

# Résistances aux antirétroviraux: les données du Lac Majeur

**Françoise Brun-Vézinet**

Laboratoire de virologie, Hôpital Bichat-Claude (Paris)

**Dans la semaine qui précédait la 12e Conférence Internationale sur le sida à Genève eut lieu, comme chaque année depuis 1992, un atelier sur la résistance aux antirétroviraux. L'occasion de faire le point sur les phénomènes de résistance croisée, qui restent au premier plan des préoccupations thérapeutiques.**

## **Nouveaux antirétroviraux**

L'**adéfovir dipivoxil** (bis-POM PMEAs, Preveon®) est le premier inhibiteur nucléotidique de la transcriptase inverse développé par la firme Gilead. Une étude de phase III présentée par la firme (1) montre que l'adjonction d'adéfovir chez des sujets prétraités par des analogues nucléosidiques, dont la zidovudine (AZT) et la lamivudine (3TC), entraîne une diminution de la charge virale en moyenne de 0,39 log à la 24<sup>e</sup> semaine. Lorsque la souche ne présente, à l'entrée dans l'essai, aucune mutation sur le gène de la transcriptase inverse, cette diminution est de 0,69 log. La présence de plusieurs mutations associées à la résistance à l'AZT entraîne une absence de réduction de la charge virale. La mutation 184 (3TC) semble en revanche augmenter la sensibilité de la souche à l'adéfovir, même en présence de résistance à l'AZT. Un résultat similaire a été rapporté dans des études *in vitro* au

laboratoire. Par ailleurs, S. Palmer a rapporté qu'*in vitro* l'hydroxyurée potentialisait non seulement l'activité de la didanosine (ddI) mais aussi celle de l'adéfovir dipivoxil et que les souches portant un profil de "multi drug resistance" restaient sensibles à l'adéfovir.

La résistance à l'**efavirenz** (2) chez 42 patients inclus dans différents essais et ayant présenté un rebond de la charge virale, est associée à la mutation au codon 103, le plus souvent combinée à des mutations aux codons 108 et 225 de la transcriptase inverse. Cette étude confirme l'étendue de la résistance croisée entre tous les inhibiteurs de transcriptase inverse non nucléosidiques.

Dans un premier essai de doses croissantes de **tipranavir** (PNU140690), nouvelle antiprotéase non peptidique de Pharmacia-Upjohn, Y. Wang (3) a montré que le rebond rapide de la charge virale n'était pas associé à une sélection de mutants résistants mais plutôt à des problèmes d'adhérence. La posologie la plus élevée (1500 mg 3 fois par jour) nécessitait en effet la prise quotidienne de 30 comprimés.

Parmi les nouveaux antirétroviraux étudiés *in vitro* ont été présentés les **bicylam** (prototype AMD 3100) qui se fixent sur le corécepteur CXCR4. Aucune présentation n'a été faite sur les inhibiteurs d'intégrase.

## Mécanismes de résistance

Les mécanismes de la résistance aux analogues nucléosidiques de la transcriptase inverse continuent à susciter beaucoup de questions.

Plusieurs communications ont montré que la résistance à la **stavudine** (d4T) est un phénomène complexe, en fait rarement liée à la mutation au codon 75 de la transcriptase inverse (2-4%), comme il avait été rapporté *in vitro*, mais le plus souvent associée aux mutations à l'AZT (aux codons 41, 67, 210 et 215 de la transcriptase inverse). La résistance au d4T peut également être due au profil particulier de "multi drug resistance", déjà décrit, mais aussi à une insertion de sérine entre les acides aminés 69 et 70 de la transcriptase inverse. L'étude Altis 2 (4) d'un traitement alternatif par

d4T/3TC chez des patients prétraités par AZT associé ou pas à la ddC ou à la ddI a montré une grande prévalence des mutations associées à l'AZT, qui dans l'analyse statistique n'étaient pas corrélées à la réponse de la charge virale. A l'inverse, il existe une corrélation entre le phénotype de sensibilité à la d4T à l'entrée dans l'essai et la réponse à ce traitement antiviral. Dans cette étude, l'analyse phénotypique est un meilleur marqueur prédictif de la résistance au d4T que l'analyse génotypique.

L'insertion de sérine aux codons 69-70 entraîne, comme les profils de "multi drug resistance", une résistance à AZT, ddI, 3TC, ddC, d4T et abacavir. Elle est retrouvée chez des patients ayant reçu des traitements séquentiels de mono ou bithérapie d'analogues nucléosidiques mais avec une fréquence qui reste basse ( $4/703 = 0,6 \%$ ), le plus souvent en association avec une résistance à l'AZT. On ne sait pas si cette insertion est réversible, résulte d'une duplication, et a un impact sur les capacités de réplication du virus.

Par ailleurs, le profil de "multi drug resistance" où la mutation au codon 151 est constamment retrouvée (associée aux mutations des codons 62, 75, 77 et 116), a été recherché chez 439 patients européens traités depuis plus de 6 mois par des traitements séquentiels d'analogues nucléosidiques; il a été retrouvé chez 2% d'entre eux (5).

**La résistance croisée** entre tous les inhibiteurs de protéase est un phénomène connu. La firme Virco (6) a analysé les résultats de 7600 tests phénotypiques accumulés depuis 2 ans. Une résistance croisée entre tous les inhibiteurs de protéase est observée chez 60 à 95% des isolats qui présentent une diminution de sensibilité de plus de 10 fois à l'indinavir, au ritonavir, au saquinavir ou au nelfinavir. Le niveau de résistance phénotypique semble déterminé par le nombre d'inhibiteurs de protéase antérieurement prescrits et par la durée du traitement. Les mutations les plus communes associées à cette résistance phénotypique se trouvent au niveau des codons 10, 71, 77, 82, 84 et 90 du gène de la protéase. La plupart des souches multi-résistantes présentent 4 à 5 mutations.

## **Génotypique et phénotype**

Les données s'accumulent sur l'utilisation potentielle des tests phénotypiques et génotypiques dans la prise en charge des patients infectés par le VIH.

Les tests génotypiques sont plus largement disponibles que les tests phénotypiques. Ceux-ci sont actuellement réalisés principalement par 2 firmes : Virco en Europe et Virologic aux Etats-Unis, qui utilisent des techniques de virus recombinants sensiblement différentes. Virco (7) a annoncé avoir modifié sa technique qui miniaturisée, lui permet de rendre un résultat en 10 à 12 jours. Une base de données incluant phénotype et génotype est en développement avec le but de rechercher si le phénotype pourrait être déduit du génotype. D'une manière générale, la corrélation entre phénotype et génotype est meilleure pour les souches phénotypiquement résistantes (98% sont génotypiquement résistantes) que sensibles (85% sont génotypiquement sauvages).

R. Lanier (GlaxoWellcome) a rétrospectivement étudié la réponse à un traitement par l'abacavir en fonction du profil génotypique des souches à l'initiation du traitement (8). Les mutations 184 ou 74 (ddI) isolées ne diminuent pas la réponse au traitement, mesurée sur la charge virale à la 16<sup>e</sup> semaine, par rapport à celle des souches sauvages. Les patients présentant 3 mutations ou plus de résistance à l'AZT ne répondent que rarement à l'abacavir.

La valeur prédictive du génotype a aussi été rapportée par A. Zolopa (Standford University) chez 54 patients ayant présenté un échec thérapeutique à un inhibiteur de protéase et recevant un traitement alternatif comportant l'association ritonavir/saquinavir (9). Dans cette étude, les auteurs ont identifié 7 mutations "clés" du gène de la protéase, aux codons 30, 46, 48, 54, 82, 84 et 90. Le nombre de mutations (3 mutations ou plus sont prédictives de l'échec thérapeutique) de même, mais à un moindre degré que le titre initial de la charge virale, et la durée et le nombre de traitements antirétroviraux antérieurs, sont des facteurs prédictifs indépendants de la réponse de la charge virale à la 12<sup>e</sup> semaine.

A. Patick (Agouron) montra des résultats similaires de la réponse au nelfinavir, chez 65 patients ayant présenté un

échec thérapeutique à au moins un inhibiteur de protéase (10). Dans cette étude, 4 mutations "clés" ont été identifiées aux codons 48, 82, 84 et 90 du gène de la protéase. Les patients ne présentant aucune mutation répondent pour 86% (12/14) d'entre eux au nelfinavir alors que la présence de 2 mutations est associée à une réponse dans 25% (2/8) des cas. Un phénotype sensible (Virco) au nelfinavir est associé dans 80% des cas à une réponse antivirale et un phénotype résistant dans 80% des cas à une absence de réponse.

Ainsi des études rétrospectives montrent que les tests de résistance pourraient avoir un intérêt dans le choix d'une thérapeutique alternative, chez des patients pour la plupart longuement prétraités. Il faut cependant souligner que ce type d'étude est difficile à analyser. La réponse ne dépend pas seulement de la molécule étudiée mais aussi de tous les antirétroviraux nouvellement introduits lors du changement thérapeutique. L'ensemble des participants à ce congrès ont estimé que la valeur prédictive et le rôle des tests de résistance ne pourront être établis que par des études prospectives, au cours desquelles les résultats de ces tests seront ou non pris en compte dans la décision thérapeutique. Plusieurs études de ce type sont en cours.

### **Résistance et échec thérapeutique**

Parmi les 92 patients inclus dans le protocole ACTG 347 (11) et recevant de l'amprenavir, seul ou en association à l'AZT et au 3TC, 19 ont présenté un rebond de la charge virale dans le groupe amprenavir monothérapie. Tous présentaient des mutations du gène de la protéase : 3/19 la seule mutation au codon 50 et 16/19 d'autres mutations aux codons 46, 82 et 84, responsables d'une résistance croisée avec d'autres inhibiteurs de protéase. Parmi les 7 sujets ayant reçu la trithérapie, avec rebond de la charge virale, 1 seul présentait des mutations (codons 50 et 84) au niveau du gène de la protéase.

D. Havlir (San Diego) montra que dans l'essai d'allègement ACTG 343 (similaire à l'essai Trilège/ANRS 072) le rebond de la charge virale n'est pas associé à la sélection de mutations dans le gène de la protéase, même chez les patients randomisés dans le groupe indinavir monothérapie (12). La mutation 184V est retrouvée chez la plupart des patients

recevant du 3TC et présentant un rebond de la charge virale (bras AZT/3TC et AZT/3TC/IDV).

Ainsi chez ces patients, peu ou pas prétraités, le rebond de la charge virale n'est pas associé à la sélection de mutants résistants. Il faut souligner que l'adhérence des patients à leur traitement n'a pas été étudiée. L'absence de détection de mutants résistants au moment du rebond de la charge virale pourrait être liée à une absence d'adhérence des patients à leur traitement ou, pour l'essai ACTG 343, à la brutale diminution de la pression antivirale lors de l'allègement. Il a été aussi suggéré que le virus, dont la réplication est insuffisamment réduite, aurait à sa disposition un nombre plus élevé de lymphocytes CD4. Le rôle de la résistance dans l'échec à un traitement de première intention mérite d'être analysé dans d'autres protocoles thérapeutiques.

En revanche, plusieurs études menées chez des patients longuement pré-traités et présentant des échecs après plusieurs traitements montrent l'association entre le rebond de la charge virale et la sélection de mutations au niveau des gènes de la transcriptase inverse et/ou de la protéase (13, 14).

### **Résistance primaire**

S. Yerly (hôpital universitaire de Genève) a rapporté que parmi 67 souches de primo-infection (1996-1997), la prévalence de la résistance à l'AZT était de 7,5%, et celle de la résistance aux inhibiteurs de protéase de 5% (15%). Une étude réalisée à San Francisco (16) sur 37 souches de primo-infection (1996-1997) montre la présence de mutations associées à l'AZT dans 16% des cas et au 3TC dans 8% des cas. Un patient dont la souche portait de multiples mutations au niveau des gènes de la transcriptase inverse et de la protéase a eu une réponse incomplète à un traitement associant AZT, 3TC et nelfinavir, avec une charge virale persistant à 1000 copies/ml après 4 mois de traitement, alors qu'elle devrait être inférieure à 200 copies/ml à cette date.

Il est raisonnable, dans les sites où la prévalence de la résistance primaire des souches de primo-infection est égale ou supérieure à 5%, de faire une analyse génotypique des souches sur le premier prélèvement du plasma. Cette étude génotypique ne doit pas retarder l'instauration du traitement.

Les études de résistance primaire effectuées à distance de la primo-infection ont fait l'objet de plusieurs posters et montrent une prévalence basse de la résistance aux antirétroviraux. Il est certain qu'à distance de la primo-infection, les tests de résistance sont insensibles, car les souches mutées transmises au moment de la primo-infection sont devenues minoritaires, les souches sauvages ayant le plus souvent un avantage répliatif en l'absence de traitement, sauf en ce qui concerne la résistance à l'AZT.

### **Suppression du virus à long terme**

Parmi quelques communications sur les stratégies d'éradication, une étude présentée par Van Lunzen (Hambourg) compare la persistance de la réplication virale et la présence de souches mutées dans les ganglions de deux groupes de patients dont la charge virale plasmatique est inférieure à 20 copies/ml depuis 2 ans en moyenne (17). Chez les patients traités par 2 analogues nucléosidiques (n=5), on observe le plus souvent que l'ARN viral est présent sur les cellules folliculaires dendritiques et dans les cellules germinales; quand le virus est isolé par coculture (3/5), il présente des mutations de résistance sur le gène de la transcriptase inverse. En revanche, les patients recevant une trithérapie comprenant un inhibiteur de protéase (n=7), n'ont pour la plupart pas de signe de réplication virale ganglionnaire. Cette étude démontre que chez des patients recevant une bithérapie nucléosidique, même si la charge virale plasmatique est inférieure à la limite de détection des tests les plus sensibles, la réplication virale persiste au niveau du tissu lymphatique avec sélection de mutants résistants.

En conclusion, les phénomènes de résistance croisée restent au premier plan des préoccupations thérapeutiques. Comme on le savait, cette résistance de classe touche très largement les inhibiteurs de protéase et les inhibiteurs de transcriptase inverse non nucléosidiques. Mais elle pose également problème avec les analogues nucléosidiques comme le montrent les études chez les patients recevant abacavir, d4T ou adéfovir après un traitement par AZT. Il est cependant vrai que l'on ne dispose que de peu d'études où l'amprenavir et l'abacavir par exemple auraient été prescrits en première intention.

La place potentielle des tests génotypiques et/ou phénotypiques commence à se préciser; ils semblent en particulier avoir une valeur prédictive de la diminution de la charge virale à court terme chez des patients longuement prétraités. Leur rôle à un stade plus précoce de l'histoire thérapeutique mérite de nombreuses études supplémentaires.

---

1. Cherrington J..
2. Bachelier L., Dupont Merck.
3. Wang Y., Pharmacia-Upjohn.
4. Calvez V.
5. Van Vaerenbergh K.
6. Hertogs K.
7. Pauwels R.
8. Lanier R., GlaxoWellcome.
9. Zolopa A., Stanford University.
10. Patick A. Agouron.
11. de Pasquale M.P., Boston
12. Havlir D., San Diego
13. Kazenstein D.
14. Harrigan P.R.
15. S. Yerly (hôpital universitaire de Genève)
16. Grant R.
17. Van Lunzen, Hambourg.