



# RéPI 80

## ERADICATION DU VIH DE L'ORGANISME

16 juin 2010

Grâce à la découverte de combinaisons efficaces de traitements antirétroviraux qui freinent la réplication du VIH pour le rendre quasiment indétectable, survivre à long terme à l'infection est aujourd'hui possible. Cependant, l'arrêt d'une trithérapie efficace se solde par une reprise de la virémie. De plus, même sous trithérapie, il est toujours possible de détecter le virus dans l'organisme avec des méthodes ultra sensibles. On sait aujourd'hui que le VIH reste en effet présent dans des sanctuaires, ou réservoirs, où il se tapit sous une forme latente, prêt à être réactivé, voire où il peut continuer à se répliquer, sans doute parce que les antirétroviraux n'y arrivent pas en quantité suffisante.

Purger l'organisme du VIH comporterait des bénéfices à la fois individuels et collectifs : les traitements, mais aussi le VIH, entraînent des effets délétères à long terme sur l'organisme ; des résistances aux traitements peuvent s'installer, rendant nécessaire le développement de nouveaux médicaments dont il n'est pas garanti que la mise à disposition puisse continuer éternellement ; le coût des nouveaux traitements est de plus en plus élevé et les systèmes de santé ne garantiront sans doute plus leur remboursement dans l'avenir.

Est-il réaliste d'envisager de purger complètement l'organisme du VIH ? Si oui, à quelle échéance et à quel prix ? A défaut de guérison de l'infection, une rémission sans traitement antirétroviraux est-elle envisageable ? Qu'est-ce qui a déjà été tenté ou est en train d'être évalué ? Quelles sont les pistes futures poursuivies ? Enfin, quels sont les risques encourus ?

Au cours de la soirée, il sera tout d'abord nécessaire de faire l'état des lieux des connaissances sur l'origine du virus résiduel dans l'organisme et sur les réservoirs du VIH.

## InvitéEs

Nous accueillerons Christine Rouzioux (hôpital Necker de Paris) pour une intervention sur les réservoirs, suivie de deux autres détaillant les pistes de traitement d'éradication envisagées : pour les approches immunologiques, nous accueillerons Brigitte Autran (hôpital Pitié-Salpêtrière de Paris) et enfin, pour les approches médicamenteuses, Alain Lafeuillade (hôpital Font Pré de Toulon).

# ERADICATION DU VIH DE L'ORGANISME

## Gordon Tucker,

co-responsable de la commission Traitements et Recherche d'Act Up-Paris :

Bienvenue à la 80<sup>ème</sup> Réunion Publique d'Information d'Act Up-Paris. Tout d'abord, merci d'être venus, et merci également à la mairie du 4<sup>ème</sup> de nous avoir accueilliEs. Ce soir, nous allons parler de l'éradication du VIH de l'organisme. Nous avons le plaisir d'accueillir Mme la Professeure Christine Rouzioux qui travaille à l'hôpital Necker de Paris, et qui parlera en première partie de la notion de réservoirs et abordera aussi les notions immunologiques, puisque Brigitte Autran n'a pas pu venir ce soir. En seconde partie, nous avons le plaisir d'accueillir le docteur Alain Lafeuillade, qui travaille à l'hôpital Font Pré de Toulon, qui va nous parler plus particulièrement des traitements et des aspects pharmacologiques.

La question qui va se poser ce soir est de comprendre ce que sont les réservoirs et sanctuaires du VIH. On va parler de guérison, de rémission... Est-ce qu'on est sur la bonne voie? Est-ce que ça existe? Est-ce que c'est possible? Est-ce que c'est réaliste? Ce seront les questions de la première intervention. On peut également se demander pourquoi l'on ne peut pas guérir de l'infection au VIH, alors qu'il est possible de guérir d'autres virus – par exemple, certaines personnes peuvent guérir du virus de l'hépatite C. Et, finalement, nous parlerons des risques des nouvelles stratégies qui sont proposées, qui sont en cours – sans doute à un horizon relativement lointain.

J'aimerais revenir sur deux commentaires qu'on a eu l'occasion d'entendre, soit lors des précédentes RéPI, soit en discutant avec des gens d'autres associations. Certaines personnes disaient que l'éradication, la guérison du VIH, on n'y arrivera jamais. J'espère que ce soir, quand vous repartirez de cette salle, vous serez convaincus qu'il y a quand même l'espoir d'y arriver un jour. L'autre commentaire qu'on a eu l'occasion d'entendre était : « l'éradication du VIH, c'est un sujet à la mode ». Ce n'est pas un sujet à la mode, on cherche

surtout à traiter. C'est vraiment une recherche qui est nécessaire. Fait-on suffisamment, au niveau français, au niveau européen, et au niveau international, dans ce domaine de recherche, pour arriver un jour à éradiquer le VIH de l'organisme? Et quand on arrivera à cela, on pourra alors peut-être parler d'éradication du VIH, mais on n'en est pas encore là.

Je voudrais aussi, avant de laisser la parole à nos intervenantEs, vous donner quelques raisons pour lesquelles on s'intéresse à l'éradication du VIH. Pourquoi insister sur l'importance de continuer à rechercher de nouveaux traitements d'éradication, alors que les trithérapies sont efficaces? (Et encore, les trithérapies ne sont pas efficaces pour tout le monde.) L'incidence des effets secondaires à court, moyen et long terme sur la qualité de vie reste très lourde. Les interruptions de traitements, qui peuvent être nécessaires parfois en cas de morbidité conjointe, mais aussi par confort éventuellement, restent péjoratives pour l'organisme et pour la qualité de vie ; certains essais l'ont montré. Ensuite, le risque d'apparition de résistances, en cas de mauvaise observance, réduit à terme l'efficacité des traitements. Le développement de virus résistants – en plus du fait qu'il peut malheureusement y avoir une transmission de virus résistant d'emblée – rend nécessaire le développement de nouveaux médicaments. Mais il n'y a pas de garantie, même avec le travail de fond des chercheurs, qu'on aura à disposition les nouveaux traitements de façon éternelle. Une autre raison est le coût des traitements (particulièrement des nouveaux traitements), qui commence à devenir de plus en plus important ; et nous ne sommes pas du tout sûrs (on peut le voir aujourd'hui au niveau français, mais aussi ailleurs) que le remboursement sera garanti pour ce type de médicaments. Le problème de l'accessibilité des traitements est toujours aussi crucial, à l'échelle internationale, mais aussi au niveau national. Et enfin, le VIH lui-même, même sous trithérapie efficace, est

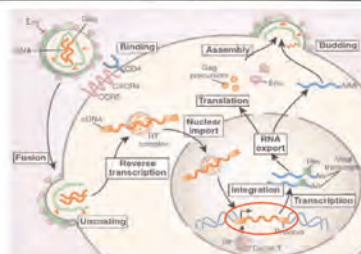
un facteur qui peut aggraver. Malgré les mises en garde des associations de malades, les campagnes de prévention – quand on arrive à les entendre – sont inopérantes pour éradiquer le virus. Voilà un certain nombre de raisons, il y en a d'autres. Vous êtes les bienvenus pendant la soirée pour les mettre en avant, pour critiquer cette analyse. Nous allons donc commencer la RéPI de ce soir par l'intervention du professeur Christine Rouzioux, qui va nous parler de la question des réservoirs.

## Christine Rouzioux :

Bonjour à tous. Alain et moi sommes particulièrement heureux de parler de notre sujet. Alain est le premier au monde à avoir organisé des congrès sur l'étude des réservoirs, ça fait un petit moment maintenant. Les Français sont un peu leaders sur ce sujet, avec une approche tout à fait différente de l'approche américaine. Pour ma part, je suis responsable à l'ANRS (agence nationale de recherche sur le sida) de l'Action Coordonnée 32, qui est l'Action Coordonnée « Réservoirs » et dont l'objectif est d'organiser la recherche, de la mener, d'aller chercher les équipes, les spécialités qui nous manquent pour avancer sur ce sujet. Pour ce soir, j'ai essayé de sélectionner ce qui peut intéresser le plus les patients, de voir où en est la recherche. Il commence à y avoir une réflexion sur la recherche communautaire – à savoir l'implication des associations et des acteurs de recherche au niveau européen. Mais, dans cette recherche communautaire, y compris sur les réservoirs, on a, à mon avis, vraiment besoin de temps. Il y a donc un certain nombre d'essais que je vais vous présenter, qui sont les premiers essais qui essayent de cibler les réservoirs. Je pense que je ne serai pas exhaustive ; de toute façon, ce sont vos questions qui comptent plus que nos exposés. *A priori*, j'ai rajouté effectivement les diapositives de Brigitte Autran, mais jamais je ne les exposerai comme elle l'aurait fait (je ne suis que virologue, et elle est immunologiste). Mais nous travaillons vraiment ensemble et, sur ce sujet des réservoirs - en tant que responsable de l'animation à l'ANRS – je peux vous dire que c'est vraiment un sujet sur lequel nous sommes assez organisés en pluridisciplinaire. Le sujet est trop compliqué pour que l'on essaye de faire chacun tout seul dans son coin, c'est absolument impossible. L'éradication va bien sûr être au centre de la discussion, mais vous verrez que nous n'avons pas énormément de bonnes nouvelles. Je pense qu'il y en a quand même quelques unes.

La première chose, c'est : pourquoi n'arrive-t-on pas à éradiquer? On n'y arrive pas pour une raison majeure qui est que ce virus a une capacité très particulière : il intègre son génome à l'intérieur du chromosome cellulaire.

### Latence post-intégrative du VIH-1



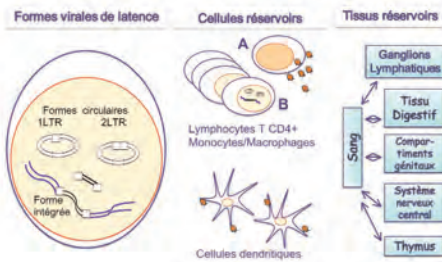
Ce virus infecte donc les lymphocytes, mais l'infection se passe d'une façon un peu particulière. C'est un virus à ARN (acide ribonucléique), l'ARN va être transformé en ADN (acide désoxyribonucléique), en ADN double brin et l'ADN double brin va se mettre dans l'ADN chromosomal. Ce chromosome n'en est pas du tout gêné, le petit bout d'acide nucléique – le petit bout d'ADN complémentaire – qui s'insère ne va pas déstabiliser la chromatine. Le virus est très fort : il va savoir complètement utiliser la machinerie cellulaire pour que ce petit bout d'ADN soit tout à fait conforme à l'ADN chromosomal et reste en place. Une fois que le lymphocyte est infecté, il va retourner au repos et vivre sa vie. Or la vie du lymphocyte c'est, par définition, la mémoire immunitaire. Donc le virus a trouvé la meilleure cellule cible : le jeu pour le système immunitaire étant de faire survivre les lymphocytes, le virus latent est complètement caché dans des cellules, qui n'expriment aucun antigène à la surface et qui vont donc encore vivre très, très longtemps. Cette latence va s'établir de façon très longue puisque certaines cellules ont une longue durée de vie. Retenez que ce maintien de la latence est un phénomène extrêmement actif ; il y a beaucoup de choses que la cellule essaye de faire pour le faire exprimer, mais le virus est capable d'induire les protéines qui vont maintenir la latence. Il faut absolument, pour que l'infection virale soit définitive dans l'organisme, que le virus soit capable de se maintenir dans cette latence. On a donc énormément de mécanismes qui peuvent intervenir soit dans le maintien, soit au contraire dans l'expression du virus ; c'est cette balance de systèmes complexe qui fait que, au total, c'est le virus qui gagne et la cellule est maintenue au repos. Quand la cellule est activée, elle va donner naissance à de nouveaux lymphocytes et produire du virus; ce sont donc ces cellules infectées latentes qui, activées, vont faire la charge virale. La notion de réservoir est donc une notion de stabilité parce que ces lymphocytes infectés vont vivre longtemps. Je vous passe tous les détails sur toutes les formes d'ADN du virus qui existent, mais sachez que le virus est suffisamment pervers pour avoir différentes formes virales dans la latence qui sont capables de s'exprimer, et qui sont capables de produire du virus.

RSPI - ANRS - Paris, 19 Juin 2010

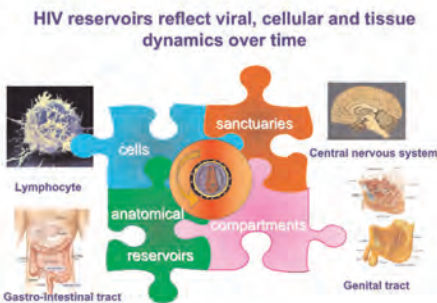
### L'éradication est-elle possible?

Pr Christine ROUZIUX  
Virologie - CHU Necker  
EA 3620 Université Paris Descartes

**Les Réservoirs VIH**



Il y a plusieurs types de cellules infectées. Ce sont majoritairement des lymphocytes CD4. Quand le lymphocyte CD4 va se multiplier, il va progressivement mourir – et le sida est bien sûr la destruction des CD4. Ce n'est pas du tout le seul mécanisme de destruction des CD4, même si c'en est un. On a aussi l'infection des cellules monocytes / macrophages, à un moindre degré (5 à 10% des cellules sont des macrophages). Elles ont un rôle important parce qu'elles vont véhiculer le virus dans différents tissus. On a les cellules dendritiques, qui ont un rôle majeur car elles vont permettre, là encore, de transmettre l'infection à des lymphocytes, de véhiculer l'infection dans les différents tissus, de transmettre l'infection dans le sang vers le cerveau, ou vers d'autres tissus bourrés de cellules dendritiques.



On a donc un répertoire complexe, mobile, diffus, mais stable. Ce que l'on mesure dans le sang périphérique, c'est bien sûr la charge virale, les particules virales qui sont produites. Mais les cellules lymphocytaires vont circuler dans l'ensemble des tissus et notamment le sang circulant, facteur d'une infection dynamique. Le réservoir se redistribue continuellement dans les tissus où il y a beaucoup de lymphocytes. On a un réservoir de cellules infectées absolument énorme au niveau des tissus digestifs, du tissu génital masculin/féminin, et au niveau du cerveau. Nous avons donc un puzzle assez complexe de cellules qui circulent dans les tissus anatomiques riches en tissu lymphoïde, dans des compartiments où le passage des médicaments se fait plus ou moins bien, et dans le système nerveux central. On parle donc de réservoirs sanctuaires selon que l'on exprime

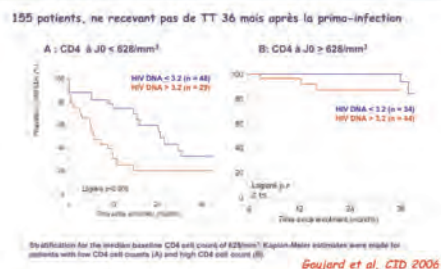
les choses en tant que réserves de virus, réserves latentes. Pourquoi ces réservoirs s'opposent tant à l'éradication? C'est que cette latence, en aucun cas, n'est touchée par les antirétroviraux. Ces cellules infectées latentes sont donc absolument insensibles aux traitements. Les traitements ne font que bloquer la réplication virale. La cellule est infectée, elle va être activée et produire des particules virales qui vont attaquer d'autres cellules. On a donc un cycle particules virales → infection de cellules. Ce cycle va être interrompu par les antirétroviraux, mais en aucun cas les antirétroviraux ne sont capables de toucher ou d'atteindre profondément le virus latent. C'est le cœur même de la question de l'éradication. Comment mesure-t-on le réservoir et que peut-on attendre des études chez les patients? Il y a des bonnes et des mauvaises nouvelles. La bonne nouvelle est que l'on arrive à quantifier, et l'on peut montrer – par cette étude que nous allons publier dans le journal « Infectious Diseases » – que, lorsque l'on a beaucoup de virus (de charge virale) dans le sang, on a en même temps beaucoup de cellules infectées ; et, en règle générale, la corrélation se passe très bien.

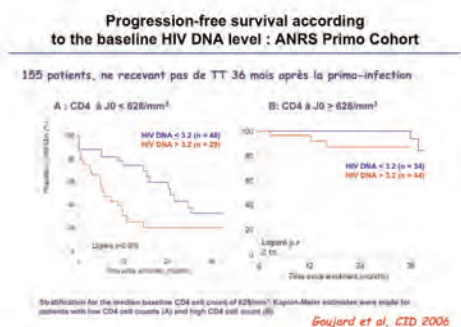
**Le taux d'ADN VIH est corrélé à celui d'ARN VIH**



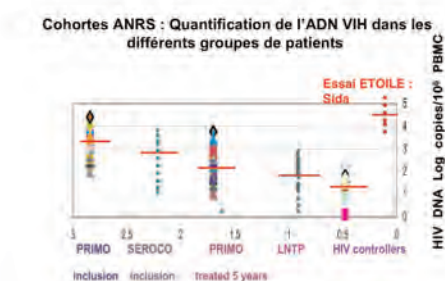
Les points noirs correspondent à des patients qui ont des CD4 bas, et les points blancs correspondent à des patients qui ont des CD4 relativement hauts. On voit que, face à cette infection, les patients ont un niveau de charge virale cellulaire (un nombre de lymphocytes infectés) variable d'une personne à l'autre. Il avait été démontré que la charge virale est prédictive du risque de progression : ceux qui ont beaucoup de charge virale vont aller vite vers le sida, ceux qui en ont moins y vont moins vite. Ce que nous avons démontré dans ce papier, c'est que, pour les réservoirs, c'est la même chose, et de façon indépendante.

**Progression-free survival according to the baseline HIV DNA level : ANRS Primo Cohort**





C'est à dire que le réservoir est prédictif du risque de progression vers un CD4 bas – vers le sida. Par exemple, chez des patients diagnostiqués au moment de la primo-infection, non traités, suivis pendant plus de 36 mois, ceux qui avaient un ADN bas (c'est-à-dire une charge virale cellulaire basse) mettaient relativement longtemps à progresser vers le sida, alors que pour ceux qui avaient un ADN élevé (c'est-à-dire une charge virale cellulaire importante), la progression a été assez rapide. On a donc un marqueur qui nous démontre que ce réservoir est différent d'un patient à l'autre, et représente quelque chose qu'il va peut-être falloir prendre en considération, notamment dans les questions de traitement et d'éradication. À l'heure actuelle, il faut bien comprendre que n'est traitée que la charge virale. Ce n'est pas du tout dans les règles de suivi des patients de mesurer la charge virale cellulaire.



Ce qui nous intéresse particulièrement en ce moment, c'est de regarder, en plus de la valeur prédictive du réservoir, comment est le réservoir. On a sur la diapositive toutes les cohortes ANRS : la cohorte PRIMO, la cohorte SEROCO, la cohorte des asymptomatiques à long terme, la cohorte des sujets HIV Controllers, et, en gros, les patients en stade sida. On a des représentations d'un certain nombre de patients pour chacune des cohortes. La barre rouge représente la médiane de taux d'ADN-VIH – et donc le niveau de réservoir chez chaque cohorte. Au moment de la primo-infection, le virus envahit l'organisme : il y a beaucoup de cellules infectées. Ensuite, au moment où l'ARN diminue et où la phase asymptomatique s'établit, l'ADN baisse aussi un petit peu. On a effectivement un moindre niveau chez les patients chroniques de la cohorte SEROCO. Ce qui nous

intéresse beaucoup – et ce qui nous fait beaucoup travailler – ce sont soit les patients asymptomatiques qui, à long terme, ont beaucoup de CD4 même après 8, 10, 12 ans d'infection (quel que soit le taux de virus); soit les patients HIV controllers qui, après 5, 6, 7 ans d'infection, n'ont pas de virus détectable, pas de charge virale détectable, mais qui, bien sûr, ont de l'ADN-VIH. Ces patients ne sont pas en rémission, mais ont, pendant 7, 8, 10 ans, un système immunitaire compétent pour maintenir un réservoir bas. Beaucoup de recherches se passent, des deux côtés de l'Atlantique, sur ces patients, pour essayer de comprendre quel est le mécanisme : est-ce le système immunitaire qui maintient le réservoir bas? Ou est-ce parce qu'ils ont un réservoir bas qu'ils ont un système immunitaire compétent? C'est le problème de la poule et de l'œuf. Il n'empêche que comprendre comment, sans traitement, ces patients maintiennent un taux de charge virale inférieur à 50 copies, est la clef de la question – sachant qu'ils ont 10, 12, 20 ans d'infection, sans aucun besoin de traitement. Il s'agit donc de savoir si l'on peut induire cet état d'HIV controller chez des patients après traitement. Chez qui pouvons-nous l'induire? Quelles sont les garanties de ces patients? À défaut d'éradiquer (puisqu' – je vous l'ai dit – aucun médicament antirétroviral actuel, tel que nous les utilisons, n'est capable de toucher à ce réservoir), on a tout de même des modèles où la rémission – l'absence de progression – existe ; elle est caractérisée non pas par une éradication, mais par ce que l'on observe chez ces patients : un taux de cellules infectées extrêmement bas. À l'opposé, tout en haut, on a l'essai ETOILE – qui était un essai sur des patients étudiés au stade sida par Jean-Paul Viard ; le taux d'ADN était évidemment plus élevé. La progression vers le sida se fait avec l'augmentation de la réplication virale, qui se fait avec l'augmentation des cellules réservoirs.

#### HIV-DNA in PBMC : Natural history of HIV infection : ANRS cohort studies

	MEDIAN in PBMC (log <sub>10</sub> )	Patients <100 cp/10 <sup>6</sup>
PRIMO Cohort n = 608	3.25	10.2%
PRIMO-CI Cohort	3.21	
SEROCO Cohort n = 894	2.98	9.5%
LNTP cohort n = 70	2.30	37.1%
« HIV controllers » n = 15	1.30	75%

Goujard et al. CID 2005  
Coffin et al. JAIDS 2008  
Roussou et al. JID 2005  
Martinez et al. JID 2005  
Lambotte et al. JID 2005

Cette diapositive sert à montrer les valeurs que nous avons trouvées par rapport au contrôle du réservoir. Il y a des patients asymptomatiques à long terme dans les cohortes qui, au moment de la primo-infection, démarrent avec un taux d'ADN très bas (c'est le cas de 10%). Par contre, chez les HIV controllers, le taux d'ADN est bas pour plus de 75% de ces patients.

Le schéma raconte l'infection par VIH. Le taux de CD4 correspond à la distance à parcourir – s'il y a beaucoup de CD4, la distance est relativement



longue. La charge virale correspond à la vitesse du train. Comme nous avons démontré que ce marqueur était prédictif indépendamment du virus et des CD4, on a l'habitude de dire qu'il y a en plus le moteur qui entraîne la locomotive et qui correspond au réservoir – soit c'est un moteur de Ferrari, soit c'est un moteur de Twingo. Effectivement, ce réservoir est maintenant pris en compte dans les questions de l'éradication parce qu'il est au cœur de la machine, au cœur du problème.

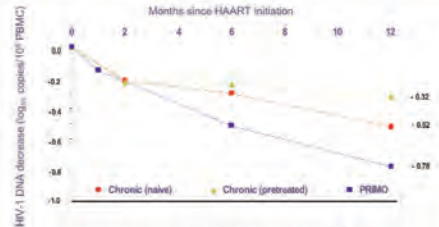
**Impact des traitements sur les réservoirs ?**

De même que l'ARN VIH plasmatique reflète un niveau global de réplication virale, l'ADN-VIH des PBMC reflète le niveau global des réservoirs

La majorité des études et des essais thérapeutiques n'a jamais mesuré que la charge virale, comment bloquer la réplication, combien de temps ça prend – ce qui est bien, parce que arrêter la réplication, c'est faire monter les CD4, c'est très bien. Mais, en même temps, on manque d'études du réservoir. On se rend compte maintenant que, de même que l'ARN-VIH plasmatique – la charge virale – reflète le niveau global de l'organisme, de même, l'ADN-VIH dans les cellules du sang périphérique reflète le niveau global des réservoirs. La question que l'on se pose est donc d'aller mesurer ce niveau et l'impact des nouveaux traitements.

Pour refléter ce que je viens de dire : quand un patient est mis sous traitement, qu'il soit en phase chronique (en vert), en phase chronique pré-traité (en rouge) ou qu'il soit sous traitement, mais en échec – le patient a donc tout à recommencer – ou en primo-infection (en bleu), avec un bon traitement, bien pris, il n'y a pas de problème. Quel que soit le niveau de réplication, on arrive à obtenir à 6 mois, puis à 8 mois, chez tous ces patients, de la charge virale indétectable. Par contre, si l'on regarde d'autres marqueurs, on se rend compte que les patients en primo-infection, les patients chroniques pré-traités, ou les patients chroniques, n'obtiennent pas du tout le même effet des antirétroviraux sur leur charge virale cellulaire. Selon moi, c'est en primo-infection qu'on a au départ un taux plus bas qu'en phase chronique (cf. diapositive précédente), et c'est en primo-infection qu'on arrive le mieux à diminuer cette réserve de virus cellulaire.

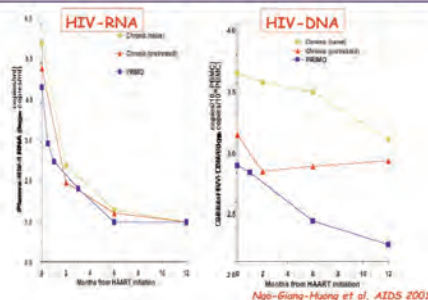
The most important decrease is observed in patients treated at the time of primary infection



Hyo-Giang-Huang et al. AIDS 2001

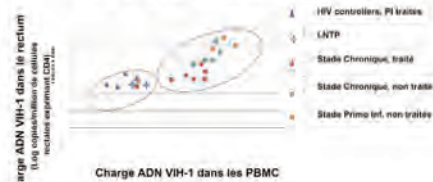
On le voit encore mieux sur cette diapositive, les antirétroviraux ne touchent pas le cœur de ces cellules – l'ADN-VIH – mais, par contre, ils empêchent l'infection de nouvelles cellules. Au moment de la mise sous traitement, on a une disparition de toutes les cellules en train de produire, et une disparition d'un certain nombre de ces cellules infectées. Cette disparition se passe d'autant mieux que le traitement est mis en place en primo-infection. La bonne nouvelle, c'est qu'au bout de 5 ans, vraiment tout le monde a du virus indétectable dans les cellules du sang périphérique. L'impact des traitements est moindre dans les phases chroniques, surtout tardives. Quand il y a beaucoup de cellules infectées, ça en tue moins, le nombre de cellules à diminuer/tuer est plus important. La mesure du réservoir est donc un argument supplémentaire en faveur d'un traitement précoce.

**ANRS PRIMO Cohort : Impact of ARV treatment on HIV-DNA**



Hyo-Giang-Huang et al. AIDS 2001

**Quantification du réservoir VIH dans des Biopsies rectales / Sang**



Avettand-Fenoel, Aids 2008

Nous nous sommes intéressés à regarder ce qui se passe dans les tissus profonds – tout le monde nous disait qu'il n'est pas intéressant de regarder les réservoirs dans le sang car tout se passe dans les tissus digestifs et au niveau du territoire génital, alors que le sang, c'est juste de l'ordre de 10%, 12%. En fait cette mesure est représentative de chaque personne. Ce que l'on a voulu ici, c'est comparer ce qui se passait dans le sang périphérique et ce qui se passait dans le tissu rectal – puisque le tissu rectal contient beaucoup de cellules lymphoïdes. Pour faire court, là où l'on a trouvé le moins de virus dans le sang, c'est chez les asymptomatiques à long terme et chez les patients traités très précocement; et c'est chez eux également qu'on a trouvé le moins de virus – le moins de cellules infectées – dans le tissu digestif. Là où on a trouvé le plus de cellules infectées, c'est chez les patients en stade de primo-infection non traités, avec une charge virale plus faible chez les patients au moment de la primo-infection qui sont traités assez tôt. Au final, bien qu'il y ait au moins 10 fois plus de cellules infectées, et donc de réservoirs, dans les tissus digestifs, ce que l'on mesure dans le sang périphérique est représentatif, et correctement indicatif, de ce qui se passe dans les réservoirs de l'ensemble de l'organisme – au moins sur le tissu rectal. Il y a eu pas mal de discussions à la CROI (conférence américaine annuelle sur les rétrovirus et les infections opportunistes) – le tissu lymphoïde dans le tissu digestif est assez diversifié, la densité lymphocytaire n'est pas la même au niveau de l'iléum, au niveau du rectum, ... – mais, pour les patients comme pour les médecins, c'est beaucoup plus facile de faire un prélèvement de biopsie rectale, qu'un prélèvement de l'iléum – ça, personne ne le pratique. Il y a eu une très jolie étude à la CROI sur vingt-cinq patients, pour lesquels avaient été faits des prélèvements de tissu digestif à cinq différents niveaux – quatre biopsies par niveau. Ces explorations sont lourdes, difficiles et c'est aussi pourquoi il y a beaucoup de retard là-dessus, mais c'est quand même assez important.

#### Pouvons-nous désormais espérer une meilleure efficacité des nouvelles classes d'ARV au niveau des réservoirs?

- Pas d'atteinte des cellules infectées par les ARV
- Blocage de la réplication
- Blocage de l'infection de nouvelles cellules

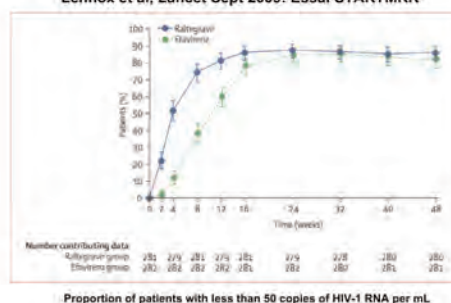
Pouvons-nous espérer une meilleure efficacité des antirétroviraux? C'est une question qui m'est tout le temps posée. Je vous l'ai dit, les antirétroviraux ne touchent pas les cellules au repos, ils ne font que bloquer la réplication, et dès que l'on arrête les antirétroviraux, la réplication reprend. C'est un effet virostatique, et non un effet virucide. Tout de même, cela bloque l'infection de nouvelles cellules et la destruction lymphocytaire, ça a donc un impact sur les CD4. Mais cela a vraiment peu d'impact sur les cellules réservoir.

**Nouvelles molécules = Puissance antivirale +++**  
**Anti-intégrases = Bloquent l'intégration**

**Deux arguments pour**  
**penser à un impact sur le réservoir**

Se pose tout de même la question des anti-intégrases (classe relativement récente d'antirétroviraux par rapport aux inhibiteurs de la transcriptase inverse et de la protéase). Les anti-intégrases bloquent l'intégration, et donc bloquent les cellules qui ont du virus à intégrer. Mais ils ne touchent pas aux cellules qui ont déjà intégré le virus. Les anti-intégrases ne font donc que bloquer le cycle de réplication, comme les anti-protéases. Néanmoins, leur puissance intrinsèque va peut être avoir une efficacité plus importante. On a des puissances thérapeutiques différentes, de l'AZT à la 3TC (inhibiteurs de la transcriptase inverse) ; on a maintenant le darunavir (inhibiteur de la protéase), le raltégravir (anti-intégrase), chaque molécule a sa puissance intrinsèque. Il n'empêche que ces molécules ne font que bloquer la réplication. Les anti-intégrases interviennent à un stade un peu plus avancé vers l'intégration chromosomique, mais n'ont jamais d'impact direct sur le virus latent. Tout de même, nous avons deux arguments pour penser que ça peut avoir un impact pour mieux empêcher l'infection de nouvelles cellules.

Lennox et al, Lancet Sept 2009: Essai STARTMRK

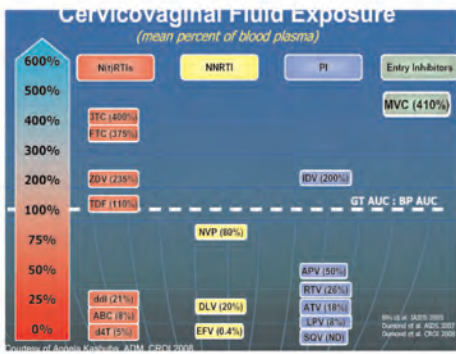


Cet essai montre que le raltégravir est plus efficace que l'éfavirenz (inhibiteurs de la transcriptase inverse) pour rapidement contrôler la réplication virale, donc rapidement interrompre le cycle et empêcher l'infection de nouvelles cellules. C'est un argument complètement indirect, qui n'a pas encore été confirmé comme ayant un impact sur les réservoirs.

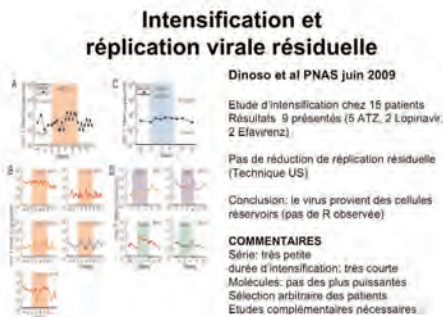
**CEPENDANT**

**Le réservoir VIH est**  
**Complexe, Diffus et Stable**

De plus – comme on l'a dit dès le début – le réservoir est diffus. On a des lymphocytes T4 dans tout l'organisme, il faut donc bloquer la réplication sur l'ensemble de l'organisme, et cela implique un problème pharmacologique.



On prend l'exemple de sécrétions cervico-vaginales pour montrer que la diffusion des médicaments n'est pas la même suivant les molécules. On va donc bloquer la formation des réservoirs de façon différente, suivant que le médicament passe ou ne passe pas. Certains tissus vont avoir un réservoir maintenu, d'autres moins. On n'a donc pas une équivalence totale entre une trithérapie et une autre. Même si l'on voit une équivalence en termes d'efficacité antivirale, ça peut ne pas avoir la même efficacité sur le réservoir.



Puisque les médicaments passent différemment, si l'on intensifie le traitement et que l'on donne plus de drogues, cela va-t-il permettre de bloquer la réplication de façon plus efficace dans les différents tissus et donc de diminuer le réservoir? Pour le moment, nous n'avons pas eu énormément de résultats et nous disposons d'informations encore insuffisantes. On voit chez tous les patients sous traitement que si l'on utilise une technique ultrasensible – les techniques de charge virale à seuil de 50 copies nous montrent ce qui se passe au dessus de 50 copies – on arrive à détecter du virus chez beaucoup de patients : plus de 50% des patients ont du virus au dessus de 50 copies. Cette technique de mesure nous montre une réplication résiduelle – un tout petit niveau de charge virale, un tout petit niveau infectieux – ça veut tout de même dire beaucoup de choses, par exemple: y a-t-il un petit risque de développer une résistance? Nous savons que ces questions se posent. Il n'empêche que, pour le moment, on ne montre pas d'effets à long terme de cette réplication résiduelle. Par contre, la question que se posent les chercheurs, et notamment les groupes américains, est de savoir si ce n'est pas cette réplication résiduelle qui entretient le réservoir et fait

que, même si on diminue bien la réplication globale, on ne diminue pas assez pour bloquer complètement les nouvelles infections. Un certain nombre de papiers sont parus. Sur cette étude du PNAS (compte-rendu de l'académie des sciences américaine), il a été fait un traitement d'intensification sur quinze patients – le papier ne propose que des résultats de neuf patients, on ne sait pas pourquoi six d'entre eux ont disparu. Ce qu'ils montrent, c'est qu'avec leur technique ultrasensible, on voit que même pendant les périodes grises – les périodes grises sont les périodes d'intensification, et les périodes blanches sont les périodes où le traitement trithérapique était habituel – il y a toujours du virus par réplication résiduelle. Ils en ont donc conclu que l'intensification ne bloque pas la réplication résiduelle, n'empêche pas l'infection de nouvelles cellules et risque très peu d'avoir un effet sur la réduction des réservoirs. On est assez gênés par ces travaux : les séries sont très petites, les durées d'intensification sont très courtes. Pour bloquer à long terme l'infection de nouvelles cellules, il faut vraiment du temps. De plus, les molécules qui ont été utilisées ne sont pas les plus puissantes. Et puis, sélection arbitraire des patients : ce n'est pas pareil d'intensifier un patient au stade sida qu'un patient au stade de primo-infection ou en stade chronique. Nous restons convaincus qu'il y a encore de nombreuses choses à explorer concernant cette intensification, au regard de la réplication résiduelle, mais également au regard de l'impact sur la réduction des réservoirs.

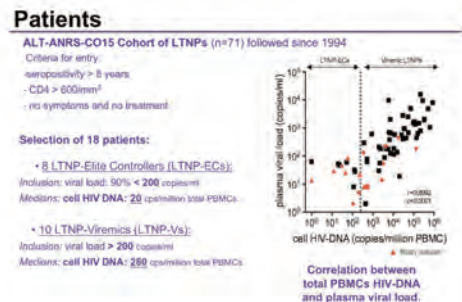
**Quelles sont les cellules infectées?**

**Etude de la cohorte ALT- ANRS**

Benjamin Descours, Véronique Avettand-Fenoël, Assia Samri, Catherine Blanc, Christine Rouzoux, Brigitta Autran

AIDS Vaccine, octobre 2009

Une autre question qui nous préoccupe beaucoup est de savoir, parmi tous les lymphocytes, quels sont ceux qui sont infectés?



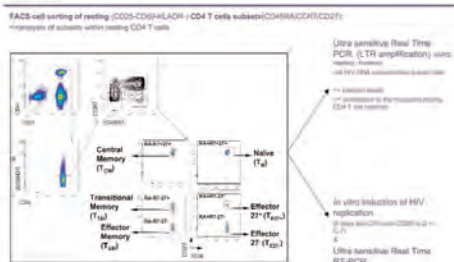
Nous avons donc fait des études avec Brigitte (Autran) au sein de la cohorte des asymptomatiques à long terme. Nous avons essayé de représenter 75



patients pour lesquels nous avons quantifié le réservoir – les cellules ADN-VIH et l'ARN-VIH. Chez ces patients asymptomatiques à long terme, il y a tous les niveaux de réplication : ils ont tous plus de 8 ans d'infection, mais certains ont plus de virus et d'autres en ont moins; et parmi ces derniers, il y a des Elite Controllers (patients qui ont beaucoup de CD4, mais peu de virus dans les cellules et dans le plasma). Nous avons donc exploré les cellules de différents patients de la cohorte, en sélectionnant des patients Elite Controllers (avec une charge virale inférieure à 200 copies) et des patients asymptomatiques à long terme qui ont une ARN-VIH plasmatique.

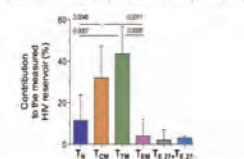
virus, elles en ont donc un petit peu moins, elles sont en train de mourir. Notre technique a été validée, dans la mesure où notre cohorte a plus de dix ans (nous avons donc, pour un patient, des cellules après 13 ans d'infection et après 23 ans d'infection). Nous avons montré que ces patients ont une infection virale extraordinaire, complexe mais stable : à dix ans d'écart, ils ont exactement le même niveau d'infection. Donc ça nous validait, et nous montrait en même temps que ces patients avaient un contrôle immunologique de leur réservoir assez impressionnant.

Methods



Contribution of resting CD4 cell subsets to the HIV reservoirs in LTNPs

Contribution of each subset to the measured HIV reservoir = (subset infection level) X (% of subset in resting CD4 T cells)



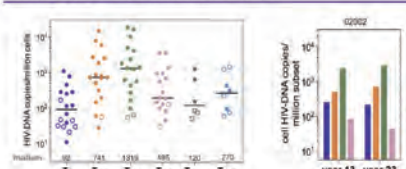
- 1st level:  $T_{CM}$  and  $T_{EM}$  : main contributors to the resting CD4 T cell reservoirs (>70%)
- 2nd level:  $T_{DM}$  : even higher contributor (10%) than  $T_{EM}$  (4%)
- 3rd level:  $T_{TN}$  and  $T_{TE22}$ / $T_{TE23}$  (<4%)

→ In Elite Controllers:  $(T_{TN} + T_{CM}) > (T_{DM} + T_{EM})$   
 → In HLA-B27/57:  $(T_{EM} + T_{EM}) > (T_{DM} + T_{TN})$

Nous avons voulu, dans cette étude, étudier toutes les cellules CD4 au repos. Pour faire simple, en utilisant un appareil trieur de cellules, nous avons trié les cellules avec des anticorps variés de façon à repérer des cellules naïves, des cellules centrales mémoire, des cellules mémoires transitionnelles et des cellules effectrices mémoires. La maturation des cellules lymphocytaires se fait dans ce sens : la cellule sort du thymus naïve, ensuite elle rencontre l'antigène et devient mémoire – elle a encore une très grande capacité à proliférer – puis, progressivement, elle va mûrir et devenir mémoire transitionnelle, effectrice mémoire, puis effectrice. On va donc regarder le niveau d'infection dans toutes ces classes de cellules, et si elles sont capables de produire du virus.

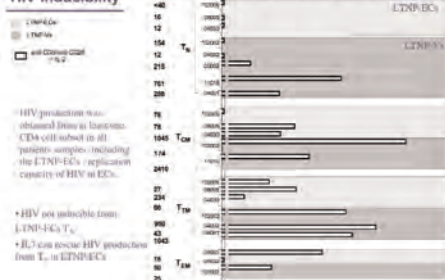
La proportion de chacune de ces fractions n'est pas la même chez chaque patient, nous avons donc rétabli la proportion de chacune de ces fractions. Ce sont les cellules centrales mémoires et les mémoires transitionnelles qui sont les plus infectées. Mais, même si les cellules naïves sont infectées à un faible niveau, elles sont tellement nombreuses dans l'organisme, qu'on a beaucoup de virus. Là où les choses deviennent compliquées (surtout au regard de la question de l'éradication), c'est que les durées de vie de toutes ces cellules sont extrêmement différentes : les cellules naïves vivent très, très longtemps, les cellules mémoire ont aussi une durée de vie importante, il n'y a que les cellules effectrices qui ne vont pas vivre très longtemps. Au regard de la question de l'éradication, il faut donc comprendre que le métabolisme, les mécanismes moléculaires de l'établissement de la latence, qui vont devoir être ciblés, peuvent être différents dans chacune de ces fractions cellulaires ; et, surtout, que ces cellules peuvent avoir des durées de vie et des conditions de vie relativement différentes. Cela complexifie relativement l'histoire.

Stable long term hierarchy of infection levels among resting CD4 T cells subsets in LTNPs:



- Two levels:  $[T_{EM} + T_{CM}] > [T_{DM} + T_{TN}]$
- Extreme stability over 10 years

In vitro HIV inducibility

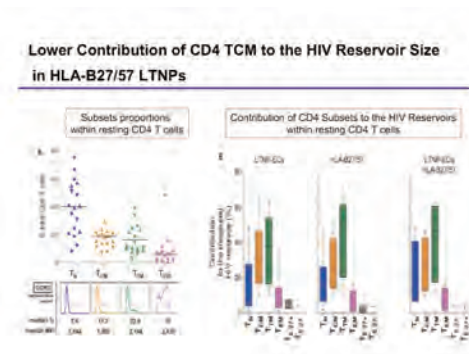


- HIV production was obtained from in latently CD4 cells subset in all patients samples (including the LTNP-ECs) / replication capacity of HIV in ECs.
- HIV not inducible from LTNP-ECs  $T_{EM}$
- ECs can rescue HIV production from  $T_{EM}$  in LTNP-ECs

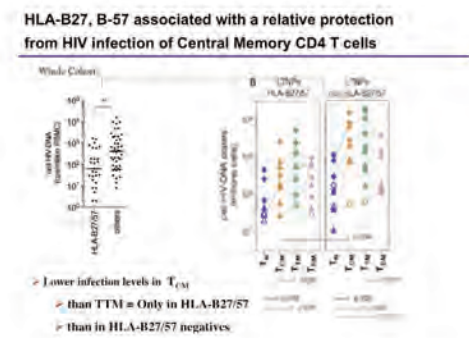
Premier message : on a trouvé du virus dans les cellules naïves. Les cellules naïves vivent plus de dix ans. C'est un problème pour l'éradication car on ne peut pas détruire toutes les cellules naïves. Les cellules centrales mémoire ont aussi pas mal de virus. Ce sont les mémoires transitionnelles qui ont vraiment beaucoup de virus. Les cellules effectrices mémoires (et surtout les effectrices) sont en train de produire du

On voit en blanc l'activation de ces cellules *in vitro*, on fait produire facilement du virus. Si, en plus, on met de l'IL7 (interleukine 7), ça produit encore mieux. Les

différents collègues nous ont fait des critiques sur cette étude en disant que ce virus latent, ce provirus n'était pas fonctionnel, que plus de 90% de ce provirus était défectif... Cependant, le mieux est tout de même de ne pas en avoir, ou d'en avoir au minimum. Surtout, il n'est pas si défectif que ça puisque, quand on prend les cellules de ces patients, qu'on les met en culture et qu'on les active, elles produisent du vrai virus ; et si on met ce virus en culture, il infecte de nouvelles cellules. Il est vrai que ces mécanismes de latence sont extrêmement discutés, que beaucoup de gens ne croient pas à cette latence virale, à cette infection dans les cellules. Nous montrons que ces infections, ces cellules, produisent vraiment du virus *in vitro*.

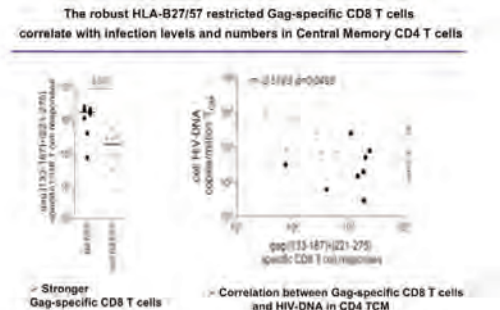


Une particularité de notre étude est que l'on a regardé le fond génétique de ces personnes. Lorsque l'on dit que le réservoir n'est pas le même d'un patient à l'autre, il y a bien sûr une régulation génétique de cela. Les patients HLA-B27 ou HLA-B57 ou HLA-B27 et -B57 sont relativement protégés et ont un niveau de réservoir bas (antigènes leucocytaires humains).

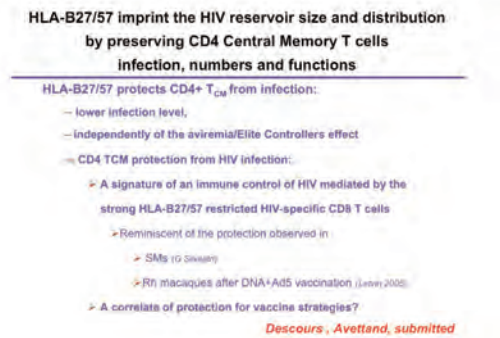


Quand on a un total de toutes les cellules, on voit que chez tous les patients HLA-B27/B57, les cellules centrales mémoires sont beaucoup moins infectées que les centrales mémoires des patients qui ne sont pas HLA-B27/B57. Bien qu'il s'agisse de patients à niveau de réservoir très bas, parmi eux, on arrive à trouver un groupe de patients pour lequel le contrôle et l'établissement du réservoir se sont passés encore d'une façon différente. Et cela nous paraît assez important car les centrales mémoires – ce sont elles qui sont réellement le moteur du contrôle immunitaire – sont celles qu'il faut préserver avec un traitement précoce, celles qu'il faut générer avec la restauration

immunitaire. Ce que l'on voit, c'est que, chez ces patients « protégés » qui contrôlent leur virus, le contrôle passe par la non-infection, ou l'infection à très bas niveau, de certaines cellules lymphocytaires.



Nous montrons que ce sont ces patients qui n'ont pas beaucoup d'ADN-VIH qui ont une meilleure réponse immunitaire, en fonction de ses limites. On a vraiment un lien entre réservoir bas et fonction immunitaire forte. Cela revient à ce que l'on disait tout à l'heure, à savoir est-ce que c'est la fonction immunitaire forte qui empêche de répliquer ou est-ce que le réservoir bas a empêché la destruction des cellules mémoires et maintenu les capacités immunes? Le message principal est que, finalement, ce contrôle virologique passe par le système immunitaire, et sans doute également par des facteurs tels que le facteur génétique ; mais plus on préserve son système immunitaire, plus on préserve ses capacités à contrôler le réservoir.



La conclusion de ce travail nous montre que l'on a un contrôle génétique du réservoir chez les patients HLA-B27/B57, que ce contrôle est une signature du système immunitaire ; et quand on va présenter ces résultats à plusieurs endroits, les gens se montrent extrêmement intéressés. Notamment les chercheurs du CDC (Center for Disease Control and Prevention aux USA) qui travaillent avec les singes Sooty Mangabey, nous disent : voilà, nous nous retrouvons avec des singes qui ont peu d'activation du virus, mais qui ont une préservation des cellules centrales mémoires. Il y a donc sans doute un mécanisme qui est le même que cette infection non létale, chez les singes Sooty Mangabey. Également chez les macaques, il y a bien une réponse immunitaire. Ces résultats ont sans doute plus d'impact que ce que l'on avait imaginé au départ.

- HIV persiste principalement au sein d'un pool de cellules T CD4 mémoires latentes caractérisées par leur longue durée de vie et par leur dissémination dans tout l'organisme
- Les HAART actuels réduisent le réplication virale et le risque de progression vers le Sida; ils n'atteignent pas les cellules infectées latentes
- Quid de l'éradication?

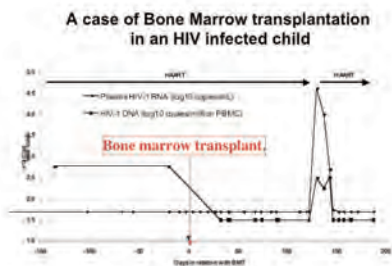
Au total, on se retrouve avec un virus qui va persister longtemps, disséminé dans tout l'organisme, avec des HAART (traitements antirétroviraux hautement efficaces comme les trithérapies) qui ne touchent pas les cellules infectées latentes. La question de l'éradication se pose dans les conditions actuelles de traitements.

**A case of Bone Marrow Transplantation in an HIV infected child**

- A Romanian 17 year-old man who had a blood transfusion at 8 years of age was HIV-1 infected.
- He was asymptomatic for years and first developed a Burkitt's Lymphoma.
- He received HAART, but later he developed an acute Leukemia.
- The BMT was decided. Efficient HAART was maintained.
- We performed the longitudinal virological follow up, with quantification of HIV-RNA and total HIV-DNA in blood cells and biopsies.

*Avettand-Fènoël et al AIDS 2006*

Finalement, l'éradication est-elle possible? Il y a eu un cas de transplantation de moelle chez un enfant qui nous a vraiment fait espérer l'éradication. Cet enfant de 17 ans – 8 ans d'infection – était resté asymptomatique pendant relativement longtemps, puis il a commencé à développer un lymphome de Burkitt. Il a été traité par HAART et, deux ans après, il a développé une leucémie. Au regard de cette leucémie, une greffe de moelle a été décidée, évidemment, sous traitement par HAART ; et on a fait un suivi clinique. La greffe de moelle, c'est l'élimination de cellules du système immunitaire, pour beaucoup, et de cellules lymphocytaires.

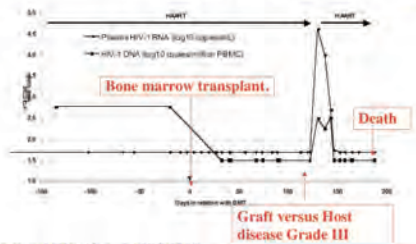


*Avettand-Fènoël et al AIDS 2006*

Que s'est-il passé? Nous avons observé ce patient avec une charge virale cellulaire positive sur cinq ans relativement basse – puisqu'il avait été traité longtemps par HAART – puis, la greffe de moelle s'est

faite, et la charge virale cellulaire s'est complètement négativée. C'était la première fois que, dans le labo, on avait un patient chez lequel toutes les biopsies étaient négatives, et chez lequel le sang périphérique, mesuré à plusieurs reprises, était complètement dépourvu de virus. On se disait donc que l'éradication était peut-être possible. D'autres études ont aussi exploré cette question – Alain va en parler. À partir de ce moment-là, le patient a eu des problèmes de troubles métaboliques importants, et des effets secondaires importants : il a fallu interrompre le traitement.

**A case of Bone Marrow transplantation in an HIV infected child**



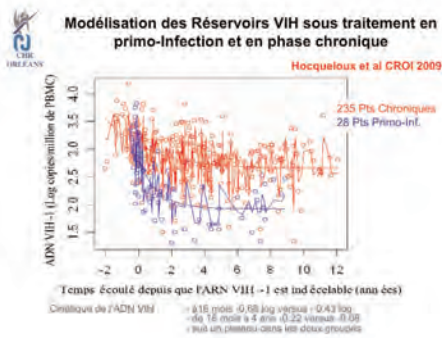
*Avettand-Fènoël et al AIDS 2006*

Et là, malgré le fait qu'il ait été négatif pendant plusieurs mois, la charge virale est immédiatement remontée; et, malgré le fait que le traitement ait été remis tout de suite, l'évolution a été fatale et l'enfant est mort.

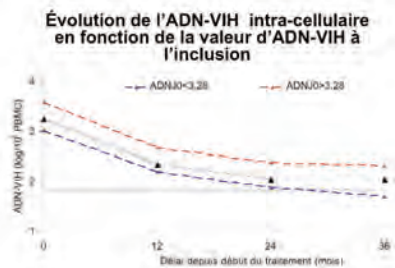
**Failure of the BMT to eradicate HIV infection**

We conclude that neither HIV infection was eradicated after BMT, nor HIV remission was obtained. This specific and rare case suggests that achieving very low level of HIV reservoir is not enough. The specific immune responses were completely absent. This case underlines the positive role of the immune system to maintain the reservoir at a relative stable level during the chronic phase of HIV infection. In this case, even if the reservoir was very low, in the absence of HIV specific immunity, HIV specific competent cells and cytokines network, the viral rebound was totally uncontrolled. Eradication won't be so easy.....

En résumé, nous nous sommes retrouvés avec un patient qui n'avait sans doute plus de cellules infectées, mais qui n'avait aucun système immunitaire compétent – puisque sa greffe de moelle l'a mis en état déficitaire. On n'a donc pas eu d'éradication. On a sans doute eu une diminution du taux de VIH proche de celle qu'on aurait obtenu pour une rémission, mais le système immunitaire était complètement absent ; donc la pression immunitaire était totalement insuffisante pour maintenir le réservoir si bas. Il faut donc retenir cette leçon. Chez ce cas, on n'avait pas de cellules compétentes spécifiques, pas de réseau de cytokines et donc le rebond viral était totalement incontrôlé. Cela nous fait dire que l'éradication n'est pas si facile, mais depuis il y a eu un cas qui nous intrigue beaucoup, chez lequel il y a peut-être une piste.



Alors où en sommes-nous? Nous travaillons pas mal avec l'équipe d'Orléans, et nous avons regardé, sur les 8-10 dernières années, un suivi de patients chroniques (235) et de patients primo-infectieux (28). On voit en rouge la diminution du réservoir chez les patients chroniques sous traitement par HAART. On voit qu'il diminue bien au début, mais qu'il en reste tout de même beaucoup à un niveau de 2,5 log. Par contre, on voit à l'opposé, et de façon significative, que lorsque l'on traite en primo-infection, on atteint des niveaux de réservoirs extrêmement bas. Ce n'est finalement qu'en primo-infection que l'on a autant de patients avec des réservoirs si bas. Avec un traitement en phase chronique, le niveau de réservoir baisse significativement moins qu'avec un traitement en phase de primo-infection. La question de la rémission se pose donc au regard du moment de la mise sous traitement : plus on traite tard, moins on y arrivera ; plus on traite tôt, plus on a de chances d'y arriver.



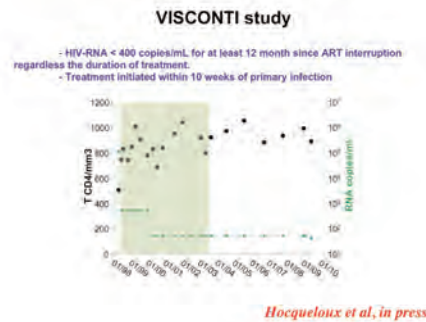
Ici, ce sont des résultats en primo-infection (données de l'ANRS). En rouge ADN fort, en bleu ADN faible, et au milieu la médiane. On voit que plus de 40% des patients traités en primo-infection passent en dessous de 2,3 log, ce que l'on n'obtient pas si facilement en phase chronique.

**ANRS EP47, The VISCONTI study**

**HIV-1 control after treatment interruption is associated to low levels of HIV-1 DNA**

- C Rouzioux, V Avettand-Fenoel,
- L Hocqueloux, T Prazuck, JP Viard, D Zucman
- G Pancino, A Saez-Irion, D Scotti-Algara
- B Autran, A Samri, I Theodorou
- A Venet, M Sinec,
- L Meyer, C Goujard, C Deveau

Nous avons continué à travailler avec les cliniciens d'Orléans, et nous nous sommes rendus compte que – au moment de la mode des interruptions, de la possibilité d'interruption de traitement – les patients traités en primo-infection assez tôt et relativement longtemps n'ont pas eu de rebond viral au moment de l'arrêt du traitement. Cela nous a étonné beaucoup intrigués et nous avons commencé en août une étude en groupe à l'ANRS.



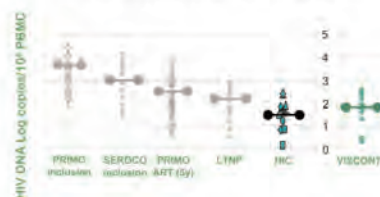
Voilà un exemple d'un patient traité très tôt après le diagnostic. La réplication virale diminue vraiment bien, le taux de CD4 remonte et, à l'arrêt du traitement – période grise – on obtient un contrôle virologique après arrêt du traitement. Ces patients sont effectivement peu nombreux, parce que ce schéma thérapeutique, personne ne le fait plus, donc on ne peut pas l'observer de façon abondante. On ne peut observer que celui pour lequel on l'a fait. Tout le monde nous dit que, de toute façon, ces patients sont rares. Ils sont rares mais nous sommes prêts à le reproduire.

**VISCONTI STUDY: Characteristics of patients included**

Code	Year of diagnosis	Time on HAART (months)	Time since HAART (months)	CD4 T cell count			HIV RNA		
				Pre HAART	HAART onset	Last	At diagnosis	Last	VL=ND
001	1999	21	72	416	887	1281	10 <sup>4.1</sup>	100	10/18
002	2001	28	88	953	959	889	10 <sup>3.5</sup>	100	13/17
003	1998	29	71	-	584	588	10 <sup>3.1</sup>	100	10/18
004	2001	19	84	287	423	441	10 <sup>3.2</sup>	200	8/18 1/18 1/18
005	1999	30	52	522	816	896	10 <sup>3.1</sup>	100	14
006	1998	26	48	787	1403	1383	10 <sup>3.1</sup>	100	10
007	1999	38	70	380	670	787	10 <sup>3.2</sup>	200	8/12 2/12
008	1999	8	113	871	1403	1403	10 <sup>3.7</sup>	100	23/21
009	2003	11	72	281	734	739	10 <sup>3.0</sup>	100	10/18
	1999	39	72	459	915	787	10 <sup>3.8</sup>	450	

Sur cette diapositive figurent les caractéristiques des patients qui sont dans la publication. On peut voir qu'un certain nombre d'entre eux avaient beaucoup de virus au début, et qu'ils n'avaient pas du tout les caractéristiques des asymptomatiques à long terme.

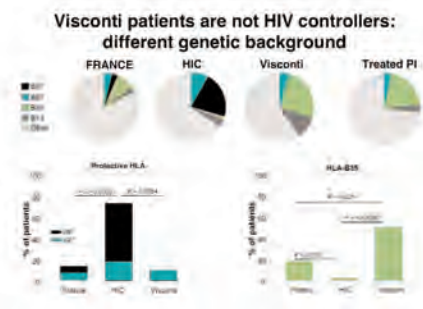
**VISCONTI patients have a very low Cell associated HIV-DNA level**



### CD8+ T cells from Visconti patients have weak or transient capacity to suppress HIV-1



On peut voir que, dans la suite des ADN-VIH par cohortes, les patients VISCONTI ont un réservoir extrêmement bas et un contrôle virologique après arrêt de traitement du niveau de celui de patients asymptomatiques et HIV Controllers. Pour moi, le message est clair : on n'a peut-être pas d'éradication, mais on a des pistes pour travailler sur le contrôle et sur la rémission extrêmement fortes, extrêmement intéressantes. Nous sommes donc en train d'essayer de comprendre les mécanismes immunitaires.



Nous avons exploré l'aspect génétique. La première chose, c'est le fond génétique. On a ici la répartition des gènes qui sont en lien avec le contrôle ou le non-contrôle de la réplication du VIH en France et chez des patients HIV Controllers. Les Controllers ont un fond génétique très particulier : ils sont HLA-B27/B57 de façon très fréquente, et sont significativement moins fréquemment positifs pour l'HLA-B35. Les patients VISCONTI ne sont pas du tout des futurs HIV Controllers dont on a arrêté le traitement et qui n'en ont plus eu besoin. Ce sont des patients qui sont très peu HLA-B27/B57 et qui sont beaucoup HLA-B35, comme les patients en primo-infection.

Nous avons donc des patients chez lesquels on a induit une rémission alors qu'ils n'avaient pas de fond génétique particulier. C'est une bonne nouvelle que l'on puisse obtenir cela chez beaucoup de gens, à condition de se faire traiter tôt, en primo-infection, dans de bonnes conditions et d'être observant.

**L'accès à de nouvelles molécules très puissantes et bien tolérées permet de reconsidérer la question des traitements précoces visant à réduire les réservoirs**

Donc, au regard de ces résultats, nous nous sommes posés la question du traitement très, très précoce. Un certain nombre d'entre nous a lancé la discussion de

l'essai OPTIPRIM. La question que l'on pose dans OPTIPRIM – qui ne se pose pas dans beaucoup d'essais thérapeutiques – est de diminuer très tôt le réservoir pour avoir une efficacité virologique très précoce qui va peut être nous permettre de préserver un système immunitaire très précocement.

### Essai ANRS 147 OPTIPRIM

Patients en primo-infection symptomatique.

- Essai randomisé de phase III, comparatif, prospectif, ouvert, multicentrique, d'une durée de 42 mois.
- Les patients seront randomisés entre 2 bras : TDF/FTC + DRV/r + RAL + MVC versus TDF/FTC + DRV/r.
- L'objectif principal est d'évaluer l'impact d'un traitement antirétroviral optimisé par rapport à une trithérapie classique sur le réservoir, mesuré par l'ADN-VIH dans les PBMC à M24 et la charge virale plasmatique après l'arrêt du traitement.
- Essai national avec 90 patients, inclusions fin mars 2010

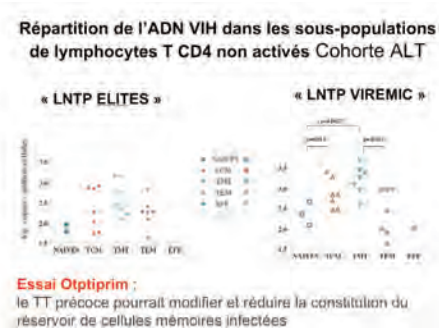
Il s'agit donc de patients en primo-infection. C'est un essai randomisé, qui est financé par l'ANRS et qui inclut 90 patients ; c'est un essai qui a commencé il y a peu de temps.

Il y a deux groupes de traitement. Il s'agit de vraiment bien diminuer la réplication virale, mais aussi de vraiment bien diminuer le réservoir dès la primo-infection avec une combinaison complexe : ténofovir (inhibiteur nucléotidique de la transcriptase inverse), FTC (inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse) et darunavir (inhibiteur de la protéase) – donc trithérapie – dans les deux bras – mais il y aura un bras renforcé qui aura, en plus, du raltégravir (inhibiteur de l'intégrase) et du maraviroc (inhibiteur du corécepteur cellulaire CCR5 du VIH). Donc un traitement puissant pour essayer de faire un peu plus. L'objectif principal est de comparer les deux bras et l'impact de ce traitement optimisé par rapport à une trithérapie classique – l'impact, non seulement sur la réplication virale, mais aussi sur le réservoir. Au bout de deux ans, le traitement va être interrompu, et là on verra si l'on a induit un contrôle virologique chez certains patients. Pour la première fois, on va essayer de reproduire les patients VISCONTI à l'aide de ce traitement. Les enjeux sont importants car s'il y a des patients chez lesquels on peut arrêter le traitement, ce serait tout de même une bonne nouvelle. Cependant, on le sait, ce ne sera pas tout le monde. Nous savons que ce ne sera pas forcément génétiquement contrôlé, cela va dépendre d'un certain nombre de choses que l'on va bien sûr explorer à travers cet essai. Pour le moment, c'est le seul essai de la sorte au monde. Il y a des essais de traitement précoce en primo-infection, mais pas avec un tel traitement.

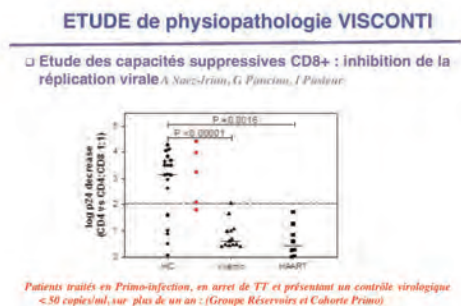
### Essai OPTIPRIM : OBJECTIFS

- 1 - Traiter tôt pour limiter l'infection de cellules mémoires et empêcher la constitution de réservoirs à très longue durée de vie
- 2 - Réduire le réservoir: limiter la réplication résiduelle liée aux cellules réservoirs = réduire l'ADN viral → Statut proche des HIV Controllers.
- 3 - Réduire le réservoir devrait limiter l'activation immunitaire chronique délétère (virémie persistante, tissu digestif)
- 4 - Préserver voir restaurer immunité innée et réponses TCD4 et TCD8 spécifiques

L'objectif est donc de réduire le réservoir très tôt. Nous pensons que l'on va garder un système immunitaire compétent le plus tôt et le plus longtemps possible. Encore une fois, le but est de préserver le système immunitaire.



Avec toutes ces techniques, nous allons regarder si, au moment de la primo-infection, le virus envahit l'organisme et toutes les cellules lymphocytaires de la même façon. Va-t-on va arriver à préserver les centrales mémoires? Va-t-on réussir à maintenir des fonctions immunitaires en préservant quelques fonctions du système immunitaires? Nous allons donc faire exactement comme nous avons fait pour l'étude avec Brigitte Autran, et Brigitte va participer à l'essai OPTIPRIM.



Nous allons essayer de multiplier les études et les recherches parallèles autour de l'essai OPTIPRIM et de l'étude VISCONTI, pour essayer d'induire un contrôle virologique et d'analyser les mécanismes. Peut-être n'a-t-on pas répondu à la question de l'éradication, mais le bilan est que l'on a induit de la rémission chez des patients. Et cela, les Américains ne l'ont pas observé. Pourquoi? Parce qu'il y a peu de patients que l'on ose interrompre maintenant, il faut qu'on le fasse au sein d'un essai. Il ne faut surtout pas se dire « je suis vachement content, j'ai été traité en primo-infection, on va pouvoir m'arrêter ». Il n'est pas question de cela. Nous sommes en exploration des mécanismes du contrôle ; c'est peut être moins bien que l'éradication, mais ce n'est pas si mal.

#### CONCLUSIONS

- La question de l'éradication des réservoirs reste entière, elle dépendra d'un système immunitaire **COMPÉTENT**.
- Le **CONTROLE** de la réplication à long terme est un « challenge » particulièrement difficile.
- La question de l'intensification n'est pas réglée; celle des traitements intenses (puissants) mérite d'être explorée, en particulier en traitements précoces: **REMISSION**

Pour conclure, la question de l'éradication reste encore loin, mais nous avons avancé considérablement en montrant que la rémission était associée à un système immunitaire compétent, et donc que le contrôle de la réplication à long terme reste sans doute un chemin difficile. Il me semble que la question de l'intensification n'est pas encore arrivée – on va voir ce qu'en pense Alain; celle des traitements intenses mérite d'être explorée, non seulement en primo-infection, mais aussi en traitement précoce, et je crois que la rémission est quelque chose qui fait aussi partie du vocabulaire, donc merci de ne pas utiliser que le mot « éradication » ! Je vous remercie.

#### Une personne dans la salle:

Merci, votre exposé était très intéressant, mais malheureusement très technique. Je voudrais poser une question: il y a vingt ans, on parlait d'ozonothérapie, je voudrais savoir ce que cela devient?

#### Christine Rouzioux :

Toutes mes excuses pour un topo trop technique, je ne suis que virologue. Quant aux ozonothérapies, je suis incapable de répondre.

#### Alain Lafeuillade :

J'en ai entendu parler. J'ai eu des patients qui ont été accueillis dans de vagues cabinets médicaux qui pratiquaient ça – ou bricolaient ça – dans l'arrière boutique, de façon tout à fait... – je suis désolé, on peut avoir des avis divergents – mais de façon tout à fait sauvage ; surtout à l'époque où les premiers antirétroviraux arrivaient là. En effet, on leur mariait leur sang avec de l'ozone. Ces patients aujourd'hui ne sont plus là, et ne peuvent plus bénéficier de vraies thérapeutiques actives, qui arrivaient sur le marché à ce moment-là.

#### Mikaël Quilliou :

Moi j'ai deux questions. Jusqu'à quel nombre d'antirétroviraux peut-on octroyer pour avoir des réservoirs sous contrôle? Le fait d'avoir 10 ou 13 ans de traitement a-t-il une incidence thérapeutique sur les réservoirs?

#### Christine Rouzioux :

Je vais essayer de ne pas être trop technique, mais il y a déjà des combats compliqués entre les différentes équipes sur comment mesurer le réservoir. Certains mesurent d'une façon, d'autres d'une autre et pensent que la mesure du voisin évidemment est mauvaise : il va donc déjà falloir lire entre les lignes. Je pense que la question n'est pas réglée et, comme je l'ai dit, suivant que le traitement intervient à un stade de la maladie ou à un autre, l'impact sur le réservoir ne sera pas le même. Pour le moment, les études ont été faites sans critère particulier de sélection de patients à moindre risque. Je pense donc que l'on n'a pas encore la réponse. Pour la première question, à quel moment de la primo-infection? Je ne veux pas désespérer ceux qui n'ont pas été traités en primo-infection, ce que je voulais dire c'est que c'est une maladie infectieuse, comme la tuberculose ; et à partir du moment où l'on est face au diagnostic, il faut

se dire que l'on est en France, que l'on peut bénéficier d'un traitement très précoce... Maintenant, il faut dissocier la question du traitement avant un chiffre inférieur à 500 CD4, ou avant un chiffre inférieur à 350 CD4. C'est à dire que – dans le rapport des recommandations nationales que nous sommes en train d'écrire – la question du traitement précoce chez les patients chroniques n'est pas la même chose que la question du traitement précoce en primo-infection. En même temps, il faut traiter précocement dans les deux cas. Pour moi, virologue, plus on va vite, mieux c'est, parce que l'on commence à bien connaître les effets délétères du virus lui-même, et laisser répliquer le virus, c'est laisser l'activation, c'est laisser beaucoup de choses.

**Une personne dans la salle :**

Quel sont les critères d'inclusion de l'essai OPTIPRIM?

**Christine Rouzioux :**

En fait, les critères d'inclusion sont de combien de semaines... Il y a l'inclusion dans l'essai OPTIPRIM, et il y a la vie en vrai. Je pense que si Alain a un patient qui n'a pas les critères OPTIPRIM, il va le traiter quand même. Disons que, dans l'essai que nous avons publié – allez le lire – on trouve que le délai de mise sous traitement, ainsi que la durée de traitement, ont sans doute un impact pour avoir induit ces patients. Dans la publication, le délai moyen est explicite dans l'article, certains ont été traités 3-4 semaines après la contamination et au moment du tout début des symptômes. Certains cliniciens – comme l'équipe d'Alain et l'équipe d'Orléans – sont très agressifs en matière de traitement précoce, d'autres mettent plus longtemps – 10-12 semaines; et là, on le voit dans la cohorte Primo, on a beaucoup moins de patients VISCONTI dans la cohorte Primo.

**Une personne dans la salle :**

Quelles sont les recherches sur l'IL-7?

**Christine Rouzioux :**

Il y a un essai qui vient d'être monté sur l'IL7. L'essai Sidéris en cours n'est pas fini d'être écrit et analysé, y compris l'impact sur les réservoirs puisque la mesure des réservoirs est encore au laboratoire et je n'ai pas encore rendu mes conclusions à Sidéris. Donc voilà, comprenez qu'il y a débat. Je pense qu'on aura les résultats peut-être à la rentrée.

**Une personne dans la salle :**

Pourquoi utiliser l'IL7 plutôt que l'IL2?

**Christine Rouzioux :**

L'IL7 est différent parce que les récepteurs à IL7 ne sont pas sur les mêmes cellules, c'est pour cela que toutes les études lymphocytaires sont si importantes. L'IL7 est à la fois capable de faire proliférer les CD4 – pas n'importe lesquelles, les naïves et les centrales mémoires – et, en même temps, d'activer un certain nombre de cellules. Et donc, ce que l'on voit dans la première publication, c'est que quelques patients sous IL7 présentaient des « blip » (virémie intermittente). La première hypothèse sur l'IL7 était

donc que l'IL7 pourrait peut être purger les réservoirs, puisque l'activation allait faire exprimer les cellules infectées. Ce que l'on observe sur le premier essai qui est publié, c'est que l'on a effectivement eu de l'activation avec les « blip », mais on n'en a pas eu suffisamment pour faire disparaître le réservoir. Vous verrez donc dans la publication que, exprimée – et là je fais attention à ce que je dis – en terme de fréquence d'infection – de cellules infectées – la fréquence est stable. Je m'arrête là. Mais l'on induit à la fois une prolifération et une activation, le jeu consiste à savoir quelle va être la balance : est-ce que ça va proliférer plus pour bien augmenter les CD4? Ou est-ce que ça va activer pour bien détruire les cellules infectées? Ce sont donc des mécanismes très différents de l'IL2, je crois que la prolifération est meilleure et il n'y a pas d'activation tant que ça.

**Gordon Tucker :**

Quelle est la participation de la prolifération des cellules infectées – et donc de la formation de cellules filles infectées – dans la formation des réservoirs?

**Christine Rouzioux :**

C'est sûr que, lorsqu'un lymphocyte prolifère, s'il est infecté, les deux cellules filles vont avoir le même contenu génétique que la cellule mère, le chromosome va donc être le même, et les deux cellules filles vont donc être infectées elles-aussi avec un virus latent. Certaines équipes considèrent que la prolifération est sans doute un élément qui va maintenir le réservoir, d'autres équipes disent que ce n'est pas cela du tout; c'est donc débattu. L'équipe du Dr. Rafick-Pierre Sékaly a tout de même montré récemment des résultats qui montrent que – moi je suis assez convaincue – dès qu'il y a prolifération, il y a formation de cellules filles infectées. Et c'est aussi pour cela que les HAART ne font pas beaucoup diminuer le réservoir.

**Une personne dans la salle :**

[Inaudible]

**Christine Rouzioux :**

Non, justement! Les cellules naïves vivent plus de dix ans et prolifèrent, les cellules centrale mémoire aussi, les transitionnelles un petit peu moins ; mais, du coup, non seulement elles vivent dix ans, mais en plus, au cours de leurs dix ans, elles prolifèrent et elles produisent des cellules qui elles-mêmes vont vivre 10 ans. C'est pour cela que l'on dit qu'un patient infecté l'est de façon définitive puisqu'il va garder des cellules capables de produire du virus toute sa vie. Ce degré d'infection, cette répartition du virus dans les cellules naïves, on ne la connaît pas encore très bien.

**Gordon Tucker :**

Quelle est la durée de vie des autres types de cellules infectées, comme les macrophages?

**Christine Rouzioux :**

Les macrophages vivent très peu de temps, 14 jours. Donc ça a un rôle important, mais c'est pour ça que c'est à moins de 25%, c'est que ça circule beaucoup, ça dissémine l'infection de l'organisme. Ça a un rôle,

c'est évident. Mais ce n'est pas le macrophage qui a un rôle majeur dans la persistance virale.

#### Une personne dans la salle :

Quels patients ont été sélectionnés pour l'étude VISCONTI ? Chez combien d'entre eux a-t-on réussi à induire un contrôle du réservoir?

#### Christine Rouzioux :

Vous le verrez dans l'étude, on a pris des patients chez Alain Lafeuillade, Jean-Paul Viard, Laurent Hocqueloux, de Orléans ; des patients traités en primo-infection, et sur lesquels il y a eu un arrêt de traitement. On a une série de 32 patients, et vous verrez une progression : certains ont un contrôle immédiat, puis une perte de contrôle, puis à la fin – au bout de 5 ans – on retrouve un petit groupe de patients qui ne perdent pas ce contrôle, 7 sur 32, c'est une fréquence relativement élevée, c'est donc pas si mal.

#### Une personne dans la salle :

[Inaudible]

#### Christine Rouzioux :

Tout à fait! Avec un ADN bas, et certains ont des fonctions CD8-suppressives solides, mais pas tous. Ce n'est donc pas le même mécanisme que chez les Controllers ; et surtout, ces fonctions CD8-suppressives passent beaucoup par HLA-B27/B57. On risque donc de ne pas en trouver beaucoup, puisqu'ils n'ont pas un mécanisme génétique de contrôle CD8-suppressif.

### Alain Lafeuillade



D'abord, je voulais vous remercier pour cette invitation. Même si le sujet est difficile, c'est un sujet qui me passionne. C'est un plaisir d'être avec vous toutEs ce soir pour en parler. Je suis clinicien, je suis thérapeute, donc j'essaierai de ne pas être trop technique, mais je le serai tout de même un peu aussi – c'est obligé. C'est toujours un plaisir d'être avec Christine et je voulais te féliciter pour l'engagement qui est le tien dans cette problématique. Alors, en tant que clinicien, on se heurte à un mur avec les traitements antirétroviraux actuels ; et l'on se demande s'il y a des portes d'entrée ou si vraiment les choses sont aussi bien gardées que cela.

### PLAN

- Pourquoi aller plus loin? Les limites des traitements actuels
- Mécanismes de la persistance du VIH
- L'éradication: un but réaliste?
- Les stratégies à l'étude

Voici le plan que je vous propose ce soir. D'abord, vous l'avez dit en introduction, on a des traitements qui sont là, qui sont efficaces, alors pourquoi aller plus loin? Est-ce que nous sommes, nous, chercheurs, cliniciens, jamais rassasiés – on veut toujours aller à l'étape ultérieure? Ensuite je reviendrai sur les mécanismes de la persistance du VIH. Je reviendrai sur la question : l'éradication est-elle un but réaliste? Vous vous doutez d'emblée que je ne répondrai peut-être que partiellement. Enfin, je reverrai en grande partie les stratégies qui sont actuellement à l'étude. Vous m'aviez demandé de parler des axes de recherche, des découvertes et de vers où on peut espérer aller. Vous m'aviez demandé aussi de parler de finances. J'avoue que je vais très peu en parler, pour deux raisons : d'abord, actuellement dans les hôpitaux on ne parle plus que de ça. Alors une réunion comme ce soir, ce serait dommage de remettre le sujet sur la table. La deuxième raison c'est que pour la plupart des thérapeutiques à venir, qui sont encore dans les cartons à l'heure actuelle, on n'a aucune idée de la balance, des bénéfices, et de combien tout cela peut coûter. J'en parlerai un peu quand même, mais peut-être pas autant que vous l'aviez suggéré.

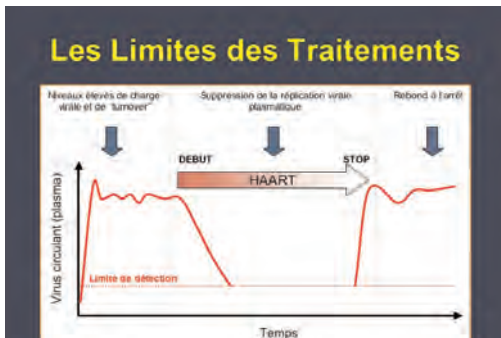


Alors en effet, pourquoi aller plus loin? Aujourd'hui on a vingt-cinq – ou plus – antirétroviraux qui sont efficaces. On a observé depuis leur introduction sous forme de trithérapie – j'utiliserai après le terme anglais de « HAART » – depuis les années 1996 une baisse faramineuse de la mortalité, de la morbidité due à cette infection. Les effets secondaires ont quand même bien diminué depuis les premières antiprotéases, l'époque du Norvir à 1200 mg. Le nombre de prises s'est simplifié et je crois qu'il faut reconnaître que les contraintes sont aujourd'hui bien moindres que ce qu'elles étaient au début de ces trithérapies.

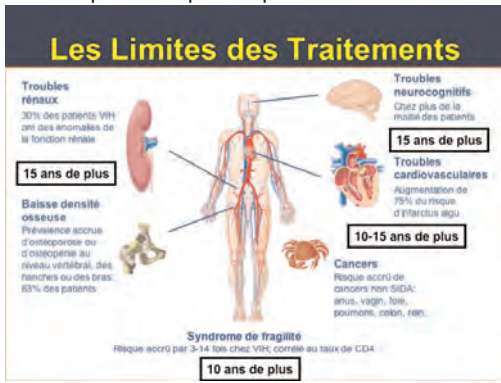




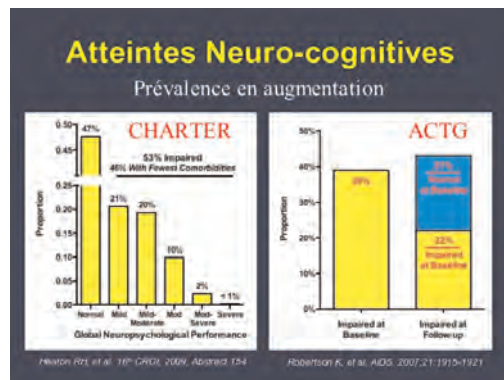
Et pourtant, je pense qu'on n'est pas encore arrivé à la ligne finale. Les limites de ces traitements restent présentes à plusieurs niveaux. D'abord au niveau mondial : n'oublions pas que chaque fois que nous, prescripteurs, nous initiions un nouveau traitement antirétroviral, dans le monde deux ou trois personnes nouvelles sont infectées par le virus. Donc cette balance, pour l'instant, elle est négative, pour les raisons que vous connaissez bien : le coût, l'accessibilité, l'engagement des gouvernements, etc., et la possibilité d'avoir des systèmes de soins cohérents pour suivre et évaluer ces thérapeutiques.



Les limites des traitements au niveau individuel, c'est bien sûr le fait que ces traitements ne sont que suspensifs. Je donne souvent cette image aux malades : on est comme avec une bouilloire, le traitement antirétroviral, c'est la pression sur la marmite et la charge virale, la vapeur qui est là, et qui ne demande qu'une chose, c'est qu'on relève un peu la pression pour repartir. Et on sait tous très bien que certes on « négative » cette charge virale ARN plasmatique avec ces traitements efficaces, mais qu'au bout d'un an, dix ans – combien a-t-on aujourd'hui de recul avec les antirétroviraux, plus de dix ans? – chaque fois qu'on arrête, la résurgence virale est là. Donc c'est un traitement qui n'est que suspensif.

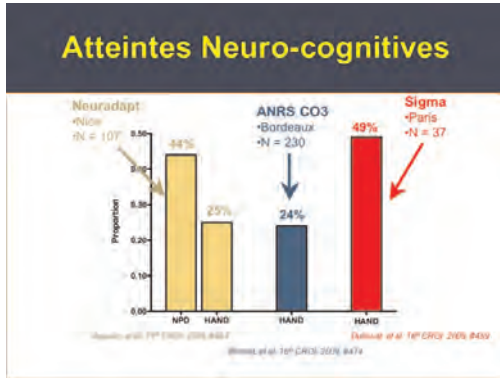


Les limites des traitements, c'est aussi tout ce qui arrive à nos patients, alors qu'on était contents pour eux, puisque la charge virale depuis cinq ans, dix ans, était indétectable avec les mesures courantes les plus pratiques – à cinquante ou vingt copies – que nous avions. On observe des troubles neurocognitifs, dont la prévalence augmente (on y reviendra), on observe des troubles cardiovasculaires (on en a assez parlé ces dernières années), des troubles rénaux, une baisse de la densité osseuse, des cancers autres que ceux qui étaient initialement pointés comme étant définisseurs du sida ; et globalement, on considère qu'un patient séropositif en succès thérapeutique aujourd'hui aurait physiologiquement 10 à 15 ans de plus qu'un autre. D'où cette notion de « syndrome de fragilité » qui est plus fréquent chez nos patients.



Les troubles neurocognitifs, qu'est-ce que c'est? Depuis quelques années, plusieurs groupes dans le monde se sont mis à faire des batteries de test neurocognitifs chez les patients. Ils se sont rendus compte que si, certes, l'incidence des formes neurologiques n'est plus grave comme à l'époque des monothérapies ou des bithérapies – la « démence du sida » a pratiquement disparu – on observe une prévalence continue et accrue de troubles mineurs, de troubles parfois asymptomatiques. Ces tests montrent que chez près de 50% des malades, les batteries de tests sont perturbées. Alors ce n'est pas 50% mais 46%, si on enlève les co-morbidités classiques dont on sait qu'elles peuvent être associées avec des troubles neurocognitifs, des co-infections par VHC, ou qui peuvent être des facteurs confondants, comme la dépression. Ce qui est important à noter aussi, c'est que non seulement cela existe sous traitement, mais également que le traitement n'empêche pas toujours l'apparition de ces troubles neurocognitifs. La partie de droite de la diapo montre un essai ACTG, où avant traitement 39% des patients ont des troubles neurocognitifs dans les batteries de tests. Pendant le suivi, 22% de ces patients, qui étaient déjà perturbés au départ, ont toujours des troubles neurocognitifs. Mais de manière qui interpelle, 21% des cas concernent des patients qui, malgré la mise sous traitement et l'absence de troubles neurocognitifs au départ, en ont développé, malgré la thérapeutique. Ce sont des études américaines.

Pour faire un petit peu français, souvenez-vous de ces études françaises, qui retrouvent les mêmes choses (société neurologique Anne Sorbers, troubles



neurocognitifs) ; ça c'est l'équipe proche de chez moi (Deniswar). Regardez les fréquences à Paris : les populations ne sont pas les mêmes, le nombre de patients n'est pas le même non plus, mais vous avez globalement 40 à 50% des patients qui présentent de tels troubles neurocognitifs dans les séries françaises qui ont été publiées ces dernières années.

### Atteintes Neuro-cognitives

- Etude Suisse sur 200 patients sous HAART avec virémie indétectable depuis médiane de 48 mois (3,2 – 136,6)
- 27% se plaignaient de troubles neuro-cognitifs
- Batterie de tests
- Prise en compte des facteurs confondants possibles (dépression...)

Simon S et al. AIDS 2010; 24: 1243-50

Plus récemment dans *AIDS*, un papier qui interpelle et qui montre sur 200 patients qui sont traités par HAART, avec une virémie qui est indétectable depuis un temps parfois très long (plus de 136 mois chez certains patients), que 27% se plaignent de troubles neurocognitifs ; on leur fait ces batteries de tests et on prend en compte là aussi les facteurs confondants qui pourraient troubler ces tests, en particulier la dépression.

### Atteintes Neuro-cognitives

- Etude Suisse sur 200 patients sous HAART avec virémie indétectable depuis médiane de 48 mois (3,2 – 136,6)
- 27% se plaignaient de troubles neuro-cognitifs
- Batterie de tests
- Prise en compte des facteurs confondants possibles (dépression...)

Simon S et al. AIDS 2010; 24: 1243-50

On observe que chez les patients qui se plaignent de symptômes au départ, les troubles neurocognitifs retrouvent, à des degrés divers, des tests perturbés dans 84% des cas. Chez les patients sans symptômes, 64% s'avèrent avec les tests présenter des troubles neurocognitifs. Il n'y a pas de cas

d'encéphalopathie démentielle du VIH : il s'agit essentiellement d'atteintes modérées ou symptomatiques. Mais c'est quelque chose qui interpelle le clinicien, puisque quelque part ça voudrait dire que certes, on est efficace niveau santé, mais que peut-être qu'ailleurs il se passe encore des choses.

### Atteintes Neuro-cognitives

- Le réservoir proviral circulant est corrélé aux troubles neuro-cognitifs : cohorte de 44 patients, corrélation entre certains déficits et un point de plus d'ADN VIH cellulaire circulant

Shimizu B. et al. J Neuropsychiatry Clin Neurosci 2007; 19: 157-63

J'ai trouvé ce papier qui avait corrélié il y a trois ans – c'est sans doute trop beau pour être vrai – le répertoire rétroviral circulant, le taux d'ADN cellulaire et certains troubles neuro-cognitifs, en particulier des troubles de la mémoire.

**Une personne dans la salle :**

C'est dans le LCR (liquide céphalorachidien) ou dans le sang périphérique?

**Alain Lafeuillade :**

Non, c'est dans le sang périphérique.

### L'inflammation Résiduelle

- Les marqueurs d'inflammation (hsCRP, IL6, D-Dimères, Cystatine C) restent plus élevés chez les patients VIH, même sous HAART efficace, que dans les cohortes non VIH étudiées pour le risque cardiovasculaire
- Cette inflammation pourrait être impliquée:
  - Dans la survenue de complications cardiovasculaires, rénales, diabète, néoplasiques...

Muhovic J et al. JID 2010; 201: 1786-95

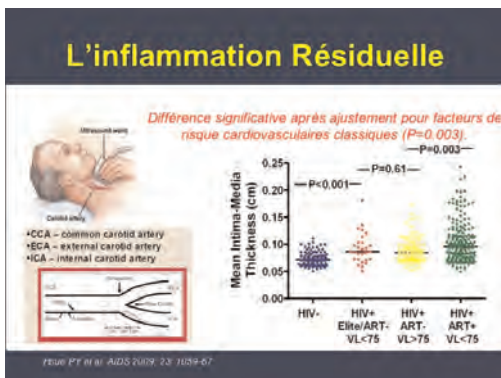
Un autre problème, on en a évoqué l'existence tout à l'heure, c'est que malgré cette charge virale écrasée pendant des années, malgré la remontée des CD4, il semble exister chez beaucoup de patients une inflammation résiduelle. Cette inflammation a été mesurée dans plusieurs études avec des marqueurs assez simples : la CRP ultra-sensible, l'interleukine 6, les D-dimères, la Cystatine C. On se rend compte que même chez les patients sous HAART efficace depuis des années, les taux d'inflammation mesurés par ces protéines restent plus élevés que dans des cohortes HIV-négatives suivies pour le risque cardiovasculaire. Plusieurs équipes impliquent cette inflammation résiduelle dans la survenue de complications cardiovasculaires, rénales, dans le développement du diabète chez les patients traités et dans certaines complications néoplasiques.

### L'inflammation Résiduelle

- Les marqueurs d'inflammation sont plus élevés chez les patients « Elite Controllers » que chez sujets non infectés par VIH
- Ces patients présentent une athérosclérose prématurée, mesurée par l'épaisseur intima/media, bien qu'ils contrôlent la réplication virale et ne reçoivent pas d'ARV

PEUR PF H H AIDS 2009 23 1054-67

Intéressant aussi : ces marqueurs d'inflammation sont aussi élevés chez des patients « Elite Controllers » (ces patients qui, sans traitement, contrôlent leur charge virale) par rapport à des sujets non infectés par le VIH. Des équipes américaines ont démontré que ces patients développent une athérosclérose accélérée par rapport à une population VIH-négative, chose que l'on met souvent sur le compte des épidémies, du traitement antirétroviral, voire des antirétroviraux eux-mêmes : sauf que ces patients n'ont bien sûr jamais reçu de traitement antirétroviral. Donc le VIH, même contrôlé, continue à faire des dégâts.



Voici l'illustration dont je viens de vous parler, c'est la mesure de l'épaisseur intima-media de la carotide par ultrasons. C'est une mesure de l'athérosclérose. On se rend compte que par rapport à des patients VIH-négatifs, c'est statistiquement significativement plus gros chez les patients « Elite Controllers » avec une virémie négative et qui n'ont jamais reçu de traitement antirétroviral.

### Mécanismes de la Persistance

Les Réservoirs et Sanctuaires du VIH

- Réservoir :
  - Endroit où quelque chose est gardé en stock
  - Notion de possible source
  - Notion de stabilité
- Sanctuaire :
  - Site de refuge
  - Notion de protection

Les 2 concepts sont très souvent intriqués

Je vais en venir maintenant à la problématique des réservoirs et des sanctuaires. Les deux choses sont un petit peu intriquées. Néanmoins le réservoir c'est quelque chose qui a une notion de stock, de stabilité, également de source possible de l'infection ; le sanctuaire a plutôt une notion de refuge, d'endroit où il est difficile de pénétrer. Mais que ce soit au niveau anatomique ou au niveau cellulaire, il faut reconnaître que les interrelations entre ces deux concepts sont permanentes.



Bien sûr, il faut comprendre quel est le mécanisme de cette force de reste, il faut trouver des failles, il faut trouver des points d'attaque ; pour cela il faut comprendre la latence virale, et les cellules qui sont infectées de cette façon.

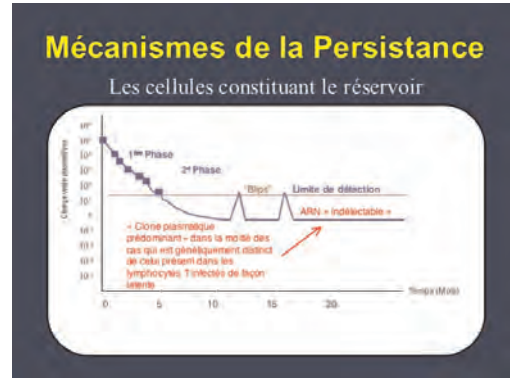


Le schéma a pas mal évolué ces dernières années. Voici l'interprétation d'un schéma publié dans Science (revue scientifique américaine) il y a peut-être cinq ou dix ans. À l'époque, ce qui était mis au centre de la diapositive, c'était le ganglion lymphatique. On a pris conscience ces cinq dernières années que c'était au niveau du tissu lymphoïde, associé au tractus digestif, qu'il y avait la plus grande charge virale, et que la plupart des CD4 de l'organisme étaient là. Mais la problématique des réservoirs et des sanctuaires va mettre en jeu différentes cellules (le macrophage, les lymphocytes, les cellules dendritiques...) et différents organes (le système nerveux central, le thymus, les cellules folliculaires et le tractus génital). C'est vraiment une interrelation entre différents organes, différentes cellules.

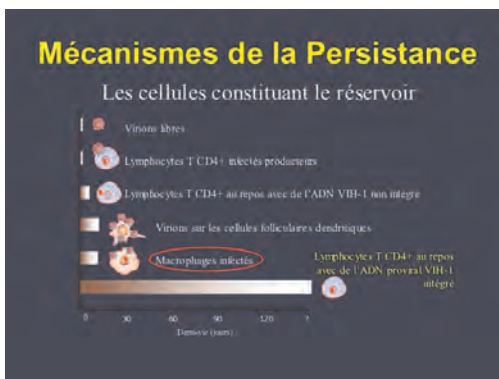
On considère depuis pas mal d'années qu'il y a deux mécanismes de la persistance, les deux mécanismes ne s'excluent pas obligatoirement. Pour certaines équipes, on penche plus d'un côté ou de l'autre. Le



premier côté, à droite, c'est la réplication résiduelle. Le concept, c'est celui de l'iceberg : c'est à dire que certes, les combinaisons antirétrovirales sont efficaces, mais elles ne le sont pas assez pour bloquer à 100% la réplication du VIH. Il persiste certaines cellules, certains sites anatomiques où le virus continue de se répliquer à bas bruit: la partie cachée de l'iceberg. L'autre théorie, c'est de dire que c'est efficace à 100%. Mais il y a vraiment un village irréductible : le virus est là déjà dedans, il dort. Que voulez-vous que l'on fasse contre ce sanctuaire inatteignable, et qui met à l'échec à long terme nos traitements antirétroviraux?



8 copies). Ceci a été publié, ainsi que la mise au point de la technique à une copie, par Sarah Palmer. Seulement si l'on étudie génétiquement ce que représente l'ARN résiduel, au dessus du seuil de détection et qu'on le compare avec ce cas des fameux lymphocytes TCD4 infectés de façon latente, on se rend compte que pratiquement une fois sur deux, génétiquement ce ne sont pas les mêmes gènes. Se pose donc la question d'un autre réservoir cellulaire – ce qui expliquerait ce que l'équipe de Siliciano appelle ce « clone plasmatique prédominant » chez certains patients.



Alors les cellules, on en a parlé. On parle toujours de lymphocytes TCD4 au repos et de l'ADN pro-viral intégré. C'est certainement le réservoir qui est le plus étudié, sur lequel il y a le plus de publications, le réservoir le plus « noble ». Mais il y a encore des inconnues. Les macrophages en effet, on dit que leur durée de vie est relativement plus courte – une quinzaine de jours. Néanmoins il y a des tas de papiers dans le dernier numéro de *retrovirologie.com* sur la persistance rétrovirale dans les macrophages. Donc peut-être qu'on ne sait pas tout. Le macrophage n'intéresse pas l'immunologiste, ce n'est pas assez noble. Le macrophage c'est une sorte de poubelle. On n'a pas fait assez d'études dessus à mon goût. Les lymphocytes CD4, en quelques heures, quelques jours maximum, sont détruits et tués par l'infection virale : ce n'est certainement pas là que le réservoir est.

Voilà ce qu'on obtient en pratique: on est indétectable au dessous de 20 ou 50 copies avec les traitements antirétroviraux. Comme Christine l'a rappelé, on sait que « indétectable » veut dire qu'il reste quelques copies par millilitre chez la plupart des patients (7 ou

- ### Mécanismes de la Persistance
- Le VIH pourrait infecter les progéniteurs hématopoïétiques multipotents et les cellules souches:
    - In vitro: cellules CD34+ infectables par VIH
    - In vivo: cellules CD34+ issues de patients indétectables sous HAART isolées, poussées à se différencier in vitro: 40% ont le génome du VIH intégré
- Carter CC et al. Nature Medicine 2011; 16: 446-51

Une piste a été récemment ouverte dans *Nature Médecine* (revue scientifique britannique), sur la possibilité que ce soit les cellules souches, les progéniteurs hématopoïétiques, qui constituent cet autre réservoir cellulaire. Ce travail montre que ces cellules sont infectables *in vitro* par le VIH, et que si l'on prend *in vitro* les cellules souches de patients qui sont indétectables, qu'on les isole, qu'on les pousse à se différencier, à terme, dans les lignées qu'on obtient, on arrive à quantifier dans 40% des cas du génome du VIH intégré.



Donc on a à la fois le message que le réservoir serait faible quantitativement, ce qui est relativement une bonne nouvelle, un million de cellules infectées de manière latente - de lymphocytes CD4 - pour l'organisme. Donc, certes, c'est comme chercher une aiguille dans une botte de foin, mais on a aussi la possibilité que ce réservoir se situe dans d'autres cellules de l'organisme.



Je pense qu'il va y avoir des choses dans ce sens-là qui vont sortir dans les mois à venir. La difficulté, c'est qu'on n'arrive pas, parmi ces lymphocytes TCD4 infectés de façon latente, à savoir lesquels sont infectés. Il n'y a pas de marqueur à la surface qui permette de les identifier pour aller les tuer avec certaines thérapeutiques. La situation est plutôt celle-là : parmi les lymphocytes TCD4 au repos, de temps en temps, il y en a un qui est responsable à long terme du portage du VIH.



Avec le travail qu'ont fait les virologues fondamentaux sur l'étude des mécanismes qui permettent cette persistance du VIH dans les cellules, on a acquis la certitude au fil des années que le maintien de la latence virale dans une cellule n'était pas possible ; c'est un mécanisme actif, qu'entretiennent à la fois le virus et la cellule.

**Mécanismes de la Persistance**

- Il dépend:
  - De l'organisation de la chromatine
  - De l'accessibilité de facteurs de transcription clés
  - D'une régulation post-transcriptionnelle:
    - Traduction et export des ARNm
    - Mécanismes d'interférence de l'ARN

Il y a plusieurs niveaux qui ont été bien étudiés, en particulier au niveau de l'organisation de la chromatine. On sait que l'inaccessibilité de certains facteurs clés nécessaires à la transcription rétrovirale va pouvoir favoriser la latence virale. On sait – il y a de plus en plus de papiers qui sortent – qu'il y a aussi une régulation, post-transcriptionnelle, qui va intervenir au niveau de la traduction de l'export des ARN-messagers, et même des mécanismes d'interférence de l'ARN (c'est-à-dire des petits bouts d'ARN qui viennent en bloquer d'autres, soit d'origine cellulaire, soit d'origine virale).

### L'éradication: un but réaliste?

- Des pré-requis pas encore tous réunis:
  - Connaissances fondamentales
  - HAART efficace dans tous les compartiments
- Buts: véritable « guérison » ou « guérison fonctionnelle »? *Fauci A. CROI 2010*
- Un seul cas de possible « rémission », situation exceptionnelle mais important pour le concept

Donc, l'éradication, un but réaliste? Les pré-requis ne sont quand même pas encore tous réunis. Il manque encore des données fondamentales pour connaître exactement la nature de ce réservoir, même si les choses ont énormément avancé. Il manque aussi des pré-requis thérapeutiques, puisque les traitements antirétroviraux ne sont pas efficaces de manière équivalente dans tous les compartiments de l'organisme. Et puis, cette question que l'on a largement évoquée est en fait une question double : qu'est-ce qu'on veut? La guérison, l'éradication virale? La voie montrée par les patients « Visconti », la voie de la guérison fonctionnelle (c'est-à-dire qu'il reste quelque part dans l'organisme des séquences rétrovirales mais que sans traitement il ne se passe rien, il n'y a pas de virémie) pourrait déjà être en effet un but terriblement intéressant.

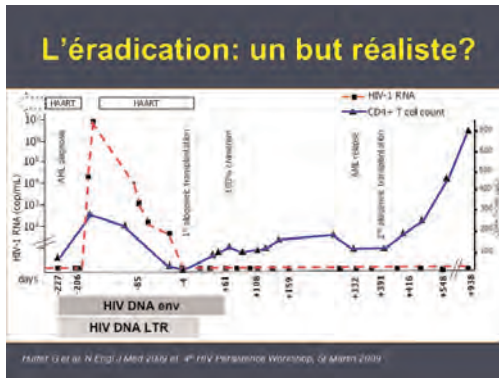
Il y a cependant ce cas, le patient de Berlin, qui a été publié, re-publié de congrès en congrès. C'est un patient qui a une histoire quand même assez fabuleuse. Tout partait mal au début ; c'est probablement le seul patient qui est en rémission aujourd'hui sur la planète VIH sans détection d'ADN viral.

### Christine Rouzioux :

Ah j'en ai un ; j'en ai la moitié de ces patients...

### Alain Lafeuillade :

En fait, ce que tu nous as montré avec la greffe de moelle, ce que tu as rêvé il y a quelques années, cette équipe-là l'a fait. Ce patient était sous traitement antirétroviral, seulement voilà, on lui diagnostique une leucémie aiguë. Alors c'est une catastrophe, le traitement est arrêté.



La virémie (en rouge) rebondit. L'équipe en question va lui proposer une greffe de moelle avec un donneur, mais avec l'idée dans la tête de sélectionner un donneur qui ait une délétion au niveau du CCR5, c'est à dire un donneur qui n'exprime pas le CCR5. C'était sa première greffe de moelle, donc ça n'a pas été facile à trouver dans la banque. Le CCR5, qu'est-ce que c'est? Vous savez que sur les cellules, pour être détectées par le virus, il y a besoin d'un récepteur principal qui est le CD4 ; mais on sait depuis 1995 qu'il faut un deuxième récepteur (qu'on appelle le co-récepteur) qui est soit le CCR5, soit le CXCR4, pour que le virus puisse rentrer dans la cellule. On a développé depuis des produits, les anti-CCR5 (le maraviroc, par exemple), qui bloquent ce récepteur qui est nécessaire. C'est-à dire que le CD4 ne suffit pas.

#### Christine Rouzioux :

En fait, il y avait plein de donneurs compatibles. C'était un groupe sanguin assez courant, du coup ils se sont retrouvés avec le choix. Ils ont quand même été extrêmement futés de choisir un tel donneur. Mais c'est parce qu'il y avait beaucoup de donneurs.

#### Alain Lafeuillade :

Ils ont donc choisi un donneur qui avait une délétion sur le CCR5, et le patient a eu sa première greffe de moelle à ce moment. Chirurgie totale : toutes les cellules ont été remplacées par les cellules du donneur. Il a reçu une greffe de moelle qui n'appartenait pas à lui, ou à quelqu'un de sa famille. Donc il a reçu une intense chimiothérapie et des radiations corporelles totales pour accepter cette greffe. Le traitement antirétroviral a été continué jusqu'à la greffe. La charge virale n'est jamais réparée. Le patient a eu une deuxième greffe de moelle parce qu'il a rechuté dans sa leucémie. Donc même traitement, une deuxième fois, un an plus tard. Et ce patient reste sans traitement avec un taux de CD4 qui s'est quasiment normalisé (c'est la courbe bleue à 800), avec des investigations qui ont été menées de manière assez agressive puisqu'il y avait une image suspecte au niveau de l'IRM cérébrale, donc il y a eu une biopsie cérébrale. On n'a pas retrouvé de virus à ce niveau-là. Je crois qu'il y a eu une biopsie hématique aussi. Ensuite les cancérologues aussi ont cherché la maladie résiduelle, les cellules de la leucémie aussi... Donc la quête était double : le VIH et la rechute de la leucémie. Et puis des biopsies au niveau du tractus digestif, où

il n'y a pas non plus d'ADN VIH. Ce patient a donc un ADN pro-viral dans les cellules circulant qui est indétectable, et un ADN pro-viral qui est aussi indétectable dans les autres niveaux, avec plus de trois ans de recul.

### Les Stratégies à l'Etude

- **Moment de l'initiation du HAART:**
  - Traiter au stade de la primo-infection
- **Optimiser les combinaisons ARV:**
  - Pénétration dans réservoirs
  - Intensification du HAART
- **S'attaquer au réservoir lui-même:**
  - Molécules anti-latence
  - Autres approches

Venons-en maintenant à ma partie de thérapeute : quelles sont les stratégies qui peuvent être envisagées pour essayer d'attaquer ces réservoirs? Il y a à la fois la quantité, la qualité et le timing.

### Traitement en Primo-infection



En termes de timing, on est convaincu – il y a de plus en plus de travaux qui le montrent –, que si on agit au niveau de la primo-infection (et je crois que la réponse à la question tout à l'heure c'est : le plus tôt, c'est le mieux) c'est très important. Pourquoi? Parce que c'est vraiment un moment unique dans l'histoire de la maladie. Ça ne se représentera jamais après. C'est la première rencontre du système immunitaire avec ce virus. Là, il est encore vierge, et beaucoup de choses se jouent à ce moment-là.

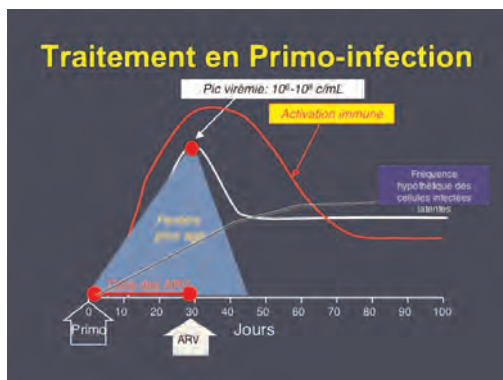
### Traitement en Primo-infection

- Corrélation entre taille du réservoir et importance (pic/durée) de l'exposition au VIH pendant la primo-infection (Margolis 2009)
- Cas de patients traités à ce stade restés en « rémission » sans traitement (Kinloch 2009)
- Décroissance du réservoir si traitement à ce stade (Chun 2007): demi vie de 4,6 mois

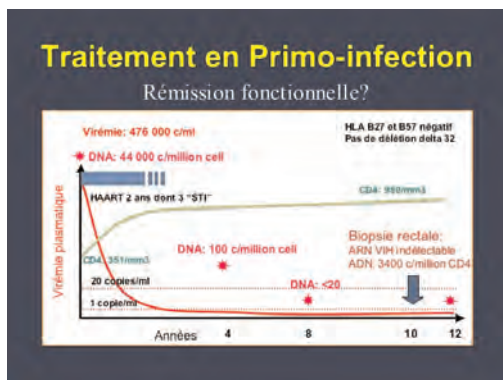
Margolis D. 4<sup>e</sup> HIV Persistence Workshop, St Martin 2009  
Chun TW, et al. J Infect Dis 2007;195:1762-4  
Kinloch D, et al. 4<sup>e</sup> HIV Persistence Workshop, St Martin 2009

Alors dans la littérature, on trouve des données ; il y a des équipes qui ont travaillé là dessus, dont David

Margolis, pour dire que la taille du réservoir est liée aux pics et à la durée de l'exposition initiale à la virémie. Il y a des cas – qui ont été publiés en workshops l'année dernière – de patients qui sont restés en rémission après un traitement initié le plus précocement possible. La plupart du temps, ce sont des patients qui ont eu un ELISA positif et qui avaient encore un Western Blot totalement négatif. La charge virale était à plusieurs millions, et, après des années toujours sans traitement, parce que ce traitement a été arrêté – c'est ce qu'on essayait de faire à l'époque. Et puis il y a ce travail de Chun, qui porte sur peu de malades, avec des mesures des cellules latentes, mais par la technique la plus « lourde » qui existe, et qui semble montrer, sur peu de malades, une décroissance du réservoir avec une demi-vie qui est estimée là de manière relativement optimiste.



Voilà donc la primo-infection : c'est à la fois un pic de virémie (plusieurs millions de virus par millilitre de sang) ; c'est aussi un pic d'activation du virus. Notre concept, c'est que si l'on joue thérapeutiquement à ce moment-là, on a une fenêtre d'opportunités pour essayer de diminuer le réservoir qui est en train de s'établir de manière croissante, et qui après est relativement stable dans l'infection chronique. Il faut donc agir sur le pic, il faut agir sur le délai de mise en route des traitements antirétroviraux. C'est ça dont je parlais en évoquant la fenêtre d'opportunités pour agir.



Juste pour finir avec la primo-infection, c'est un patient que j'avais initié en 1998 dans le Var pour recevoir une quadri-thérapie antirétrovirale. Il y avait à l'époque trois arrêts thérapeutiques programmés (c'est-à-dire deux ans de traitement). On espérait comme ça arriver à l'auto-vaccination. Le virus remontait un peu : on reprenait le traitement pour ne

pas qu'il arrive trop haut, on arrêtait à nouveau, etc. Ce patient avait en primo-infection une virémie à presque 500 000 copies, un ADN circulant à 44 millilitres par million de cellules. Les CD4 avaient quand même bien diminué. Ce traitement a été initié pendant deux ans. La virémie s'est négativée, elle ne s'est jamais repositivée après l'arrêt. C'était en 1998. Le taux de CD4 est depuis longtemps normal, c'est un patient qui va bien. Il y a tellement d'autres docteurs qui lui ont dit : « Mais Lafeuillade, il ne te traite pas, ça ne va pas. Il faut te traiter! » C'est perturbant, c'est perturbateur... La charge virale était positive jusque là, elle est indétectable depuis (c'est-à-dire en-dessous du seuil où on arrive à la mesurer). Il n'y a eu aucun pic du VIH depuis dix ans... Donc comme ce patient a accepté d'avoir une biopsie rectale, on a regardé dans les lymphocytes du tissu rectal. On n'a pas trouvé d'ARN détectable, mais il y a bien sûr toujours de l'ADN VIH. Donc le virus est toujours là. On est dans une situation de rémission fonctionnelle. Regardez en haut à droite : ce n'est pas un patient qui a les marqueurs génétiques classiques des patients Controllers.

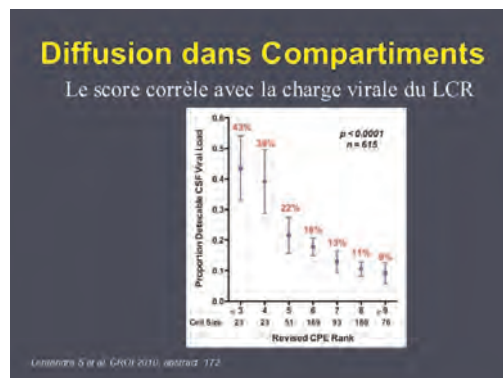
Améliorer nos traitements antirétroviraux, c'est donc rêver de traitements qui vont diffuser d'une manière efficace à tous les niveaux, parce qu'une des craintes pour nous cliniciens, c'est d'être en monothérapie ou en bithérapie dans un secteur, et en trithérapie dans le sang circulant.

### Diffusion dans Compartiments

Score « CHARTER »

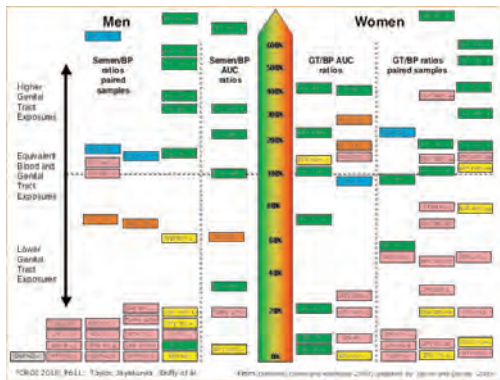
	4	3	2	1
<b>NRTIs</b>	Zidovudine	Abacavir Emtricitabine	Didanosine Lamivudine Stavudine	Tenofovir Zalcitabine
<b>NNRTIs</b>	Nevirapine	Delavirdine Etravirine	Etravirine	
<b>IPs</b>	Indinavir-r	Darunavir-r Fosamprenavir-r Indinavir Lopinavir-r	Atazanavir Atazanavir-r Fosamprenavir	Nelfinavir Ritonavir Saqunavir-r Tipranavir-r
<b>Inh. Entrée/fusion</b>		Maraviroc		Enfuvirtide
<b>Inh. Intégrase</b>		Raltegravir		

Lumicores S et al. CROI 2010, abstract 172



Vous connaissez peut-être ce fameux score « Charter », sur lequel je passerai très vite. C'est juste pour dire que cette équipe américaine a depuis des années affiné la classification des traitements antirétroviraux selon leur pénétration dans le système nerveux central – regardez, en score 4, ce sont des molécules qui pénètrent bien dans le système nerveux. C'est documenté, dans leur

cohorte il y a plus de 1200 patients qui sont suivis depuis des années et qui ont subi des ponctions lombaires à répétition. Ce score permet aussi d'être adapté à chaque combinaison thérapeutique. C'est-à dire que vous allez prendre chaque produit de la combinaison, voir quel est le chiffre qui lui est attribué et faire un score total. On se rend compte que quand on fait ça, il y a une corrélation qui est parfaite entre ce score de pénétration des antirétroviraux dans le système nerveux central et le contrôle de la virémie dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). Sont utilisées des techniques de détection à deux copies, deux copies et demie dans le LCR. Donc on peut déjà voir nos antirétroviraux d'un autre œil, selon qu'ils pénètrent ou pas dans ces fameux sanctuaires.



Cette diapositive, elle est immonde. Elle est incompréhensible, et en plus elle est floue. Je ne vais pas vous détailler chaque carré, je vais simplement vous dire qu'il y a quelques années, on avait un calcul carré. Et aujourd'hui, les laboratoires – et je crois que c'est quelque chose de positif, on a peut-être participé à ça – quand ils développent un nouvel antirétroviral, se pose la question de savoir s'il diffuse, et en particulier s'il diffuse dans le tractus génital. Et vous vous rendez compte que pour pratiquement toutes les molécules aujourd'hui, on sait si le produit diffuse bien, voire s'il se concentre dans le tractus génital, dans le sperme masculin ou dans les sécrétions vaginales féminines. C'est important, car on sait que le tractus génital est un sanctuaire aussi, et on sait que pour la transmission il vaut mieux avoir un virus indétectable à ce niveau-là. Juste pour dire que ce concept quand même de sanctuaire, il a été en partie écouté par l'industrie pharmaceutique, qui prévoit maintenant des sous-études dans le traitement de ces molécules, pour avoir des données là-dessus. Donc s'ils recherchent des données, c'est que ça doit servir un jour à quelque chose.

### Améliorations Pharmacologiques

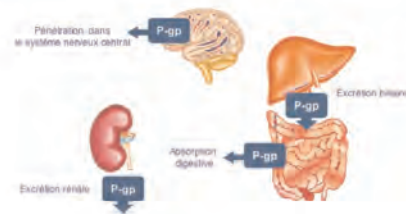
- **Formes liposomales, nanoparticules des ARVs**
  - Pour meilleure distribution des ARVs dans certaines cellules et compartiments
- **Modulation des pompes d'efflux (P-gp, MRP):**
  - Pour meilleure concentration des ARVs dans certains compartiments
  - Mais risque de contrarier leur rôle protecteur et physiologique

Rao KS, et al. Biomaterials 2008;29:4429-35

Alors comment peut-on rêver d'améliorer les molécules qui sont déjà à notre disposition? Il y a régulièrement des travaux qui essaient de développer des formules liposomales – pour mieux délivrer une molécule dans une cellule ou dans un lieu de l'organisme ; les nano-particules aussi. Et puis, il y a ce problème des pompes d'efflux. Les pompes d'efflux, c'est quoi? C'est des pompes qui sont au niveau des membranes, qui sont physiologiques – et heureusement qu'elles sont là, pour aller éjecter d'un secteur un produit qui est potentiellement toxique. Heureusement qu'on a des pompes d'efflux au niveau du système nerveux central, parce que sinon, chaque fois qu'on respirerait le plomb qui traîne dans la rue, il irait directement là haut. Mais les pompes d'efflux reconnaissent aussi les médicaments, qui sont des produits potentiellement toxiques. Exemple : l'atazanavir (un inhibiteur de la protéase). D'après la quantité qui est libre dans le plasma de l'atazanavir, on prévoit qu'on devrait retrouver dans le liquide céphalo-rachidien 10% de l'atazanavir circulant. Or, on n'en retrouve que 1%. Pourquoi? Parce qu'une fois que l'atazanavir a pénétré dans le système nerveux central, ces pompes d'efflux le font ressortir, comme un produit toxique, en grande majorité.

### Améliorations Pharmacologiques

Lieux d'action de la P-gp



Alors ces pompes d'efflux (dont la protéine P-gP) empêchent la pénétration des molécules dans le système nerveux central, et agissent au niveau de l'absorption digestive des médicaments, au niveau de leur excrétion biliaire et de leur excrétion rénale. Donc on a pensé développer des produits pour moduler ces pompes d'efflux, mais là il y a des interrelations : on va sans doute contrarier des mécanismes qui sont physiologiques.

### Intensification des ARV

- Premiers essais avec nNRTI ou IP/r ou RAL: pas d'action sur virémie résiduelle
  - Intensification de courte durée / cinétique lente
  - Données que plasmatiques
- Trois essais publiés cette année laissent le débat encore ouvert

M&Mahan D et al. CID 2010; 50: 912-19

L'intensification, vous connaissez l'histoire. On est partis avec une molécule, on a conçu la bithérapie, la trithérapie, et puis on se dit : le reste du virus, de l'ARN



dans un faible taux ; on veut l'écraser encore plus – c'est normal, c'est notre rôle en tant que thérapeutes. Quand je parle d'intensification, il s'agit de gens qui sont en succès thérapeutique, ils ont reçu des trithérapies, des combinaisons, et ils sont indétectables à moins de 50 copies, donc tout va bien. Leur ARN est détectable si l'on utilise des tests à une copie, donc on va pouvoir ajouter un produit, deux produits. Au début ça a été fait en effet avec des inhibiteurs de protéase ou de l'éfavirenz, plus tard avec du raltegravir, sur des durées courtes (30 jours) alors que s'il y a une cinétique de croissance à ce stade-là, elle est certainement très lente, et donc il va falloir traiter très longtemps pour essayer de voir quelque chose s'infléchir. Du reste, on n'a rien vu du tout, puisque les patients à quelques copies, ce n'était pas significatif pendant l'intensification, ça restait pareil, ça restait à quelques copies, ça ne baissait pas plus. Néanmoins, trois essais ont été publiés cette année, qui semblent montrer que le débat de l'intensification n'est pas encore complètement fermé.

### Intensification des ARV

- Intensification chez 7 patients par RAL ou RAL+EFV ou RAL+IP/r durant 12 semaines
- Aucune variation significative mais:
  - Pas de modification dans biopsies recto-coliques ou duodénales
  - Biopsies iléales: tendance à la baisse du titre d'ARN VIH dans les cellules (3438 à 682 c/million), à une baisse d'activation des CD8 et à une augmentation du nombre de CD4

Yim S et al. CROI 2010; abstrid 279

Il y a cette publication de la CROI dont vous a parlé Christine, qui portait sur deux de nos patients. Ces patients avaient été intensifiés par du raltegravir ou du raltegravir et de l'éfavirenz, ou du raltegravir et de l'inhibiteur de protéases boosté pendant douze semaines. Cette équipe qui a voulu essayer de voir ce qui se passait au niveau tissulaire, au niveau du tractus digestif (où il y a des tas de lymphocytes dans la muqueuse) et qui a fait à certains patients des biopsies à plusieurs niveaux. Évidemment, ça ne conclut pas, il y a peu de patients – vous imaginez les groupes que ça fait – mais néanmoins, il ne se passe rien dans les biopsies recto-coliques ou duodénales. Au niveau des biopsies iléales, quand même, on observe chez des patients qui étaient positifs au départ, une baisse de l'ARN du VIH intracellulaire d'environ 3000 copies à 600, mais aussi une baisse d'activation des CD8 et une augmentation des CD4 tissulaires. Ça ne s'est pas observé dans les biopsies à d'autres niveaux. Donc le tube digestif en tant que réservoir lymphocytaire et de virus n'est peut-être pas le même sur toute sa longueur.

L'autre travail, c'est le travail de Santiago Moreno à Madrid. Petit effectif également, intensifié avec du maraviroc pendant 48 semaines. On est donc partis sur des protocoles avec des durées d'intensification qui collent plus à ce qu'on devrait faire. On a pour

### Intensification des ARV

- Intensification chez 9 patients par MRV prévue durant 48 semaines
- A 12 semaines:
  - Réservoir non quantifiable chez 8 patients
  - Virémie résiduelle tend à augmenter (qq c/ml)
  - Cercles à 2 LTR se positivent chez 5 patients
  - Diminution de l'activation des CD4

Gutierrez G et al. CROI 2010; abstrid 284

l'instant des publications dans les congrès à seulement 12 semaines. Il est également difficile de tirer des conclusions, mais le réservoir n'a pas pu être quantifié chez certains patients. Le maraviroc agit sur le CCR5, donc a aussi un rôle immunomodulateur. C'est peut-être ce qui explique que cette petite virémie résiduelle que l'on observe chez certains patients a eu plutôt tendance à augmenter (à l'inverse de ce que l'on s'attendait à observer), que les cercles à 2 LTR (long terminal repeats, une séquence présente de part et d'autre de l'ADN proviral permettant l'intégration et contenant des éléments régulant l'expression des gènes) sont positifs chez certains patients, et que l'activation des CD4 diminue. Les cercles à 2 LTR, c'est quand il y a une réplication virale, le virus infecte la cellule. L'ARN est dans la cellule, et à ce moment là, situation normale, cet ARN va être transformé en ADN et va s'intégrer dans le noyau. De temps en temps, il y a quelques cercles à 2 LTR qui sont produits dans le noyau. Et si vous avez un traitement, un produit qui inhibe l'intégration comme le raltegravir, vous allez avoir pendant un certain temps une accumulation de ces cercles à 2 LTR. La présence, l'augmentation, l'accumulation de ces cercles prouve qu'il y a une réplication résiduelle.

### Intensification des ARV

- Intensification chez 45 patients par RAL vs 24 contrôles, durant 48 semaines
- Augmentation des cercles à 2 LTR chez 29% vs 5%: concerne surtout ceux avec IP/r
- Pas de changement taux ADN VIH intégré ni charge virale au seuil de 1 c/ml
- Témoignerait d'une réplication résiduelle

Rizzen MJ et al. Nature Med 2010; 16: 460-5

C'est ce que montre ce travail, publié dans *Nature Medecine*, il y a quelques mois. Un travail sur 45 patients, qui ont été intensifiés par du raltegravir. Il y a un gros contrôle de 24 patients. Tout cela dure 48 semaines. Et on se rend compte que chez 29%, il y a une augmentation des cercles à 2 LTR. C'est significatif par rapport au contrôle (5%). Donc on est dans l'histoire de l'iceberg : une réplication résiduelle persiste chez à peu près 30% des patients qui sont traités par antirétroviraux. Cela interpelle, c'est curieux, on ne sait pas encore pourquoi ; dans cette

étude, c'était les patients qui étaient traités sous IP/r (inhibiteur de protéase boosté au ritonavir). Il n'y a pas de changement de l'ADN cellulaire. Il n'y a pas de changement au niveau de la charge virale. Donc quand même un travail qui va dans le sens d'une petite réplication résiduelle chez une partie des patients.

### Traitements anti Latence

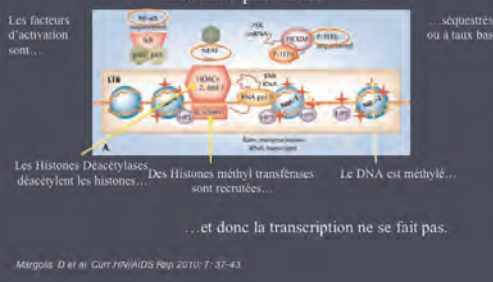
- Concept de « réveil » ou « purge » du réservoir
  - Activer production virale par cellules latentes
  - Causant la mort de ces cellules
  - En présence d'ARVs pour ne pas infecter les cellules encore saines
- Premiers essais avec produits entraînant une activation immune générale ou immunosuppression

Fichtman D et al. Science 2009; 323: 1304-7

L'autre concept, sur lequel on voit sortir beaucoup de publications ces dernières années, c'est le concept de réveil, ou purge du réservoir. Le but c'est d'activer la production virale par ces cellules latentes : c'est-à-dire faire cracher le virus à ces cellules, et elles vont en mourir puisqu'elles vont avoir une infection active. On va protéger les autres cellules saines par un traitement antirétroviral renforcé, et on va peu à peu vider le réservoir. C'est un concept qui ne date pas d'hier : au début, les équipes qui ont tenté ça l'ont fait avec des anticorps anti-CD3, donc des produits qui entraînent une activation énorme de tous les lymphocytes de l'organisme, des produits qui entraînent un véritable orage cytoclinique. L'organisme n'a pas l'habitude d'avoir tous ses lymphocytes CD4 activés d'un seul coup, il ne supporte pas. Donc ce sont des protocoles qui ont mal fini. Les patients non seulement n'ont pas eu leur virus éradiqué, mais je pense notamment au protocole avec l'OKT3 qui avait été fait par l'équipe d'Amsterdam, beaucoup de ces patients ont fini en réanimation. Donc il faut activer, mais il ne faut pas activer comme ça de manière désordonnée toutes les cellules CD4. La latence pro-virale, on connaît bien maintenant, et différentes équipes ont travaillé sur les mécanismes actifs qui permettent au virus d'être latent, de rester latent, une fois qu'il s'est intégré dans les cellules.

### Traitements anti Latence

#### Latence provirale

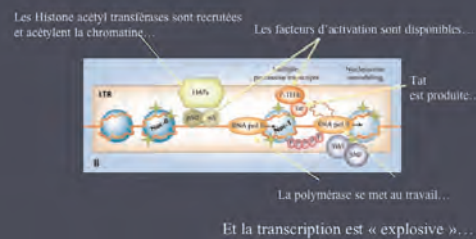


Ce qu'on connaît bien, c'est au niveau des histones. Ce sont des protéines qui vont modifier l'ADN des cellules. On sait qu'il y a des produits qui s'appellent

des histones déacétylases, qui comme leur nom l'indique, déacétylent les histones, ce qui participe à la latence rétrovirale. Il y a des histones méthyltransférases, qui sont aussi recrutées et qui vont méthyliser tout ça. Il y a aussi une méthylation de l'ADN, qui joue dans le maintien de la latence virale, et puis d'autres mécanismes tout bêtes, des facteurs de transcription qui sont nécessaires au virus pour qu'il puisse se multiplier.

Ces facteurs, dans la situation de latence rétrovirale, sont séquestrés par d'autres produits qui les empêchent d'arriver au noyau et de jouer leur rôle. Tout ça fait que le virus, qui est donc à l'état dormant, ne se transcrit pas.

### Traitements anti Latence



Au contraire, si ces facteurs ne rentrent pas en jeu, si les histones acétyl-transférases arrivent à acétyler la chromatine, si les facteurs d'activation sont disponibles, si la protéine Tat (qui active tout ça) est produite, la polymérase se met au travail. Le virus est réveillé et la production virale est explosive.

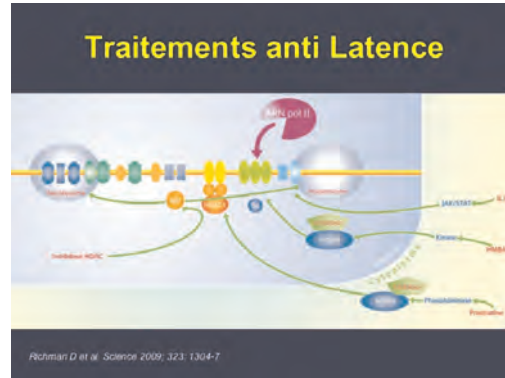
### Traitements anti Latence

- Inhibiteurs des histones déacétylases (HDACi): acide valproïque: « Proof of concept » sur 4 malades mais effet non observé dans d'autres études par la suite
  - Intensification par inhibiteur de fusion du VIH
  - Rajout d'acide valproïque à la dose de 500 à 750 mg x 2/jour pendant 3 mois
  - Quantification du réservoir par techniques de dilution limite
  - Diminution significative du réservoir de presque 68 %

Lafont G et al. Lancet 2005; 366: 549-55

Donc une des premières choses qui aient été testées pour essayer de réveiller ce virus dormant, c'est ce qu'on appelle les inhibiteurs des histones déacétylases. Vous avez sûrement vu les travaux initiaux en 2005 de l'équipe de David Margolis sur l'acide valproïque, puisque c'est un inhibiteur des histones déacétylases. C'était quatre patients qui étaient intensifiés aussi, parce que le but c'est de réveiller le virus, mais de protéger quand même les cellules qui ne sont pas infectées ; à l'époque c'était avec du Fuzéon. Puis ils avaient reçu de l'acide valproïque : c'est un produit anticonvulsivant qu'on utilise en clinique, donc que l'on sait manier. Cette équipe avait quantifié chez ces 4 patients - par les mesures lourdes, qui nécessitent beaucoup de

prélèvements sanguins de cultures du réservoir – et avait montré une diminution de ce réservoir de 68%. Ils ne sont pas arrivés non plus à la reproduire par la suite. Les autres équipes dans le monde qui ont fait des études avec l'acide valproïque ne l'ont pas non plus reproduit. Donc il faut trouver de nouvelles générations de produits qui soient capables de réveiller le virus et de lutter contre sa latence.



### Traitements anti Latence

- **Prostratine** :
  - Extrait écorce arbre Îles Samoa
  - Agit via la voie de la Protéine Kinase C pour libérer les facteurs cellulaires importants dans la transcription virale; nécessite Tat
  - Pas d'activation du système immunitaire
- **HMBA** : Hexaméthylbisacetamide
  - Agit via la voie des Kinases pour libérer les facteurs cellulaires importants dans la transcription virale (P-TEFb); n'a pas besoin de Tat
- **Interleukine 7** : agit par d'autres voies

*D. et al. Science 2009; 323: 1304-7. Nishijiri G and Pomerantz RJ. Expert Opin Biol Ther. 2005; 5: 1421-6*

Donc le principe du réveil du virus dormant se place à plusieurs niveaux, par des voies différentes : les inhibiteurs des histones déacétylase, la prostratine, qui passe par une autre voie, qui libère les divers facteurs de transcriptions qui sont bloqués, l'HMBA, l'interleukine 7. Chacun utilise des voies différentes de la cellule pour pouvoir aller essayer de réveiller le virus et le faire se répliquer. On voit régulièrement dans la littérature des papiers de différentes équipes, des équipes qui disent « ca y est, j'ai trouvé un autre produit anti-latence ».

Parmi les produits dont vous avez entendu parler, il y a la prostratine : c'est un produit qui est extrait de l'écorce d'un arbre, qui agit par ce qu'on appelle la voie des kinases, mais qui nécessite la présence de Tat. Or on sait que dans les lymphocytes infectés de façon latente, il y a peu de Tat. Il y a d'autres produits : le HMBA, qui n'a pas besoin de Tat pour pouvoir activer la production de VIH et puis il y a cette fameuse interleukine 7. C'est les travaux *in vitro* de 2005 de Pomerantz qui avaient montré *in vitro* que l'interleukine 7 pouvait faire produire à des cellules latentes le VIH. L'avantage de ces produits : ils diminuent aussi l'expression des CD4, du CXCR4 (du récepteur principal et du co-récepteur). Ils n'activent pas l'ensemble du système immunitaire, comme le faisait l'OKT3 dont je vous ai parlé tout à l'heure.

### Traitements anti Latence

- **Autres HDACi**:
  - ITF2357: ↓ expression CXCR4 et CCR5
  - CG05 et CG06: plus puissants que SAHA et peu toxiques dans le modèle utilisé

*MARGOLIS D et al. AIDS 2010; 24: 1108*      *CHOI EHS et al. AIDS 2010; 24: 609-11*

Une étude coréenne qui est passé dans le journal *AIDS* l'année dernière : ils auraient trouvé un produit plus puissant et moins toxique. Tout ça, c'est de l'*in vitro*, bien sûr.

### Traitements anti Latence

- **Plusieurs types de HDAC**: 11 différents
- **Meilleure caractérisation des types impliqués** dans le maintien de la latence: 1, 2, 3
- **SAHA: vorinostat**
  - Inhibe HDAC 1, 2, 3 et 6, 8

*Margolis D et al. ISRD 2010*

Les équipes qui travaillent là-dessus ont aussi progressé en essayant de mieux caractériser quelles sont les histones déacétylases qui sont impliquées dans la répression, la latence du VIH. Et l'équipe notamment de David Margolis a montré que ce sont les histones 1, 2, 3 déacétylases qui sont en cause, pas les autres. Il y a un produit de cancérologie qui s'appelle le Saha, le vorinostat, qui inhibe ces trois histones déacétylases et qu'il semblerait intéressant de pouvoir tester à la place de l'acide valproïque.

### Traitements anti Latence

De nouvelles problématiques

*Margolis D et al. ISRD 2010*

Mais cela entraine de nouvelles problématiques, et pose des questions d'ordre éthique. L'exemple, c'est la tentative d'expérimentation de l'équipe de David Margolis sur le SAHA, le Vorinostat. L'idée, c'était de refaire le protocole qu'il avait fait avec l'acide

valquoïque, en utilisant cette molécule qui était une molécule utilisée par les hématologues (donc un produit anticancéreux). La FDA (l'organisme américain qui contrôle les essais) lui a dit « Stop. Vous vous adressez à des patients qui vont bien, qui ont même pour certains, avec un taux de CD4 à plus de 500, une charge virale indétectable depuis des années, une espérance de vie qui va être la même que celles de patients séronégatifs, pour certains du moins, et vous allez tester chez eux un produit potentiellement toxique qui risque d'aggraver, un produit pour lequel on n'a aucune donnée d'interaction, en pharmacologie, avec les 25 antirétroviraux. Donc faites toutes les études d'interaction d'abord, et on verra. »

### Traitements anti Latence

- Mise au point d'un modèle cellulaire *in vitro*:
  - pour sélectionner les molécules capables de reverser l'état de latence
  - Tout en n'activant pas les cellules
  - Un premier produit déjà isolé: 5 HN (5-hydroxynaphthalène-1,4-dione)

Yang HC, et al. J Clin Invest 2009; 119: 3473-86

Pour essayer de sélectionner de nouveaux produits anti-latence, qui soient des produits plus ciblés et moins toxiques, il y a un modèle, celui de Siliciano, qui a été mis au point et publié. C'est un modèle *in vitro*, qui permet de tester des molécules qui sont capables de reverser l'état de latence. Il a pris 400 molécules, il a vu leur toxicité, il a surtout voulu vérifier que ces produits n'activaient pas l'ensemble des cellules. Quelques produits ont été isolés, notamment le 5HN. Il espère bien réussir à trouver une collaboration avec l'industrie pharmaceutique.

### Traitements anti Latence

Des « cocktails » seront sans doute nécessaires



Néanmoins, on a conscience que si ces traitements anti-latence voient le jour, en pratique dans des essais pilotes, s'ils sont testés, ce n'est pas un produit qu'il faudra, mais une combinaison, voire une séquence de produits. Parce qu'on sait très bien depuis les travaux de Pomerantz, et d'autres plus récents, que certains produits vont sans doute activer certains réservoirs, et d'autres vont en activer d'autres.

### Traitements anti Latence

- « Le » réservoir est hétérogène:
  - Différentes cellules,
  - Mécanismes latence différents; réactiver sans Tat
  - Différences entre sous types de VIH: B, C, CRF
- *In vitro*:
  - Combinaison Prostratine + SAHA est synergique et supérieure à chaque produit seul

Burnell JC, et al. J Virol 2010; 84: 5258-74

Voici un travail qui montre que quand on combine *in vitro* les produits (le fameux SAHA et Prostratine), on a un effet qui est synergique, supérieur, et donc une meilleure purge du réservoir dans des modèles *in vitro*. Donc le réservoir aujourd'hui est sans doute hétérogène : il y a essentiellement des CD4, mais il y a peut-être ces cellules souches, et enfin il y a le problème des sous-types de VIH. Selon les sous-types, selon la littérature, la régulation de la latence n'est pas tout à fait la même, ou du moins l'intensité et les sites récepteurs à certains facteurs de transcription sont plus ou moins nombreux.

### Traitements anti Latence

Risque du réveil de séquences rétrovirales

Il y a 100 millions d'années le génome des 1<sup>ers</sup> mammifères



subit l'assaut des rétrovirus

Engel E, et al. Nature Med 2010; 16: 517-8

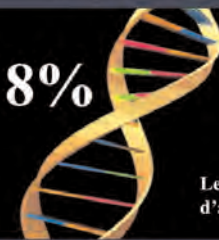
Un autre problème, réel, même si les théories divergent : on sait qu'il y a 70-60 millions d'années, quand les premiers mammifères essayaient de se développer, le génome de ces premiers mammifères a subi l'assaut d'une énorme quantité de rétrovirus.

### Traitements anti Latence

Risque du réveil de séquences rétrovirales

8%

du génome humain actuel contient des séquences rétrovirales réprimées.

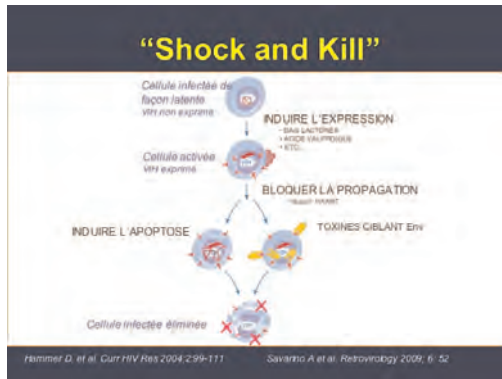


Leur réactivation est susceptible d'activer des oncogènes voisins.

Engel E, et al. Nature Med 2010; 16: 517-8

Aujourd'hui, 8% de notre génome correspond à ces séquences rétrovirales ancestrales. Leur mécanisme de régulation qui maintient leur état dormant est le même que celui qui maintient l'état dormant du VIH.

C'est les mêmes histoires, les mêmes processus, la chromatine, etc. Donc ces thérapeutiques de purge de réservoir font (au moins en théorie) courir le risque de réveiller ces séquences rétrovirales ancestrales. Et on sait que l'activation de certaines de ces séquences rétrovirales peut entraîner l'activation de certains oncogènes et faire développer certaines maladies.



Alors bien sûr, le rêve c'est ça. C'est l'équipe de Hammer qui a commencé à en parler il y a six ans, et on a des papiers plus récents de l'équipe d'Andréa Saravino, qui a complété ça. Le rêve, c'est de faire de la thérapeutique « Shock and Kill ». C'est plus théorique que pratique pour l'instant. On active ce virus dormant avec un super HAART pour bloquer l'infection de nouvelles cellules. Puis soit on va jouer sur l'apoptose (avec certains produits qui vont permettre aux cellules d'y être plus sensibles), soit on va carrément développer (*in vitro* pour l'instant) des toxines qui vont cibler ces cellules qui se mettent à exprimer des protéines virales pour les tuer. Cela a été fait *in vitro*, donc c'est très possible en théorie pour l'instant. La pratique pour l'instant a été publiée sous formes d'essais, qui ne m'ont pas convaincu. C'est quand même passé en oral à la CROI. Pour l'instant, c'est des patients qui ont été traités par des immunoglobulines polyvalentes par l'interleukine-2 qui auraient entraîné une baisse de réservoir.

### Autres Approches

- Ig polyvalentes? via IL-7?
- Accélérateurs de la déplétion du VIH:
  - KP-1461 (Koronis) induit mutations « létales » pour VIH
- Nucléases à doigts de zinc ciblant CCR5: (Sangamo)
  - Administrées à des cellules souches
  - Transférées à souris humanisées
  - Lésions du CCR5: cellules protégées quand infection par souche de VIH à tropisme R5

Lindqvist A et al. *AIDS Res Ther* 2009; 6:15. Finkelstein D et al. *CROI 2010; abstract 387*

D'autres voies qui sont ouvertes, totalement différentes : il y a cette molécule qui est développée par la firme Koronis, le KP 1461, qui n'est pas vraiment un antirétroviral – et c'est pour ça qu'ils ont des difficultés pour le développer – mais c'est un produit qui entraîne dans les gènes du virus des mutations qui sont létales pour le virus. Ce n'est pas qu'il bloque le virus (quand on enlève le produit, le virus se remet à se multiplier) ; c'est qu'il lui induit des mutations qui font

qu'après, le virus n'est plus fonctionnel. Donc c'est un accélérateur de la déplétion du VIH. Ne m'en demandez pas plus ; pour l'instant, je n'ai pas lu de publication vraiment officielle là-dessus.

Plus intéressant peut-être, du moins dans le concept : les nucléases à doigts de zinc qui ciblent le CCR5. Pour vous donner l'image, ce sont de véritables ciseaux moléculaires qui vont aller faire des dégâts dans l'expression du CCR5. *In vitro*, ça a été administré à des cellules souches, on a transmis ces cellules souches à des souris humanisées (des souris avec lesquelles on a reconstitué un système immunitaire humain modèle). On s'est rendu compte que les cellules CD4 qui se développaient n'exprimaient pas ou avaient des lésions au niveau du CCR5 qui faisaient que le co-récepteur n'était plus fonctionnel et que si l'on injectait un virus qui utilise ce co-récepteur, l'infection ne se faisait pas.

### Autres Approches

#### Ciseaux moléculaires

Essai en cours (Carl June, Université Pennsylvanie)

1<sup>er</sup> patient: les CD4 déléétés sur CCR5 sont passés de 1 à 2,1% en 140 jours  
Coût: 15650 USD

Ces ciseaux moléculaires sont en cours d'expérimentation dans un essai qui est mené par une équipe américaine. On n'a pas trop de données de résultats pour l'instant. Les résultats sont prévus pour 2012. On sait juste que chez le premier patient qui a été étudié, les CD4 déléétés au niveau du CCR5 ont significativement augmenté : il y en avait 1% au départ, on est passé en plus de 140 jours à plus de 2,1%. Ce n'est certainement pas suffisant pour pouvoir avoir un impact sur les réservoirs et sur l'infection rétrovirale : ce patient, s'il est mis en arrêt thérapeutique, aura évidemment une remontée de virémie. Il y a donc une diversité de concepts pour essayer d'attaquer ce réservoir. Le coût par patient de ce type d'expérimentation est de plus de 15 000 dollars.

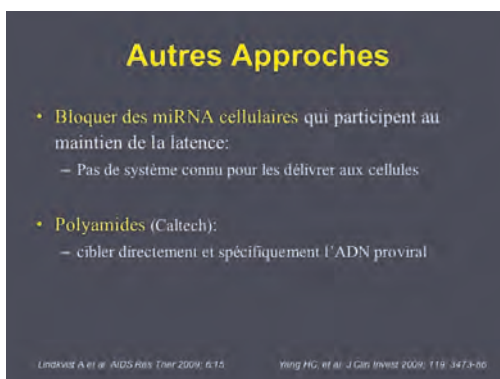
### Autres Approches

- Autres thérapies géniques:
  - mise en silence du VIH au niveau des cellules souches
  - Ribozyme contre mRNA du CCR5, siRNA ciblant tat...
  - Lentivecteur « p53RTAT3 » qui:
    - Active les provirus cellulaires en faisant surproduire *Tat*
    - Permet l'apoptose ciblée de ces cellules grâce au gène suicide p53 qui est exprimé de façon dépendante de *Rev*

Lindqvist A et al. *AIDS Res Ther* 2009; 6:15. Macaris D et al. *Human Gene Ther* 2009; 20:1259-68

Vous trouvez dans la littérature des tas de choses qui sont pour l'instant du domaine de la fiction. Les thérapies géniques, ce n'est certainement pas pour

demain, mais c'est une voie aussi. La voie peut être double, c'est à dire qu'on peut chercher à mettre en silence le virus ; après tout, si on arrive à faire exprimer des gènes qui le mettent en silence, on vit avec, on garde le virus et il est latent à tous les niveaux, il ne se réveille plus. Ou alors, avec un lentivecteur (études sérieuses *in vitro*), on arrive à faire produire, à activer le provirus qui est intégré, puis on fait exprimer un gène suicide (dans l'apoptose, gène p53) qui va faire que les cellules activées ne vont plus pousser.



D'autres voies encore dans la cuisine moléculaire cellulaire : bloquer ces fameux micro-ARN qui maintiennent la latence (qu'ils soient cellulaires ou d'origine virale) et puis le rêve des produits qui puissent aller directement dans nos gènes, aller découper le morceau d'ADN pro-viral et l'extraire, pour nous en débarrasser. C'est plus de la science-fiction pour l'instant que de la réalité, mais ce sont néanmoins des voies de recherche thérapeutique pour essayer un jour peut-être d'essayer d'obtenir ce but ultime de la réduction totale du réservoir.



Je voudrais dire pour terminer qu'il y a de nombreuses équipes aux États-Unis qui ont engagé la bataille contre les réservoirs. Il y en a autant en Europe. La première phase de cette bataille, qui est de caractériser le réservoir (et c'est le travail essentiel des virologues et des immunologistes) est en train d'être achevée. Restera après, à nous thérapeutes, la deuxième phase : l'élimination thérapeutique finale.

## Questions

### Gordon Tucker :

En fait, à vous écouter, on aimerait bien être des patients comme celui de Berlin – sans avoir la leucémie...

### Alain Lafeuillade :

Oui, sans avoir la leucémie et sans avoir la greffe de moelle, parce que c'est quand même loin d'être une thérapie douce.

### Une personne dans la salle :

Pouvez-vous en dire plus sur les sous-types du VIH ?

### Alain Lafeuillade :

Ce qu'on voit dans la littérature, c'est que la régulation de la latence du VIH varie en intensité selon les sous-types de VIH. En fait il y a des zones où vont pouvoir aller s'accrocher les différents facteurs dans le pro-virus, qui vont activer ou réguler cette latence. Il y a des sous-types où il y a plus de zones cibles, donc l'activation du virus va nécessiter une puissance thérapeutique plus forte.

### Une personne dans la salle :

Est-ce qu'ils n'ont pas intérêt à mesurer l'ADN viral assez souvent, au moins une fois chez les patients?

### Alain Lafeuillade :

La question est difficile, parce qu'à partir du moment où on a un résultat... On a envie d'avoir un réservoir bas, donc si on a un taux bas, c'est satisfaisant. Néanmoins je pense qu'aujourd'hui dans l'état des choses, la place de la mesure est essentiellement dans nos esprits... Individuellement, il est difficile d'en faire quelque chose. Mais je comprends qu'on ait envie de savoir.

### Christine Rouzioux :

Il ne faudrait vraiment pas en faire un marqueur d'observance, mais l'ARN VIH plasmatique « indétectable »... « Indétectable » : vous avez toujours la même information. Donc au bout d'un moment, vous voulez savoir où est le virus, et ce qu'il en reste. Moi je pense que ça pourrait devenir un marqueur. Pour l'instant ce n'est vraiment qu'un marqueur des essais. Il faut qu'on aligne plus de résultats, et il y a pour l'instant trop peu de virologues qui en ont l'expérience. On a développé le test de quantification de l'ADN VIH. Il est commercialisé, il est accessible pour les essais et pour les études ; je pense que ça va venir, il faut laisser du temps.

### Une personne dans la salle :

Les publications qui depuis le début de la soirée sont invoquées datent de 2002, il y a cette image qui est celle de cette forteresse imprenable... Aujourd'hui toutes les recherches que je vois, ce sont justement « comment on fait pour attaquer cette forteresse »... J'ai l'impression que le VIH est économique, et qu'on n'a pas vraiment envie de trouver la solution; parce que si je prends la publication de certains brevets, je ne comprends pas pourquoi il n'y a pas de résultat. Je me pose la question : est ce que l'on ne fait pas ce qu'il faut pour ne pas trouver? Qu'en pensez-vous?

### Christine Rouzioux :

Moi je me mets dans l'autre sens, c'est-à-dire que celui qui trouve, c'est le jackpot, donc je pense qu'on fait ce qu'il faut pour trouver. Il y a souvent des choses beaucoup plus compliquées sous-jacentes à des

brevets. L'exploitation des brevets, ce n'est pas si simple. Les gens n'ont souvent pas délégué la possibilité d'exploitation des brevets. Tous les aspects juridiques autour des brevets font que certains brevets ne sont pas exploitables. En plus, les données *in vitro* ne sont pas toujours suffisantes. On voit qu'on a par exemple la prozivadine (molécule proche de l'AZT) qui semble donner moins d'effets secondaires, qui coûte beaucoup moins cher à fabriquer. On vient juste de voter à l'ANRS pour utiliser cette zivudine, qui va être très utile pour les pays du Sud, parce qu'elle va être « généralisée », et pourtant cette molécule a plus de dix ans. Ça faisait plus de dix ans que ce brevet dormait, et il a fallu qu'il soit transféré d'une industrie à une autre pour que quelqu'un se dise : « je donne mon brevet, je veux bien que la prozivadine soit enfin débloquée et utilisée ». Donc ce n'est pas que les gens bloquent pour bloquer, je crois qu'il y a plus de gens avides d'argent que de gens non avides d'argent. Si c'était le jackpot, on le saurait.

#### **Une personne dans la salle :**

Il vaut mieux avoir 20 ans aujourd'hui qu'il y a 20 ans ; j'ai 44 ans. Il est très dur de vivre au jour le jour avec les médicaments qu'on prend, en sachant qu'en plus les laboratoires bloquent un pedigree de « attention danger, cas de suicide » etc.

J'ai bien aimé cette présentation, en particulier sur les troubles psychologiques. J'ai des symptômes de dépression plus que forte ; j'ai des problèmes physiques, d'arthrose. J'ai été déçu de l'accueil de certains spécialistes, qui ne m'ont pas reçu plus de vingt minutes. Heureusement qu'il y a du monde qui informe, mais il y a quand même pas mal d'incompétents chez certains psychiatres, et nous avons vraiment besoin de très bons médecins.

#### **Alain Lafeuillade :**

Je crois que vous mettez le doigt sur quelque chose d'important : il faut continuer à se battre pour développer des équipes dans les hôpitaux qui soient complètes, qu'il y ait un thérapeute du VIH, un virologue, mais aussi un psychiatre qui s'intéresse à ça, un gastro-entérologue, un cardiologue, et que ce modèle de prise en charge de l'infection à VIH, qu'on a quand même pu développer, qui est applicable à d'autres maladies, ne soit pas détruit pour des raisons purement économiques. À l'heure actuelle, c'est ce qui est en train de se passer. Ce modèle marche parce qu'il y a des gens qui ont voulu s'occuper de ça. Quand vous allez taper à un cabinet pour voir un spécialiste, en France un ORL ça n'est pas vingt minutes, ce sera cinq. C'est pas la même logique, c'est pas la même approche; et même dans un même hôpital, pour les patients qui sont hospitalisés dans mon unité, ils ont un personnel. Certaines infirmières sont là depuis 18 ans... Trois étages au dessus, le malade passe trois jours en gastro-entérologie, il redescend en courant. On le regarde encore comme on regardait un patient séropositif au début de l'épidémie. Les mentalités n'ont guère évolué, même dans le milieu hospitalier.

#### **Gordon Tucker :**

Au niveau international, français, grâce à l'octroi de subventions, est-ce qu'on fait assez pour trouver de nouvelles thérapies? Est-ce qu'il faut que les associations se mobilisent et se battent pour avoir plus d'argent pour arriver enfin un jour à avoir des traitements?

#### **Christine Rouzioux :**

Moi je pense qu'on n'en fait jamais assez. On est un peu épuisés, mais on y croit encore. Je pense qu'il faut se mobiliser. L'hôpital est en danger, mais la recherche aussi est en danger. Les caisses sont vides : celles de l'hôpital, de l'université, de la recherche, de l'État. Ce n'est pas une raison. Il faut absolument se battre, il faut absolument que la recherche continue parce que c'est l'avenir. La mobilisation sur les nouveaux médicaments, elle est complexe à l'ANRS, on ne peut pas se substituer aux laboratoires. En même temps, on peut ; tout ce qu'on vous a raconté, des chercheurs de l'ANRS pourraient le faire. Je pense que quand même depuis 4-5 ans, on me demande plus souvent de parler de réservoirs, et pourquoi je les mesure depuis 10 ans, donc je pense que ça bouge. La difficulté maintenant va être de mettre des priorités. Je pense que beaucoup de chercheurs sont mobilisés. On a tout un renouveau des équipes sur le sujet des réservoirs.

#### **Alain Lafeuillade :**

On n'en fait jamais assez, je suis tout à fait d'accord avec toi. Néanmoins, toi tu en as fait beaucoup puisque tu es arrivée à faire prendre conscience aux officiels que ce n'était pas un gadget, les réservoirs, que ce n'était pas une mode, et qu'il fallait travailler là-dessus. Il y a beaucoup d'équipes qui travaillent, au Moyen-Orient, aux Etats-Unis... la découverte, si un jour elle a lieu, qu'elle se passe ici ou à l'étranger, ce sera la découverte. C'est une idée internationale.

#### **Christine Rouzioux :**

Mais déjà la visibilité du sujet, je trouve ça vraiment important. Françoise Barré-Sinoussi en parlait en tant que Prix Nobel et future présidence de l'IAS (international aids society), on lui a demandé de faire un workshop avant le congrès de Vienne. Le sujet est sur les réservoirs – on ne peut plus y entrer, le nombre d'inscriptions a été bloqué depuis plus de deux mois. On n'était pourtant pas du tout sûrs que ce serait un succès. On a des signaux comme ça. La visibilité, ça compte, et donner cette visibilité à la recherche, c'est déjà un pas. On y travaille, il n'y a pas que les travaux dans les laboratoires, il y a aussi le travail de la visibilité. C'est la première fois que l'international fait un affichage comme ça. On peut quand même aller dormir ce soir positivement.

#### **Gordon Tucker :**

On remercie les deux intervenants qui sont venus aujourd'hui. Merci d'être venus aussi nombreux. On n'a pas encore arrêté le programme de la prochaine RéPi. On vous tiendra informés. Vous pouvez vous inscrire pour obtenir des renseignements. Un questionnaire est également à votre disposition. Vous pouvez aussi trouver une brochure (« VIH et

Réservoirs »), très bien écrite – justement par Alain Lafeuillade – éditée par un laboratoire (dont on ne citera pas le nom [Boehringer Ingelheim France]).

**Alain Lafeuillade :**

Effectivement, il est très bien écrit, nous l'avons fait relire tous les deux. Il est rare qu'un laboratoire fasse faire ce type de plaquette, notamment parce qu'il est confronté à tous types de contraintes, juridiques – on n'a, par exemple, pas le droit de faire apparaître le nom des molécules – ou de marketing.

**Christine Rouzioux :**

C'est important de montrer que nous pouvons être aidés par les laboratoires qui font ce genre de documents. Donc il ne faut pas tout critiquer ; je trouve que c'est une très jolie plaquette, il faut absolument la demander, elle est très bien.