mis à jour afin de tenir compte des dernières découvertes. Le **groupe virologie de l'ANRS** a constitué une de ces bases d'interprétation qui sert de **référence** en France. Elle est disponible sur le site internet : www.hivfrenchresistance.org/

La limite de ces méthodes d'analyse réside dans le principe même de ce qu'on analyse : les mutations. En effet, comme il a été rappelé, le corps d'un séropositif abrite à un moment donné probablement 1000 sous populations virales différentes. De quelle résistance parle-t-on donc ? Certainement de celle de la **population majoritaire**, probablement aussi de quelques autres **sous populations** si le test est suffisamment sensible. Mais certainement pas de quelques **virus ultra minoritaires**. Ceux-là sont pourtant capables d'émerger en une population majoritaire si la pression de sélection adéquate leur est favorable. C'est pourquoi les tests de résistance ne remplacent ni la connaissance de l'histoire de la maladie d'une personne ni l'expérience des spécialistes. L'importance de ces sous populations minoritaires sur l'avenir clinique des personnes est jusqu'à présent une préoccupation un peu théorique. Des recherches sont en cours pour évaluer leur impact réel dans la vie des séropositifs.

Enfin, les **variations génétiques** parfois importantes qui existent entre les types et sous-types viraux font que les mutations responsables de la résistance à telle molécule peuvent être totalement différentes d'un sous-type à l'autre. C'est particulièrement le cas entre VIH-1 M sous-type B et VIH-1 type O, très éloignés génétiquement, et encore plus entre VIH-1 et VIH-2 puisque, par exemple, le gène de la protéase diffère de plus de 50 % de ses bases.

Cas particulier : le tropisme du virus

Le tropisme du virus, c'est sa capacité à utiliser comme co-récepteur d'entrée, soit le récepteur CCR5 ou bien le CXCR4 pour pénétrer dans la cellule cible. Ce tropisme est susceptible d'évoluer chez une personne dans le temps de la maladie. Comme il s'agit finalement d'une différence génétique assez minime, il peut être analysé par les mêmes méthodes que celles employées pour identifier les apparitions de résistances des souches virales.

A ce jour, la firme Pfizer qui commercialise le maraviroc, inhibiteur de CCR5, propose un test de tropisme de type phénotypique. Les principaux inconvénients de ce test ne sont pas surprenant : il est long, cher et donne parfois des résultats erronés.

Les tests génotypiques sont aussi utilisables dans ce cas. Outre un avantage certain de simplicité et de coût, ces tests pourraient faire partie des tests de résistance réalisés aujourd'hui en routine. Le principe est simple : il s'agit d'analyser la partie du gène ENV codant pour le site de la protéine qui interagit avec le co-récepteur d'entrée du virus.

5 résistances croisées et barrière génétique

On définit une **résistance croisée** comme une mutation sélectionnée par un produit, qui engendre une résistance à au moins un autre produit non utilisé dans le traitement. Les résistances croisées apparaissent surtout dans une même classe médicamenteuse. Il n'y a pas de résistance croisée entre les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse et les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse, pas plus qu'entre les inhibiteurs de l'intégrase et les inhibiteurs de protéase.

Les **niveaux de résistance** aux analogues nucléosidiques que confèrent les mutations dans le gène de la transcriptase inverse n'ont pas tous la même importance. Elles ne sont pas non plus toutes responsables de résistance croisée. Sauf pour quelques mutations très efficaces, il faut l'accumulation de plusieurs mutations pour rendre un de ces médicaments totalement inefficace : « on place la barrière plus haut » pourrait-on dire. Il en est de même pour les inhibiteurs de la protéase. Au contraire, pour les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ou pour les anti-intégrase, une ou deux mutations dans les gènes respectifs visés par ces molécules suffisent à les rendre inefficaces. Pour qualifier cela, on parle de **barrière génétique** haute dans le cas des INTI et des IP ou basse pour les INNTI ou les II.

L'un des objectifs primordiaux de la recherche de nouveaux médicaments est bien évidemment de trouver de nouvelles molécules capables de rester efficaces contre des populations de virus ayant acquis des résistances à une ou plusieurs classes de médicaments. Les derniers arrivés ont pour beaucoup été sélectionnés pour cela. C'est évident pour les représentants de nouvelles classes, raltegravir, inhibiteur d'intégrase ou maraviroc, inhibiteur de CCR5. Mais c'est aussi le cas de l'etavirine dans une classe, les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse, où pendant longtemps la résistance à une molécule de la classe signifiait la perte de recours à toute la classe.

6 résistances multiples

L'utilisation sous optimale d'antiviraux (monothérapie, combinaisons réduisant partiellement la charge virale, thérapies de relais insuffisamment efficaces) conduit à l'émergence de variants multi résistants. Avec une histoire de traitements au cours de laquelle les régimes sous optimaux se sont succédés ou en cas d'échecs répétés, les résistances croisées sont fréquentes, ce qui compromet gravement tout traitement antiviral ultérieur.

L'ajout d'un unique produit à un traitement sous optimal est clairement inapproprié, comme thérapie de sauvetage, et s'apparente à une monothérapie de fait. Seule une combinaison conduisant à une suppression maximale de la réplication, assure une totale sensibilité du virus pour chacun de ces produits. Après plusieurs échecs de traitement, les résistances s'accumulent, la composition d'un nouveau traitement devient plus difficile. Les recommandations cliniques considèrent qu'il est nécessaire de disposer d'au moins deux molécules pleinement actives de classes différentes pour prendre le relais d'un échec. Lorsque cela n'est plus possible, on parle d'**impasse thérapeutique**. Seul le développement par l'industrie pharmaceutique de nouveaux traitements efficaces sur des souches devenues résistantes aux anciens permet alors de s'en sortir.

7 archivage des résistances

La coexistence permanente de nombreuses souches virales différentes, capables notamment de faire émerger des résistances peu visibles, constitue déjà une difficulté de l'infection à VIH. En fait, un autre aspect renforce encore cette difficulté : l'**archivage de la diversité** des souches virales. Le principe en a été expliqué dans *persistance de l'infection p.94*. Même une analyse fine des virus circulants ne permet pas de s'assurer totalement qu'une personne ne risque pas de voir apparaître des virus résistants à un traitement qu'on lui propose. Il suffit qu'il y ait une telle souche archivée dans ses réservoirs.

C'est une autre raison pour laquelle la simple lecture des mutations de résistance ne suffit pas à déterminer le traitement qui sera efficace contre un virus donné. L'**histoire thérapeutique** d'une personne permet de présumer de ce qui pourrait se retrouver archivé dans ses réservoirs et éviter des erreurs dans le choix de futurs traitements. En mettant en perspective tous ces concepts, on commence à entrevoir la difficulté que l'on rencontre pour établir une stratégie de traitement qui tienne compte, par exemple, du risque d'archivage de résistances croisées.

origine et histoire

Lorsque, le 5 juin 1981, le CDC (Center for Diseases Control) d'Atlanta aux Etats-Unis publie une alerte sur la recrudescence de cas de pneumocystoses chez cinq hommes homosexuels à Los Angeles, puis que de plus en plus de cas similaires sont recensés, personne ne sait ce qui va suivre. Cet épisode, considéré comme marquant le début de la pandémie de SIDA n'en est pourtant pas l'origine. Il constitue seulement l'événement d'identification que quelque chose d'original ou d'inhabituel est en train de se passer. C'est l'organisation du système de veille sanitaire américain qui a permis d'isoler, dans l'activité médicale du pays, ces cas particuliers et de dire qu'il se passait là quelque chose qui méritait l'attention. Bien entendu, il s'agit du point de départ de tout un travail

de recherche médicale destiné à comprendre de quoi cette maladie était faite et thérapeutique pour trouver des solutions aux personnes contaminées. Mais une autre piste de recherche a aussi vu le jour. Celle consistant à comprendre comment on en était arrivé là. Plus de vingt-cinq ans plus tard, c'est une extraordinaire histoire de l'évolution qu'on reconstitué les équipes ayant travaillé sur ce sujet. C'est la restitution des travaux d'équipes comme Paul M. Sharp et ses collègues (Université de Nottingham, UK), Beatrice H. Hahn et son équipe de l'Université d'Alabama et surtout de l'équipe de Martine Peeters à l'IRD de Montpellier et, récemment, Michael Worobey et ses collègues (Université d'Arizona), qui constituent les lignes qui vont suivre. Mais auparavant, il convient d'écartier quelques hypothèses ou spéculations audacieuses qui ont été avancées pour expliquer l'apparition du sida.

1 fausses pistes

Depuis 1981, la rumeur a fait courir bien des histoires à propos du sida. Tantôt alimentés par des idées moralisatrices, parfois par des fantasmes de complots, de punitions divines en expérience militaire qui a mal tourné, il semble que l'imagination ait été féconde. Les uns se sont appuyés sur le simple fait que les premiers cas aient été identifiés dans la communauté homosexuelle des Etats-Unis, les autres sur l'explosion de la pandémie sur le continent africain. Puis d'autres hypothèses ont été avancées, tentant de répandre l'idée que le lien entre VIH et sida n'allait pas de soi. Ces explications n'ont jamais eu de fondement ni de soutien scientifique.

En revanche, en 1992, quelques scientifiques, à travers un article de Tom Curtis, proposent une théorie selon laquelle le passage du siv (Simian Immunodeficiency Virus, le virus équivalent au VIH chez le singe) à l'homme aurait pour origine une campagne de vaccination antipolio pratiquée sur le territoire de l'actuelle République démocratique du Congo, à l'époque, le Congo belge. Cette thèse reprise par Edward Hooper s'appuie sur la proximité des premiers cas de sida avec les zones de vaccination intensive, ainsi que l'utilisation de reins de singes pour la production de vaccins. Les tenants de cette hypothèse considèrent en effet que la soudaineté de l'apparition du sida et la simultanéité des cas ne peuvent s'expliquer par une transmission accidentelle alors que le singe est chassé depuis longtemps dans ces régions.

Cette explication a néanmoins été réfutée par la communauté scientifique par les preuves apportées de l'innocuité des vaccins utilisés, de l'antériorité de cas de sida sur ces campagnes de vaccination et par la diversité des VIH que cette hypothèse ne permettait pas d'expliquer.

2 les lentivirus dans le règne animal

Les lentivirus, cette famille de virus à laquelle appartient le VIH, sont très répandus dans le règne animal. On en connaît des variétés chez les moutons, les chèvres, les bovins, les chevaux et les chats entre autres. Et puis, il y a les SIV, Simian Immunodeficiency Virus, les virus de l'immunodéficience simienne. On a découvert jusqu'à 39 espèces de primates infectées par un virus de cette famille tandis que de nombreuses espèces n'ont tout simplement pas été explorées jusqu'à présent. Toutes les espèces infectées par un SIV ont été découvertes en Afrique et chacune possède un virus qui lui est propre. Cependant, les SIV n'entraînent pas le développement d'une maladie comme celle des humains, laissant penser que ces espèces sont infectées depuis fort longtemps, probablement des centaines de milliers d'années, et qu'elles se sont adaptées à leur virus.

La diversité génétique des virus simiens est extrêmement complexe et son évolution se poursuit toujours. Les recombinaisons entre virus différents montrent qu'il existe une transmission inter espèces. En comparant ces différents virus, les chercheurs ont pu retracer une certaine histoire, particulièrement pour comprendre les étapes ayant conduit au virus humain. Ainsi, comme l'explique Martine Peeters et ses collègues, le virus du chimpanzé, SIV_{cpz} présente les caractères d'une recombinaison entre SIV_{rcm} (red capped mangabey) et SIV_{gsn} (greater spot-nosed guenons, singe hocheur). Or les chimpanzés sont connus pour chasser et se nourrir de viande animale, notamment de ces primates plus petits. Et c'est précisément un virus de chimpanzé qui présente la plus grande similitude avec les VIH-1 groupes M et N, celui de la sous-espèce Pan troglodites dont la localisation géographique est très précise, à l'ouest de l'Afrique centrale.

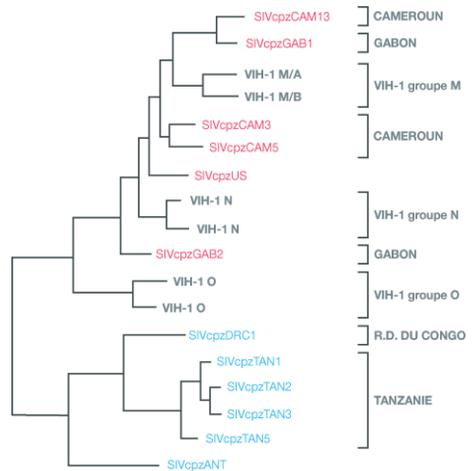
Mais le premier SIV identifié dans l'histoire de la pandémie de sida a été celui du macaque. Contrairement à ses homologues, il a été isolé chez des primates vivant en captivité, des singes de laboratoire. Son autre particularité est de conférer à ses hôtes une maladie similaire à celle des humains. Les recherches menées sur ce virus ont montré qu'il aurait été introduit dans les élevages à la fin des années 1960 à cause d'un contact de ces animaux avec des mangabeys enfumés, porteurs du SIV_{smm} (sooty mangabey). L'apparition récente de la maladie du macaque tient au fait que l'espèce n'y était pas habituée. Elle a ainsi procuré aux chercheurs le seul modèle expérimental animal du sida. C'est à cette transmission que l'on doit l'hypothèse de l'origine simienne du VIH qui ne fut que renforcée par la découverte du VIH-2 en 1986, particulièrement lorsqu'il fut établi que les zones géographiques de présence du mangabey enfumé en Afrique de l'ouest correspondaient exactement à la présence de personnes infectées par le VIH-2.

Enfin, le dernier siv d'intérêt découvert par les chercheurs de l'IRD a été SIV_{gor}, le virus du gorille, un grand singe particulièrement présent au Cameroun. Il vient en quelque sorte compléter le tableau puisque ses caractères génétiques le placent en proche parent du VIH-1 groupe O. Mais il reste encore une part de mystère à creuser pour comprendre si c'est cet animal qui est à l'origine du virus humain ou bien s'il a été contaminé par un chimpanzé également responsable de la contamination humaine.

Fig. 56 Arbre phylogénétique des virus simiens et humains

Les études phylogénétiques

La phylogénie est l'étude de la formation et de l'évolution des organismes vivants en vue d'établir leur parenté. Le mode de représentation d'une phylogénie est appelé **arbre phylogénétique**. Cette représentation est particulièrement connue grâce à la généalogie familiale et aux arbres généalogiques à ceci près que les représentations sous forme de magnifiques planches illustrées représentant un grand chêne portant les noms de tous les ascendants d'une famille ne donne qu'une indication simple de l'organisation de la phylogénie familiale, celle des liens de parenté. Dans les arbres à usage scientifique, tout a son importance : la proximité des branches représente le degré de parenté entre les membres appelés **taxons**, leur longueur exprime l'importance



de la différence génétique qui sépare un noeud d'un nouveau taxon, le noeud figurant un ancêtre commun à deux nouvelles branches. Lorsque l'on connaît la vitesse d'évolution du génome des organismes étudiés, comme c'est le cas pour le VIH (*voir une cible fortement mutante p.128*) cette différence génétique peut être interprétée comme une mesure de temps et permet aussi de savoir combien de temps ou de générations séparent deux taxons.

Ci-contre, à titre d'illustration un arbre phylogénétique des principaux virus de singes apparentés aux virus humains VIH-1 tel que les chercheurs intéressés par cette évolution l'ont construit à partir des données recueillies chez les singes vivant dans la nature. Bien entendu, le travail le plus difficile est d'établir un tel arbre à partir des données recueillies. Bien que des outils mathématiques très performants ont été mis au point pour ce travail, il reste toujours une bonne part d'interprétation manuelle des résultats, notamment pour lever des incertitudes qui font de ces analyses un travail extrêmement minutieux.

Mais le résultat est gratifiant. Il a permis de comprendre l'essentiel de l'histoire des VIH et notamment de dater la transmission inter espèces, du singe à l'homme. Voilà résumé de manière extrêmement simplifiée les éléments qui permettent de comprendre ces arbres phylogénétiques pour lesquels, par ailleurs, il existe de multiples modes de représentation.

3 le passage du singe à l'homme

La diversité des souches du VIH-1 qui circulent en République démocratique du Congo (RDC, ex-Zaïre) est extrêmement élevée, supérieure à celle observée dans les autres pays africains (*voir encadré diversité virale p.86*) et aussi importante que celle rencontrée dans l'ensemble du monde. Les nombreuses analyses menées dans la région montrent qu'une souche virale (groupe M, sous-type A) y est prédominante avec une prévalence proche de 50 %, mais que tous les sous-types du VIH-1, connus à ce jour, sont présents dans ce pays. Au sein même des 10 sous-types viraux circulant en RDC, les chercheurs ont mis en évidence une grande variabilité génétique ainsi que de nombreux virus recombinants. Par ailleurs, certaines souches virales isolées n'appartiennent à aucun des différents sous-types viraux pour l'heure identifiés. Une telle variabilité génétique n'a jamais été observée dans les autres pays du continent africain, notamment en Afrique de l'Est, de l'Ouest ou centrale

Or les régions où l'on observe cette diversité, la partie occidentale de l'Afrique centrale, correspondent justement à celle où l'on retrouve les singes les plus fréquemment exposés aux virus simiens et les plus proches génétiquement des VIH-1. Quant au mode de transmission du singe à l'homme, bien que n'étant pas formellement identifié, il est aisé de l'imaginer : l'exposition humaine au sang ou aux sécrétions des animaux est fréquente dans ces régions à l'occasion de la chasse et de la préparation de viande de brousse. Mais les blessures et morsures causées par des animaux captifs ont aussi pu en être la cause. C'est plus probablement le cas pour le VIH-2 puisqu'il n'est pas rare de voir des mangabeys enfumés au contact des humains, voire même domestiqués, dans ses régions de prédilection, Sénégal, Guinée Bissau, côte d'Ivoire.

Quant à la datation de ces transmissions, elle fait encore l'objet de diverses spéculations. En étudiant la proximité des génomes des virus observés actuellement et en utilisant ce que l'on sait de leur capacité de mutation, les chercheurs ont pu construire un modèle mathématique, appelé horloge moléculaire, permettant de situer approximativement les dates de passage des singes à l'homme. Ces études ont placé la transmission du VIH-1 groupe M aux alentours de 1930, date récemment revue plutôt vers 1908 (plus ou moins vingt ans) par Michael Worobey et ses collègues. Avec la même méthode, la transmission du VIH-1 groupe O a été estimée aux alentours de 1920. Le groupe N n'a pas été daté. Mais il faut dire que contrairement aux autres groupes qui se sont répandus dans le monde, le groupe N ne concerne toujours que très peu de personnes vivant au Cameroun.

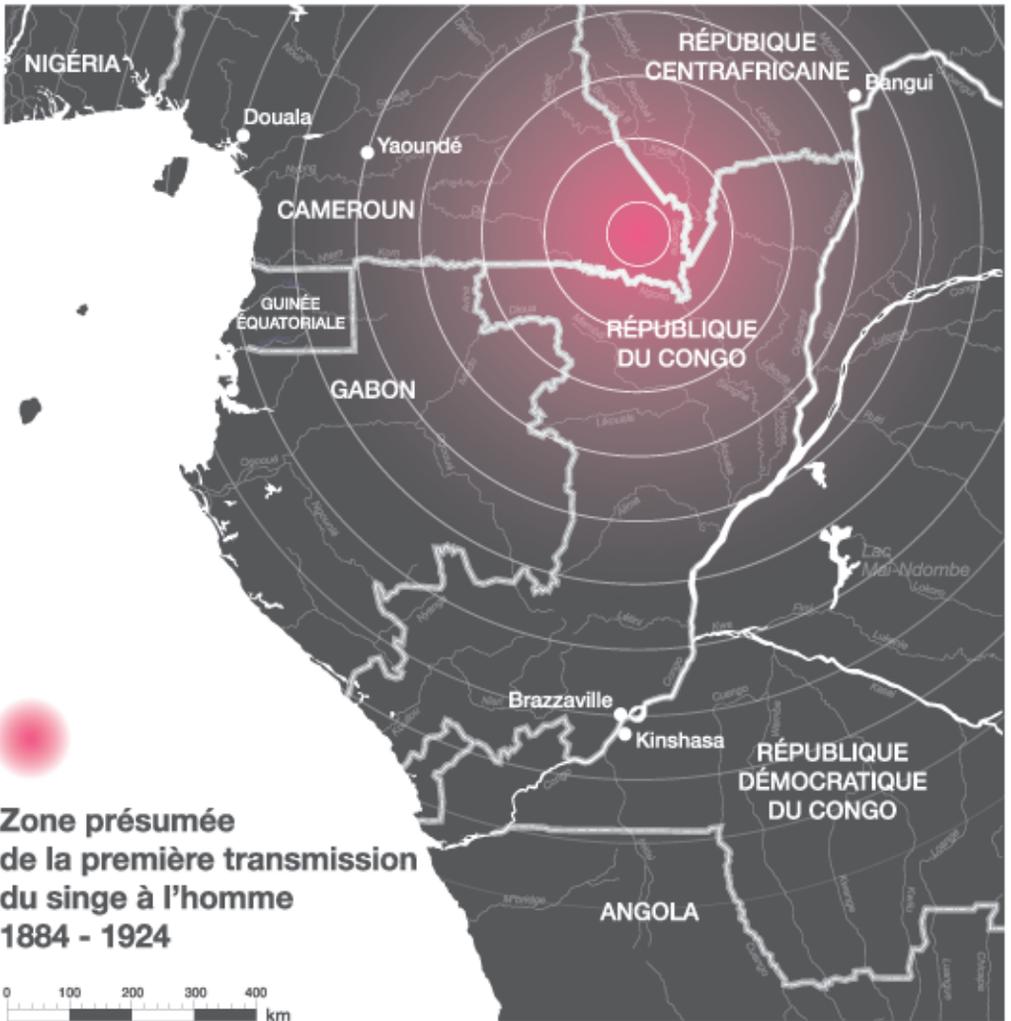


Fig. 57 Zone géographique de transmission du VIH-1 M du singe à l'homme

On estime que le premier passage du VIH-2 A à l'homme se situe vers 1940. Compte tenu de la proximité des génomes, chaque sous-type du VIH-2 a certainement fait l'objet d'une transmission spécifique d'un SIV_{smm} à l'homme, soit huit épisodes en tout. Cependant, actuellement, seuls les groupes A et B se sont répandus dans le monde.

4 ingrédients d'une pandémie

Lorsqu'une fuite d'eau se limite à un robinet qui goutte, personne ne s'en inquiète. Lorsque le lavabo déborde, on s'en sort encore en épongeant le sol pour un temps. Mais lorsque l'eau envahit le sol plus vite qu'on ne peut la chasser, il est urgent d'appeler le plombier.

Pourquoi, comment est-on passé d'un chasseur de brousse contaminé par un singe à une pandémie majeure dans l'histoire contemporaine et combien de temps a-t-il fallu pour en arriver là ? Pour qu'une épidémie se déclare et progresse, il faut que le nombre de gens nouvellement contaminés soit supérieur au nombre de gens que la maladie tue dans le même temps. Or, avec le sida, nous avons à faire à une infection sexuellement transmissible, c'est-à-dire une maladie infiniment moins facile à propager qu'une grippe.

C'est non seulement en étudiant la localisation de la transmission du virus du singe à l'homme mais surtout en s'intéressant à la démographie de ces régions que les choses s'éclaircissent. L'épidémie n'a pu se développer que grâce à des concentrations de population suffisantes pour que la promiscuité accélère son développement. Or les villes qui se situent autour des régions de transmission ont toutes été créées vers 1900. Au cours du XX^e siècle, leur développement a été exponentiel comme l'ont montré les chercheurs américains de l'université d'Arizona. Cette explosion démographique a ainsi permis le développement du sida, d'abord dans ces villes. Puis le développement tout aussi exponentiel des voyages, des communications et du trafic aérien dans la deuxième moitié du XX^e siècle a contribué à la dissémination des virus dans le monde entier jusqu'au jour où, le 5 juin 1981, le CDC d'Atlanta...

Certes, ce scénario est une reconstruction de l'histoire spéculant sur un faisceau d'indices et d'observations concordantes faites à posteriori plutôt que sur des preuves irréfutables. Néanmoins, les études comparant les génomes des virus retrouvés dans des tissus humains anciens ou récents ont permis d'établir de manière très solide la lignée d'évolution des virus, les localisations géographiques correspondantes mais aussi une certaine idée du nombre de personnes contaminées puisqu'il est lié à la diversification des virus. Mais rien n'empêche de penser que la transmission du singe à l'homme a pu se produire plus tôt dans l'histoire, voire même bien plus d'une fois. Ce qui conforte le scénario proposé, c'est qu'il s'appuie sur des conditions de développement démographique et d'échanges géographiques qui lui donnent toute sa vraisemblance. Et l'histoire n'est peut-être pas finie : ces transmissions peuvent encore se produire, voire venir un jour compliquer la situation actuelle.

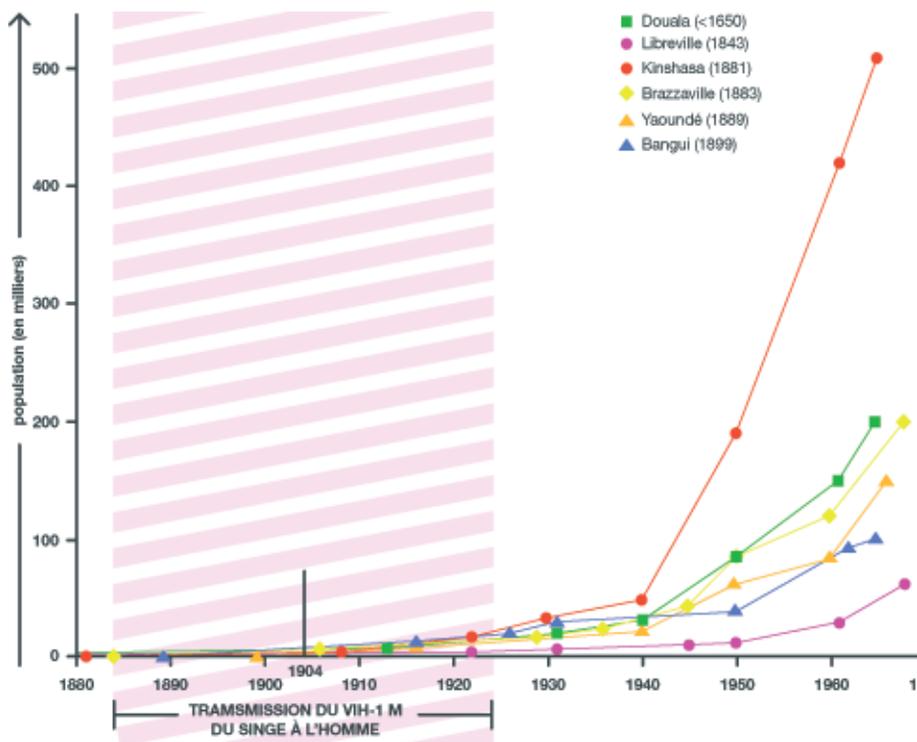


Fig. 58 Évolution démographique des villes de l'ouest de l'Afrique centrale