



HAL
open science

Cartographie de la diffusion tissulaire du ténofovir, de l'emtricitabine et du dolutégravir chez deux modèles animaux, la souris et le macaque cynomolgus

Thibaut Gelé

► **To cite this version:**

Thibaut Gelé. Cartographie de la diffusion tissulaire du ténofovir, de l'emtricitabine et du dolutégravir chez deux modèles animaux, la souris et le macaque cynomolgus. Pharmacologie. Université Paris-Saclay, 2022. Français. NNT : 2022UPASQ059 . tel-03953148

HAL Id: tel-03953148

<https://theses.hal.science/tel-03953148>

Submitted on 23 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Cartographie de la diffusion tissulaire du ténofovir, de l'emtricitabine et du dolutégravir chez deux modèles animaux, la souris et le macaque cynomolgus

Mapping of the tissue diffusion of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in two animal models, the mouse and the cynomolgus macaque

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n°569, innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué (ITFA)

Spécialité de doctorat : Sciences pharmacologiques

Graduate School : Santé et médicaments. Référent : Faculté de Pharmacie

Thèse préparée dans l'unité de recherche **Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes (Université Paris-Saclay, Inserm, CEA)** sous la direction d'**Olivier LAMBOTTE**, Professeur des universités – praticien hospitalier et la co-direction d'**Aurélie BARRAIL-TRAN**, Maître de conférences des universités – praticien hospitalier

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 13 décembre 2022, par

Thibaut GELÉ

Composition du Jury

Membres du jury avec voix délibérative

Cécile GOUJARD

PU-PH, Université Paris-Saclay

Présidente

Valérie POURCHER

PU-PH, Sorbonne Université

Rapporteur & Examinatrice

Michel TOD

PU-PH, Université Claude Bernard Lyon 1

Rapporteur & Examineur

Florian LEMAÎTRE

MCU-PH, Université de Rennes 1

Examineur

France MENTRÉ

PU-PH, Université Paris Cité

Examinatrice

Titre : Cartographie de la diffusion tissulaire du ténofovir, de l'emtricitabine et du dolutégravir chez deux modèles animaux, la souris et le macaque cynomolgus

Mots clés : Médicaments antirétroviraux – Pharmacocinétique – Diffusion tissulaire – Modèles animaux

Résumé : Depuis la découverte du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) à l'origine d'une des plus importantes pandémies de notre ère, la recherche a permis d'améliorer la prise en charge et la prévention de l'infection par le VIH. Cependant, cette pathologie, considérée initialement comme aiguë, est devenue une maladie chronique en raison de l'absence d'éradication du virus dans l'organisme malgré les médicaments antirétroviraux. Cette persistance virale pourrait être en partie la conséquence de concentrations infra-thérapeutiques des médicaments antirétroviraux conduisant à la création de sanctuaires pharmacologiques et de réservoirs viraux. La diffusion des médicaments antirétroviraux dépend de leurs propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques mais aussi des caractéristiques anatomiques et fonctionnelles des tissus, des fluides biologiques voire des cellules cibles du VIH.

L'objectif principal de ce travail est d'établir la cartographie de la diffusion dans de nombreux tissus de trois médicaments antirétroviraux : ténofovir, emtricitabine et dolutégravir chez la souris (12 tissus) et le macaque cynomolgus (45 tissus).

En s'appuyant sur des techniques analytiques robustes, justes, spécifiques et sensibles, les différentes études ont permis de

valider ces modèles animaux et les données obtenues peuvent être considérées avec un fort niveau de preuve.

Trois principaux messages se dégagent. Le premier est qu'il existe une différence de capacité de diffusion entre les trois médicaments antirétroviraux étudiés. Le ténofovir est celui avec le meilleur potentiel, suivi par l'emtricitabine puis le dolutégravir. Le deuxième message est qu'il existe une grande différence au niveau de la perméabilité des différents tissus pour un même médicament antirétroviral. Enfin, le troisième message est qu'il y a peu de variabilité quant à la diffusion d'un même médicament antirétroviral dans un même tissu.

En conclusion, ces premières cartographies simultanées de la diffusion de trois médicaments antirétroviraux majeurs répondent aux questions de l'hypothèse pharmacologique sur la persistance de la réplication virale. Elles permettront de mieux cibler les tissus d'intérêt et d'étudier d'autres médicaments antirétroviraux avec ces modèles animaux validés. Ces données de diffusion dans les réservoirs virologiques sont ainsi des éléments importants dans l'élaboration des stratégies thérapeutiques en vue d'une éventuelle éradication virale.

Title: Mapping of the tissue diffusion of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in two animal models, the mouse and the cynomolgus macaque

Keywords: Antiretroviral drugs – Pharmacokinetics – Tissue diffusion – Animal models

Abstract: Since the discovery of the human immunodeficiency virus (HIV) at the origin of one of the most important pandemics of our era, research has made it possible to improve the management and prevention of HIV infection. However, this pathology, initially considered acute, has become a chronic disease due to the absence of eradication of the virus despite antiretroviral drugs. This viral persistence could be partly the consequence of sub-therapeutic concentrations of antiretroviral drugs leading to the creation of pharmacological sanctuaries and viral reservoirs. The diffusion of antiretroviral drugs depends on the physicochemical and pharmacokinetic properties but also on the anatomical and functional characteristics of tissue, biological fluids or even HIV target cells.

The main objective of this work is to map the distribution in many tissues of three antiretroviral drugs: tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in mice (12 tissues) and cynomolgus macaques (45 tissues).

Using robust, accurate, specific and sensitive analytical techniques, the different studies have made it possible to validate these animal models and the data obtained can be considered

with a high level of proof.

There are three main messages. The first is that there is a difference in diffusion capacity between the three antiretroviral drugs studied. Tenofovir is the one with the best potential, followed by emtricitabine and then dolutegravir. The second message is that there is a substantial difference in the permeability of different tissues for the same antiretroviral drug. Finally, the third message is that there is little variability in the diffusion of the same antiretroviral drug in the same tissue.

In conclusion, these first simultaneous maps of the diffusion of three major antiretroviral drugs answer the questions of the pharmacological hypothesis on the persistence of viral replication. They will make it possible to better target the tissues of interest and to study other antiretroviral drugs with these animal models validated. These diffusion data in the virological reservoirs are thus important elements in the development of therapeutic strategies with a view to possible viral cure.

à Maurice

« *Ignoranti quem portum petat nullus suus ventus est.* »

Sénèque, *Epistulae morales ad Lucilium*, ep. LXXI

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Valérie Pourcher,

Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être rapporteur. Votre expertise dans la prise en charge des personnes vivant avec le VIH fait de vous le rapporteur idéal pour évaluer ce travail à visée longitudinale. Veuillez recevoir le témoignage de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Michel Tod,

Merci d'avoir accepté de juger ce travail en qualité de rapporteur. Par votre connaissance encyclopédique de la pharmacologie et de la pharmacocinétique, vous compter parmi les rapporteurs semblait naturel. Soyez assurés de ma grande reconnaissance.

A Mesdames les Professeurs Cécile Goujard et France Mentré et à Monsieur le Docteur Florian Lemaître,

Merci d'avoir accepté de participer au jury de soutenance de ma thèse. C'est un honneur pour moi que ce travail soit évalué par vos connaissances et l'expertise reconnue que vous avez, chacun dans votre domaine. Veuillez trouver le témoignage de ma grande estime.

A Monsieur le Professeur Olivier Lambotte,

Merci pour votre confiance tout au long de ces différents travaux, depuis ceux de mon Master 2 jusqu'à ceux présentés ici. Je vous remercie pour votre écoute et votre bienveillance à mon propos. Veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A Madame le Docteur Aurélie Barrail-Tran,

M1, M2, thèse de pharmacie et maintenant cette thèse. Sans compter nos autres travaux en commun, passés et à venir. Je me dis, avec un peu de recul..., que j'ai bien fait de te demander si tu avais un sujet à me proposer en fin d'externat à Bicêtre pour valider mon M1. C'était il y a 8 ans, déjà. Pour tous ces moments, pour tous ces travaux, pour tous ces conseils et surtout pour toute la disponibilité dont tu sais faire preuve, MERCI. Pour ta première (co-)direction de thèse, j'espère que tu en garderas un bon souvenir. De mon côté, il est évident que oui.

A Monsieur le Docteur Roger Le Grand et à toute l'équipe de l'UMR1184,

Merci de donner la chance à tant d'étudiants de pouvoir travailler dans cette unité. Un merci particulier à Madame Hélène Gouget pour son aide lors de la mise en place de la LC-MS/MS.

A Mesdames les Docteurs Anne-Marie Taburet et Valérie Furlan, pour votre expertise. Merci pour les propositions de travaux mais également pour les nombreux conseils prodigués tout au long de ces années.

A Monsieur le Professeur Bijan Ghaleh et à Mesdames les Docteurs Anne Hulin, Claire Pressiat et Sarra Mahfoudhi, pour cet accueil au sein du Laboratoire de Pharmacologie, à Henri Mondor. Merci de m'avoir permis de terminer ce travail et pour votre confiance avec ce poste d'assistant hospitalo-universitaire en novembre.

A l'Assistance Publique – Hôpitaux de Paris et à l'ANRS | Maladies infectieuses émergentes, d'abord avec l'année médaille puis grâce à cette bourse, pour leur soutien financier nécessaire à la bonne réalisation de cette thèse.

A tous mes amis, pour votre soutien tout au long des différentes étapes de la réalisation de cette thèse. Merci pour tous ces bons moments passés et tous ces souvenirs créés.

A mes deux filleuls, Nathanaël et Jules, pour le bonheur que vous me procurez chaque instant passé avec vous.

A ma belle-famille, pour votre bel accueil. Merci pour ces moments en famille, passés et à venir.

A ma famille. A ma mère, pour ton soutien maternel naturel. Merci pour ton écoute et ta présence. Je termine juste à temps pour que tu n'aies pas besoin de poser de jours de congés... **A mon frère,** pour tout ce que tu représentes à mes yeux. Merci pour ton soutien et ta présence. **A Emmanuelle,** pour ton soutien, pour nos déjeuners à Henri Mondor. Merci pour ta gentillesse. **A mon neveu,** Léopold, pour la joie, le bonheur et la communion que tu apportes dans notre famille du haut de tes presque 2 ans. Une pensée émue pour ceux qui nous manquent.

A Anne-Laure, Ma femme. Déjà plus de quatorze années à tes côtés. Quatorze années à me soutenir dans tous mes projets, professionnels et personnels. Quatorze années à me rendre heureux chaque moment. J'ai cette chance unique de t'avoir auprès de moi. Toujours là pour m'écouter, me conseiller, me reconforter mais aussi et surtout pour me faire rire et rendre mes journées plus belles.

Table des matières

REMERCIEMENTS	9
LISTE DES ABREVIATIONS	17
LISTE DES FIGURES	23
LISTE DES TABLEAUX	25
INTRODUCTION	27
ÉTAT DE L'ART	31
1. LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE	33
1.1. Généralités	33
1.1.1. Origine et historique	33
1.1.2. Données épidémiologiques.....	35
1.2. Infection par le VIH	39
1.2.1. Structure du VIH	39
1.2.2. Cycle de réplication.....	41
1.2.3. Histoire naturelle de l'infection	42
1.3. Prise en charge thérapeutique de l'infection par le VIH	46
1.3.1. Différentes classes pharmaco-thérapeutiques	46
1.3.2. Recommandations de prise en charge médicamenteuse	49
2. RESERVOIRS VIROLOGIQUES	51
2.1. Cinétique d'établissement	52
2.2. Localisations anatomiques	52
2.2.1. Réservoirs cellulaires.....	53
2.2.2. Réservoirs tissulaires.....	54
2.3. Hypothèses de la persistance virale.....	55
2.3.1. Hypothèses virologiques.....	56
2.3.2. Hypothèses immunologiques.....	57
2.3.3. Hypothèses pharmacologiques.....	58
3. SANCTUAIRES PHARMACOLOGIQUES	59
3.1. Définition.....	59
3.2. Caractéristiques des tissus limitant la diffusion.....	59
3.3. Propriétés et paramètres d'une molécule influençant sa diffusion tissulaire	62
3.3.1. Propriétés physico-chimiques	63
3.3.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	64
3.3.3. Autres paramètres influençant la diffusion	69
3.4. Paramètres influençant le potentiel d'efficacité au niveau tissulaire.....	70
3.5. Synthèse des propriétés et paramètres présentés	71

4.	CARACTERISTIQUES DES TROIS MEDICAMENTS ANTIRETROVIRAUX D'INTERET	72
4.1.	<i>Ténofovir, utilisé sous la forme disoproxil fumarate</i>	73
4.1.1.	Propriétés physico-chimiques	73
4.1.2.	Forme galénique, indications et posologie	74
4.1.3.	Activité <i>in vitro</i> et efficacité	76
4.1.4.	Résistance	77
4.1.5.	Pharmacocinétique	78
4.1.6.	Diffusion	79
4.1.7.	Interactions médicamenteuses	81
4.1.8.	Tolérance	82
4.2.	<i>Emtricitabine</i>	83
4.2.1.	Propriétés physico-chimiques	83
4.2.2.	Forme galénique, indications et posologie	83
4.2.3.	Activité <i>in vitro</i> et efficacité	85
4.2.4.	Résistance	86
4.2.5.	Pharmacocinétique	87
4.2.6.	Diffusion	88
4.2.7.	Interactions médicamenteuses	89
4.2.8.	Tolérance	89
4.3.	<i>Dolutégravir</i>	90
4.3.1.	Propriétés physico-chimiques	90
4.3.2.	Forme galénique, indications et posologie	91
4.3.3.	Activité <i>in vitro</i> et efficacité	92
4.3.4.	Résistance	93
4.3.5.	Pharmacocinétique	94
4.3.6.	Diffusion	96
4.3.7.	Interactions médicamenteuses	97
4.3.8.	Tolérance	98
5.	MODELES EXPERIMENTAUX ETUDIES	99
5.1.	<i>Rongeurs, la souris</i>	101
5.2.	<i>Primates non-humains, le macaque cynomolgus</i>	104
6.	CONCLUSION	107
	PARTIE EXPERIMENTALE	109
1.	CONTEXTE GENERAL ET OBJECTIFS	111
2.	MESURE DES CONCENTRATIONS DE TENOFOVIR, EMTRICITABINE ET DOLUTEGRAVIR	112
2.1.	<i>Instruments</i>	112
2.2.	<i>Techniques analytiques</i>	112
2.2.1.	Mesure des concentrations plasmatiques	113
2.2.2.	Mesure de la fraction libre plasmatique	114
2.2.3.	Mesure des concentrations tissulaires	115
3.	ETUDE <i>IN VITRO</i> DES CARACTERISTIQUES DE FIXATION AUX PROTEINES PLASMATIQUES	116

3.1.	<i>Contexte</i>	116
3.2.	<i>Objectif et principaux résultats</i>	116
3.3.	<i>Article 1 : Characteristics of Dolutegravir and Bictegravir Plasma Protein Binding: a First Approach for the Study of Pharmacologic Sanctuaries</i>	118
4.	ETUDE PRECLINIQUE CHEZ LE MODELE RONGEUR	123
4.1.	<i>Contexte</i>	123
4.2.	<i>Objectifs et principaux résultats</i>	123
4.3.	<i>Article 2 : Pharmacokinetics and tissue distribution of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in mice</i>	125
5.	ETUDES PRECLINIQUES CHEZ LE MODELE PRIMATE NON-HUMAIN	134
5.1.	<i>Contexte</i>	134
5.2.	<i>Etude pharmacocinétique plasmatique</i>	134
5.2.1.	Objectif et principaux résultats	134
5.2.2.	Article 3 : Pharmacological Validation of Long-Term Treatment with Antiretroviral Drugs in a Model of SIV-Infected Non-Human Primates	136
5.3.	<i>Cartographie corps entier de la diffusion tissulaire</i>	149
5.3.1.	Objectif et principaux résultats	149
5.3.2.	Article 4 : Whole-body Diffusion Mapping of Tenofovir, Emtricitabine and Dolutegravir in Non-human Primates	151
	DISCUSSION	175
	CONCLUSION	195
	BIBLIOGRAPHIE	201

LISTE DES ABREVIATIONS

123

3TC	Lamivudine
A	
ABC	Abacavir
ABC	<i>ATP binding cassette</i>
AC43	Action coordonnée 43 de l'ANRS-MIE
AC47	Action coordonnée 47 de l'ANRS-MIE
AcN	Acétonitrile
ADN	Acide désoxyribonucléique
AIDS	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
ALAT	Alanine aminotransférase
aMDRD	<i>Abbreviated modification of diet in renal disease</i>
ANRS MIE	ANRS Maladies infectieuses émergentes
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
Anti-CCR5	Antagoniste du récepteur CCR5
ARN	Acide ribonucléique
ARV	Médicament antirétroviral
ASAT	Aspartate aminotransférase
ASC	Aire sous la courbe
ATP	<i>Adenosine triphosphate</i>
ATV	Atazanavir
AZT ou ZDV	Zidovudine
B	
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BIC	Bictégravir
BID	<i>Bis in die</i> (deux fois par jour)
BRGSF-A2	Souche murine BALB/c Rag2 ^{tm1Fwa} IL2rg ^{tm1Cgn} Sirpa ^{NOD} Flk2 ^{tm1lrl} HLA-A2 ^{HHD}
C	
C_{24h}	Concentration 24 h après l'administration

CAB	Cabotégavir
CDC	<i>Center for disease control and prevention</i>
CE	Concentration efficace
CE₅₀	Concentration efficace médiane
CE₉₀	Concentration efficace à 90 %
CHARTER	<i>CNS HIV Anti-Retroviral Therapy Effects Research</i>
CI	Concentration inhibitrice
CI₅₀	Concentration inhibitrice médiane
CI₉₀	Concentration inhibitrice à 90 %
CI₉₀-AP	Concentration inhibitrice à 90 % ajustée aux protéines sériques
CI₉₅	Concentration inhibitrice à 95 %
CIQ	Contrôle interne de qualité
CKD-EPI	<i>Chronic kidney disease epidemiology</i>
CL	Clairance
CL/F	Clairance apparente
CL_{filtration}	Clairance de filtration glomérulaire
CL_{int}	Clairance intrinsèque d'un organe
C_{max}	Concentration maximale
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CMSP	Cellule mononuclée du sang périphérique
COBI	Cobicistat
CPK	Créatine phosphokinase
CV	Coefficient de variation
CVp	Charge virale plasmatique
CYP	Cytochrome P450

D

DFG	Débit de filtration glomérulaire
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DOR	Doravirine
DRV	Darunavir
DRV/r	Darunavir potentialisé par le ritonavir
DTG	Dolutégavir
DTG-D	Dolutégavir deutéré

E

E	Coefficient d'extraction d'un organe
EFV	Efavirenz
EI	Effet indésirable
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EtOH	Ethanol
EVG	Elvitégravir
EVR	Etravirine

F

FDA	<i>Food and drug administration</i>
FPV	Fosamprénavir
FTC	Emtricitabine
FTC-D	Emtricitabine deutéré
FTR	Fostemsavir
fu_P	Fraction libre plasmatique
fu_T	Fraction libre tissulaire

H

HPA-23	Antimonium tungstate
HSH	Homme ayant des rapports sexuels avec des hommes
HTLV	<i>Human T-lymphotrophic virus</i>

I

IBA	Ibalizumab
IF	Inhibiteur de fusion
INI	Inhibiteur d'intégrase
INNTI	Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse
INTI	Inhibiteur nucléosidique ou nucléotidique de la transcriptase inverse
IP	Inhibiteur de la protéase

L

LBA	Liquide broncho-alvéolaire
LC-MS/MS	Système de chromatographie liquide couplé à un système de détection par spectrométrie de masse en tandem
LCS	Liquide cérébrospinal
LEN	Lénacapavir
LOQ	Limite inférieure de quantification

	LPV	Lopinavir
M	mAB	Anticorps monoclonal
	MeOH	Méthanol
	MMWR	<i>Morbidity and Mortality Weekly Report</i>
	MRP	<i>Multidrug resistance protein</i>
	MVC	Maraviroc
N		
	NVP	Névirapine
O		
	OAT	<i>Organic anion transporter</i>
	OMS	Organisation mondiale de la santé
	ONUSIDA	Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA
P		
	P-gp	P-glycoprotéine
	PBMC	<i>Peripheral blood mononuclear cell</i>
	pH	Potentiel d'hydrogène
	pKa	Constante de dissociation acide
	PNH	Primate non-humain
	PrEP	Prophylaxie pré-exposition
	PVVIH	Personne vivant avec le VIH
Q		
	QD	<i>Quoque die</i> (une fois par jour)
	QI	Quotient inhibiteur
	Q_{organe}	Débit de perfusion d'un organe
R		
	RAL	Raltégravir
	RHIVIERA	<i>Remission of HIV Infection Era</i>
	rpm	Rotation par minute
	RPV	Rilpivirine
	RTV	Ritonavir
S		
	SHIV	<i>Simian-human immunodeficiency virus</i>
	SIDA	Syndrome de l'immunodéficience acquise
	SIV	<i>Simian immunodeficiency virus</i>

SLC	<i>Solute carrier</i>
SNC	Système nerveux central
SRAS-CoV-2	Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

T

t_{1/2}	Demi-vie
T-20	Enfuvirtide
T_{max}	Temps nécessaire pour atteindre la C _{max}
TAF	Ténofovir alafénamide
TDF	Ténofovir disoproxil fumarate
TEP	Tomographie par émission de positons
TNF	Ténofovir
TNF-D	Ténofovir deutéré
TPV	Tipranavir
TXF	TDF ou TAF, de façon indifférenciée

U

UDI	Usagers de drogues injectables
UDP-GT	Uridine-5'-diphosphoglucuronyl transférase

V

V_D	Volume de distribution
V_{D/F}	Volume de distribution apparent
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VIH-1	VIH de type 1
VIH-2	VIH de type 2
VIS	Virus de l'immunodéficience simienne
V_P	Volume plasmatique
V_T	Volume tissulaire

Z

ZDV ou AZT	Zidovudine
-------------------	------------

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Origine des différents types du virus de l'immunodéficience humaine.....	35
Figure 2. Données épidémiologiques sur le VIH.	36
Figure 3. Données épidémiologiques sur le VIH en 2021.	36
Figure 4. Cascade de soins des PVVIH au niveau mondial.	37
Figure 5. Structure de la particule virale du VIH.....	39
Figure 6. Cycle de réplication du VIH.....	41
Figure 7. Évolution naturelle de l'infection par le VIH.	44
Figure 8. Survenue des infections opportunistes en fonction du taux de lymphocytes T CD4+	45
Figure 9. Principaux réservoirs du VIH, à différentes échelles.	53
Figure 10. Mécanismes virologiques de maintien des réservoirs viraux.	56
Figure 11. Principaux facteurs influençant la diffusion des médicaments.....	62
Figure 12. Structure chimique du ténofovir (TNF) et du ténofovir disoproxil fumarate (TDF).....	73
Figure 13. Structure chimique de l'emtricitabine.	83
Figure 14. Structure chimique du dolutégravir.....	90
Figure 15. Gradient d'éluion de la technique analytique.....	113
Figure 16. Structures chimiques des inhibiteurs de l'intégrase.....	178
Figure 17. Comparaison des concentrations mesurées des trois médicaments antirétroviraux au sein de chaque système chez les deux modèles animaux étudiés.	187

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Médicaments antirétroviraux substrats de transporteurs.	68
Tableau 2. Comparaison du potentiel d'efficacité de deux inhibiteurs d'intégrase au niveau du LCS.	71
Tableau 3. Propriétés et paramètres reflétant la diffusion et le potentiel d'efficacité d'une molécule au niveau tissulaire.	72
Tableau 4. Spécialités disponibles en France contenant du ténofovir, sous la forme ténofovir disoproxil fumarate.	75
Tableau 5. Ajustement de la posologie du TDF en cas d'insuffisance rénale.	76
Tableau 6. Algorithme d'interprétation de la résistance génotypique au TNF.	78
Tableau 7. Spécialités disponibles en France contenant de l'emtricitabine.	84
Tableau 8. Ajustement de la posologie du FTC en cas d'insuffisance rénale.	85
Tableau 9. Algorithme d'interprétation de la résistance génotypique au FTC.	86
Tableau 10. Spécialités disponibles en France contenant du dolutégravir.	91
Tableau 11. Algorithme d'interprétation de la résistance génotypique au DTG.	94
Tableau 12. Revue des différentes études publiées sur la diffusion tissulaire chez la souris pour les trois médicaments antirétroviraux d'intérêt.	103
Tableau 13. Propriétés et paramètres reflétant la diffusion et le potentiel d'efficacité des trois médicaments antirétroviraux d'intérêt.	181
Tableau 14. Comparaison des facteurs de pénétration tissulaire, exprimés en pourcentage, entre les deux modèles animaux et les données chez l'Homme.	189

INTRODUCTION

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un agent pathogène infectant l'Homme et responsable d'une pandémie mondiale persistante. Il fait, à ce jour, l'objet de nombreuses études menées au niveau international depuis sa découverte en mai 1983 par les équipes des Professeurs Luc Montagnier et Françoise Barré-Sinoussi, récompensés par le Prix Nobel de Physiologie ou de Médecine en 2008 (Barre-Sinoussi *et al.*, 1983). Les différentes avancées sur la connaissance du virus ont permis la mise en place de traitements dont l'efficacité mais également la tolérance n'ont fait qu'accroître. Malgré ces améliorations, les traitements actuels restent encore non curatifs et ne permettent pas l'éradication du virus. Ils ont sans doute permis de maîtriser cette épidémie mais elle reste toujours d'actualité avec, dans le monde, en 2021, une incidence de l'ordre de 4 100 nouvelles infections par jour et une prévalence de 38,4 millions de personnes vivant avec le VIH (PVVIH) (ONUSIDA, 2022a).

Un des axes de recherche actuels les plus développés concerne l'éradication virale, aussi appelée « *HIV cure* ». En effet, malgré les médicaments antirétroviraux (ARV) efficaces permettant d'obtenir, au niveau plasmatique, un taux d'acide ribonucléique (ARN) du VIH (ou charge virale plasmatique (CVp)) inférieur au seuil de détectabilité, on observe encore une persistance résiduelle de la réplication virale. Cette persistance s'explique par divers phénomènes, non mutuellement exclusifs, et rend impossible l'arrêt des ARV chez les PVVIH. Un des phénomènes serait pharmacologique avec un défaut de diffusion des ARV conduisant à la formation de sanctuaires pharmacologiques. Dans de tels sanctuaires, des travaux ont montré que le virus peut continuer à se répliquer en cas de pression antivirale moindre, contribuant ainsi à reconstituer continuellement les réservoirs (Lorenzo-Redondo *et al.*, 2016).

Une meilleure connaissance de la dynamique pharmacologique entre les compartiments ainsi que des paramètres de diffusion des ARV devrait permettre de choisir la combinaison thérapeutique la plus pertinente afin de mieux cibler la réplication virale résiduelle et de diminuer le niveau du réservoir du VIH (Deeks *et al.*, 2016).

Les travaux présentés dans ce manuscrit portent plus particulièrement sur trois ARV, le ténofovir (TNF), sous la forme TNF disoproxil fumarate, l'emtricitabine (FTC) et le dolutégravir (DTG). Ils sont parmi les traitements recommandés en première ligne chez tout PVVIH dans le monde. Les études sont réalisées dans le domaine de l'*in vitro* et à l'aide de deux modèles animaux, la souris et le macaque cynomolgus.

ÉTAT DE L'ART

1. Le virus de l'immunodéficience humaine

1.1. Généralités

1.1.1. Origine et historique

Le 5 juin 1981, le centre pour le contrôle et la prévention des maladies (*Center for Disease Control and Prevention*, CDC) présente, dans son rapport hebdomadaire sur la morbidité et la mortalité (*Morbidity and Mortality Weekly Report*, MMWR), 5 cas de pneumopathies à *Pneumocystis jirovecii* à Los Angeles (États-Unis) (Centers for Disease Control (CDC), 1981). C'est la première alerte reconnue sur ce qui allait s'avérer être une des manifestations cliniques associées à cette nouvelle maladie dont on ignore alors tout et qui n'a pas encore de nom. Ce rapport devance d'un peu moins de quatre mois le premier article relu par les pairs et relatant la survenue d'un cancer cutané rare, le sarcome de Kaposi, chez huit hommes (Hymes *et al.*, 1981). En décembre 1981, le Docteur Gottlieb, auteur du rapport du CDC, présente 4 nouveaux cas de pneumopathies à *Pneumocystis jirovecii* et met en avant, déjà, un déficit en lymphocytes T, caractéristique immunologique de l'infection par le VIH (Gottlieb *et al.*, 1981).

Au début, le CDC n'employait pas de nom officiel pour la maladie. Il se référait plutôt aux maladies associées telles que la lymphadénopathie (Centers for Disease Control (CDC), 1982a). Cette maladie a également été appelée la « maladie des 4H » car 4 facteurs de risques principaux avaient été identifiés : l'utilisation d'héroïne, être homosexuels, être hémophiles ou être Haïtiens. Toutefois, après avoir déterminé que cette maladie n'était pas isolée que dans ces populations, le terme de syndrome de l'immunodéficience acquise, couramment appelé par l'acronyme SIDA (*Acquired ImmunoDeficiency Syndrome*, AIDS) a été introduit lors d'une conférence, le 27 juillet 1982. Le hasard de l'Histoire veut qu'en ce même jour, en France, l'Assemblée nationale vote la dépénalisation de l'homosexualité (Assemblée Nationale, 1982). En septembre 1982, le CDC a commencé à utiliser le terme SIDA dans ces rapports (Centers for Disease Control (CDC), 1982b).

Le virus, alors appelé virus T-lymphotropique humain (*Human T-lymphotropic virus*, HTLV), sera finalement isolé au sein de l'unité d'oncologie virale de l'Institut Pasteur en mai 1983 (Barre-Sinoussi *et al.*, 1983). Des profils sérologiques atypiques à Dakar

(Sénégal) en 1985 seront à l'origine de la mise en évidence d'un second virus (Barin *et al.*, 1985), isolé en 1986 au sein de la même unité d'oncologie virale de l'Institut Pasteur (Clavel *et al.*, 1986). Lors de la soixante-dix-neuvième session du conseil exécutif de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en novembre 1986, et d'après les recommandations du Comité international de Taxonomie des Virus, ces deux virus seront par la suite renommés Virus de l'Immunodéficience Humaine, de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2) (Organisation mondiale de la Santé, 2016).

Le type 1 est le type le plus répandu dans le monde. Il est composé de quatre groupes distincts : M, N, O et P. Le groupe M, représentant la majorité des cas, est divisé en sous-types : A à D, F à H et J à K. Le type 2 est principalement présent en Afrique de l'Ouest. Ces deux types présentent des homologies structurelles et immuno-virologiques avec certains types du virus de l'immunodéficience simienne (VIS ou SIV pour *Simian Immunodeficiency Virus*) (Sharp and Hahn, 2011). Le VIH-1 est issu de la transmission inter-espèces du SIVcpz infectant les chimpanzés (*Pan spp.*) quand le VIH-2 est issu de la transmission inter-espèces du SIVsmm infectant les mangabeys enfumés (*Cercocebus atys*) (Figure 1).

Parmi les quatre groupes du VIH-1, seul le groupe M s'est réellement propagé et est le principal responsable de cette pandémie. Les autres groupes sont moins répandus et sont restés principalement confinés aux zones où ils ont été identifiés. Léopoldville au Congo belge (actuellement Kinshasa en République Démocratique du Congo) serait l'épicentre de l'épidémie puisque point de départ du groupe M. En effet, deux études *a posteriori*, conduites sur un sérum de 1959 d'un habitant de Léopoldville et sur une biopsie de nœud lymphatique de 1960 chez une femme de Léopoldville, ont permis d'identifier respectivement une souche VIH-1 sous-type D (Zhu *et al.*, 1998) et une souche VIH-1 sous-type A (Worobey *et al.*, 2008). Des analyses génétiques de différentes séquences ont été réalisées dans le but d'estimer les dates d'apparition des ancêtres communs à certains VIS ou VIH. L'ancêtre commun le plus récent du groupe M du VIH-1 serait apparu autour de 1908 (Worobey *et al.*, 2008) et semble être plus ancien que celui du groupe O du VIH-1, apparu autour de 1920 (Lemey *et al.*, 2004), et que celui du groupe N du VIH-1, autour de 1963 (Wertheim and Worobey, 2009). La date d'apparition de celui du VIH-2 semble être autour de 1932 (Wertheim and Worobey, 2009).

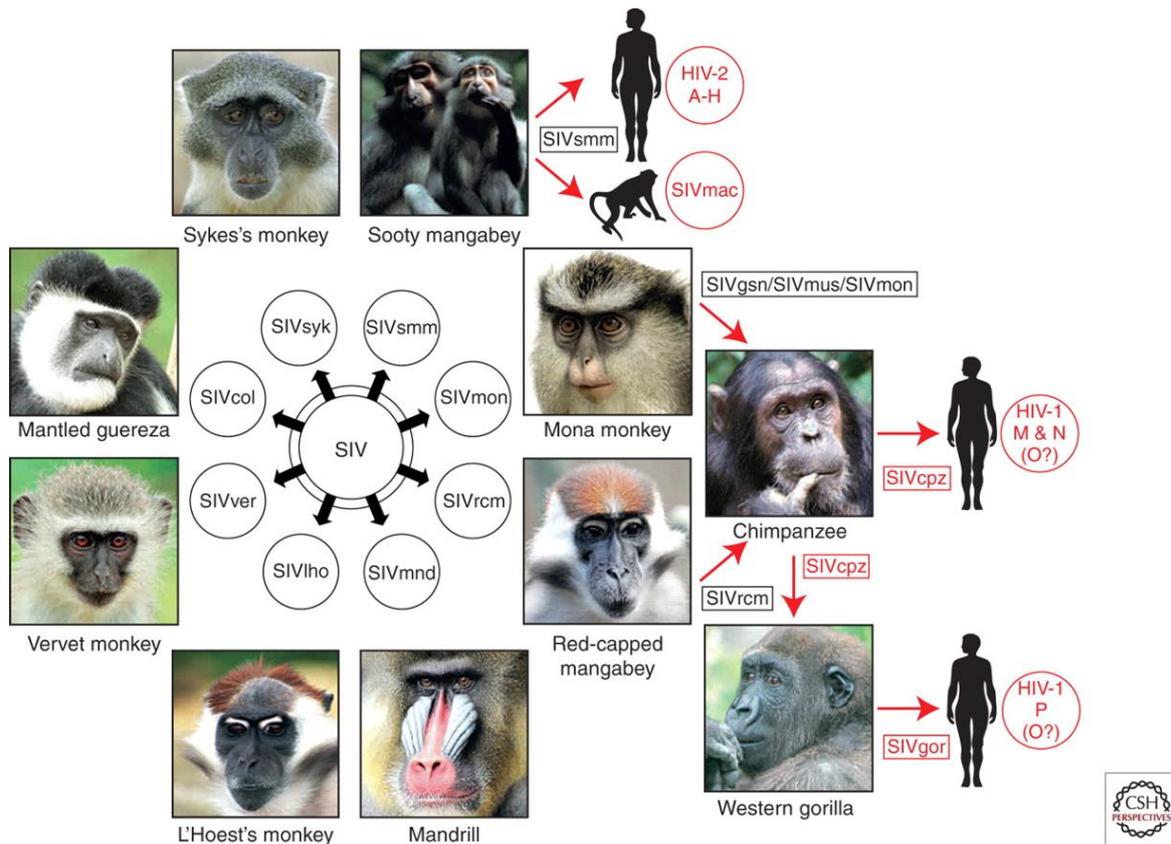


Figure 1. Origine des différents types du virus de l'immunodéficience humaine.
(Sharp & Hahn, 2011)

1.1.2. Données épidémiologiques

Bien que la première alerte reconnue date d'un rapport du 5 juin 1981, les données épidémiologiques sont difficilement disponibles avant 1990.

Le Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA (plus simplement ONUSIDA) met à disposition un outil d'information sur les données épidémiologiques, détaillées selon différents paramètres (âge, sexe, régions géographiques) depuis 1990 (ONUSIDA, 2022b).

Depuis le début de l'épidémie, au niveau mondial, il est estimé qu'environ 76 millions de personnes ont été infectées par le VIH et que la moitié est décédée. L'amélioration des connaissances et des traitements et la mise à disposition facilitée de ces derniers ont permis de réduire, dans le monde, le nombre de nouvelles infections de 53 %, entre 1997 et 2021, ainsi que le nombre de décès annuels de 68 %, entre 2003 et 2021 (Figure 2). L'incidence annuelle est ainsi passée de 2,6 millions nouvelles infections en 1997 à

1,5 million en 2021. Parallèlement, le nombre de décès liés au VIH est passé de 2,0 millions en 2003 à 0,7 million en 2021.

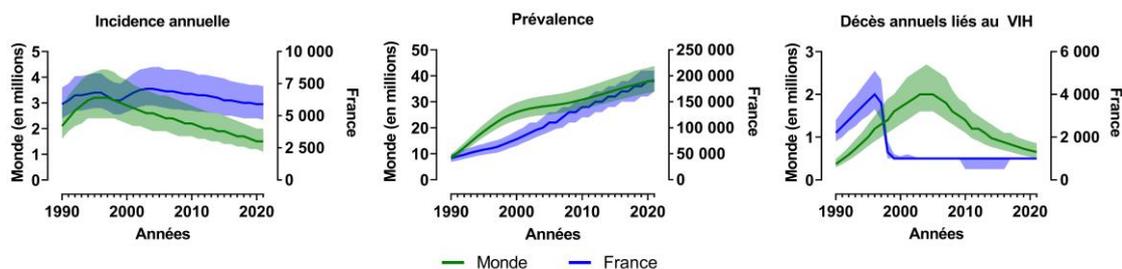


Figure 2. Données épidémiologiques sur le VIH.
(ONUSIDA, 2022b)

Ces chiffres globaux ne rendent néanmoins pas compte de certaines disparités, notamment géographiques. L’Afrique reste le continent le plus touché. En 2021, elle représente 58 % des 1,5 million de nouvelles infections, 67 % des 38,4 millions de PVVIH et 65 % des 0,7 million de décès liés au VIH (Figure 3). En 2020, certaines populations, appelées populations clés, représentaient 65 % de toutes les nouvelles infections au VIH. Les professionnels du sexe, les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH) et les usagers de drogues injectables (UDI) sont les principales populations clés, chacune ayant un risque de contracter le VIH plus important que la population générale. Ce risque est 26 fois plus élevé pour les travailleurs du sexe, 25 fois plus élevé pour les HSH et 35 fois plus élevé chez les UDI.

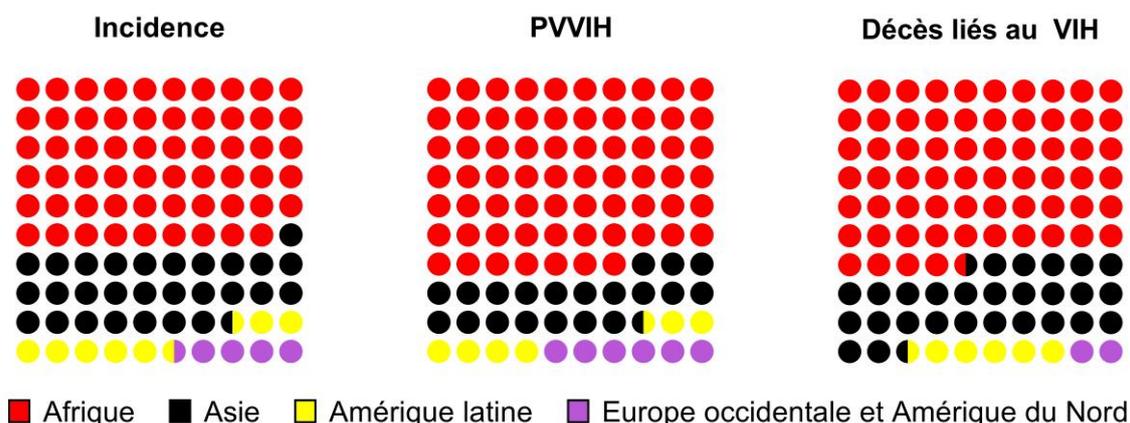


Figure 3. Données épidémiologiques sur le VIH en 2021.
(ONUSIDA, 2022b)

Des objectifs ont été avancés par l'ONUSIDA le 8 octobre 2014 dans un communiqué au titre explicite : « 90-90-90 : Une cible ambitieuse de traitement pour aider à mettre fin à l'épidémie du SIDA » (ONUSIDA, 2014). En 2016, les pays se sont engagés à atteindre ces objectifs dans la Déclaration politique sur le VIH et le SIDA de l'Assemblée générale des Nations Unies. Fin 2020, les pays devaient avoir fait le maximum pour atteindre cette cible de 90-90-90 :

- 90 % des PVVIH connaissent leur statut sérologique ;
- 90 % de toutes les personnes infectées par le VIH dépistées reçoivent un traitement antirétroviral durable ;
- 90 % des personnes recevant un traitement antirétroviral ont une charge virale durablement supprimée.

Le 21 septembre 2020, l'ONUSIDA a publié un communiqué indiquant que le monde est en retard sur cette cible malgré de solides avancées (ONUSIDA, 2020). En 2021, les chiffres dans le monde sont 85-88-92, à comparer aux 69-71-81 de 2015 (Figure 4). Dix-huit pays ont atteint la cible 90-90-90 : l'Australie, le Botswana, le Burundi, le Cambodge, l'Espagne, l'Eswatini (ex-Swaziland), l'Irlande, le Malawi, la Namibie, l'Ouganda, les Pays-Bas, le Nigéria, la Norvège, le Rwanda, la Slovénie, la Thaïlande, la Zambie et le Zimbabwe. Le fossé le plus large est celui du premier 90 : en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, par exemple, seulement 67 % des séropositifs connaissent leur statut sérologique.

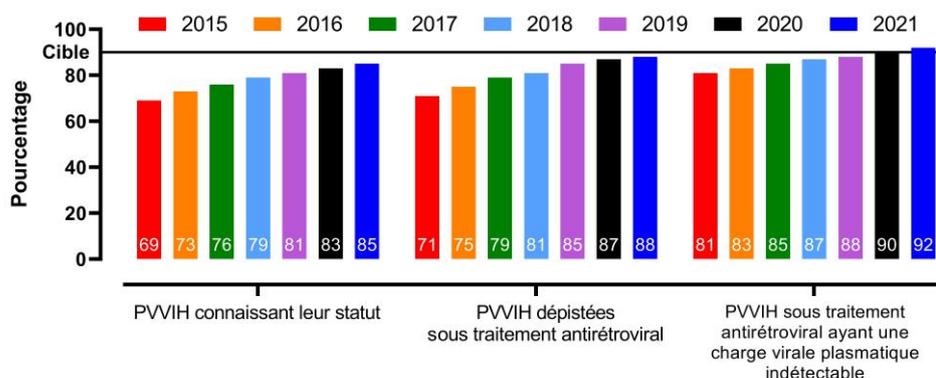


Figure 4. Cascade de soins des PVVIH au niveau mondial.
(ONUSIDA, 2022b)

En France, l'incidence annuelle est stable depuis 2006 avec environ 6 000 nouvelles infections chaque année. Associée à une baisse, entre 2006 et 2021, d'environ 50 % du nombre de décès annuels, la prévalence du VIH en France est stable, autour de 190 000 PVVIH (Figure 2). Les dernières données de 2019, sur la cascade de prise en charge du VIH, indiquent que les objectifs sont désormais presque atteints. On observe près de 79 % de PVVIH avec une charge virale indétectable, ce qui est au-dessus des objectifs $90 \% \times 90 \% \times 90 \% = 72 \%$. Néanmoins, le premier niveau de la cascade fait défaut pour atteindre l'objectif fixé par l'ONUSIDA. Depuis 2010, cette cascade est en progression constante : 81-86-74 en 2010, 84-89-91 en 2013, 88-90-96 en 2016 et 87-95-96 en 2019. La pandémie à coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) a fortement impacté l'activité de dépistage en 2020. Une diminution du nombre de dépistages de près de 60 % a été observée pendant les deux mois du premier confinement, en mars et avril 2020 (Santé publique France, 2020). Cette diminution fait courir le risque d'un retard de diagnostic et donc d'un retard de mise sous traitement. Un rapport d'août 2021 du groupe *Indicateurs* de l'Action Coordonnée 47 (AC47) de l'ANRS | Maladies infectieuses émergentes (ANRS | MIE) conclut à une baisse de plus de 30 % des nouveaux diagnostics en Île-de-France en 2020 par rapport à 2019 (ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021a).

1.2. Infection par le VIH

1.2.1. Structure du VIH

Le VIH, présenté en Figure 5, se présente sous la forme d'une particule sphérique d'un diamètre d'environ 150 nm (Briggs *et al.*, 2003). Il est constitué d'une enveloppe qui entoure une nucléocapside. L'enveloppe virale est d'origine cellulaire et est composée de phospholipides, provenant de la dernière cellule à partir de laquelle le virus a bourgeonné, et de deux glycoprotéines d'origine virales (gp41 et gp120). La gp41 est transmembranaire et est coiffée par la gp120, premier élément de l'enveloppe à se lier au récepteur CD4 de la cellule cible. La face interne de l'enveloppe est tapissée d'une matrice protéique, la p17, faisant le lien avec la capsid. Cette dernière est une coque en forme de cône tronqué, constituée de protéines de capsid (p24) et de protéines de nucléocapside (p7) (Lampejo and Pillay, 2013).

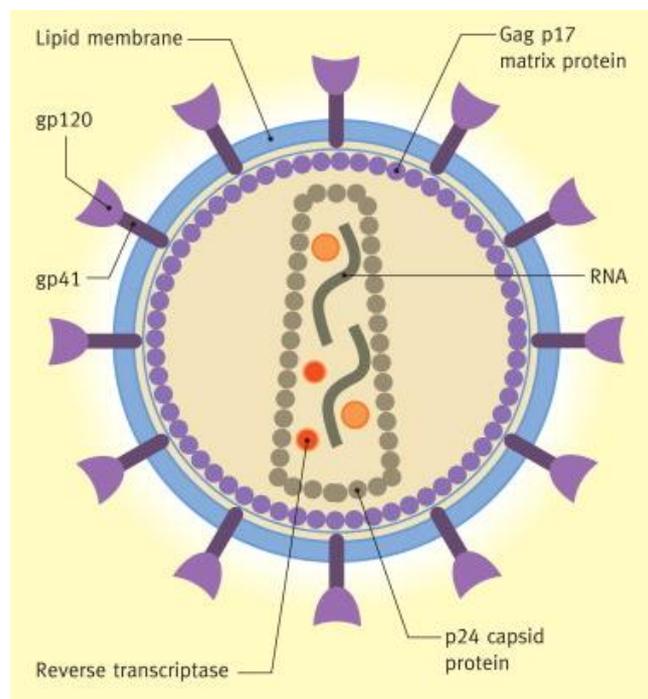


Figure 5. Structure de la particule virale du VIH.

(Lampejo & Pillay, 2013)

A l'intérieur de cette capsid se trouvent d'autres protéines virales, telles que la transcriptase inverse, l'intégrase ou des protéases, et deux molécules d'ARN monocaténaire à polarité positive d'environ 9 200 paires de bases (German Advisory Committee Blood, 2016). Ces deux molécules d'ARN composent le génome qui contient 9 gènes codant pour 15 protéines (Frankel and Young, 1998). Ces 9 gènes sont classés en deux catégories.

Il y a, d'une part, les gènes de structure : *gag*, *pol*, *env*. Le gène *gag* (pour « *Group Specific Antigen* ») code pour les protéines de structure essentielles dans l'assemblage et le bourgeonnement des particules virales (p7, p17 et p24). Le gène *pol* (pour « polymérase ») code les enzymes essentielles à la réplication virale : la transcriptase inverse, l'intégrase et les protéases. L'intégrase du SIVmac251 catalyse des réactions similaires à celles de l'intégrase du VIH-1, et la structure cristalline montre que l'intégrase du SIVmac251 partage l'architecture tridimensionnelle extrêmement conservée de l'intégrase des rétrovirus (Lewis *et al.*, 2010). Cette souche est donc une des souches les plus étudiées. Le gène *env* (pour « enveloppe ») code pour les protéines d'enveloppe (gp41, gp120).

D'autre part, il y a les gènes de régulation : *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu* et *nef*. Les gènes *tat* et *rev* codent pour des protéines régulatrices indispensables à la réplication virale, alors que les gènes *vif*, *vpr*, *vpu* et *nef* codent pour des protéines non nécessaires à l'expression virale, mais dont la présence est néanmoins primordiale.

Suggérée à la fin des années 1980 (Miller, 1988), l'existence d'un dixième gène, *asp*, restait débattue (Torresilla *et al.*, 2015). Elle a été confirmée par des chercheurs français qui ont comparé 23 000 séquences du VIH et du SIV. Ils montrent que le gène *asp* n'existe que chez le groupe de virus responsable de la pandémie humaine et que son apparition est concomitante à l'émergence du VIH-1 chez l'Homme, vers le début du XX^e siècle (Cassan *et al.*, 2016). La fonction de la protéine *asp*, codée par ce gène, dans la multiplication virale ainsi que son rôle exact dans la pandémie de SIDA restent pour autant largement inconnus (Gholizadeh *et al.*, 2021).

à polarité négative puis en ADN bicaténaires. La transcriptase inverse, une ADN polymérase ARN-dépendante, est l'enzyme clef et présente la particularité d'avoir une faible fidélité dans sa transcription et ainsi d'engendrer de nombreuses erreurs et donc de mutations (Sebastián-Martín *et al.*, 2018). C'est une des raisons pour laquelle le VIH a une très grande variabilité génétique.

3. A la suite de cette étape, l'ADN bicaténaire nouvellement formé pénètre dans le noyau et, par l'intermédiaire de l'intégrase virale, s'intègre dans le génome de la cellule hôte. C'est l'étape d'intégration.

Les étapes suivantes sont l'exemple de l'utilisation des mécanismes cellulaires de l'hôte en faveur du virus.

4. Cette étape consiste en la transcription en ARN messagers viraux de l'ADN intégré à l'aide de l'ARN polymérase de l'hôte.
5. Ces ARN messagers sont ensuite traduits pour former de nouvelles protéines virales. Celles-ci vont ensuite s'assembler par différentes interactions entre les domaines de la protéine gag. Cette étape d'assemblage semble, elle aussi, nécessiter l'utilisation d'une protéine de la cellule hôte, la protéine HP68 (Zimmerman *et al.*, 2002).
6. Enfin, la dernière étape regroupe l'étape de bourgeonnement et de maturation des nouveaux virions formés. Pour favoriser la stabilité de ces derniers, le bourgeonnement a principalement lieu au niveau des radeaux lipidiques, régions de la membrane cellulaire riches en cholestérol (Campbell *et al.*, 2001). Les virions immatures sont alors libérés et la maturation est réalisée par l'intermédiaire de la protéine du VIH appelée protéase. Les formes matures obtenues peuvent alors aller infecter de nouvelles cellules de l'hôte.

1.2.3. Histoire naturelle de l'infection

L'histoire naturelle de l'infection par le VIH commence par la phase de transmission. On distingue trois grands modes de transmission : sexuelle, sanguine et verticale (transmission de la mère à l'enfant). Ces modes s'expliquent par la présence du VIH dans de nombreux fluides biologiques. On en retrouve dans certains à des concentrations insuffisantes pour que le virus puisse infecter une personne. C'est le cas

par exemple de la salive, des larmes, de la sueur et de l'urine (Skolnik *et al.*, 1989; Pilcher *et al.*, 2001; Kordy *et al.*, 2019). Le risque de transmission via ces différents fluides peut ainsi être considéré comme négligeable. Il existe néanmoins de rares cas rapportés de contamination via la salive (Rozenbaum *et al.*, 1988; Spitzer and Weiner, 1989). *A contrario*, d'autres fluides présentent des quantités suffisamment importantes pour infecter une autre personne. Il s'agit du sang, des sécrétions génitales et du lait maternel. Les rapports sexuels non protégés représentent la majeure partie des nouvelles contaminations. L'exposition à du matériel contaminé est le deuxième mode de contamination. Il intervient dans le cadre de l'usage de drogues par injections (Centers for Disease Control (CDC), 1982b), lors de tatouages par effraction cutanée ou de perçage corporel en absence de mesures d'hygiène appropriées (Doll, 1988), lors des transfusions (Centers for Disease Control (CDC), 1982c) ou chez le personnel soignant dans le cadre du soin. En France, concernant le risque lors de tatouages ou de perçage corporel, avec la mise en place et l'augmentation du respect des bonnes pratiques d'hygiène, ce risque n'est plus à considérer. De même, concernant les transfusions, depuis 1985, la sécurité virale a été largement améliorée, notamment par l'amélioration de la sélection des donneurs et les progrès dans les tests de dépistage. Le dépistage génomique viral pour le VIH-1, a été introduit en France le 1^{er} juillet 2001, et renforce encore un peu plus la sécurité virale transfusionnelle par la réduction de la fenêtre sérologique précédant la détection des marqueurs sérologiques (9 jours en moyenne comparé à 22 jours avec les tests sérologiques classiques). Enfin, la transmission verticale du VIH de la mère à l'enfant est le dernier mode de transmission rapporté (Oleske *et al.*, 1983; Vilmer *et al.*, 1984). Il peut se produire à différents temps : pendant la grossesse (15 à 20 % des cas), lors de l'accouchement (45 à 50 %) et lors de l'allaitement (30 à 40 %) (Cavarelli and Scarlatti, 2011). Les pourcentages présentés se réfèrent au VIH de type 1 pour lequel ces probabilités sont supérieures au VIH de type 2.

En l'absence de traitement antirétroviral efficace, l'infection par le VIH passe par trois phases successives (Figure 7) : la primo-infection, la phase chronique de latence clinique puis la phase finale symptomatique appelée phase SIDA (Pantaleo *et al.*, 1993). Tout au long de l'évolution naturelle de l'infection par le VIH, une réplication virale existe et persiste. La durée de chaque stade varie selon les personnes.

Lors de la primo-infection, une première phase, pendant une dizaine de jours, est définie comme le temps entre l'infection et le début de la détection possible de l'ARN VIH au niveau plasmatique. Cette première phase est appelée phase éclipse. Elle est suivie par

la phase d'infection aiguë, elle-même décrite en six différents stades, appelés Fiebig, en fonction des différents marqueurs plus ou moins détectés : ARN VIH, antigène p24, anticorps anti-VIH par la technique dite ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) et la réactivité au western blot ou à l'immunoblot (négatif, indéterminé, positif incomplet ou positif complet) (Fiebig *et al.*, 2003). Du fait de charges virales souvent importantes en phase de primo-infection, le taux de transmission est plus important et les patients dans cette phase représentent une source importante des nouvelles contaminations (Hollingsworth *et al.*, 2008; Powers *et al.*, 2011; Frange *et al.*, 2012). La primo-infection peut être accompagnée de signes cliniques très peu spécifiques : fièvre, fatigue, rash, toux, céphalées, adénopathies ou encore pharyngites (Robb *et al.*, 2016). On estime entre 10 % et 40 % le nombre de primo-infections asymptomatiques (Kahn and Walker, 1998). Au cours de la phase de primo-infection, la déplétion des lymphocytes T CD4+ est rapide mais transitoire.

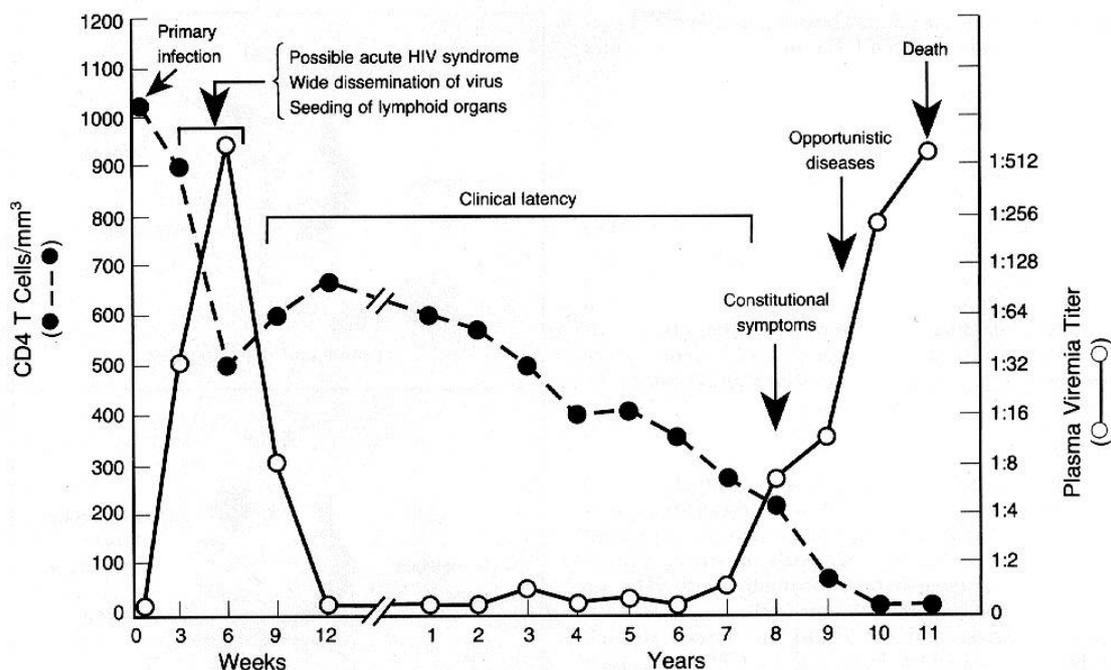


Figure 7. Évolution naturelle de l'infection par le VIH.

(Pantaleo *et al.*, 1993)

La phase chronique de latence clinique, deuxième phase, peut durer plusieurs années avec des variations considérables d'une personne à l'autre (Lemp *et al.*, 1990). Elle correspond à la mise en place d'un équilibre physiologique entre les défenses immunitaires de l'hôte et la réplication virale. Néanmoins, durant cette phase, il y a un risque de contamination du ou des partenaire(s) car la réplication virale est bien active. On peut observer des événements cliniques mineurs (altération de l'état général, fébricule, sueurs nocturnes, diarrhée chronique) accompagnées de signes biologiques inconstants : leucopénie, anémie.

Enfin, la troisième phase, symptomatique, appelée phase SIDA, est la phase terminale de l'infection en l'absence de traitement. Cette phase est caractérisée par l'apparition de maladies infectieuses opportunistes ou d'une autre pathologie classant SIDA (Low *et al.*, 2016; Shiels and Engels, 2017). La survenue de ces différentes pathologies dépend du taux de lymphocytes T CD4+ (Figure 8).

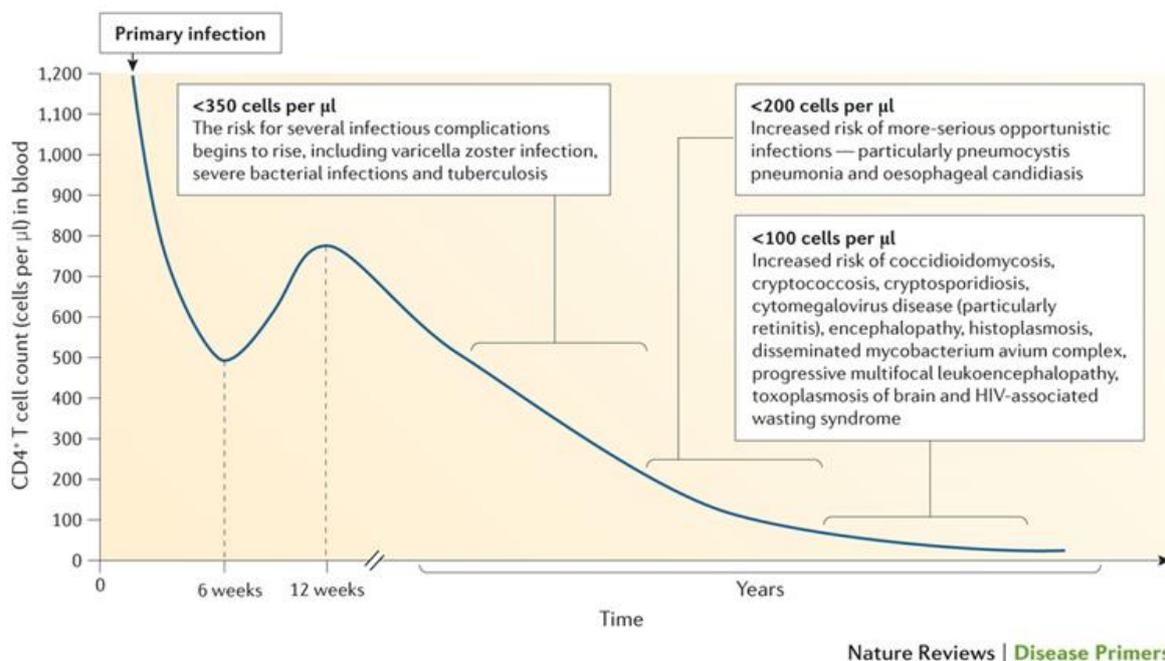


Figure 8. Survenue des infections opportunistes en fonction du taux de lymphocytes T CD4+.
(Deeks *et al.*, 2015)

1.3. Prise en charge thérapeutique de l'infection par le VIH

1.3.1. Différentes classes pharmaco-thérapeutiques

Dans le cadre de l'infection par le VIH, les infections opportunistes ont été associées, dès la première alerte du 5 juin 1981, aux décès des patients (Centers for Disease Control (CDC), 1981). Pour cette raison, les premiers traitements utilisés dans le cadre de l'infection par le VIH ont d'abord été les traitements disponibles de ces infections opportunistes identifiées ainsi que des traitements de prophylaxie primaire et secondaire de ces mêmes infections opportunistes.

L'isolement du virus en 1983 a ensuite permis d'évaluer des traitements ciblant directement le virus, ou tout du moins, différentes étapes du cycle de réplication du VIH. La première molécule, l'HPA-23 ou antimonium tungstate, a été développée dans les années 1970, notamment à l'Institut Pasteur par Françoise Barré-Sinoussi et Jean-Claude Chermann, co-signataires de la publication de l'isolement du VIH, et testée sur le virus de la leucémie murine, de la classe des rétrovirus (Jasmin *et al.*, 1974; Chermann *et al.*, 1975). Elle a d'abord prouvé son efficacité *in vitro* (Dormont *et al.*, 1985) avant d'être testée en France (Rozenbaum *et al.*, 1985). Elle a donné de l'espoir à de nombreux patients, certains venant des États-Unis pour recevoir ce traitement disponible uniquement en France. Il s'est avéré par la suite que le mécanisme d'action de cette molécule ne la rendait efficace que grâce à son effet cytotoxique, entraînant alors des effets indésirables trop importants (Burgard *et al.*, 1989). D'autres traitements ont également été testés sans atteindre une efficacité ni clinique, ni immuno-virologique suffisante. On peut citer l'interferon alpha, la suramine, la ribavirine, le foscarnet et l'ansamycine (Hirsch and Kaplan, 1985; Lane and Fauci, 1985).

Depuis, et avec la commercialisation en 1987 de la zidovudine (AZT ou ZDV), premier médicament antirétroviral, de nombreuses autres thérapies ont obtenu leur autorisation de mise sur le marché. A ce jour, 35 médicaments ont été développés et ont obtenu une autorisation de mise sur le marché en France. Actuellement, 28 sont encore disponibles sur le marché français, répartis dans 9 classes pharmaco-thérapeutiques. La diversification des classes pharmaco-thérapeutiques permet aux cliniciens d'avoir à disposition des médicaments avec différents mécanismes d'action agissant à différentes étapes du cycle de réplication du VIH et ainsi d'obtenir une synergie d'action (Figure 6).

Aussi, pour des patients lourdement prétraités, et présentant alors des virus multirésistants, la disponibilité d'autres classes permet d'éviter les impasses thérapeutiques.

Par ordre d'apparition sur le marché, les inhibiteurs nucléosidiques ou nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI) constituent la colonne vertébrale des options recommandées pour l'initiation d'un premier traitement antirétroviral. Ils sont au nombre de 6 : la zidovudine (ZDV), la lamivudine (3TC), l'abacavir (ABC), le TDF, le FTC et le TNF alafénamide (TAF). Ils agissent en tant qu'analogues nucléosidiques synthétiques des bases puriques et pyrimidiques. Pour les bases puriques, le ZDV est un analogue de la thymidine alors que le ténofovir (TDF et TAF, ou TXF sans distinction des deux formes) est un analogue de l'adénosine. Pour les bases pyrimidiques, la 3TC et le FTC sont des analogues de la cytidine, l'ABC est un analogue de la guanosine. Ils nécessitent tous des phosphorylations pour inhiber activement de façon compétitive la transcriptase inverse. Trois phosphorylations sont nécessaires sauf pour le TNF qui ne nécessite que 2 phosphorylations, étant le seul inhibiteur nucléotidique.

Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) sont au nombre de 5 : la névirapine (NVP), l'efavirenz (EFV), l'étravirine (EVR), la rilpivirine (RPV) et la doravirine (DOR). Les INNTI ont la particularité et l'inconvénient de ne pas être actifs sur le VIH-2. Ils agissent par inhibition non compétitive de la transcriptase inverse.

Les inhibiteurs de la protéase (IP) sont des médicaments antirétroviraux qui ont bouleversé la prise en charge des PVVIH. Arrivés sur le marché en 1996, ils ont permis l'instauration des trithérapies et ainsi de réduire très fortement la mortalité (Figure 2). Le premier d'entre eux, le ritonavir (RTV) n'est actuellement plus utilisé pour son activité antirétrovirale mais en tant que potentialisateur, par la propriété d'inhibition du cytochrome P450 (CYP) 3A4 (Hsu *et al.*, 1998a, 1998b). Les IP sont au nombre de 5 actuellement : le lopinavir (LPV), l'atazanavir (ATV), le fosamprénavir (FPV), le tipranavir (TPV) et le darunavir (DRV). Ils agissent par inhibition sélective du clivage des polyprotéines encodées Gag-Pol, empêchant ainsi la formation de particules virales matures et infectieuses.

Vient ensuite la classe des inhibiteurs de fusion (IF) avec un unique représentant qui, aussi, a la particularité d'être, pour le moment, le seul médicament antirétroviral administré par voie sous-cutanée : l'enfuvirtide (T-20). Il agit en se liant spécifiquement à la gp41 du VIH dans le milieu extracellulaire, bloquant ainsi la fusion

entre la membrane virale et la membrane de la cellule cible, et empêchant l'ARN viral d'entrer dans la cellule cible.

Une autre classe pharmaco-thérapeutique agit sur l'entrée du VIH dans la cellule en étant antagoniste du récepteur CCR5 (anti-CCR5). Il y a également un seul représentant, le maraviroc (MVC), qui ne possède pas d'activité antivirale contre les virus utilisant le corécepteur d'entrée CXCR4. En se liant au récepteur CCR5 de façon sélective, il empêche le VIH de pénétrer dans la cellule cible.

La classe des inhibiteurs d'intégrase (INI) dénombre actuellement 5 médicaments : le raltégravir (RAL), l'elvitégravir (EVG), le DTG, le bictégravir (BIC) et le cabotégravir (CAB). Les INI inhibent l'intégrase du VIH en se liant au site actif de l'intégrase et en bloquant l'étape du transfert de brin lors de l'intégration de l'ADN rétroviral, essentielle au cycle de réplication du VIH. Ils ont l'avantage d'avoir une puissance antirétrovirale intrinsèque parmi les plus importantes avec les IP mais sans avoir l'inconvénient d'être fortement soumis ou d'être responsables d'interactions médicamenteuses majeures (à l'exception toutefois de l'EVG). Ce profil intéressant a conduit les différentes autorités à les placer en traitement de première ligne. Dans cette classe pharmaco-thérapeutique, le CAB a la particularité d'avoir été développé conjointement avec la RPV en formulation à action prolongée avec administration par voie intramusculaire.

Un des médicaments antirétroviraux commercialisés en France est un anticorps monoclonal (mAB) humanisé de type IgG4, l'ibalizumab (IBA). Il appartient à la classe des inhibiteurs post-attachement et en est le seul représentant. Il agit en se liant au domaine 2 des CD4, étape nécessaire à la pénétration des particules du VIH dans les cellules hôtes. Il est indiqué uniquement pour des patients lourdement prétraités et présentant des formes multirésistantes.

Enfin, la dernière classe pharmaco-thérapeutique mise sur le marché est la classe des inhibiteurs d'attachement. Il n'y a pour le moment qu'un seul représentant avec le fostemsavir (FTR). Il s'agit d'une prodrogue du temsavir qui va agir en se liant à la gp120 du VIH. Cette liaison entraîne une inhibition sélective de l'interaction entre le virus et les récepteurs cellulaires CD4, empêchant ainsi l'entrée du virus dans les cellules hôtes.

Deux autres médicaments sont utilisés dans les combinaisons antirétrovirales pour leur effet de potentialisateur pharmacocinétique. Le RTV a d'abord été utilisé pour son activité antirétrovirale (Danner *et al.*, 1995; Markowitz *et al.*, 1995) mais plusieurs études ont

montré son intérêt en association avec les autres IP pour diminuer la métabolisation de ces derniers et ainsi permettre de réduire le nombre de prises (Hsu *et al.*, 1998a, 1998b). Récemment, un nouveau potentialisateur a été mis sur le marché : le cobicistat (COBI), uniquement en association avec l'EVG, en France.

Depuis le 16 décembre 2021, en France, un médicament antirétroviral est disponible en autorisation d'accès compassionnel (anciennement appelé autorisation temporaire d'utilisation nominative). Le lénacapavir (LEN) est le premier médicament d'une nouvelle classe thérapeutique, les inhibiteurs de la capsid du VIH. Il agit à plusieurs étapes du cycle de réplication, notamment sur la stabilité et le transport des complexes formant la capsid. Il présente la caractéristique de ne nécessiter qu'une injection par voie sous-cutanée tous les six mois, ou d'une administration par voie orale hebdomadaire pour les comprimés.

1.3.2. Recommandations de prise en charge médicamenteuse

Les comités d'experts nationaux, européens et internationaux indiquent tous que le traitement antirétroviral est recommandé, indépendamment des taux de lymphocytes T CD4+, chez toute personne ayant une infection par le VIH chronique (Morlat *et al.*, 2018; Saag *et al.*, 2020; Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2021; Organisation mondiale de la Santé, 2021; European AIDS Clinical Society, 2021). Récemment, en 2019 pour les recommandations européennes et américaines et en 2020 pour les recommandations internationales, le dogme de la trithérapie comme unique option en initiation de traitement a été abandonné. Ces recommandations ont en effet introduit une bithérapie en première ligne de traitement avec l'association DTG + 3TC. La trithérapie reste également en première ligne de traitement dans ces recommandations et pour l'OMS avec comme combinaisons thérapeutiques initiales recommandées l'association de deux INTI et d'un INI.

En France, les dernières recommandations du groupe d'experts sous la direction du Pr Philippe Morlat datent d'avril 2018 (Morlat *et al.*, 2018). Dans l'attente d'une réactualisation de ces dernières, la version 11 des recommandations de la société européenne (*European AIDS Clinical Society*) est utilisée (European AIDS Clinical Society, 2021) avec trois combinaisons thérapeutiques recommandées en première ligne pour l'initiation du traitement antirétroviral :

- 2 INTI + 1 INI
 - ABC/3TC/DTG, disponible dans une combinaison à dose fixe
 - TAF/FTC/BIC, disponible dans une combinaison à dose fixe
 - TXF/FTC + DTG
 - TXF/FTC + RAL (en une ou deux fois par jour pour le RAL)
- 2 INTI + 1 INNTI
 - TDF/3TC/DOR, disponible dans une combinaison à dose fixe
 - TXF/FTC + DOR
- les bithérapies DTG + 3TC ou DTG + FTC.

Deux combinaisons thérapeutiques sont également recommandées en alternative à ces trois premières combinaisons :

- 2 INTI + 1 INNTI
 - TDF/FTC/EFV, disponible dans une combinaison à dose fixe
 - TXF/FTC/RPV
- 2 INTI + 1 IP potentialisé
 - TXF/FTC + DRV potentialisé par le RTV.

Pour les patients en succès virologique, après une première ligne de traitement ou un traitement de relais, d'autres recommandations sont édictées. La définition du succès virologique est l'indéteçtabilité de l'ARN VIH (charge virale inférieure à 50 copies/mL) depuis au moins 6 mois. L'optimisation thérapeutique a plusieurs objectifs : éliminer ou diminuer les effets indésirables, faciliter l'observance des patients en réduisant le nombre de prises et/ou le nombre de comprimés, tenir compte des comorbidités et un objectif regroupant l'ensemble des premiers cités, améliorer la qualité de vie. Face à de tels objectifs, les options thérapeutiques recommandées sont des bithérapies :

- DTG/RPV, disponible dans une combinaison à dose fixe

- DTG/3TC, disponible dans une combinaison à dose fixe
- CAB + RPV, en formulation à action prolongée (injection tous les deux mois).

A contrario, pour les patients en échec virologique, d'autres recommandations ont été faites. Un échec virologique est défini selon deux situations. La première, comme une absence de succès virologique avec l'ARN VIH détectable (charge virale supérieure à 50 copies/mL), 6 mois après l'initiation d'un schéma thérapeutique. Pour certains patients présentant une charge virale à l'initiation très forte (ARN-VIH > 5 log₁₀ copies/mL), ce délai de 6 mois peut être allongé. La seconde situation d'échec virologique concerne le rebond virologique. Il se définit comme une remontée de la charge virale après une période de succès virologique, confirmé sur deux prélèvements consécutifs. Le cas des patients en échec virologique est plus complexe car deux paramètres entrent en jeu : l'observance au traitement et l'apparition de mutations de résistance. Le suivi thérapeutique pharmacologique avec dosage plasmatique des médicaments antirétroviraux prescrits ainsi que les entretiens avec le patient permettent d'appréhender le premier paramètre. La réalisation d'un génotype de résistance permet d'appréhender le second. Le schéma thérapeutique est alors à adapter en fonction des différents cas possibles qui se présentent.

Les recommandations émises par les experts ont permis au fil des décennies une meilleure prise en charge thérapeutique des PVVIH. L'association d'ARV puissants permet d'obtenir un succès virologique au niveau plasmatique pour une majorité des PVVIH traités. Cependant, l'arrêt des traitements antirétroviraux est rendu impossible par la persistance dans l'organisme du virus qui forme ainsi des réservoirs virologiques.

2. Réservoirs virologiques

Peu de temps après l'isolement du virus et l'accès aux clones de celui-ci ainsi qu'aux techniques de détection du virus (ARN ou ADN), les premières hypothèses sur l'existence d'un réservoir sont émises (Shaw *et al.*, 1984; Schnittman *et al.*, 1989; Pang *et al.*, 1990). C'est en novembre 1985 que le terme « réservoir » est utilisé pour la première fois dans le cadre des recherches sur le VIH mais il désigne en premier lieu l'ensemble des personnes infectées regroupées en ce qu'on appelle désormais les populations clés (Francis *et al.*, 1985). L'utilisation dans le sens anatomique du terme, pour désigner un tissu, apparaît le mois suivant dans le résumé d'un article relatant de

l'infectiosité du VIH (appelé « rétrovirus associés au SIDA » à l'époque dans l'article) vis-à-vis d'autres types cellulaires que les lymphocytes T auxiliaires et soulevant la question sur la possibilité d'une infection latente ou chronique chez l'hôte (Levy *et al.*, 1985).

2.1. Cinétique d'établissement

Les réservoirs viraux se constituent dès les premiers jours qui suivent la contamination (Whitney *et al.*, 2014; Ananworanich *et al.*, 2016). Durant ces premières phases, le virus est essentiellement produit par les lymphocytes T CD4+ infectés activés (Chun *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1999; Schacker *et al.*, 2001). Ces lymphocytes activés peuvent définir une partie du réservoir, le réservoir actif, assurant l'amplification virale. C'est par ce biais que s'établit le réservoir dit quiescent répondant à la définition actuelle la plus commune du réservoir. Ce réservoir est principalement constitué par des cellules et des tissus infectés dans lesquels le génome viral intégré est inductible. Ce réservoir quiescent a la capacité de produire des particules virales matures et infectieuses avec une cinétique de renouvellement plus lente (Blankson *et al.*, 2002), l'impliquant donc dans la maintenance à long terme du virus dans l'organisme (Chun *et al.*, 1998; Persaud *et al.*, 2003). C'est cette latence qui constitue l'obstacle majeur à l'éradication du VIH de l'organisme. On observe à l'arrêt des traitements, un quasi-systématique rebond virologique lié à ce phénomène (Steingrover *et al.*, 2008).

2.2. Localisations anatomiques

Les réservoirs, présentés sur la Figure 9, sont répartis dans la quasi-totalité de l'ensemble de l'organisme (Henderson *et al.*, 2020). Cette ubiquité s'explique du fait de la présence de cellules lymphoïdes dans tous les tissus et de leur circulation par le sang et par la lymphe dans tout l'organisme. Toutefois, ces différents tissus, organes ou cellules contribuent de façon inégale au réservoir du VIH.

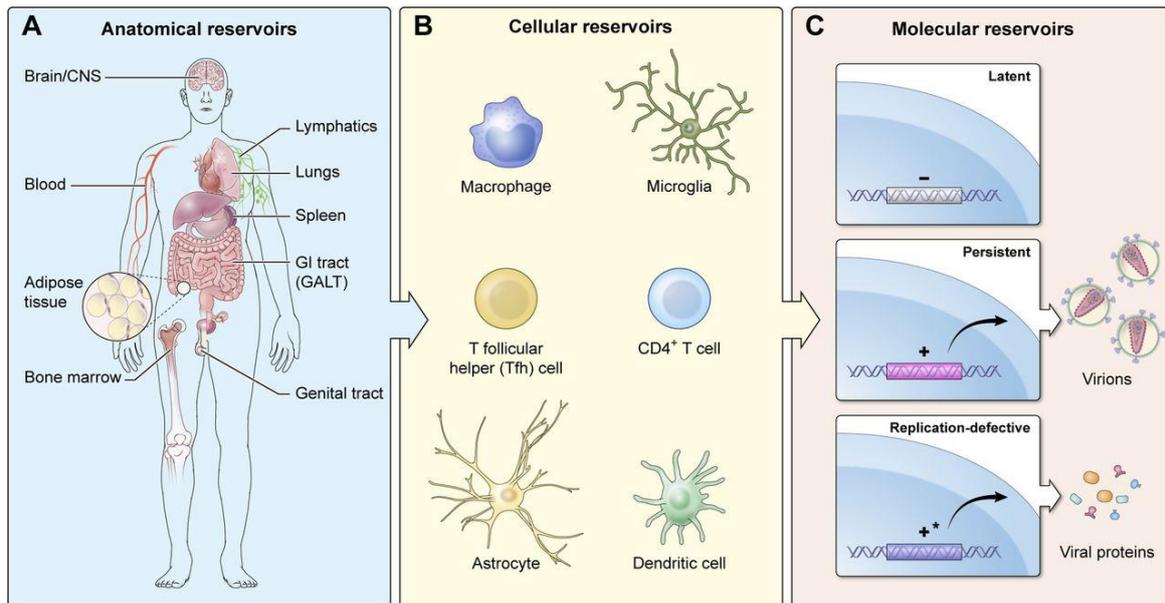


Figure 9. Principaux réservoirs du VIH, à différentes échelles.
(Henderson *et al.*, 2020)

2.2.1. Réservoirs cellulaires

D'un point de vue cellulaire, plusieurs facteurs influent sur la contribution de ces différentes cellules à l'établissement des réservoirs : leur susceptibilité à être infectées, leur durée de vie, leur capacité de prolifération et également leur capacité à produire de nouvelles particules virales matures et infectieuses. La majorité des études a été réalisée à partir des cellules sanguines, plus faciles à obtenir et en plus grand nombre. Du fait de la présence d'ADN-VIH dans presque l'ensemble des lymphocyte T CD4+ circulants et tissulaires, l'étude de ce marqueur dans les cellules mononuclées du sang périphérique (CMSP ou *Peripheral Blood Mononuclear Cells*, PBMC en anglais) reflète relativement bien le réservoir total (Josefsson *et al.*, 2013, 2011).

Les lymphocytes T CD4+ mémoires constituent le réservoir principal du VIH, étant cellules cibles du virus (Klatzmann *et al.*, 1984) et pouvant persister à long terme et proliférer dans l'organisme. L'infection latente de ces cellules peut s'expliquer par leur physiologie. L'activité effectrice de ces cellules augmente avec l'état de différenciation, tandis que leur durée de vie et leur capacité proliférative diminuent.

Le marqueur CD4 est également exprimé sur la lignée des monocytes et macrophages, qui sont donc permissives à l'infection (Alexaki *et al.*, 2008). Les monocytes circulent dans le sang jusqu'à trois jours avant de migrer dans différents tissus où ils se

différencient en macrophages. En fonction du tissu, leur durée de vie est de quelques jours à plusieurs mois. Au niveau du système nerveux central (SNC), ces macrophages constituent les cellules de la microglie. Avec les astrocytes, ce sont les deux types cellulaires réservoirs du VIH. Les cellules dendritiques sont également citées comme cibles du virus, avec un niveau d'infection faible. Enfin, d'autres types cellulaires peuvent également jouer le rôle de réservoir viral : les cellules souches hématopoïétiques et les cellules de Langerhans.

2.2.2. Réservoirs tissulaires

Au niveau tissulaire, le VIH est présent dans l'ensemble de l'organisme. Néanmoins, ces différents tissus contribuent de façon inégale. Les organes lymphoïdes secondaires, très riches en lymphocytes T, constituent les principaux sites réservoirs. C'est le cas donc des nœuds lymphatiques (Banga *et al.*, 2021), de la rate (Nolan *et al.*, 2018), des tonsilles (Røsok *et al.*, 1997) et des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, notamment associés au tube digestif (van Marle *et al.*, 2007). Au niveau de ce dernier, on remarque que la proportion de cellules CD4+ infectées y est supérieure à celle du sang (Eriksson *et al.*, 2013; Morón-López *et al.*, 2017). Les organes lymphoïdes primaires, bien qu'impliqués également dans la constitution des réservoirs du VIH, semblent cependant avoir un rôle moins prépondérant que les organes lymphoïdes secondaires.

Concernant les autres tissus, on retrouve de l'ARN et de l'ADN VIH au niveau des organes génitaux masculins (Imaz *et al.*, 2021) et féminins (Iversen *et al.*, 2004). Ces organes sont d'autant plus importants que les fluides biologiques associés sont à l'origine de la majorité des transmissions du VIH.

Le SNC est également un réservoir important et fortement étudié. On observe parfois des charges virales élevées au niveau du liquide cébrospinal (LCS) (Abdulle *et al.*, 2008). L'établissement du réservoir au niveau du SNC se fait par diffusion des cellules immunitaires à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE), diffusion facilitée par l'inflammation (Veenstra *et al.*, 2017). Le maintien du réservoir à ce niveau se fait soit par ce même mécanisme, soit par une réplication virale *in situ*. On observe ainsi parfois une discordance avec une charge virale positive dans le LCS en l'absence de virémie (Canestri *et al.*, 2010), ou encore des profils de résistance différents entre les deux compartiments (Soulie *et al.*, 2015). Au niveau du SNC, les principales cellules CD4+ sont les macrophages.

Les poumons sont aussi un site d'infection par le VIH. Une étude récente chez des individus traités a montré la corrélation entre le taux d'ADN VIH au niveau du liquide broncho-alvéolaire (LBA) et celui au niveau des CMSP, avec, en moyenne, des valeurs 13 fois plus élevés dans le LBA (Costiniuk *et al.*, 2018).

D'autres organes sont également des réservoirs connus du VIH, à un moindre niveau : le foie (Kong *et al.*, 2012) et le rein (Marras *et al.*, 2002) par exemple, avec pour ce dernier des risques de néphropathies liées au VIH (Rosenberg *et al.*, 2015). Enfin, parmi les réservoirs tissulaires connus et documentés, on peut citer la peau (Kalter *et al.*, 1991) et le tissu adipeux (Damouche *et al.*, 2015).

2.3. Hypothèses de la persistance virale

La persistance virale fait l'objet de nombreuses interrogations, tant sur les origines de cette persistance que sur les mécanismes qui entrent en jeu et sur les cibles qui pourraient permettre de la diminuer voire de la supprimer.

Les traitements utilisés et le moment de l'initiation de ces traitements impactent ces réservoirs virologiques mais pas suffisamment pour observer une clairance virale définitive à l'échelle humaine. Une évaluation de la demi-vie d'élimination du réservoir latent présent dans les lymphocytes T CD4+ a établi un temps de traitement nécessaire compris entre 51,2 années pour les patients ne présentant aucune charge virale détectable pendant 3 à 7 ans et 95,8 années pour ceux présentant occasionnellement une charge virale détectable (Siliciano *et al.*, 2003). La pente de décroissance pour les patients présentant occasionnellement une charge virale détectable n'est pas significativement différente de zéro, laissant supposer qu'en cas de rebond virologique, même occasionnel, le réservoir latent pourrait se re-remplir et ainsi empêcher une élimination totale chez ces patients. Une étude plus récente comparant les patients ayant débuté leur traitement durant la phase de primo-infection et ceux ayant débuté durant la phase chronique a montré une première phase de décroissance similaire entre les deux populations avec une demi-vie de 113 jours et de 146 jours, respectivement. En revanche, une seconde phase de décroissance était observée et était différente entre les deux populations avec une demi-vie de 25 ans et de 377 ans, respectivement (Hocqueloux *et al.*, 2013).

Plusieurs autres paramètres contribuent ainsi à la persistance virale dans ces réservoirs. Ils peuvent être regroupés en 3 origines principales : virologiques, immunologiques et pharmacologiques.

2.3.1. Hypothèses virologiques

D'un point de vue virologique, on distingue trois mécanismes principaux (Figure 10). Ils expliquent le rebond viral observé, quasi inéluctablement, à l'arrêt des traitements, même après plusieurs années de contrôle virologique.

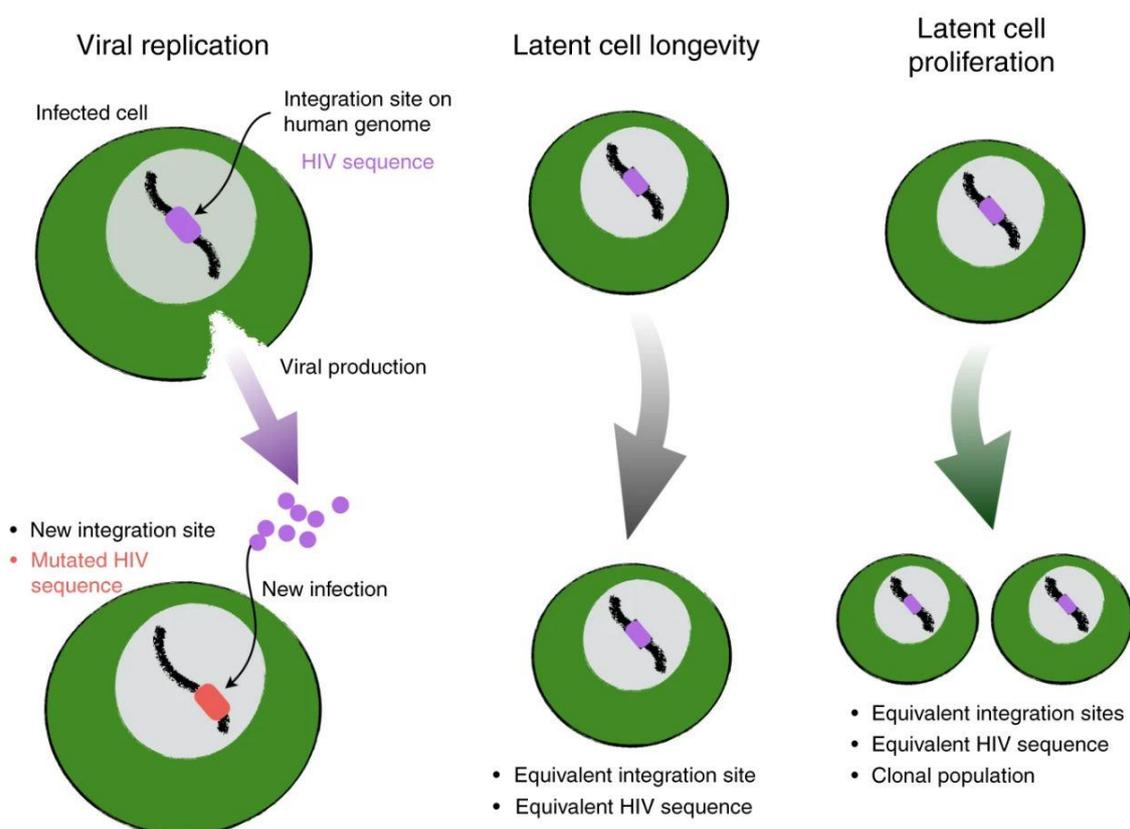


Figure 10. Mécanismes virologiques de maintien des réservoirs viraux.

(Reeves *et al.*, 2018)

Le premier mécanisme est la réplication virale résiduelle. Sous traitement antirétroviral, au vu des mécanismes d'action des molécules, son impact est limité. Mais pour les patients non traités, représentant près de 27 % des PVVIH au niveau mondial en 2020, il s'agit du mécanisme majoritaire. Sous traitement antirétroviral, néanmoins, et, au vu de

la compartimentation observée, une réplication résiduelle à bas bruit peut persister. Par l'utilisation de techniques de mesure ultrasensibles, cette persistance à bas bruit de la réplication peut être observée, même au niveau du compartiment sanguin (Palmer *et al.*, 2003, 2008).

Le deuxième mécanisme mis en jeu est la persistance du VIH principalement dans les lymphocytes T CD4+ mémoires quiescents et à longue durée de vie sous une forme latente (Chomont *et al.*, 2009; Mzingwane and Tiemessen, 2017). L'ADN viral intégré au génome et non transcrit est donc invisible pour le système immunitaire. Ces cellules réservoirs persistent du fait de leur longue durée de vie et d'une prolifération homéostatique. En cas d'activation cellulaire, le génome viral est transcrit ce qui conduit à l'élimination de la cellule réservoir.

Enfin, le troisième mécanisme est lié à la contribution de la prolifération clonale de cellules infectées dans le maintien du réservoir : l'analyse des sites d'intégration ayant révélé des profils identiques dans de multiples cellules (Wagner *et al.*, 2014; Reeves *et al.*, 2018).

2.3.2. Hypothèses immunologiques

D'un point de vue immunologique, les lymphocytes T CD8+ jouent un rôle majeur dans l'infection par le VIH (Angin *et al.*, 2019). L'étude des patients contrôleurs (naturellement contrôleurs ou contrôleurs post-traitement) permet d'évaluer et d'établir les mécanismes immunologiques qui entrent en jeu dans la persistance de la réplication du VIH (Sáez-Ciri3n and Pancino, 2013). L'immunité innée limiterait la réplication du VIH et permettrait à la réponse T CD8+ spécifique de se développer et de contrôler la réplication virale (Goujard *et al.*, 2009). Des altérations de cette réponse T CD8+ antivirale, induites par la déplétion des lymphocytes T CD4+ seraient alors des facteurs de persistance virale. La propriété fonctionnelle qui différencie le plus clairement les lymphocytes T CD8+ spécifiques du VIH des patients contrôleurs de ceux des PVVIH progressseurs virémiques et des PVVIH traités est leur capacité à tuer directement les cellules infectées *in vitro*. Cette capacité des lymphocytes T CD8+ à supprimer la réplication virale dans les lymphocytes T CD4+ n'est pas observée chez les PVVIH sous traitement antirétroviral (Sáez-Ciri3n *et al.*, 2007).

2.3.3. Hypothèses pharmacologiques

Au début des années 90, devant les bénéfices clinique, immunologique et virologique des bithérapies et surtout, par la suite, à la fin des années 90, des trithérapies par rapport aux monothérapies, des études d'intensification ont été réalisées. L'hypothèse principale est qu'une augmentation du nombre de molécules actives permettrait d'accroître la clairance de ces réservoirs virologiques.

Une intensification du traitement antirétroviral par l'interleukine-2 n'a pas montré un réel impact pour diminuer les taux résiduels de virus (Davey *et al.*, 1999). Une étude d'intensification d'une trithérapie par un inhibiteur d'intégrase, le RAL, n'a pas montré de réduction de la virémie résiduelle malgré une accumulation transitoire d'ADN épisomique de pré-intégration et des réductions simultanées des marqueurs d'activation des lymphocytes T CD8+ (Buzón *et al.*, 2010). Une autre étude a montré que l'intensification avec le RAL réduisait les concentrations d'ARN-VIH dans l'iléon, qui est riche en cellules cibles infectées, et possède un environnement potentiellement idéal pour entretenir le transfert de cellule à cellule du virus. Cependant, la réduction de l'ADN du VIH-1 ou de la virémie résiduelle, n'a pas été observée, suggérant que le traitement antirétroviral pourrait ne pas pénétrer complètement dans tous les tissus (Yukl *et al.*, 2010). Plus récemment, une intensification par une pentathérapie, avec ajout du RAL et du MVC à la trithérapie classique, n'a pas présenté d'effets sur les réservoirs sanguins, à savoir les CMSP (Chéret *et al.*, 2015).

Au final, l'intensification n'a pas montré de véritable effet sur l'évolution des réservoirs virologiques. Ces études permettent d'émettre deux principales hypothèses. La première est qu'il existe un défaut de diffusion dans certains compartiments, des différentes molécules utilisées dans ces études. Cette diffusion non suffisante ne rendrait pas cette intensification plus efficace aux localisations anatomiques d'intérêts qu'un régime de base. La seconde hypothèse est que, même en l'absence de défaut de diffusion, l'ajout de molécules actives ne permet pas d'enrayer l'établissement de ces réservoirs virologiques. Il y aurait un phénomène de saturation de la cible ne permettant pas d'améliorer l'impact des médicaments antirétroviraux sur la réplication virale. L'observation de faibles concentrations dans certains tissus va dans le sens de la première hypothèse avec la formation de sanctuaires pharmacologiques liée donc à une diffusion suboptimale des médicaments antirétroviraux au sein de ces compartiments (Fletcher *et al.*, 2014; Lorenzo-Redondo *et al.*, 2016).

3. Sanctuaires pharmacologiques

3.1. Définition

La notion de sanctuaire pharmacologique est liée à celle de réservoir virologique mais il est important de les dissocier pour nuancer certains propos et résultats. Un réservoir virologique est défini par des cellules ou des tissus infectés capables de produire du virus infectieux et est impliqué dans la maintenance à long terme du virus dans l'organisme. Un sanctuaire pharmacologique est défini par des cellules ou des tissus dans lesquels la diffusion des médicaments est fortement limitée. Face à ces deux définitions, on peut alors noter qu'être un sanctuaire pharmacologique pour des cellules ou un tissu n'est pas une condition *sine qua non* à l'établissement d'un réservoir virologique. Il y a de fortes chances qu'un tissu soit un réservoir virologique s'il est un sanctuaire pharmacologique mais il peut également l'être malgré une bonne diffusion des médicaments prescrits. Comme expliqué au paragraphe 2.3, d'autres paramètres, autre que pharmacologique, interviennent. Il est à noter également qu'un défaut de diffusion d'un médicament dans un organe n'engendre pas forcément une inefficacité antivirale. Il faut, en effet, tenir compte de la puissance pharmacologique de ce dernier pour pouvoir juger de la caractéristique de sanctuaire d'un organe pour ce médicament précis.

La notion de sanctuaire pharmacologique est définie pour chaque médicament ou pour chaque association thérapeutique en fonction de leur capacité intrinsèque de diffusion et par le type de tissus. En effet, certains tissus présentent naturellement des mécanismes de défense, principalement contre des xénobiotiques.

3.2. Caractéristiques des tissus limitant la diffusion

Trois caractéristiques intrinsèques tissulaires rentrent en jeu dans la diffusion d'un médicament. La première est la présence d'une véritable barrière physique empêchant la diffusion. En lien avec la diffusion des médicaments, il existe quatre barrières physiologiques physiques.

Par ordre chronologique de découverte, la barrière se trouvant à l'interface entre le compartiment sanguin et les tubes séminifères des testicules est décrite en 1865 par Enrico Sertoli (Sertoli, 1865). Devant un des modes de contamination du VIH, à savoir la

voie sexuelle, les appareils reproducteurs féminins et masculins sont très étudiés. Cette barrière semble bien réduire la diffusion de certains médicaments antirétroviraux au niveau testiculaire (Robillard *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2016).

La deuxième est la barrière hémato-encéphalique, à l'interface entre le compartiment sanguin et le système nerveux central, décrite dès 1885 par Paul Ehrlich (Ehrlich, 1885). Cette barrière est parmi les plus décrites et étudiées devant l'importance de pouvoir passer outre et permettre ainsi l'action de certains médicaments au niveau cérébral. L'étude du passage des médicaments antirétroviraux fait régulièrement l'objet d'études. L'équipe de Scott Letendre a établi en 2008 une classification, appelée score CHARTER (*CNS HIV Anti-Retroviral Therapy Effects Research*). Ce score caractérise la pénétration des médicaments antirétroviraux dans le SNC selon une approche hiérarchisée basée sur les meilleures données disponibles des caractéristiques chimiques, de la pharmacologie dans le LCS, de l'efficacité clinique et virologique dans le SNC associée à l'évaluation des effets indésirables neurologiques potentiels (Letendre *et al.*, 2008). La dernière actualisation en 2017 ne prend en compte que 19 des 28 médicaments antirétroviraux disponibles (Mukerji, 2017). Des études ont été réalisées pour 6 autres actuellement disponibles (TAF, RPV, DOR, BIC, CAB et COBI) mais non encore prises en compte dans une nouvelle actualisation (Calcagno *et al.*, 2016; Letendre *et al.*, 2020; Gelé *et al.*, 2021; Tiraboschi *et al.*, 2021b). Seuls le fostemsavir, le lénacapavir et l'ibalizumab n'ont pas encore été étudiés. Au vu de l'étude d'un autre anticorps monoclonal humanisé de type IgG4, il semblerait que la capacité de diffusion de l'ibalizumab soit très faible (Curtin *et al.*, 2016).

La troisième barrière décrite est celle à l'interface entre le compartiment sanguin et le système oculaire. Décrite pour la première fois chez le lapin en 1913 par Otto Schnaudigel, elle joue un rôle dans la limitation de la diffusion au niveau des différentes parties de l'œil (Schnaudigel, 1913). Peu d'études rapportent des données virologiques au niveau de l'œil (Pathanapitooon *et al.*, 2011; Williams-Wietzikoski *et al.*, 2017) mais l'une d'elles indique la présence d'une compartimentation des séquences virologiques observées au niveau de l'œil à partir des séquences plasmatiques, soulevant la question de la formation d'un réservoir virologique à ce niveau (Williams-Wietzikoski *et al.*, 2017). A ce jour, aucune donnée pharmacologique, à quelque niveau que ce soit, n'est disponible dans ce compartiment.

Enfin, la quatrième barrière physiologique physique est décrite pour la première fois en 1961 par A. Marshall et R. White et se trouve entre le compartiment sanguin et le thymus (Marshall and White, 1961). Le thymus, organe lymphoïde primaire, est le lieu de maturation des lymphocytes T CD4+ et est, par conséquent, à risque d'infection par le VIH (Ho Tsong Fang *et al.*, 2008). Il est considéré comme un réservoir virologique également (Brooks *et al.*, 2001; Koup, 2001). D'un point de vue pharmacologique, seule une étude *in vitro* sur l'impact d'un transporteur d'efflux sur la pénétration intracellulaire de l'indinavir et du ritonavir est disponible (Haraguchi *et al.*, 2011).

En dehors de ces organes présentant une barrière physiologique physique, les données disponibles sur les organes étudiés montrent que les nœuds lymphatiques pourraient être des sanctuaires pharmacologiques (Fletcher *et al.*, 2014).

Le débit sanguin d'un tissu ou d'un organe est le deuxième facteur limitant la distribution tissulaire des médicaments. Le débit sanguin est plus élevé au niveau du foie et des reins, puis du cerveau, du cœur et enfin de la peau et des muscles (Calzia *et al.*, 2005). Les tissus avec un débit sanguin élevé ont rapidement une grande quantité de médicaments à leur niveau mais l'élimination peut également y être plus rapide en raison de ce débit sanguin élevé. *A contrario*, les tissus avec un débit sanguin faible peuvent être un lieu de stockage du fait d'une élimination plus difficile mais sont plus généralement des tissus où les médicaments diffusent peu du fait d'une faible imprégnation. Une augmentation du débit sanguin d'un organe pourrait permettre une augmentation de la diffusion tissulaire. C'est par exemple le principe de l'évaluation de la perfusion myocardique par scintigraphie avec épreuve d'effort. Lors de l'effort, le débit sanguin myocardique augmente et on observe une augmentation de la valeur de fixation normalisée, reflet de la concentration myocardique du médicament radiopharmaceutique injecté.

La présence de transporteurs est le troisième facteur intrinsèque intervenant dans la diffusion d'un médicament. La présence de transporteur d'efflux est connue depuis la découverte du transporteur ABCB1 (anciennement appelé P-glycoprotéine ou Pgp) en 1976 (Juliano and Ling, 1976). Les transporteurs d'efflux font partie de la famille des adenosine triphosphate (ATP)-binding cassettes (ABC) et sont présents au niveau du rein, de l'intestin, du foie et de la BHE. Ces différents transporteurs seront détaillés dans un paragraphe suivant.

3.3. Propriétés et paramètres d'une molécule influençant sa diffusion tissulaire

D'une façon générale, l'étude de la diffusion des médicaments est un élément important dans la compréhension des mécanismes d'action des médicaments ainsi que dans l'évaluation de leur efficacité et/ou de leur toxicité. En routine, nombre de médicaments sont régulièrement dosés au niveau plasmatique ou sanguin dans le cadre du suivi thérapeutique pharmacologique. Pourtant, dans la très grande majorité des cas, le site d'action de ces médicaments n'est pas le compartiment sanguin. Le site d'action étant très souvent non accessible, la connaissance des différents paramètres pouvant déterminer la capacité de diffusion d'un médicament est primordiale. Plusieurs propriétés sont connues pour être des paramètres influençant le potentiel d'efficacité d'une molécule au niveau tissulaire (Thompson *et al.*, 2017). Elles peuvent être classées en trois principales catégories : les propriétés physico-chimiques intrinsèques des médicaments, les propriétés pharmacocinétiques et les autres paramètres (Figure 11).

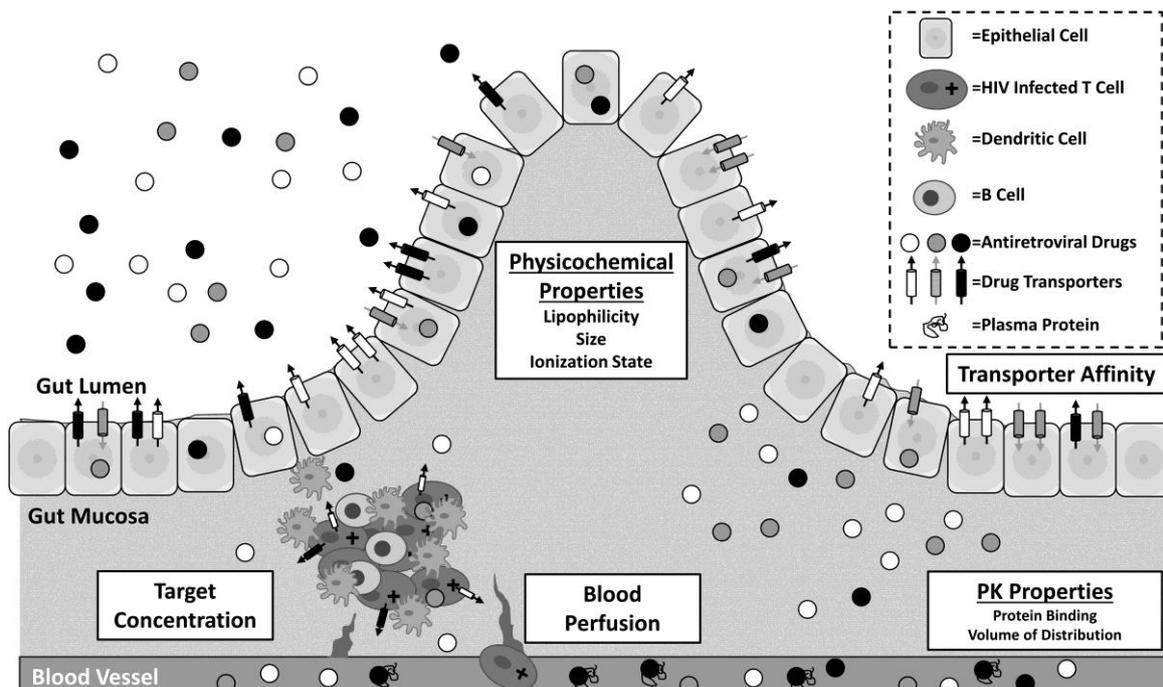


Figure 11. Principaux facteurs influençant la diffusion des médicaments.

(Thompson *et al.*, 2017)

3.3.1. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques sont intrinsèques à chaque médicament. Ce sont des paramètres influençant mais non modifiables. Trois principales propriétés sont admises comme jouant un rôle dans la capacité de diffusion d'un médicament : la lipophilie, la masse moléculaire et l'état d'ionisation.

La lipophilie d'un médicament est évaluée par le coefficient de partage ou logP qui représente l'équilibre entre une phase polaire (l'eau) et une phase apolaire (le n-octanol). Ce système eau-n-octanol est devenu le standard pour la mesure des coefficients de partage. Les médicaments plus hydrophiles (avec un logP plus faible) ont généralement une capacité de diffusion plus faible du fait de leur difficulté à traverser la bicouche lipidique cellulaire. Une étude de la diffusion, au niveau du jéjunum du rat, de la lamivudine et de deux prodrogues plus lipophiles de celle-ci, a montré une augmentation des concentrations tissulaires de lamivudine d'un facteur 5 à 10 pour la prodrogue la plus lipophile (Gualdesi *et al.*, 2012). Cependant, il est également extrêmement important de maintenir un équilibre entre les propriétés lipophiles et hydrophiles afin, d'un côté, de faciliter la diffusion et, de l'autre côté, d'assurer une solubilité aqueuse optimale. Une molécule très lipophile mais très peu soluble dans l'eau risque d'être mal absorbée. Ainsi, une faible disponibilité par voie orale peut être la conséquence d'une faible solubilité dans l'eau.

La masse moléculaire est le deuxième paramètre influençant la capacité de diffusion d'une molécule. De façon plus évidente, une molécule avec une masse moléculaire importante diffusera plus difficilement qu'une molécule de plus faible masse moléculaire. C'est ce qu'on retrouve par exemple avec l'enfuvirtide, peptide de 36 acides aminés, de masse moléculaire importante (4 492 g/mol) qui n'est pas détectable au niveau du tractus génital masculin contrairement à d'autres médicaments antirétroviraux de plus faibles masses moléculaires comme le maraviroc (514 g/mol) ou la lamivudine (229 g/mol) (Else *et al.*, 2011a).

Enfin, parmi les propriétés physico-chimiques influençant la capacité de diffusion d'une molécule, on trouve l'état d'ionisation. Ce paramètre rejoint en partie la lipophilie. En effet, c'est également le caractère polaire ou apolaire d'une molécule qui entre en jeu. Une molécule ionisée étant polaire, sa capacité de diffusion sera diminuée par rapport à une molécule non ionisée apolaire. L'état d'ionisation est lié à un paramètre physico-

chimique, la constante de dissociation acide ou pKa. Cette constante est la valeur de potentiel d'hydrogène (pH) à laquelle le médicament acceptera ou donnera un proton. Ainsi l'état d'ionisation peut-être différent en fonction des compartiments (Deutsch *et al.*, 1984). Les médicaments acides se dissocient en milieu basique et les bases, en milieu acide, pour se transformer en molécules ionisées. De ce fait, si deux compartiments séparés par une membrane sont à des potentiels d'hydrogène (pH) différents, l'équilibre des concentrations d'un médicament acide de part et d'autre de la membrane va être déplacé et la forme non ionisée va s'accumuler dans le compartiment le plus basique où il se dissocie. Ainsi, un médicament acide aura plutôt tendance à s'accumuler au niveau du compartiment sanguin (pH physiologique autour de 7,4) plutôt que dans les cellules mononuclées quiescentes du sang périphérique (pH autour de 7,1).

3.3.2. Propriétés pharmacocinétiques

A ces trois propriétés physico-chimiques s'ajoutent trois propriétés pharmacocinétiques principales non modifiables. La première est le taux de fixation aux protéines plasmatiques. Cette première propriété va impacter plusieurs autres paramètres pharmacocinétiques dont la deuxième propriété, le volume de distribution V_D . Enfin, la troisième propriété est le fait d'être substrat d'un ou plusieurs transporteurs.

La fixation des médicaments aux protéines plasmatiques, notamment à l'albumine et à l'orosomucoïde (ou acide alpha-1-glycoprotéine), qui peut aller de 0 % à plus de 99 % modifie le passage des médicaments. Lorsqu'ils sont non fixés aux protéines plasmatiques, c'est-à-dire à l'état libre, les médicaments, selon leurs autres propriétés citées précédemment, peuvent diffuser à travers les membranes. La fixation des médicaments aux protéines plasmatiques est un phénomène dynamique qui dépend de trois paramètres : le nombre de sites de fixation sur la protéine, la constante d'affinité et la concentration molaire en protéine.

Dans le compartiment sanguin, l'albumine est la principale protéine qui entre en jeu dans le transport des médicaments. Elle est très abondante dans le plasma (environ 40 g/L) et porte une charge négative à pH physiologique (Hinderling and Hartmann, 2005). Ainsi, les médicaments acides, fortement ionisés à pH physiologique, se fixent majoritairement à l'albumine avec une forte affinité. Compte tenu de la fixation majoritaire à l'albumine de ces médicaments, l'albuminémie peut-être un facteur de variabilité dans la diffusion d'un médicament. L'acide alpha-1-glycoprotéine est une molécule dont la concentration

physiologique est beaucoup plus faible (0,4 à 1,3 g/L). A l'inverse de l'albumine, ce sont plutôt les médicaments basiques qui s'y lient avec une forte affinité. Comme pour l'albumine, la concentration en acide alpha-1-glycoprotéine est soumise à diverses pathologies et peut ainsi faire varier la capacité de diffusion d'un médicament. Il a été montré que chez des PVVIH, la pharmacocinétique de l'atazanavir, qui présente une affinité plus forte pour l'acide alpha-1-glycoprotéine que pour l'albumine, était influencée par la concentration de cette protéine de fixation (Barrail-Tran *et al.*, 2010). Les conséquences pharmacocinétiques des variations de la fixation protéique liées aux variations des concentrations en albumine ou acide alpha-1-glycoprotéine seront plus importantes pour un médicament dont le taux de fixation est supérieur à 90-95 %, c'est-à-dire pour lequel une faible diminution des concentrations protéiques entraînera une grande augmentation de la fraction libre active.

Ce taux de fixation influence directement le deuxième paramètre pharmacocinétique : le volume de distribution. En effet, ces deux paramètres sont liés dans l'équation suivante :

$$V_D = V_P + V_T \times f_{uP} / f_{uT}$$

avec V_D , le volume de distribution, V_P , le volume plasmatique, V_T , le volume tissulaire, f_{uP} , la fraction libre plasmatique et f_{uT} , la fraction libre tissulaire.

Lorsque le volume plasmatique est négligeable devant le volume de distribution, une modification de la fraction libre plasmatique aura pour conséquence directe, une modification du volume de distribution (Benet and Hoener, 2002). Cependant il faut également tenir compte de l'impact de la fraction libre tissulaire. Ce paramètre est plus rarement étudié et il est usuellement accepté de considérer que les fractions libres plasmatique et tissulaire sont équivalentes. Néanmoins, ce n'est pas toujours le cas et plusieurs situations influencent ces différences observées (Zhang *et al.*, 2019). Le taux de fixation aux protéines plasmatiques est un facteur limitant la capacité de diffusion d'un médicament dans le cas où ce taux est plus important que le taux de fixation aux protéines tissulaires.

Le taux de fixation aux protéines plasmatiques peut également influencer l'étape d'élimination du médicament. En effet, la clairance, paramètre d'élimination d'un médicament, est dépendante de ce taux selon l'équation suivante :

$$CL = Q_{organe} \times E = Q_{organe} \times [f_{uP} \times CL_{int}] / [Q_{organe} + f_{uP} \times CL_{int}]$$

avec CL, la clairance pour un organe, Q_{organe} , le débit de perfusion de l'organe, E, le coefficient d'extraction de l'organe et CL_{int} , la clairance intrinsèque de l'organe. Pour les médicaments à coefficient d'extraction élevé ($E > 0,7$), alors $Q_{organe} \ll f_{uP} \times CL_{int}$ et la clairance ne dépend que du débit de perfusion. *A contrario*, pour les médicaments à coefficient d'extraction faible ($E < 0,3$), alors $Q_{organe} \gg f_{uP} \times CL_{int}$ et la clairance dépend du taux de fixation aux protéines plasmatiques. Ainsi, toute élévation de ce taux augmentera la clairance d'élimination. Concernant l'élimination par voie rénale, la clairance de filtration est aussi dépendante de ce taux de fixation selon l'équation suivante :

$$CL_{filtration} = f_{uP} \times DFG$$

Avec $CL_{filtration}$, la clairance de filtration glomérulaire et DFG, le débit de filtration glomérulaire.

Au niveau clinique, les conséquences pharmacocinétiques d'une modification du taux de fixation aux protéines plasmatiques n'auront pas toujours de répercussions. Benet & Hoener concluent que l'exposition totale au médicament (formes liée et non liée) peut varier en lien avec une modification de ce taux de fixation mais sans variation de l'exposition au médicament non lié (Benet and Hoener, 2002). Ainsi la diffusion d'un médicament dépend de son taux de fixation aux protéines plasmatiques mais n'est pas impactée en cas de variations éventuelles de ce taux. Parmi les médicaments antirétroviraux, ce taux varie énormément d'une molécule à l'autre. Certaines, comme beaucoup d'INTI, ont un taux de fixation très faible (moins de 4 % pour le FTC (European Medicines Agency, 2003a)). D'autres, comme beaucoup d'IP ou d'INI, sont fortement fixées aux protéines plasmatiques (plus de 99 % pour le DTG (Gelé *et al.*, 2020)).

Le volume de distribution, bien qu'en partie impacté par le taux de fixation protéique, est une caractéristique pharmacocinétique intrinsèque d'une molécule. Souvent exprimé en L/kg, il représente un volume fictif dans lequel devrait se distribuer le médicament pour être à l'équilibre à la même concentration que dans le plasma. Prenant en considération que la volémie ou volume sanguin total, c'est à dire plasmatique et globulaire, chez l'Homme est, en moyenne, de 70 mL/kg et que l'hématocrite moyen est de 0,45, alors le volume plasmatique moyen est d'environ 40 mL/kg. Ainsi, un médicament avec un volume de distribution de 40 mL/kg aura une très faible capacité de diffusion car ce volume est équivalent au volume plasmatique. Il est communément admis qu'un

médicament avec un volume de distribution supérieur à 1 L/kg est considéré comme ayant une capacité de diffusion forte. Pour certaines molécules, comme la morphine, ce volume de distribution peut être très élevé (jusqu'à 1000 L/kg), indiquant une très forte capacité de diffusion. Parmi les médicaments antirétroviraux, à nouveau, ce paramètre varie d'une molécule à une autre. Le T-20, grosse molécule, possède un volume de distribution très faible (5,5 L en moyenne, soit environ 80 mL/kg pour un Homme d'environ 70 kg), prédisant une faible capacité de diffusion (European Medicines Agency, 2003b). A l'inverse, le MVC possède un volume de distribution élevé (194 L en moyenne, soit environ 2,8 L/kg pour un Homme d'environ 70 kg) indiquant une capacité de diffusion d'autant plus forte (European Medicines Agency, 2007a).

Enfin, les transporteurs peuvent influencer la diffusion d'un médicament. On en distingue deux grandes catégories, les transporteurs d'efflux et les transporteurs d'influx. Les transporteurs d'efflux ont pour rôle principal de favoriser l'élimination d'une molécule substrat ou d'empêcher la pénétration de cette molécule dans un organe spécifique. Parmi les 28 médicaments antirétroviraux disponibles, 19 sont substrats d'au moins 1 transporteur parmi les 15 impliqués dans le transport de cette famille thérapeutique (Tableau 1). Certaines classes thérapeutiques sont plus impactées que d'autres, comme les INTI, les IP et les INI. L'inhibition ou l'induction de ces transporteurs peut ainsi influencer la diffusion des médicaments antirétroviraux substrats. C'est par exemple le cas du TAF, substrat des transporteurs d'efflux ABCB1 et ABCG2, qui, co-administré avec le COBI, l'ATV, le LPV ou le DRV, tous les quatre puissants inhibiteurs de ces deux transporteurs, voit ses paramètres pharmacocinétiques plasmatiques d'exposition fortement augmentés (Begley *et al.*, 2018). L'inhibition de ces deux transporteurs au niveau intestinal implique une diminution de l'efflux du TAF du compartiment sanguin vers la lumière intestinale et donc une augmentation de sa biodisponibilité par voie orale. Cette inhibition permet d'augmenter l'exposition plasmatique d'un médicament sans augmenter la posologie et permet donc d'accroître la diffusion de ce médicament dans les différents tissus exposés. Plusieurs études ont montré que l'accumulation intracellulaire d'inhibiteurs de la protéase était moindre dans des cellules qui surexpriment les transporteurs ABCB1 ou ABCC1 (Jones *et al.*, 2001a, 2001b). Cliniquement, il a été observé une plus faible accumulation du saquinavir et du RTV chez les patients exprimant plus fortement ces mêmes transporteurs d'efflux (Meaden *et al.*, 2002). Du fait de la présence de ces transporteurs à de nombreuses interfaces sang/tissus, l'impact de ces derniers sur la diffusion des médicaments substrats peut être significatif.

Tableau 1. Médicaments antirétroviraux substrats de transporteurs.

		Transporteurs d'efflux					Transporteurs d'influx									
		ABC1	ABCC1	ABCC2	ABCC4	ABCG2	SLC22A1	SLC22A2	SLC22A3	SLC22A6	SLC22A7	SLC22A8	SLCO1A2	SLCO1A3	SLCO1B1	SLCO1B3
INTI	ZDV															
	3TC															
	ABC															
	TXF															
	FTC															
INNTI	NVP															
	EFV															
	EVR															
	RPV															
	DOR															
IP	LPV															
	ATV															
	FPV															
	TPV															
	DRV															
IF	T-20															
Ant-CCR5	MVC															
INI	RAL															
	EVG															
	DTG															
	BIC															
	CAB															
‡	FTR															
T	RTV															
	COBI															
mAB	IBA															
†	LEN*															

‡ Inhibiteur d'attachement

T Potentialisateur

† Inhibiteur de capsid

* Autorisation d'accès compassionnel

Sources : Janneh *et al.*, 2009; Lepist *et al.*, 2012; Michaud *et al.*, 2012; European Medicines Agency, 2013, 2018a, 2021; Reese *et al.*, 2013, 2016; Sanchez *et al.*, 2019

3.3.3. Autres paramètres influençant la diffusion

D'autres paramètres ne sont pas fixes et peuvent ainsi être modulés pour augmenter la diffusion au au niveau tissulaire.

Parmi ces paramètres, il y a la posologie. Dans certains cas, pour des médicaments dont la marge thérapeutique le permet, une diffusion insuffisante peut être en partie compensée par une augmentation de la posologie. Cette adaptation de la posologie est couramment pratiquée pour les antiinfectieux (Bonsergent *et al.*, 2018). Ainsi, dans le cadre des infections neuroméningées, certains antiinfectieux, antibiotiques ou antiviraux sont utilisés à fortes posologies pour permettre une diffusion suffisante au niveau du SNC. Pour la prise en charge de l'infection par le VIH, aucun organisme ou société savante nationale ou internationale ne recommande actuellement une telle pratique. Des posologies plus importantes peuvent parfois être prescrites en cas de résistances acquises des souches virales. En conséquence, la posologie recommandée du DTG est doublée en cas de résistance cliniquement suspectée ou confirmée à la classe des INI. Aucune donnée de diffusion tissulaire n'est actuellement disponible dans ces cas-ci.

Enfin, le dernier paramètre d'influence est la galénique. La galénique est la science de la préparation des principes actifs en vue d'une administration possible. Elle s'intéresse notamment aux voies d'administration qui peuvent impacter l'absorption et donc la diffusion d'une molécule. Ainsi, l'enfuvirtide, peptide synthétique, ne peut pas être administré par voie entérale. Il présente deux caractéristiques non compatibles avec une bonne absorption : grosse molécule (près de 4,5 kDa) et structure protéique dégradée par le métabolisme intestinal. La galénique peut être utilisée dans le but d'améliorer la disponibilité d'un traitement au niveau de son site d'action. Dans le cadre de la prise en charge de l'infection par le VIH, plusieurs études ont été réalisées dans l'objectif de vectoriser une molécule directement au niveau du site actif ou d'améliorer sa diffusion à travers une barrière physique et physiologique (Fiandra *et al.*, 2016). Une étude a montré qu'une nanoformulation d'une prodrogue hydrophobe et lipophile du DTG, donnant à cette molécule les caractéristiques d'une formulation à action prolongée, permettait d'augmenter les concentrations tissulaires chez la souris BALB/c (Sillman *et al.*, 2018).

3.4. Paramètres influençant le potentiel d'efficacité au niveau tissulaire

La puissance intrinsèque d'un médicament est un paramètre pharmacodynamique qui va refléter son potentiel d'efficacité, notamment au niveau tissulaire. Elle ne peut pas être modifiée. Cependant le choix d'une molécule plutôt qu'une autre peut augmenter l'efficacité tissulaire de la stratégie thérapeutique mise en place.

Cette puissance intrinsèque se mesure par la concentration cible à atteindre pour la molécule. Elle peut être estimée par la concentration inhibitrice médiane, aussi appelée CI_{50} . Elle correspond à la concentration pour laquelle la moitié des souches virales utilisées pour ce test est inhibée *in vitro*. Elle est déterminée pour une souche de référence dite souche sauvage. Dans le cas de souches résistantes, il est possible de déterminer la CI_{50} de cette souche résistante dans l'objectif d'adapter la cible à atteindre. Ces valeurs de CI_{50} obtenues pour une souche sauvage permettent de comparer la puissance intrinsèque entre différents médicaments et d'évaluer la potentielle efficacité au niveau d'un tissu ou d'une cellule. Pour prendre l'exemple des deux inhibiteurs de l'intégrase de seconde génération et de leur diffusion au niveau du LCS, on peut ainsi les comparer tous les deux quant à leur potentiel d'efficacité à ce niveau (Tableau 2). Pour ce faire, il est courant d'utiliser le quotient inhibiteur (QI), ratio entre les concentrations observées et la CI_{50} de la molécule. Ce paramètre est d'ailleurs considéré par l'administration américaine des médicaments (*Food and drug administration, FDA*) comme un outil utile pour le développement de nouveaux médicaments antiviraux (U.S. Department of Health and Human Services *et al.*, 2006). Plus celui-ci est élevé, plus le potentiel d'efficacité est important. Ainsi, à diffusion presque équivalente, déterminée par la fraction diffusant dans le LCS, le DTG a un potentiel d'efficacité supérieur au BIC à ce niveau, avec un QI plus de six fois supérieur à celui du BIC. Cette différence s'explique par une valeur de CI_{50} près de 18 fois plus faible pour le DTG. Le DTG possède donc une puissance intrinsèque plus importante.

Tableau 2. Comparaison du potentiel d'efficacité de deux inhibiteurs d'intégrase au niveau du LCS.

Paramètre – médiane (étendue)	Bictégravir	Dolutégravir
Fraction diffusant dans le LCS (%)	0,45 (0,18–1,34)	0,65 (0,19–5,11)
CI ₅₀ (ng/mL)	3,5	0,2
Quotient inhibiteur dans le LCS	1,3 (0,5–2,7)	8,5 (4,0–14,0)

Gelé *et al.*, 2019, 2021; Letendre *et al.*, 2020; Podany *et al.*, 2020; Tiraboschi *et al.*, 2021a

D'autres paramètres déterminés selon la même méthode sont parfois utilisés. C'est le cas de la concentration inhibitrice à 90 % (ou à 95 %) ou CI₉₀ (CI₉₅). Ils n'ont d'utilité, par rapport à la CI₅₀ que d'essayer de déterminer au mieux la cible de concentration à atteindre. Ces paramètres sont déterminés *in vitro*, en l'absence de protéines. Ainsi, ils ne prennent pas en compte le taux de fixation des médicaments aux protéines plasmatiques ou tissulaires. C'est pourquoi un ajustement au taux de protéines est parfois étudié afin de déterminer la concentration inhibitrice à 90 % ajustée aux protéines plasmatiques (CI₉₀-AP). Ainsi, lorsque les concentrations libres peuvent être mesurées, notamment au niveau plasmatique ou dans le LCS, les valeurs de CI₅₀ (ou CI₉₀) sont à favoriser tandis qu'au niveau tissulaire où les concentrations libres sont plus difficilement mesurables, les valeurs ajustées aux protéines plasmatiques sont le meilleur estimateur à utiliser.

3.5. Synthèse des propriétés et paramètres présentés

Le Tableau 3 résume les propriétés et les paramètres susceptibles de refléter la diffusion d'une molécule et son potentiel d'efficacité au niveau tissulaire ainsi que la ou les conditions pour lesquelles ce potentiel sera le meilleur pour ce paramètre. En plus de ceux-ci, il faut également prendre en compte les caractéristiques intrinsèques de l'organe ou du tissu étudié, répertoriées au paragraphe 3.2 ci-dessus.

Tableau 3. Propriétés influençant la diffusion et paramètre reflétant le potentiel d'efficacité d'une molécule au niveau tissulaire.

Propriétés physico-chimiques	
Lipophilie	Lipophile
Masse moléculaire	Faible masse moléculaire
État d'ionisation	Absence d'ionisation
Propriétés pharmacocinétiques	
Taux de fixation aux protéines plasmatiques	Faible fixation
Volume de distribution	Grand volume de distribution
Substrat des transporteurs	Non substrat des ABC (efflux) Substrat des SLC (influx)
Autres paramètres	
Galénique	Voie d'administration intraveineuse Vectorisation de la molécule vers son site d'action
Posologie	Possibilité d'augmenter la posologie (médicaments à marge thérapeutique large)
Potentiel d'efficacité	
Concentration cible à atteindre	CI ₅₀ faible

Les conditions optimales sont présentées en regard de chaque propriété ou chaque paramètre.

4. Caractéristiques des trois médicaments antirétroviraux d'intérêt

Les trois médicaments antirétroviraux étudiés, le TDF, le FTC et le DTG, ont été choisis parmi ceux recommandés mondialement en première ligne de traitement chez tout PVVIH (Morlat *et al.*, 2018; Saag *et al.*, 2020; Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2021; Organisation mondiale de la Santé, 2021; European AIDS Clinical Society, 2021). Ils sont ainsi parmi les plus utilisés dans le monde pour la prise en charge des PVVIH.

4.1. Ténofovir, utilisé sous la forme disoproxil fumarate

4.1.1. Propriétés physico-chimiques

Le TDF est un des deux seuls inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse avec son analogue le TAF. C'est un sel d'acide fumarique du dérivé ester bis-isopropoxycarboxyloxyméthyle du TNF. Son nom chimique est l'acide [[[2*R*]-1-(6-aminopurin-9-yl)propan-2-yl]oxymethyl-(propan-2-yl)oxycarboxyloxymethoxy]phosphoryl]oxymethyl propan-2-yl carbonate;(E)-but-2-enedioique, de formule brute : C₁₉H₃₀N₅O₁₀P·C₄H₄O₄ (Figure 12). Le TDF est une grosse molécule de poids moléculaire 635,5 g/mol. Il est soluble dans l'eau, le méthanol (MeOH), l'éthanol (EtOH), l'acétonitrile (AcN) et le diméthylsulfoxyde (DMSO). Il possède trois constantes de dissociation : le pKa₁ est de 2,07, le pKa₂ de 3,81 et le pKa₃ de 7,47. Son logP est de 1,25 (National Center for Biotechnology Information, 2022a). Le TNF est une molécule de poids moléculaire 287,2 g/mol. Il possède deux constantes de dissociation : le pKa₁ est de 3,8 et le pKa₂ de 6,7. Son logP est de -1,6, indiquant un caractère plus hydrophile du TNF que le TDF (National Center for Biotechnology Information, 2022b).

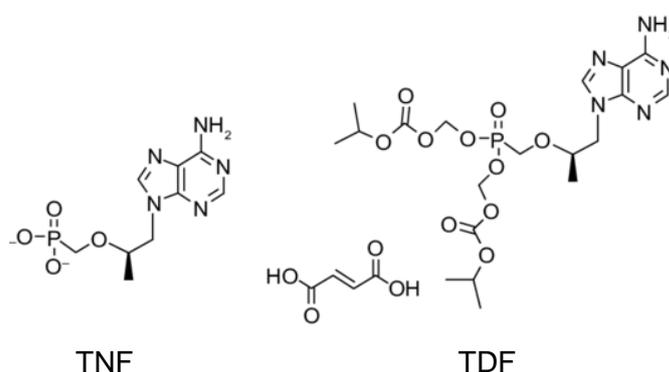


Figure 12. Structure chimique du ténofovir (TNF) et du ténofovir disoproxil fumarate (TDF).

(National Center for Biotechnology Information, 2022a, 2022b)

4.1.2. Forme galénique, indications et posologie

Autorisé en France depuis le 5 février 2002, le TDF est le premier inhibiteur nucléotidique de la transcriptase inverse mis sur le marché. En France, il est disponible seul ou en association avec d'autres médicaments antirétroviraux. L'ensemble des spécialités disponibles, leur composition et leurs indications sont présentées dans le Tableau 4.

Plus spécifiquement pour le Truvada®, ce dernier, ainsi que ses génériques, sont indiqués dans le traitement de l'infection par le VIH mais également, depuis le 1^{er} mars 2017 (et dès le 1^{er} janvier 2016 dans le cadre d'une recommandation temporaire d'utilisation), comme prophylaxie pré-exposition (PrEP) pour réduire le risque d'infection par le VIH par voie sexuelle chez les adultes et les adolescents à partir de 15 ans à haut risque de contamination. Pour l'ensemble des spécialités du Tableau 4, la posologie recommandée du TDF chez l'adulte est de 300 mg, sous forme de TDF, une fois par jour (QD). Du fait d'une élimination majoritairement par voie rénale, une adaptation de la posologie est nécessaire en cas d'altération de la fonction rénale (Tableau 5).

Tableau 4. Spécialités disponibles en France contenant du ténofovir, sous la forme ténofovir disoproxil fumarate.

Spécialités	Composition et dosage*	Indication	Référence
Viread® ou génériques	TDF, 245 mg TDF, 204 mg TDF, 163 mg TDF, 123 mg TDF, 33 mg/g	En association avec d'autres médicaments antirétroviraux, pour le traitement des PVVIH, chez les adultes, les adolescents et les enfants âgés d'au moins 2 ans.	European Medicines Agency, 2002
Génériques de l'Atripla® †	TDF, 245 mg FTC, 200 mg EFV, 600 mg	Chez les PVVIH adultes contrôlés virologiquement depuis plus de 3 mois.	European Medicines Agency, 2007b
Delstrigo®	TDF, 245 mg 3TC, 300 mg DOR, 100 mg	Chez les PVVIH adultes sans preuve antérieure ou actuelle de résistance à la classe des INNTI.	European Medicines Agency, 2018b
Eviplera®	TDF, 245 mg FTC, 200 mg RPV, 25 mg	Chez les PVVIH adultes dépourvus de mutations connues pour être associées à une résistance à la classe des INNTI et présentant une charge virale inférieure ou égale à 100 000 copies/mL.	European Medicines Agency, 2011
Stribild®	TDF, 245 mg FTC, 200 mg EVG, 150 mg COBI, 150 mg	Chez les PVVIH adultes et adolescents à partir de 12 ans pesant au moins 35 kg, dépourvus de mutation connue pour être associée à une résistance à aucun des trois agents contenus dans Stribild®.	European Medicines Agency, 2013
Truvada® et génériques	TDF, 245 mg FTC, 200 mg	En association avec d'autres médicaments antirétroviraux, pour le traitement des PVVIH. En prophylaxie pré-exposition pour réduire le risque d'infection par le VIH-1 par voie sexuelle chez les adultes et les adolescents à haut risque de contamination.	European Medicines Agency, 2005

* Dosage indiqué pour le TDF sous forme de ténofovir disoproxil.

† Atripla® n'est plus commercialisé depuis le 31 décembre 2021.

Tableau 5. Ajustement de la posologie du TDF en cas d'insuffisance rénale.

(European AIDS Clinical Society, 2021)

Débit de filtration glomérulaire estimé* (mL/min)	Posologie
≥ 50	300 mg, une fois par jour
Entre 30 et 49	300 mg, tous les 2 jours
Entre 10 et 29	Non recommandé, sinon
	300 mg, tous les 3-4 jours
< 10	Non recommandé, sinon
	300 mg, tous les 7 jours
En cas d'hémodialyse	300 mg, tous les 7 jours

* Préférer la formule *Chronic Kidney Disease Epidemiology collaboration* (CKD-EPI). La formule *abbreviated Modification of Diet in Renal Disease* (aMDRD) ou l'équation de Cockcroft-Gault peuvent être utilisées comme alternative.

4.1.3. Activité *in vitro* et efficacité

La CI_{90} pour le TNF est de 2,98 ng/mL (Thompson *et al.*, 2019). Cette valeur n'est néanmoins utilisée qu'à titre indicatif pour l'évaluation de l'exposition plasmatique ou tissulaire d'un individu. En effet, le TNF n'est pas actif par lui-même ; il nécessite deux phosphorylations pour pouvoir agir par inhibition de la transcriptase inverse.

L'efficacité du TDF a été décrite lors de nombreuses études, d'abord en monothérapie, puis en association dans de nombreuses combinaisons, chez des PVVIH naïfs de traitement et déjà traités. En monothérapie, le TDF a été associé à une réduction de la charge virale à J14 de 1,1 \log_{10} pour 3 mg/kg par jour à J1 en IV lente puis en perfusion continue entre J8 et J14 (Deeks *et al.*, 1998). L'étude GS-99-903 est un essai multicentrique randomisé de phase III en double aveugle sur une durée de 144 semaines. Les patients, naïfs de traitement antirétroviral recevaient soit TDF 300 mg QD (n = 299), soit d4T 40 mg deux fois par jour (BID) (n = 301), chacun en association à 3TC 150 mg BID et EFV 600 mg QD. L'analyse en intention de traiter a montré que la proportion de patients avec une charge virale VIH-1 inférieure à 400 copies/mL et 50 copies/mL à 48 semaines de traitement était respectivement de

80 % et 76 %, dans le bras TDF comparé à 84 % et 80 % dans le bras d4T. A 144 semaines, la proportion de patients avec une charge virale VIH-1 inférieure à 400 copies/mL et 50 copies/mL était respectivement de 71 % et 68 % dans le bras TDF comparé à 64 % et 63 % dans le bras d4T. Une réponse homogène au traitement par le TDF a été observée, quels que soient le taux initial d'ARN du VIH-1 et le nombre initial de lymphocytes T CD4+ (Gallant *et al.*, 2004).

Depuis, le TDF a fait l'objet de nombreux autres essais cliniques, principalement comme traitement de fond pour évaluer de nouveaux médicaments antirétroviraux.

4.1.4. Résistance

Le séquençage de la transcriptase inverse du VIH-1 ainsi que les tests de sensibilité aux médicaments sont régulièrement effectués dans le cadre de la recherche depuis plus de dix ans pour déterminer les mécanismes génétiques de la résistance aux médicaments antirétroviraux. L'ensemble des données accumulées, rétrospectivement et prospectivement, a conduit à l'émission de recommandations de l'utilisation de tests de résistance dans la décision du choix de la thérapeutique des PVVIH. Le groupe français ANRS | MIE AC43 Résistance fournit des algorithmes d'interprétation génotypique de la pharmacorésistance du VIH-1 afin de guider les cliniciens. Ces algorithmes sont principalement basés sur la corrélation entre les mutations de résistance aux médicaments et les résultats virologiques des patients en échec de traitement antirétroviral. Les règles sont présentées sous forme de tableaux répertoriant les mutations conférant une résistance génotypique ou une résistance génotypique possible aux médicaments antirétroviraux. Ces tableaux sont régulièrement mis à jour et la dernière mise à jour date d'octobre 2021 (ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021b). Concernant le TNF, les recommandations sont regroupées dans le Tableau 6.

Tableau 6. Algorithme d'interprétation de la résistance génotypique au TNF.

(ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021b)

Mutations associées à une résistance	Mutations associées à une probable résistance
Au moins 4 mutations parmi : M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F	3 mutations parmi : M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F
K65R/E/N	
Insertion au codon 69	
K70E	

4.1.5. Pharmacocinétique

Le TDF, à la dose de 300 mg QD, est rapidement absorbé et transformé en TNF avec une concentration maximale médiane (C_{max}) atteinte dans l'heure pour les sujets à jeun et dans les deux heures pour les autres (Barditch-Crovo *et al.*, 2001). Le résumé des caractéristiques du Viread® indique que le TDF doit être pris avec de la nourriture. La pharmacocinétique du TNF est indépendante de la dose de TDF (sur l'intervalle de doses compris entre 75 et 600 mg QD) et n'est pas affectée par une administration répétée.

Une fois absorbé, le TDF se lie très faiblement aux protéines plasmatiques (< 0,7 %). Le volume de distribution du TNF à l'état d'équilibre est estimé à environ 800 mL/kg.

Le TDF, ainsi que le TNF, ne sont pas des substrats, *in vitro*, pour les enzymes du cytochrome P450 (CYP450). Aussi, et toujours *in vitro*, à des concentrations environ 300 fois plus élevées que celles observées *in vivo*, le TNF n'est pas inhibiteur de chacune des principales isoformes du CYP450 humain.

Le TNF est principalement éliminé par voie rénale, selon deux mécanismes principaux. Le TNF subit la filtration glomérulaire passive et est excrété par un système de transport tubulaire actif. Entre 70 et 80 % de la dose excrétée se retrouvent sous forme inchangée dans l'urine après une administration par voie intraveineuse. Selon le résumé des caractéristiques du Viread®, la clairance totale a été estimée à environ 230 mL/h/kg (soit environ 270 mL/min) avec une clairance rénale qui est bien majoritaire puisqu'estimée à environ 160 mL/h/kg (environ 190 mL/min), ce qui est supérieur au débit de la filtration

glomérulaire. Ceci montre la part non négligeable de la sécrétion tubulaire active dans l'élimination du TNF. La voie d'élimination par sécrétion tubulaire active du TNF correspondrait à un influx dans les cellules tubulaires proximales par le biais des transporteurs *Solute Carrier Family* (SLC) 22A6 et 22A8 (anciennement appelé *Organic Anion Transporters* (OAT) 1 et 3) et par un efflux dans les urines par le biais des ABCC4 et ABCC10 (anciennement appelé protéine multirésistante aux médicaments MRP (pour *Multidrug Resistant Protein*) 4 et 7) (Ray *et al.*, 2006; Kohler *et al.*, 2011; Moss *et al.*, 2014). Ces transporteurs joueraient un rôle dans la toxicité rénale au long terme, du fait de l'accumulation du TNF dans les cellules tubulaires proximales. Un défaut d'activité des transporteurs d'influx pourrait prévenir la toxicité liée au TNF quand un défaut d'activité des transporteurs d'efflux pourrait, *a contrario*, augmenter sa toxicité.

Après administration orale, la demi-vie d'élimination ($t_{1/2}$) du TNF est de 12 à 14 heures environ (Barditch-Crovo *et al.*, 2001). Après l'administration quotidienne de 300 mg de TDF chez des PVVIH, la C_{\min} à l'état d'équilibre est de l'ordre de 64,4 ng/mL (coefficient de variation (CV) = 39,4 %), soit environ 22 fois plus élevée que la Cl_{90} .

Comme indiqué précédemment, du fait d'une élimination principalement par voie rénale, la pharmacocinétique du TNF est altérée selon le degré d'insuffisance rénale des PVVIH. Par comparaison à des patients ayant une fonction rénale normale, l'exposition moyenne au TNF, représentée par l'aire sous la courbe (ASC), après une dose unique a augmenté, de 2 060 ng·h/mL, chez les patients ayant une clairance de la créatinine > 80 mL/min, à 2 910 ng·h/mL, 5 400 ng·h/mL et 17 500 ng·h/mL chez les patients présentant respectivement une insuffisance légère, modérée et sévère (Kearney *et al.*, 2006b). La part du métabolisme hépatique est considérée faible et non cliniquement significative, ne nécessitant donc pas d'adaptation posologique en cas d'altération de la fonction hépatique. La même étude rapporte une faible augmentation de l'exposition moyenne, de 1830 ng·h/mL chez les patients ayant une fonction hépatique non altérée, à 2190 ng·h/mL et 2470 ng·h/mL chez les patients présentant respectivement une insuffisance hépatique modérée et sévère (Kearney *et al.*, 2006b).

4.1.6. Diffusion

Des études ont exploré la diffusion du TDF dans les principaux compartiments, par des mesures de concentrations de TNF dans le tissu digestif, au niveau des appareils génitaux masculins et féminins, du placenta, dans le LCS et au niveau cérébral.

Du fait de l'utilisation du TDF dans le cadre de la PrEP, l'exploration des concentrations de TNF au niveau rectal a fait l'objet de nombreuses études. Des mesures de TNF dans le tissu rectal (biopsie) chez 8 individus sains ont révélé une diffusion rapide du TNF (dès la première heure), en forte proportion par rapport à la concentration plasmatique (de l'ordre de 32 à 45 fois plus) (Patterson *et al.*, 2011). Dans une sous-étude pharmacocinétique de l'étude ANRS IPERGAY (Molina *et al.*, 2015a), le TNF n'a été détecté au niveau rectal que 24 h après la prise d'une double dose habituelle de TDF. Les concentrations tissulaires, plus faibles que chez 7 PVVIH contrôles, montraient néanmoins une forte diffusion, avec un ratio tissu/plasma des concentrations de l'ordre de 150 (Fonsart *et al.*, 2017). Deux autres études sur la diffusion au niveau rectal ont montré une forte diffusion (ratio tissu/plasma de l'ordre de 30) pour l'une (Karim *et al.*, 2011), cohérente avec les précédentes études, et une faible diffusion (ratio de l'ordre de 0,4) pour l'autre (Yang *et al.*, 2014). Chez 5 PVVIH, la diffusion au niveau du rectum et de l'iléum était également importante, avec un ratio moyen tissu sur plasma de 41 pour le rectum et de 87 pour l'iléum (Thompson *et al.*, 2019). Dans une autre étude chez 26 PVVIH, une meilleure diffusion est observée dans le duodénum plutôt que dans le tissu rectal avec néanmoins des concentrations majoritairement supérieures à la CI_{50} dans le tissu rectal (Asmuth *et al.*, 2017). Enfin, au niveau du côlon, une étude chez 6 individus sains y a montré une plus faible diffusion avec un rapport proche de l'unité entre les concentrations tissulaires et plasmatiques (Louissaint *et al.*, 2013). Cette plus faible diffusion au niveau du côlon a été confirmée par une autre étude rapportant un ratio tissu/plasma encore plus faible, de l'ordre de 0,1 (Hendrix *et al.*, 2016).

Concernant la diffusion au niveau de l'appareil génital, le TNF semble également bien diffuser. Une revue des données disponibles en 2011 montre que le TNF est parmi les médicaments antirétroviraux possédant la meilleure capacité de diffusion dans le tractus génital masculin et féminin avec des rapports tissu sur plasma compris entre 6 et plus de 10 (Else *et al.*, 2011a). Chez 25 femmes non infectées, après une administration quotidienne pendant 14 jours, le TNF semble diffuser suffisamment, avec des concentrations au niveau des tissus cervical et vaginal du même ordre de grandeur que dans le plasma (Thurman *et al.*, 2021). Une autre étude confirme ce niveau de diffusion retrouvant des concentrations au niveau du tractus génital semblables à celles au niveau plasmatique (Dumond *et al.*, 2007). Dans trois autres études, la diffusion au niveau vaginal semble toutefois être plus faible avec des ratio tissu/plasma inférieure à l'unité (Karim *et al.*, 2011; Hendrix *et al.*, 2013, 2016). Chez 6 individus sains, il a été observé une moins bonne diffusion dans le tissu vaginal que dans le tissu rectal après une seule

dose (Louissaint *et al.*, 2013). Cette observation suggère un plus faible bénéfice quant à la protection lors de rapports sexuels réceptifs vaginaux comparés aux rapports sexuels réceptifs anaux. Cette différence pourrait expliquer en partie la discordance observée dans la diminution du risque d'infection par le VIH entre les essais chez les HSH (Molina *et al.*, 2015a) et chez les femmes (Van Damme *et al.*, 2012). Enfin, le TNF diffuse dans le sperme avec des concentrations entre deux et douze fois plus élevées que dans le plasma (Ghosn *et al.*, 2004; Hendrix *et al.*, 2016).

Une autre revue, de la même équipe, des données disponibles en 2011 montre que le TNF est parmi les médicaments antirétroviraux possédant la meilleure capacité de diffusion dans le liquide amniotique avec des rapports fluide sur plasma compris entre 4 et plus de 100 (Else *et al.*, 2011b). Concernant la diffusion au niveau du placenta ou du cordon ombilical, elle semble plus limitée avec des rapports tissu sur plasma entre 0,2 et 7 selon les études (Else *et al.*, 2011b; Rimawi *et al.*, 2017).

Enfin, deux études ont étudié la diffusion au niveau cérébral et dans le LCS en post-mortem chez des PVVIH. Il est observé une faible diffusion dans ces deux compartiments avec, toutefois, des concentrations plus importantes dans le tissu cérébral, quelle que soit la région étudiée, que dans le LCS (Nicol *et al.*, 2019; Ferrara *et al.*, 2020). Ces données sont cohérentes avec celles observées dans le LCS chez des PVVIH (Calcagno *et al.*, 2011; Best *et al.*, 2012; Ma *et al.*, 2020; Decloedt *et al.*, 2021).

4.1.7. Interactions médicamenteuses

Des interactions avec les médicaments métabolisés par les différentes isoformes du CYP ne sont pas attendues. Le résumé des caractéristiques du Viread® indique qu'il ne doit pas être co-administré avec l'adéfovir dipivoxil.

Etant substrat des transporteurs rénaux SLC22A6, SLC22A8, ABCC2, ABCC4 et ABCC10, la co-administration avec d'autres médicaments, qui diminuent la fonction rénale ou entrent en compétition pour la sécrétion tubulaire active par le biais de ces protéines de transport peut accroître la concentration sérique et/ou la toxicité du TNF et/ou des médicaments co-administrés. Une étude a ainsi mis en évidence les facteurs associés à une augmentation de l'exposition plasmatique du TNF. Parmi ces facteurs, étaient notamment retrouvés l'administration concomitante du RTV et avoir un génotype spécifique du transporteur ABCC4 (Rungtivasuwan *et al.*, 2015). Le premier facteur est

cohérent avec plusieurs résultats d'études montrant que l'administration concomitante du RTV peut augmenter le niveau d'exposition plasmatique du TNF d'environ 17 à 37 % (Kearney *et al.*, 2006a; Kiser *et al.*, 2008). Le RTV étant un puissant inhibiteur du transporteur ABCC2 (Gutmann *et al.*, 1999), l'inhibition de ce dernier entraînerait une diminution de l'excrétion rénale du TNF. Le second facteur est cohérent avec les observations faites d'une interaction rapportée avec le diclofénac, anti-inflammatoire non stéroïdien et inhibiteur du transporteur ABCC4 (El-Sheikh *et al.*, 2007). Deux études ont en effet rapporté une interaction d'ordre pharmacodynamique, sans preuve pharmacocinétique, amenant au développement d'insuffisances rénales aiguës peu de temps après l'initiation du diclofénac chez des PVVIH traités au long cours par du TDF (Morelle *et al.*, 2009; Bickel *et al.*, 2013). Sachant que la néphrotoxicité induite par le TNF est principalement liée à une accumulation du TNF dans les cellules tubulaires proximales (Moss *et al.*, 2014), l'inhibition du transporteur ABCC4 par le diclofénac pourrait être l'élément à l'origine de cette toxicité observée. Aucune autre interaction médicamenteuse cliniquement significative n'est attendue.

4.1.8. Tolérance

Le TDF, comme l'ensemble des médicaments antirétroviraux encore sur le marché de la classe des INTI, est globalement bien toléré. La majorité des effets indésirables (EI) est d'intensité légère à modérée et ne nécessitent que rarement l'arrêt du traitement. Toutefois, deux EI sont particulièrement connus et suivis. Ils apparaissent lors de la prise sur le long terme du TDF. Ils sont en lien avec le caractère néphrotoxique du TNF. Des cas d'atteinte rénale, d'insuffisance rénale, d'augmentation du taux de créatinine, d'hypophosphatémie et de tubulopathie proximale (y compris syndrome de Fanconi (Medland *et al.*, 2018)) ont été rapportés dans le cadre de l'utilisation du TDF dans la pratique clinique (Casado, 2016). Ces anomalies rénales peuvent ainsi être la cause du second effet indésirable nécessitant un suivi lors de l'utilisation sur le long terme du TDF. Des anomalies osseuses telles que l'ostéomalacie pouvant ainsi se manifester par des douleurs osseuses persistantes ou qui s'aggravent et pouvant dans de rares cas favoriser la survenue de fractures. Les autres EI les plus fréquemment rencontrés sont :

- très fréquent ($\geq 1/10$) : vertiges, diarrhées, vomissements, nausées, rash cutanée et asthénie ;
- fréquent ($\geq 1/100$ à $< 1/10$) : flatulences et augmentations des transaminases.

4.2. Emtricitabine

4.2.1. Propriétés physico-chimiques

Le FTC est un inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse. Son nom chimique est le 4-amino-5-fluoro-1-[(2*R*,5*S*)-2-(hydroxyméthyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2-one, de formule brute : C₈H₁₀FN₃O₃S (Figure 13). Le FTC est une grosse molécule de poids moléculaire 247,3 g/mol. Il est soluble dans l'eau, le MeOH, l'EtOH, l'AcN et le DMSO. Sa constante de dissociation pKa est de 2,65. Son logP est de -0,43 (National Center for Biotechnology Information, 2022c).

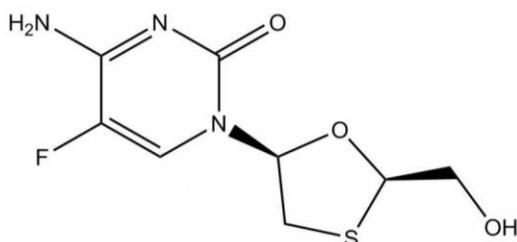


Figure 13. Structure chimique de l'emtricitabine.
(National Center for Biotechnology Information, 2022c)

4.2.2. Forme galénique, indications et posologie

Autorisé en France depuis le 24 octobre 2010, le FTC est le dernier inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse mis sur le marché. En France, il est disponible seul ou en association avec d'autres médicaments antirétroviraux. L'ensemble des spécialités disponibles, leur composition et leurs indications sont présentées dans le Tableau 7.

Tableau 7. Spécialités disponibles en France contenant de l'emtricitabine.

Spécialités	Composition et dosage*	Indication	Référence
Emtriva®	FTC, 200 mg ----- FTC, 10 mg/mL	En association avec d'autres médicaments antirétroviraux, pour le traitement des PVVIH, chez les adultes, les adolescents et les enfants âgés d'au moins 4 mois.	European Medicines Agency, 2003a
Génériques de l'Atripla® †	FTC, 200 mg TDF, 245 mg EFV, 600 mg	Chez les PVVIH adultes contrôlés virologiquement depuis plus de 3 mois.	European Medicines Agency, 2007b
Biktarvy®	FTC, 200 mg TAF, 25 mg BIC, 50 mg	Chez les PVVIH adultes sans preuve antérieure ou actuelle de résistance à la classe des INI, au FTC ou au TAF.	European Medicines Agency, 2018a
Eviplera®	FTC, 200 mg TDF, 245 mg RPV, 25 mg	Chez les PVVIH adultes (et l'adolescent à partir de 12 ans pesant au moins 35 kg pour l'Odefsey®) dépourvus de mutations connues pour être associées à une résistance à la classe des INNTI et présentant une charge virale inférieure ou égale à 100 000 copies/mL.	European Medicines Agency, 2011
Odefsey®	FTC, 200 mg TAF, 25 mg RPV, 25 mg		European Medicines Agency, 2016a
Stribild®	FTC, 200 mg TDF, 245 mg EVG, 150 mg COBI, 150 mg	Chez les PVVIH adultes et adolescents à partir de 12 ans pesant au moins 35 kg (et chez les enfants de plus de 6 ans pesant au moins 25 kg pour lesquels l'utilisation d'autres traitements n'est pas possible en raison de toxicités pour le Genvoya®), dépourvus de mutation connue pour être associée à une résistance à aucun des trois agents contenus dans Stribild® ou Genvoya®.	European Medicines Agency, 2013
Genvoya®	FTC, 200 mg TAF, 10 mg EVG, 150 mg COBI, 150 mg		European Medicines Agency, 2015
Truvada® et génériques	FTC, 200 mg TDF, 245 mg	Truvada® et génériques + Descovy® En association avec d'autres médicaments antirétroviraux, pour le traitement des PVVIH.	European Medicines Agency, 2005
Descovy®	FTC, 200 mg TAF, 25 mg ----- FTC, 200 mg TAF, 10 mg	Truvada® et génériques En prophylaxie pré-exposition pour réduire le risque d'infection par le VIH-1 par voie sexuelle chez les adultes et les adolescents à haut risque de contamination.	European Medicines Agency, 2016b

* Dosage indiqué pour le TDF sous forme de ténofovir disoproxil.

† Atripla® n'est plus commercialisé depuis le 31 décembre 2021.

Pour l'ensemble de ces spécialités, la posologie recommandée du FTC chez l'adulte est de 200 mg une fois par jour (QD). Du fait d'une élimination majoritairement par voie rénale, une adaptation de la posologie est nécessaire en cas d'altération de la fonction rénale (Tableau 8).

Tableau 8. Ajustement de la posologie du FTC en cas d'insuffisance rénale.

(European AIDS Clinical Society, 2021)

Débit de filtration glomérulaire estimé* (mL/min)	Posologie
≥ 30	200 mg, une fois par jour
Entre 10 et 29	200 mg, tous les 3 jours
< 10	200 mg, tous les 4 jours
En cas d'hémodialyse	200 mg, tous les jours

* Préférer la formule *Chronic Kidney Disease Epidemiology collaboration* (CKD-EPI). La formule *abbreviated Modification of Diet in Renal Disease* (aMDRD) ou l'équation de Cockcroft-Gault peuvent être utilisées comme alternative.

4.2.3. Activité *in vitro* et efficacité

La CI_{90} pour le FTC est de 51 ng/mL (Flynn *et al.*, 2011). Cette valeur n'est néanmoins utilisée qu'à titre indicatif pour l'évaluation de l'exposition plasmatique ou tissulaire d'un individu. En effet, le FTC n'est pas actif par lui-même ; il nécessite trois phosphorylations pour pouvoir agir par inhibition de la transcriptase inverse.

L'efficacité du FTC a été décrite lors de nombreuses études, d'abord en monothérapie, puis en association dans de nombreuses combinaisons, chez des PVVIH naïfs de traitement et déjà traités. En monothérapie, le FTC a été associé à une réduction de la charge virale à J11 de 1,7 \log_{10} pour 200 mg QD (Rousseau *et al.*, 2003). Dans l'essai ANRS 091-MONTANA, multicentrique ouvert et prospectif, 40 patients naïfs de traitement antirétroviral recevaient une trithérapie antirétrovirale à base de FTC, ddl et EFV. Les résultats montrent que la proportion de patients avec une charge virale VIH-1 inférieure à 400 copies/mL et 50 copies/mL à 24 semaines de traitement était respectivement de 98 % et 93 % (Molina *et al.*, 2000). A 5 ans de suivi, les résultats montrent des taux de

73 % et 68 % (Molina *et al.*, 2007). Cet essai a montré une efficacité antirétrovirale durable et une bonne tolérance au long terme d'une association en une fois par jour.

Depuis, comme pour le TDF, le FTC a fait l'objet de nombreux autres essais cliniques, principalement comme traitement de fond pour évaluer de nouveaux médicaments antirétroviraux.

4.2.4. Résistance

Concernant le FTC, les recommandations du groupe français ANRS | MIE AC43 Résistance sont regroupées selon le Tableau 9 (ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021b).

Tableau 9. Algorithme d'interprétation de la résistance génotypique au FTC.
(ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021b)

Mutations associées à une résistance	Mutations associées à une probable résistance
K65R	Q151M
M184V/I	
Insertion au codon 69	

La mutation M184V/I est courante chez les PVVIH en échec virologique avec des régimes contenant de le FTC (ou de la 3TC). Cette mutation réduit la sensibilité à ces médicaments antirétroviraux mais elle entraîne également une réduction de la virulence et une augmentation de la sensibilité au TNF et à l'AZT. La question du maintien du FTC chez les PVVIH avec la mutation M184V/I est d'actualité, d'autant plus avec les nouveaux schémas de bithérapie recommandés (certains contenant du FTC). Une étude a par exemple montré un taux d'échec acceptable (3 %) à 48 semaines de suivi chez des PVVIH traités avec un IP potentialisé et la 3TC, alors que le taux d'échec est supérieur (25 %) pour ceux traités en monothérapie d'IP potentialisé (Ciaffi *et al.*, 2017).

4.2.5. Pharmacocinétique

Le FTC, à la dose de 200 mg QD, est rapidement absorbé avec une concentration maximale médiane (C_{max}) atteinte en 1 à 2 h après l'administration (Gish *et al.*, 2002). Le résumé des caractéristiques de l'Emtriva® indique que le FTC peut être pris avec ou sans nourriture. La pharmacocinétique du FTC est proportionnelle à la dose sur l'intervalle de doses 25-200 mg après administration unique ou répétée.

La biodisponibilité absolue du FTC est d'environ 93 % après administration d'Emtriva® sous forme de gélule et de 75 % après administration d'Emtriva® sous forme de solution buvable.

Une fois absorbé, le FTC se lie très faiblement aux protéines plasmatiques (< 4 %). Le volume de distribution du FTC est d'environ 1 400 mL/kg, légèrement supérieur au TNF.

Le métabolisme du FTC est limité. Il comporte l'oxydation de la fonction thiol avec formation de 3'-sulfoxyde diastéréomères (environ 9 % de la dose) et conjugaison avec l'acide glucuronique pour former le 2'-O-glucuronide (environ 4 % de la dose). Le FTC n'est pas inhibiteur de chacune des principales isoformes du CYP450 humain (1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4). Il n'a pas non plus inhibé l'uridine-5'-diphosphoglucuronyl transférase (UDP-GT), l'enzyme responsable de la glucuronidation.

Le FTC est principalement éliminé par voie rénale : 86 % de la dose sont retrouvés dans les urines et le reste dans les fèces. La clairance systémique du FTC est en moyenne de 307 mL/min.

Après administration orale, la $t_{1/2}$ du FTC est entre 7 et 10 heures (Molina *et al.*, 2004). Après l'administration quotidienne de 200 mg de FTC chez des PVVIH, la C_{min} à l'état d'équilibre est d'environ 40 ng/mL.

Comme indiqué précédemment, du fait d'une élimination principalement par voie rénale, la pharmacocinétique du FTC est altérée selon le degré d'insuffisance rénale des PVVIH. Par comparaison à des patients ayant une fonction rénale normale, l'exposition moyenne au FTC, représentée par l'ASC, après une dose unique de 200 mg a augmenté, de 11 800 ng·h/mL chez les patients ayant une clairance de la créatinine > 80 mL/min, à 19 900 ng·h/mL, 25 000 ng·h/mL et 34 000 ng·h/mL chez les patients présentant respectivement une insuffisance rénale légère, modérée et sévère.

4.2.6. Diffusion

Du fait de la fréquente association du FTC au TDF, il est courant que les mêmes études aient exploré la diffusion du FTC en même temps que celle du TDF. Ainsi, des études ont exploré la diffusion du FTC dans le tissu digestif, au niveau des appareils génitaux masculins et féminins, du placenta, dans le LCS et au niveau cérébral.

De même que pour le TNF, l'utilisation du FTC dans le cadre de la PrEP a permis la réalisation de nombreuses études. Des mesures de FTC dans le tissu rectal (biopsie) chez 8 individus sains ont révélé une diffusion rapide du FTC (dès la première heure), en forte proportion par rapport à la concentration plasmatique (de l'ordre de 3 fois plus) (Patterson *et al.*, 2011). Dans la sous-étude pharmacocinétique de l'étude ANRS IPERGAY, le FTC a également été détecté précocement au niveau rectal, dès trente minutes après la prise d'une double dose habituelle de FTC. Les concentrations, comparables à celles observées chez 7 PVVIH contrôles, montraient une forte diffusion, avec un ratio tissu/plasma des concentrations de l'ordre de 50 (Fonsart *et al.*, 2017). Une autre étude a toutefois observé une plus faible diffusion au niveau rectal avec un ratio tissu/plasma de l'ordre de 0,2 (Karim *et al.*, 2011). Chez 5 PVVIH, la diffusion au niveau du rectum et de l'iléum était également importante, avec un ratio moyen tissu sur plasma de 3 pour le rectum et de 7 pour l'iléum (Thompson *et al.*, 2019). Dans une autre étude chez 26 PVVIH, la diffusion du FTC observée dans le duodénum et dans le tissu rectal était équivalente avec des concentrations majoritairement supérieures à la CI_{50} (Asmuth *et al.*, 2017). Enfin, une étude a montré une faible diffusion du FTC au niveau du côlon avec des ratios tissu/plasma de l'ordre de 0,3 (Hendrix *et al.*, 2016).

Concernant la diffusion au niveau de l'appareil génital, le FTC semble également bien diffuser. Dans la revue des données disponibles en 2011, le FTC est parmi les médicaments antirétroviraux possédant la meilleure capacité de diffusion dans le tractus génital masculin et féminin avec des rapports tissu sur plasma compris entre 2 et plus de 10 (Else *et al.*, 2011a). Une étude rapporte des concentrations au niveau du tractus génital féminin environ 3 fois supérieures à celles retrouvées au niveau plasmatique (Dumond *et al.*, 2007). Chez 25 femmes non infectées, après une administration quotidienne pendant 14 jours, le FTC semble fortement diffuser au niveau des tissus cervical et vaginal avec des rapports tissus sur plasma respectifs de 4 et 6 (Thurman *et al.*, 2021). Ces observations suggèrent une meilleure diffusion du FTC par rapport au TNF dans ces tissus, indiquant que le facteur limitant dans les essais de PrEP chez les

femmes serait plutôt le TNF. Néanmoins, deux études rapportent des diffusions plus faibles au niveau vaginal avec des ratios tissu/plasma compris entre 0,05 et 0,10 (Karim *et al.*, 2011; Hendrix *et al.*, 2013). Enfin, le FTC diffuse dans le sperme avec une exposition entre trois et treize fois plus élevée que dans le plasma (Valade *et al.*, 2015; Hendrix *et al.*, 2016).

L'autre revue, de la même équipe, des données disponibles en 2011 montre que le FTC possédant une capacité de diffusion plutôt faible au niveau du placenta avec des rapports tissu sur plasma compris entre 0,3 et l'unité (Else *et al.*, 2011b; Rimawi *et al.*, 2017). Néanmoins, les concentrations observées restent supérieures à la CI_{90} .

Enfin, une étude a étudié la diffusion au niveau cérébral en post-mortem chez des PVVIH. Il est observé une capacité de diffusion moyenne dans ces fluides et tissus, quelle que soit la région du cerveau étudiée, avec des concentrations observées du même ordre de grandeur que dans le plasma (Ferrara *et al.*, 2020). Ces données sont cohérentes avec celles observées dans le LCS chez des PVVIH (Calcagno *et al.*, 2011; Lahiri *et al.*, 2016; Decloedt *et al.*, 2021; Gelé *et al.*, 2021).

4.2.7. Interactions médicamenteuses

Des interactions avec les médicaments métabolisés par les différentes isoformes du CYP (1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4) ne sont pas attendues. Le FTC n'a pas non plus inhibé la réaction de glucuroconjugaison d'un substrat non spécifique de l'uridine diphosphate glucuronosyltransférase (UGT) 1A1 humaine.

Concernant les interactions d'ordre pharmacodynamique, on ne dispose actuellement d'aucune expérience clinique de la co-administration d'analogues de la cytidine. L'usage du FTC en association avec la 3TC ne peut donc être recommandé à ce jour.

Aucune autre interaction médicamenteuse cliniquement significative n'est attendue.

4.2.8. Tolérance

Le FTC, comme le TDF et l'ensemble des médicaments antirétroviraux encore sur le marché de la classe des INTI, est globalement bien toléré. La majorité des EI est d'intensité légère à modérée et ne nécessitant que rarement l'arrêt du traitement. Les EI les plus fréquemment rencontrés sont :

- très fréquent ($\geq 1/10$) : céphalées, diarrhées, nausées, élévation de la créatinine kinase ;
- fréquent ($\geq 1/100$ à $< 1/10$) : neutropénie, réaction allergique, hypertriglycéridémie, hyperglycémie, insomnie, rêves anormaux, vertiges, élévation de l'amylase, y compris de l'amylase pancréatique, élévation des lipases sériques, vomissements, douleurs abdominales, dyspepsie, élévation des taux d'aspartate aminotransférases (ASAT) et/ou d'alanine aminotransférases (ALAT), hyperbilirubinémie, éruption vésiculo-bulleuse, éruption pustuleuse, éruption maculopapuleuse, rash, prurit, urticaire, dyschromie cutanée (augmentation de la pigmentation), douleurs et asthénie.

4.3. Dolutégravir

4.3.1. Propriétés physico-chimiques

Le DTG est un inhibiteur de l'intégrase. Son nom chimique est le (3*S*,7*R*)-*N*-[(2,4-difluorophényl)méthyl]-11-hydroxy-7-méthyl-9,12-dioxo-4-oxa-1,8-diazatricyclo[8.4.0.0^{3,8}]tétradéca-10,13-diène-13-carboxamide, de formule brute : C₂₀H₁₉F₂N₃O₅ (Figure 14). Le DTG est une grosse molécule de poids moléculaire 419,4 g/mol. Il est peu soluble dans l'eau, soluble dans le MeOH, l'AcN et le DMSO. Sa constante de dissociation pKa est de 8,2. Son logP est de 2,2, c'est donc une molécule plutôt lipophile (National Center for Biotechnology Information, 2022d).

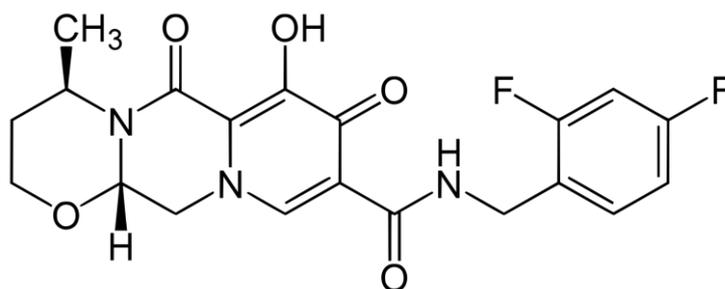


Figure 14. Structure chimique du dolutégravir.

(National Center for Biotechnology Information, 2022d)

4.3.2. Forme galénique, indications et posologie

Autorisé en France depuis le 16 janvier 2014, le DTG, connu sous le nom S-GSK1349572 pendant la phase de développement, est le troisième inhibiteur de l'intégrase mis sur le marché et est le premier parmi ceux dits de deuxième génération. Après une première génération caractérisée par une relativement faible barrière génétique et un degré élevé de résistance croisée, la deuxième génération vise à conserver une efficacité vis-à-vis des variants résistants à la première. En France, il est disponible seul ou en association avec d'autres médicaments antirétroviraux. L'ensemble des spécialités disponibles, leur composition et leurs indications sont présentées dans le Tableau 10.

Tableau 10. Spécialités disponibles en France contenant du dolutégravir.

Spécialités	Composition et dosage	Indication	Référence
Tivicay®	DTG, 50 mg DTG, 25 mg DTG, 10 mg DTG, 5 mg	En association avec d'autres médicaments antirétroviraux, pour le traitement des PVVIH, chez les adultes, les adolescents et les enfants âgés d'au moins 6 ans ou plus et pesant au moins 14 kg.	European Medicines Agency, 2014a
Triumeq®	DTG, 50 mg, 3TC, 300 mg ABC, 600 mg	Chez les PVVIH adultes et adolescents à partir de 12 ans et pesant au moins 40 kg.	European Medicines Agency, 2014b
Juluca®	DTG, 50 mg RPV, 25 mg	Chez les PVVIH adultes virologiquement contrôlé (ARN du VIH-1 < 50 copies/mL) sous traitement antirétroviral stable depuis au moins six mois, sans antécédent d'échec virologique et sans résistance connue ou suspectée aux INNTI ou aux INI.	European Medicines Agency, 2018c
Dovato®	DTG, 50 mg 3TC, 300 mg	Chez les PVVIH adultes et adolescents âgés de plus de 12 ans et pesant au moins 40 kg, sans résistance connue ou suspectée à la classe des INI, ou à la 3TC.	European Medicines Agency, 2019

Le Triumeq® contenant de l'ABC, le dépistage de l'allèle HLA-B*5701 doit être réalisé chez tout PVVIH, quelle que soit son origine ethnique et le Triumeq® ne doit pas être prescrit chez les patients porteurs de cet allèle. La posologie recommandée du DTG chez l'adulte est de 50 mg une fois par jour (QD). En cas de résistance cliniquement

suspectée ou confirmée à la classe des inhibiteurs de l'intégrase, la posologie recommandée est de 50 mg deux fois par jour (BID).

4.3.3. Activité *in vitro* et efficacité

La CI_{50} du DTG au niveau des CMSP est de 0,21 ng/mL (European Medicines Agency, 2014a). Des CI_{50} similaires ont été observées pour des isolats cliniques sans aucune différence majeure entre les sous-types. La CI_{50} moyenne pour 3 isolats du VIH-2 est de 0,08 ng/mL (European Medicines Agency, 2014a). En présence de sérum humain pur, l'activité inhibitrice ajustée aux protéines varie d'un facteur 75. Ainsi la CI_{90} -AP est de 64 ng/mL (European Medicines Agency, 2014a).

L'efficacité du DTG a été décrite lors d'études en monothérapie et en association avec des INTI, chez des PVVIH naïfs de traitement et déjà traités, et avec ou sans résistance documentée au RAL et à l'EVG. En monothérapie, le DTG a été associé à une réduction de la charge virale de 2,46 \log_{10} pour 50 mg QD (Min *et al.*, 2011). La concentration efficace (CE) médiane (CE_{50}) estimée est de 36 ng/mL et la CE à 90 % (CE_{90}) de 324 ng/mL. Dans SPRING-2 (essai randomisé de phase III de non-infériorité en double aveugle sur une durée de 96 semaines), les patients, naïfs de traitement antirétroviral recevaient soit DTG 50 mg QD ($n = 411$), soit RAL 400 mg BID ($n = 411$), chacun en association à TDF/FTC ou ABC/3TC. Sur le critère principal d'évaluation après 96 semaines, la non-infériorité a été démontrée : 81 % des patients traités par DTG, contre 76 % des patients sous RAL, avaient une CVp < 50 copies/mL (Raffi *et al.*, 2013a). Une étude au schéma similaire a comparé le DTG (50 mg QD) au DRV potentialisé par le RTV (DRV/r) QD, administrés chacun en association à TDF/FTC ou ABC/3TC, chez 484 PVVIH naïfs de traitement. Au terme de la semaine 96, sur le critère principal d'évaluation, 80 % des patients sous DTG et 68 % traités par DRV/r avaient une CVp < 50 copies/mL. Le DTG était statistiquement supérieur ($p = 0,025$) au DRV/r et les effets indésirables nécessitant un changement de traitement étaient moins nombreux avec le DTG (Molina *et al.*, 2015b). La tolérance et l'efficacité du DTG ($n = 354$) ont également été comparées à celles du RAL ($n = 361$) chez des PVVIH naïfs de traitement par INI mais ayant déjà eu un traitement antirétroviral et présentant une résistance à au moins deux classes pharmacologiques. Au total, 715 personnes ont été incluses. À la semaine 48, 71 % des PVVIH traités par DTG et 64 % de ceux traités par RAL avaient une CVp < 50 copies/mL ($p = 0,03$). En outre, moins de patients sous DTG présentaient

un échec virologique associé à une résistance à l'INI apparue sous traitement (4 contre 17, $p = 0,003$) (Cahn *et al.*, 2013).

4.3.4. Résistance

La barrière génétique du VIH vis-à-vis du DTG est plus robuste quant à la sélection de résistances lors de son utilisation en induction de traitement par rapport aux INI de première génération. Cependant cette robustesse est moindre que celle observée avec les IP. Chez des patients naïfs de tout traitement et recevant du DTG + 2 INTI, aucune mutation de résistance aux INI ou aux INTI n'a été observée ($n = 1\ 118$, suivi de 48 à 96 semaines). Chez des patients ayant des antécédents d'échecs de traitements antirétroviraux mais naïfs d'INI, des mutations liées aux INI ont été observées chez 4 patients sur 354 (suivi de 48 semaines) traités par DTG, administré en association avec un traitement de fond choisi par l'investigateur. Sur ces 4 sujets, deux avaient une substitution unique R263K de l'intégrase, un sujet avait une substitution polymorphe V151V/I de l'intégrase et un sujet avait des mutations de l'intégrase préexistantes et pourrait avoir reçu un INI ou avoir été infecté par un virus résistant aux INI (Cahn *et al.*, 2013). En présence de résistance à la classe des INI (étude VIKING-3), les mutations suivantes ont été sélectionnées jusqu'à la semaine 24 chez 32 patients en échec virologique et traités par DTG 50 mg BID administré avec un traitement de fond optimisé : L74L/M ($n = 1$), E92Q ($n = 2$), T97A ($n = 9$), E138K/A/T ($n = 8$), G140S ($n = 2$), Y143H ($n = 1$), S147G ($n = 1$), Q148H/K/R ($n = 4$), N155H ($n = 1$) et E157E/Q ($n = 1$) (Castagna *et al.*, 2014). Utilisé à double dose (50 mg BID), le DTG semble être actif sur des virus ayant certains profils de résistance (N155H, Y143C/H/R) (Underwood *et al.*, 2012). L'activité du DTG est en revanche considérablement compromise pour les souches virales présentant une mutation Q148 avec au moins 2 mutations secondaires au niveau G140A/C/S, E138A/K/T, L74I.

Concernant le DTG, les recommandations du groupe français ANRS | MIE AC43 Résistance sont regroupées selon le Tableau 11.

Tableau 11. Algorithme d'interprétation de la résistance géotypique au DTG.

(ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021b)

Posologie	Mutations associées à une résistance	Mutations associées à une probable résistance
50 mg QD	G118R F121Y E138A/K/T G140A/C/S N144D Q148H/K/R V151L S153F/Y N155H S230R R263K T66K + L74M L74I + E92Q	T66K
50 mg BID	G118R F121Y N144D V151L S153F/Y R263K T66K + L74M E92Q + N155H Q148H/K/R + au moins 2 mutations parmi : L74I, T97A, E138A/K/T ou G140A/C/S Q148H/K/R + N155H	T66K Q148H/K/R + 1 mutation parmi : L74I, E138A/K/T ou G140A/C/S

4.3.5. Pharmacocinétique

Le DTG, à la dose de 50 mg QD, est rapidement absorbé avec une concentration maximale médiane (C_{max}) atteinte entre 0,5 et 1,25 h (T_{max}) après administration chez des

volontaires sains. Des études similaires chez des PVVIH ont montré que la C_{max} était atteinte vers 2,5 h (Min *et al.*, 2010, 2011). La pharmacocinétique du DTG s'est révélée ne pas être linéaire chez des volontaires sains lors de l'augmentation de 50 mg QD à 100 mg QD. Dans le but d'augmenter l'exposition au DTG chez les PVVIH présentant une résistance antérieure aux INI, la dose de 50 mg BID a été étudiée (Castagna *et al.*, 2014). Les repas faibles, modérés et riches en matières grasses ont augmenté l'exposition, évaluée par l'ASC de 33 %, 41 % et 66 %, respectivement (Song *et al.*, 2012). Cependant, le résumé des caractéristiques du produit indique que le DTG peut être pris sans tenir compte des repas.

Une fois absorbé, le DTG se lie très fortement aux protéines plasmatiques (> 99 %), à la fois à l'albumine et à l'orosomucoïde (Kobayashi *et al.*, 2011; Letendre *et al.*, 2014; Gelé *et al.*, 2020).

Le métabolisme et l'excrétion *in vivo* du DTG ont été étudiés dans le cadre d'une étude de bilan de masse chez des volontaires sains. Après une dose orale de 20 mg de DTG, 95,6 % de la dose ont été retrouvées dans les matières fécales (64 %) et dans l'urine (31,6 %). Le DTG, sous forme inchangée était la principale entité circulante dans le plasma sanguin. Un glucuronide inactif (18,9 %) formé via l'UDP-GT 1A1 était le principal métabolite éliminé dans l'urine. Des voies métaboliques mineures ont été identifiées, notamment via le CYP3A4 (7,9 %) (Castellino *et al.*, 2013). Le DTG ne semble pas induire ni inhiber de manière significative les UDP-GT ou les CYP. En revanche, le DTG inhibe le SLC22A2 entraînant une légère augmentation de la créatinine sérique sans modification du débit de filtration glomérulaire (Reese *et al.*, 2013). Le DTG présente une élimination bi-exponentielle avec une $t_{1/2}$ allant de 13 à 15 h chez des volontaires sains et entre 11 et 12 h chez des PVVIH (Min *et al.*, 2010, 2011).

L'état d'équilibre est atteint dans les 5 jours suivant l'administration quotidienne chez des volontaires sains. Les facteurs d'accumulation de l'ASC, de la C_{max} et de la concentration résiduelle (C_{min}) allaient de 1,24 à 1,42, de 1,16 à 1,36 et de 1,29 à 1,53, respectivement. Des facteurs d'accumulation similaires (1,23 à 1,43) ont été observés dans les études portant sur des PVVIH. Après l'administration quotidienne de 50 mg de DTG chez des volontaires sains, la C_{min} à l'état d'équilibre, de l'ordre de 1 640 ng/mL (CV = 27 %), est environ 25 fois plus élevée que la Cl_{90-AP} (Min *et al.*, 2010), de l'ordre de 64 ng/mL. Chez des PVVIH, la C_{min} à l'état d'équilibre est de l'ordre de 830 ng/mL (CV = 26 %) (Min *et al.*, 2011).

L'analyse de pharmacocinétique de population chez des personnes infectées par le VIH naïves de traitement a permis d'estimer les paramètres de population : clairance apparente (CL/F) de 0,901 L/h, volume de distribution apparent (V_D/F) de 17,41 L soit un V_D/F rapporté au poids autour de 200 mL/kg (Zhang *et al.*, 2015).

4.3.6. Diffusion

Des études ont exploré la diffusion du DTG dans les principaux compartiments, par des mesures de concentrations dans le tissu digestif, les nœuds lymphatiques et les cellules mononuclées du sang périphérique, au niveau des appareils génitaux masculins et féminins, du placenta et au niveau du LCS.

Des mesures de DTG dans le tissu rectal (biopsie) chez des PVVIH ont révélé une diffusion rapide du DTG (dès la première heure), en faible proportion par rapport à la concentration plasmatique (de l'ordre de 17 %) mais avec des concentrations en DTG supérieures à la CI_{90} -AP (Greener *et al.*, 2013).

Une étude sur 11 patients portant sur l'évaluation de la diffusion du DTG a montré, sans que les concentrations soient communiquées, une diffusion qui semble suffisante au niveau des cellules mononuclées du sang périphérique et des cellules de l'iléum avec des QI supérieurs à 4 pour ces deux compartiments. Au contraire, dans les cellules des nœuds lymphatiques et du rectum, il semblerait que la diffusion ne soit pas suffisante puisque les QI sont inférieurs à l'unité, en médiane (Fletcher *et al.*, 2018).

La comparaison des concentrations totales de DTG entre les plasmas sanguins et séminaux a révélé une faible diffusion du DTG dans le tissu de l'appareil génital masculin (ratio de l'ordre de 7 %) (Greener *et al.*, 2013). Une étude ultérieure, tenant compte des concentrations libres de DTG, a néanmoins montré que cette faible diffusion semble suffisante pour diminuer rapidement la charge virale séminale (Imaz *et al.*, 2016).

Les résultats d'une étude sur des mesures de DTG dans le liquide cervico-vaginal chez des sujets sains ont révélé une diffusion rapide du DTG (dès $T = 3$ h, $T_{max} = 6$ h), en faible proportion par rapport à la concentration plasmatique (de l'ordre de 10 %) mais avec des concentrations en DTG supérieures à la CI_{90} -AP (Adams *et al.*, 2013).

Plusieurs études ont également montré la bonne capacité de diffusion du DTG au niveau du placenta (Rimawi *et al.*, 2017; Mulligan *et al.*, 2018; Ikumi *et al.*, 2021).

Enfin, *in vitro*, le DTG s'est révélé être un substrat pour deux transporteurs d'efflux : l'ABCB1 et l'ABCG2. Le ratio des concentrations totales LCS/plasma montre une diffusion faible (proche de 0,5 %) (Letendre *et al.*, 2014; Gelé *et al.*, 2019; Calcagno *et al.*, 2021; Tiraboschi *et al.*, 2021a). Malgré une faible diffusion dans le LCS, le DTG est associé à des effets indésirables neurologiques (cauchemars, insomnie, troubles neurocognitifs) (Elliot *et al.*, 2019).

4.3.7. Interactions médicamenteuses

In vitro, le DTG n'a montré aucun effet inhibiteur direct ou a montré une faible inhibition des CYP 1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A, de l'UGT1A1 ou de l'UGT2B7, ou des transporteurs ABCB1, ABCG2, ABCB11, OATP1B1, OATP1B3, SLC22A1, SLC47A2, ABCC2 ou ABCC4.

In vitro, le DTG n'a pas d'effet inducteur sur le CYP1A2, le CYP2B6 ou le CYP3A4.

In vitro, le DTG n'est pas un substrat des transporteurs humains SLCO1B1, SLCO1B3 ou SLC22A1.

In vivo, le DTG est un inhibiteur du transporteur rénal SLC22A2 (Reese *et al.*, 2013).

Compte-tenu de ces données, le DTG ne présente, à l'heure actuelle, qu'une seule contre-indication, avec les médicaments à marge thérapeutique étroite substrats du transporteur SCL22A2. Sur le marché français, un seul médicament présente cette caractéristique, il s'agit de la fampridine, indiquée pour améliorer la capacité de marche des patients adultes atteints de sclérose en plaques et présentant un handicap à la marche. La co-administration de ces deux médicaments peut ainsi provoquer des convulsions en raison de l'augmentation de la concentration plasmatique de fampridine. La metformine est également substrat du transporteur SCL22A2. N'ayant pas une marge thérapeutique étroite, leur co-administration n'est pas contre-indiquée mais une adaptation de la posologie de la metformine est nécessaire afin de maintenir un contrôle optimal de la glycémie.

Egalement, des adaptations posologiques du DTG sont recommandées en cas d'administration concomitante avec d'autres médicaments antirétroviraux (EFV, EVR, NVP et TPV potentialisé par le RTV), la rifampicine, des anticonvulsivants

(carbamazépine, oxcarbazépine, phénytoïne, phénobarbital) et du millepertuis (*Hypericum perforatum*). Dans ces cas-là, la posologie recommandée est de 50 mg BID.

Enfin, de façon similaire aux autres INI et au vu du mécanisme d'action de cette classe pharmaco-thérapeutique, l'absorption du DTG est altérée par la co-administration de cations divalents ou trivalents, ce qui nécessite d'espacer leurs prises (Song *et al.*, 2015).

4.3.8. Tolérance

Le DTG, comme l'ensemble des médicaments antirétroviraux de la classe des INI, est généralement bien toléré. La majorité des EI est d'intensité légère à modérée et ne nécessitant que rarement l'arrêt du traitement. L'EI le plus sévère observé est une réaction d'hypersensibilité caractérisée notamment par une éruption cutanée et une atteinte hépatique sévère. Les autres EI les plus fréquemment rencontrés sont :

- très fréquent ($\geq 1/10$) : céphalées, nausées, diarrhées ;
- fréquent ($\geq 1/100$ à $< 1/10$) : affections psychiatriques (insomnies, cauchemars, anxiété), affections du SNC (vertiges), vomissements, éruptions cutanées et fatigue.

Certaines anomalies biologiques sont rapportées de façon fréquente : élévation des transaminases et de la créatine phosphokinase (CPK). Plusieurs études ont également mis en avant la prise de poids plus importante avec le DTG qu'avec d'autres médicaments antirétroviraux, notamment chez les femmes (Rizzardo *et al.*, 2019; Venter *et al.*, 2019). Une récente étude prospective incluant 14 703 PVVIH vient confirmer cette hypothèse sur la prise de poids sous DTG (Bansi-Matharu *et al.*, 2021). Enfin, un EI rare mais majeur a été mis en avant : la malformation du tube neural. Cet EI a d'abord fait l'objet d'un signalement par l'OMS afin que des études plus spécifiques soient organisées (Organisation mondiale de la Santé, 2018). Au vu des études réalisées ultérieurement (Raesima *et al.*, 2019; Zash *et al.*, 2019), l'OMS a finalement émis un communiqué rassurant et promouvant l'utilisation du DTG chez tous les PVVIH, en première et en deuxième intention, y compris les femmes enceintes et celles en âge de procréer (Organisation mondiale de la Santé, 2019). Cependant, en France, dans l'attente de nouvelles recommandations, l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) a émis des recommandations aux prescripteurs. Il est indiqué de ne pas prescrire de DTG pour les femmes envisageant une grossesse (ou de

s'assurer de la prise d'une contraception efficace), de rechercher une grossesse avant d'initier un traitement par DTG et de remplacer rapidement et si possible le DTG pour les femmes au premier trimestre de la grossesse (ANSM, 2018).

5. Modèles expérimentaux étudiés

Un bon modèle animal des maladies humaines est défini selon l'*American National Research Council Committee on Animal Models for Research and Aging* comme « un modèle permettant l'étude de la biologie ou des comportements normatifs, ou d'un processus pathologique spontané ou induit ayant un ou plusieurs aspects communs avec un phénomène équivalent chez l'humain ou d'autres espèces animales ». Un modèle doit répondre à un certain nombre de critères :

- il doit satisfaire au critère d'isomorphisme, c'est à dire que les symptômes observés chez l'Homme et chez le modèle animal utilisé doivent être semblables ;
- les mécanismes et les causes doivent également être identiques, dans la mesure où ceux-ci sont connus ;
- les traitements utilisés doivent permettre une même réponse chez l'Homme et le modèle animal utilisé, que la réponse soit positive ou négative. La limite de l'analogie dépend alors de la posologie qui doit être adaptée en fonction du modèle et des connaissances physiologiques de celui-ci ;
- la reproductibilité des phénomènes observés ;
- la similitude des agents inducteurs humains et animaux. Dans le cas des infections par le VIH, les modèles impliquant un rétrovirus de la famille des lentivirus seront privilégiés ;
- un cadre physiologique et clinique proche de ceux décrits chez l'Homme. En particulier, la présence d'une phase asymptomatique suffisamment longue pour mimer la latence clinique observée chez l'Homme ;
- la compatibilité avec l'étude expérimentale au laboratoire en termes de coût, d'éthique, de facilité de manipulation des animaux et de conformité aux normes de sécurité microbiologique ;

- la nécessité de posséder l'arsenal biotechnologique permettant l'étude fine des fonctions supportées par les organes cibles des lentivirus.

L'ensemble des études menées est soumis à de nombreuses réglementations dans les différents États et unions d'États. Au sein de l'Union Européenne, le dernier texte en vigueur est la directive 2010/63/UE du Parlement européen et du Conseil européen du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (Le Parlement européen et le Conseil de l'Union européenne, 2010). Cette directive s'applique aux animaux vertébrés non humains vivants, y compris les formes larvaires autonomes et les formes fœtales de mammifères à partir du dernier tiers de leur développement normal, et aux céphalopodes vivants. Elle établit des mesures pour la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques ou éducatives et fixe, à cet effet, des règles relatives aux aspects suivants :

- le remplacement et la réduction de l'utilisation d'animaux dans les procédures et le raffinement des conditions d'élevage, d'hébergement, de soins et d'utilisation des animaux dans ces procédures ;
- l'origine, l'élevage, le marquage, les soins, l'hébergement et la mise à mort des animaux ;
- les opérations des éleveurs, fournisseurs et utilisateurs ;
- l'évaluation et l'autorisation de projets impliquant l'utilisation d'animaux dans des procédures.

La directive s'applique lorsque des animaux sont utilisés ou destinés à être utilisés dans des procédures ou lorsqu'ils sont élevés spécifiquement pour que leurs organes ou tissus puissent être utilisés à des fins scientifiques.

L'étude de nouvelles approches préventives, thérapeutiques et curatives des infections humaines par le VIH passe donc par le développement et la compréhension de modèles animaux permettant aux études immunologiques, virologiques et pharmacologiques d'évaluer la pertinence de ces approches. L'ensemble de la physiopathologie de l'infection par le VIH rend impossible toute approche exclusivement *in vitro*. Le modèle animal idéal n'existe pas encore. Et il est important de reconnaître que chacun des modèles animaux actuellement disponibles a ses limites.

Les modèles actuellement utilisés pour l'étude de l'infection par le VIH *in vivo* comprennent majoritairement des rongeurs et des primates non-humains (Hatzioannou and Evans, 2012).

5.1. Rongeurs, la souris

La souris, *Mus musculus* Linnaeus, 1758, est un petit mammifère de l'ordre des rongeurs et de la famille des muridés. La taille adulte de la souris est comprise entre 14 et 19 cm dont 7 à 10 cm pour la queue, pour un poids adulte qui va de 21 g jusqu'à 60 g pour les plus grosses. Sa durée de vie moyenne est de 2-3 ans.

Bien qu'initiée dès l'Antiquité, chez les Grecs notamment, l'expérimentation animale n'est réellement apparue qu'au début de la Renaissance. Dans un souci de compréhension de la physiologie humaine et de facilité d'accès, les premières expérimentations animales ont été réalisées sur les différents animaux qui entouraient l'Homme à ce moment-là, à savoir les animaux domestiques (chiens, chevaux, moutons). Il y a eu peu d'objections du public à l'expérimentation animale jusqu'au XIX^e siècle. Mais l'adoption accrue d'animaux domestiques a ensuite alimenté l'intérêt pour un mouvement anti-vivisection, principalement en Angleterre. Les chercheurs se sont alors tournés vers d'autres animaux dont la réputation suscitait moins d'émoi dans la population : les nuisibles, et notamment les rongeurs (Franco, 2013).

Une recherche, début octobre 2022, sur la base de données bibliographique PUBMED du centre américain pour les informations biotechnologiques (*National Center for Biotechnology Information, NCBI*) avec la requête suivante (("MOUSE"[All Fields]) OR ("MICE"[All Fields])) AND (("HIV"[All Fields]) OR ("HTLV-III"[All Fields])) NOT (("HTLV-II"[All Fields]) AND ("HTLV-I"[All Fields])) donne accès à près de 12 000 références. La première date de 1984, très tôt après l'isolement du virus puis le nombre de référence a augmenté exponentiellement pour atteindre un plateau depuis 1998 avec entre 350 et 500 articles publiés chaque année. Cette importante littérature scientifique révèle l'importance du modèle souris dans la compréhension des différents phénomènes physiopathologiques dans le cadre de l'infection par le VIH.

Parmi ces références, avec la requête suivante (((("MOUSE"[All Fields]) OR ("MICE"[All Fields])) AND (("HIV"[All Fields]) OR ("HTLV-III"[All Fields])) AND ("PHARMACOLOGY"[All Fields]) OR ("PHARMACOKINETICS"[All Fields]))) NOT

("HTLV-II"[All Fields]) AND ("HTLV-I"[All Fields])), près de 3 800 références, presque un tiers, s'intéressent, de près ou de loin, à l'aspect pharmacologique et/ou pharmacocinétique. Ce chiffre semble cependant assez faible devant l'importance de la validation au niveau pharmacologique d'un modèle avant de pouvoir conclure sur les données immunologiques et virologiques obtenues, voire de les extrapoler à l'Homme

La souris dans la recherche sur l'infection par le VIH est un terme générique désignant le genre et l'espèce de l'animal étudié. En réalité, ce sont plusieurs dizaines de modèles animaux différents selon la souche choisie ou les différentes mutations génétiques ou modifications subies par une souche plus sauvage. Actuellement, de plus en plus de souris subissent une étape d'humanisation dans le but de mimer au mieux l'impact de l'élément étudié par rapport à ce qui peut être observé chez l'Homme. Cette humanisation est quasi-exclusivement une humanisation du système immunitaire permettant ainsi une infection par le VIH directement, sans utiliser de souche chimérique. Une revue récente rapporte les différents modèles actuellement développés (Gillgrass *et al.*, 2021). Globalement, il existe deux principales méthodes permettant d'humaniser une souris sur le plan immunitaire. La première est la plus courante et consiste en une injection intraveineuse ou intrahépatique de cellules souches hématopoïétiques CD34+ chez des souris immunodéficientes adultes ou nouveau-nées, respectivement, après une irradiation myéloablatrice ou l'administration de doses myéloablatrices de médicaments tels que le busulfan, agent alkylant (Pearson *et al.*, 2008; Hayakawa *et al.*, 2009). La seconde nécessite un acte chirurgical et consiste en une implantation chirurgicale de tissus de foie et de thymus fœtaux humains suivie d'une injection de cellules souches hématopoïétiques CD34+ appariées (Lan *et al.*, 2006). Les deux méthodes permettent une reconstitution des monocytes humains, des cellules dendritiques, des lymphocytes T et des lymphocytes B dans le sang périphérique et les tissus. Toutefois, un nombre de cellules plus élevé a été observé dans la méthode de greffe avec acte chirurgical (Cheng *et al.*, 2018) faisant de ce modèle la référence dans l'étude de la réponse immunitaire dans le cadre de l'infection. Néanmoins, il présente quelques désavantages comme l'accès limité aux tissus nécessaires ainsi que le développement de réaction du greffon contre l'hôte (Greenblatt *et al.*, 2012).

D'un point de vue pharmacologique, de nombreux médicaments antirétroviraux ont été étudiés (Devanathan *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2019; Karampoor *et al.*, 2020; Mast *et al.*, 2020; Weichseldorfer *et al.*, 2021). Le principal inconvénient, identique à de nombreux modèles animaux, est l'absence de consensus quant aux posologies et voies

d'administrations à étudier. Cette absence d'accord dans la communauté scientifique rend les comparaisons entre modèles délicates et peu contributives. L'avantage de cette diversité réside en revanche dans l'importante étendue de données permettant parfois d'extrapoler chez l'Homme l'effet d'une éventuelle augmentation de la posologie ou d'un changement de voie d'administration. Les variations des paramètres pharmacocinétiques ou de diffusion tissulaire liées aux différentes posologies utilisées permettent ainsi d'évaluer la linéarité de ces derniers vis-à-vis de la posologie et donc d'émettre des hypothèses sur ces mêmes variations chez l'Homme en cas de modification de posologie.

Concernant la diffusion tissulaire des trois molécules que sont le TNF, le FTC et le DTG, le Tableau 12 répertorie les différentes études de ces trois médicaments antirétroviraux chez la souris.

Tableau 12. Revue des différentes études publiées sur la diffusion tissulaire chez la souris pour les trois médicaments antirétroviraux d'intérêt.

	Iléum	Rectum	Rein	Foie	Poumon	Cœur	Nœud lymphatique	Rate	Tractus génital féminin	Testicule	Site d'injection	Cerveau
Imaoka <i>et al.</i> , 2007			TNF									
Veselinovic <i>et al.</i> , 2014	TNF	TNF							TNF			
Destache <i>et al.</i> , 2016									TNF			
Prathipati <i>et al.</i> , 2016			TNF, FTC et DTG	TNF, FTC et DTG							TNF, FTC et DTG	
Mandal <i>et al.</i> , 2017									TNF			
Prathipati <i>et al.</i> , 2017	TNF		TNF	TNF			TNF	TNF	TNF		TNF	
Kovarova <i>et al.</i> , 2018									DTG			
Mandal <i>et al.</i> , 2018			TNF et FTC	TNF et FTC			TNF et FTC	TNF et FTC	TNF et FTC			
Burgunder <i>et al.</i> , 2019							TNF et FTC					
Devanathan <i>et al.</i> , 2019	TNF, FTC et DTG	TNF, FTC et DTG					TNF, FTC et DTG	TNF, FTC et DTG	TNF, FTC et DTG			TNF, FTC et DTG
Mandal <i>et al.</i> , 2019		TNF et FTC		TNF et FTC			TNF et FTC	TNF et FTC	TNF et FTC			
Devanathan <i>et al.</i> , 2020							TNF et FTC					
Seneviratne <i>et al.</i> , 2020			TNF et FTC	TNF et FTC		TNF et FTC						TNF et FTC
Zhu <i>et al.</i> , 2020			DTG	DTG								DTG
Dyavar <i>et al.</i> , 2021			TNF	TNF	TNF	TNF	TNF			TNF		TNF

Légende :



Globalement, on observe que ces études ont majoritairement été publiées récemment. Ceci est en lien avec l'avancée des recherches dans le domaine de la pharmacologie tissulaire des médicaments antirétroviraux et avec l'augmentation de l'utilisation du modèle rongeur dans les études sur le VIH. La principale critique qui peut être faite est le manque d'exhaustivité des tissus étudiés. On observe majoritairement que les études se focalisent seulement sur quelques tissus en particulier. Un à 7 tissus ont été étudiés mais seulement 3 tissus en moyenne par étude. Certains tissus semblent plus étudiés que d'autres. Le tractus génital féminin est le plus représenté, puis les reins et le foie. Le premier tissu est à mettre en relation avec la PrEP, développée aux environs de ces mêmes années. Les deux autres sont au centre des principales voies d'élimination des médicaments antirétroviraux. Pour le rein, plus particulièrement, ce dernier est également un organe à surveiller chez les PVVIH devant la néphrotoxicité chronique du TNF administré sous forme de TDF.

Ainsi, malgré sa petite taille et donc les faibles quantités de tissus parfois disponibles, la souris est un modèle qui peut s'avérer adéquat pour étudier la diffusion tissulaire des médicaments antirétroviraux. Devant la multiplicité des modèles de souris d'un point de vue immunologique, il est difficile d'établir un modèle pharmacologique de référence. Et pour chaque modèle utilisé, une validation d'un point de vue pharmacologique paraît essentielle pour envisager une extrapolation des observations au niveau humain. Des études sont, malgré tout, encore publiées sans aucune donnée pharmacologique (Denton *et al.*, 2008, 2012; Weichseldorfer *et al.*, 2021; Zulu *et al.*, 2021).

5.2. Primates non-humains, le macaque cynomolgus

Le macaque cynomolgus, *Macaca fascicularis* Raffles, 1821, est un mammifère de l'ordre des primates et de la famille des cercopithécidés. Cette famille regroupe les espèces traditionnellement désignées comme étant les singes de l'Ancien Monde. Le macaque cynomolgus est également appelé macaque crabier, macaque de Java, macaque de Buffon ou macaque à longue queue. La taille adulte est comprise entre 40 et 50 cm pour un poids adulte qui va de 4,5 kg jusqu'à 10 kg pour les plus gros. Sa durée de vie moyenne est de 35 ans. Son principal lieu d'habitat se trouve en Asie du Sud-Est (Philippines, Malaisie, Indonésie, Inde, Viêt Nam, Cambodge, Laos, Thaïlande).

Les primates non-humains (PNH) ont toujours participé aux différentes recherches dans le domaine biomédical, de par la proximité avec le modèle humain au niveau de leur

patrimoine génétique. Dans le monde, plus de 100 000 primates sont utilisés chaque année pour l'expérimentation animale biomédicale : plus de la moitié aux États-Unis, un dixième en Europe et dans le reste du Japon et d'autres pays. En France, en 2019, près d'1,9 million d'animaux ont été utilisés à des fins scientifiques : la souris représente le plus grand pourcentage (61 %) et le macaque cynomolgus est le 15^e animal le plus utilisé avec 2 923 animaux (1,6 ‰). Parmi les primates, c'est le modèle animal le plus utilisé, représentant près de 90 % des primates en France (Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation, 2019).

Les PNH présentent certains avantages dans l'étude de l'infection au VIH. Les similitudes entre le SIDA induit chez l'Homme infecté par le VIH et la maladie induite par le SIVmac chez les macaques, ont fait de ces derniers un modèle très important. En outre, ils permettent de contrôler plusieurs paramètres : le moment, la dose et la voie d'inoculation du virus. Ils permettent ainsi l'étude des premières heures de l'infection. Également, pour des raisons éthiques et mais aussi logistiques, ils permettent d'étudier de nombreux tissus difficiles à prélever chez l'Homme.

De nombreuses espèces de PNH africains sont des hôtes naturels du SIV. Ainsi, ils ne développent habituellement pas de maladie à la suite d'une infection. En revanche, les macaques asiatiques, comme les macaques cynomolgus, qui ne sont pas des hôtes naturels des lentivirus des primates, développent une infection avec des charges virales élevées et une déplétion progressive des lymphocytes T CD4⁺ puis des infections opportunistes. Initialement, le macaque cynomolgus n'a pas été aussi largement utilisé que le macaque rhésus (*Macaca mulatta*) ou le macaque à queue de cochon (*Macaca nemestrina*). Chacune de ces espèces montre des susceptibilités distinctes variant selon la souche de SIV étudiée (Huot *et al.*, 2019). En comparaison avec ces autres espèces, la souche SIVmac251 s'avère être moins pathogène. La diversité limitée du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) des macaques cynomolgus de l'île Maurice a considérablement accru l'intérêt pour l'utilisation de ces animaux (O'Connor *et al.*, 2010). Seuls sept haplotypes du CMH ont été identifiés chez ces macaques cynomolgus mauriciens, dont trois sont présents chez environ 90 % de ces animaux (Budde *et al.*, 2010). Cette caractéristique a permis de démontrer qu'il existe un avantage d'un CMH hétérozygote pour contrôler l'infection par le SIV (O'Connor *et al.*, 2010).

L'incapacité du VIH-1 à se répliquer chez les singes de l'Ancien Monde reflète, au moins en partie, des blocages cellulaires intrinsèques. Ainsi, le SIV plutôt que le VIH a été

utilisé pour développer des modèles de PNH pour le SIDA. Le développement de souche chimérique (*Simian–Human Immunodeficiency Virus*, SHIV) a également permis de remédier à certaines limitations.

Une recherche, début octobre 2022, sur la base de données bibliographique PUBMED du centre américain pour les informations biotechnologiques (*National Center for Biotechnology Information, NCBI*) avec la requête suivante ((*"Cynomolgus"*[All Fields]) OR (*"Macaca fascicularis"*[All Fields])) AND ((*"HIV"*[All Fields]) OR (*"HTLV-III"*[All Fields]) OR (*"SIV"*[All Fields])) NOT ((*"HTLV-II"*[All Fields]) AND (*"HTLV-I"*[All Fields])) donne accès à 779 références, bien loin du nombre de références pour la souris. La première date de 1985, très tôt après l'isolement du virus. Le nombre de référence a ensuite augmenté et fluctue en fonction des années entre une quinzaine et une quarantaine de publications annuelles. Cette faible littérature scientifique comparée au modèle souris révèle les difficultés d'utilisation de ce modèle pour diverses raisons. Le coût peut être une des raisons principales. Ce modèle implique la nécessité d'avoir des infrastructures pour l'hébergement avec les moyens humains nécessaires à leurs bons fonctionnements. Aussi, le modèle macaque cynomolgus ne possède pas de lignées consanguines favorisant l'homogénéité des individus obtenus.

Parmi ces références, avec la requête suivante (((*"Cynomolgus"*[All Fields]) OR (*"Macaca fascicularis"*[All Fields])) AND ((*"HIV"*[All Fields]) OR (*"HTLV-III"*[All Fields]) OR (*"SIV"*[All Fields])) AND ((*"PHARMACOLOGY"*[All Fields]) OR (*"PHARMACOKINETICS"*[All Fields])) NOT ((*"HTLV-II"*[All Fields]) AND (*"HTLV-I"*[All Fields]))), seules 144 références, presque un cinquième, s'intéressent, de près ou de loin, à l'aspect pharmacologique et/ou pharmacocinétique. Ce chiffre semble, comme pour la souris, assez faible devant l'importance de la validation au niveau pharmacologique d'un modèle avant de pouvoir conclure sur les données immunologiques et virologiques obtenues puis de les extrapoler à l'Homme.

D'un point de vue pharmacologique, de nombreux médicaments antirétroviraux ont été étudiés (Qian *et al.*, 1992; Frick *et al.*, 1994; Kaddoumi *et al.*, 2007; Bourry *et al.*, 2010; Iwasaki *et al.*, 2016). Tout comme pour le modèle souris, le principal inconvénient est l'absence de consensus quant aux posologies et voies d'administrations à étudier.

Concernant la diffusion tissulaire des trois molécules que sont le TNF, le FTC et le DTG, une seule étude a été publiée avec des données pharmacologiques chez le macaque cynomolgus. Cette étude porte uniquement sur le TNF et a été réalisée avec une

administration par voie vaginale à l'aide d'un film permettant une libération prolongée. Les concentrations ont été mesurées dans plusieurs tissus adjacents : au niveau de l'utérus, près du col de l'utérus, au milieu de la paroi vaginale, près de l'orifice vaginal et au niveau du rectum (Hijazi *et al.*, 2020). La principale limite de cette étude d'un point de vue pharmacologique en vue d'une extrapolation chez la femme est la voie d'administration, très différente des voies couramment utilisées en pratique clinique pour les PVVIH.

Cette revue des différentes études publiées montre la faible quantité de données disponibles dans ce modèle pourtant répandu. A nouveau, comme pour le modèle souris, ce résultat souligne le nombre encore trop important d'études publiées sans validation pharmacologique du modèle.

6. Conclusion

L'infection par le VIH demeure, de nos jours, un sujet de recherche au premier plan, avec notamment une prévalence en constante augmentation. En un demi-siècle de recherche, de nombreuses avancées et découvertes ont permis d'abord de comprendre cette infection puis de prendre en charge de mieux en mieux les PVVIH et même maintenant de prévenir cette infection.

Il reste du chemin à parcourir en vue d'une éradication de ce virus, tant au niveau individuel qu'au niveau mondial, et le développement de nouveaux modèles participe à la poursuite de l'avancée des connaissances.

Parmi les éléments mis en avant pour réduire voire supprimer la persistance virale, la recherche pharmacologique en fait partie et peut apporter des réponses à de nombreuses hypothèses. Pour se faire, une connaissance approfondie et accrue de chacun des médicaments antirétroviraux est nécessaire. Cette connaissance de leurs caractéristiques physico-chimiques, de leurs principales propriétés pharmacocinétiques et du rôle des transporteurs dont ils sont substrats, doit être complétée par l'étude de leur diffusion au niveau tissulaire. Ainsi l'accès aux tissus via les modèles animaux est un atout considérable. En conséquence, l'élaboration de stratégies thérapeutiques ciblant les sanctuaires pharmacologiques et les réservoirs virologiques en sera facilitée.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Contexte général et objectifs

La persistance virale chez les PVVIH questionne sur les différents mécanismes mis en jeu. Comme détaillé ci-dessus, plusieurs hypothèses sont émises et notamment l'hypothèse pharmacologique. Celle-ci repose sur la notion qu'un défaut de diffusion des médicaments antirétroviraux entraînerait des concentrations faibles, peut-être insuffisantes, au niveau tissulaire, site d'action de ces médicaments. Ainsi, la formation de sanctuaires pharmacologiques pourrait expliquer que le virus puisse continuer à se répliquer et être responsable du rebond virologique observé en cas d'arrêt des thérapeutiques antirétrovirales.

L'objectif principal de ce travail est alors d'étudier la diffusion de trois médicaments antirétroviraux. Ce travail a une visée translationnelle et a pour objectif d'apporter des réponses en vue d'une amélioration de la compréhension des mécanismes de la persistance virale. C'est pourquoi les trois médicaments antirétroviraux étudiés, le TNF sous forme disoproxil fumarate, le FTC et le DTG, ont été choisis parmi ceux recommandés mondialement en première ligne de traitement chez tout PVVIH (Morlat *et al.*, 2018; Saag *et al.*, 2020; Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2021; Organisation mondiale de la Santé, 2021; European AIDS Clinical Society, 2021). Ils sont ainsi parmi les plus utilisés dans le monde pour la prise en charge des PVVIH.

La première étude a été réalisée *in vitro* avec pour objectif d'améliorer la connaissance d'un paramètre pharmacocinétique clé dans la diffusion d'un médicament, la fixation aux protéines plasmatiques.

La deuxième étude est une étude préclinique réalisée sur un modèle rongeur. L'utilisation d'un tel modèle permet une première approche quant à la cartographie de la diffusion tissulaire des trois médicaments antirétroviraux étudiés, à un coût moindre par rapport au modèle primate non-humain.

Enfin, la troisième étude a été réalisée sur un modèle primate non-humain, modèle de référence dans la recherche sur l'infection par le VIH.

2. Mesure des concentrations de ténofovir, emtricitabine et dolutégravir

2.1. Instruments

Le dosage des trois médicaments antirétroviraux d'intérêt a été réalisé sur un système de chromatographie Transcend TLX1 (Thermo Fisher Scientific, Villebon-sur-Yvette, France) couplé à un système TSQ ALTIS de détection spectrométrique de masse en tandem (Thermo Fisher Scientific, Villebon-sur-Yvette, France) (LC-MS/MS). Le traitement des données a été réalisé par le logiciel de pilotage Trace Finder software version 3.0 (Thermo Fisher Scientific, Villebon-sur-Yvette, France).

2.2. Techniques analytiques

Les techniques de dosage diffèrent selon le milieu biologique (plasma, solution non protéique pour la fraction libre, tissus). Chacune des techniques de dosage a été mise au point et validée selon les recommandations de l'Agence européenne du médicament (European Medicines Agency, 2018d) et à l'aide de contrôles de qualité externes fournis par l'association Asqualab, membre du groupe européen des organisateurs d'évaluations externes de la qualité et certifiée ISO 2001 depuis 2009. La quantification a été réalisée simultanément pour les trois médicaments antirétroviraux (au niveau plasmatique et tissulaire) à l'aide d'une gamme d'étalonnage et de trois contrôles internes de qualité (CIQ) insérés dans chaque série de dosage. Les différentes techniques analytiques sont exactes, justes, reproductibles : tous les coefficients de variation et les erreurs relatives sont inférieurs à $\pm 15\%$.

Quelle que soit la matrice biologique étudiée, le prétraitement des échantillons contenait une étape d'ajout d'étalons internes deutérés, le TNF deutéré (TNF-D), le FTC deutéré (FTC-D) et le DTG deutéré (DTG-D). Les échantillons prétraités ont été injectés dans une colonne C18 (Thermo Scientific™ Acclaim™ 120, 2,2 μm , 100 mm x 2,1 mm, Thermo Scientific, Villebon-sur-Yvette, France). Les phases mobiles sont composées d'une solution aqueuse avec 0,1 % d'acide formique (A) et d'acétonitrile avec 0,1 % d'acide formique (B). Les analyses chromatographiques ont été réalisées à 50 °C avec un débit de 0,45 mL/min et un gradient de phase mobile entre A et B (Figure 15). Les transitions (m/z) ion précurseur \rightarrow ion fils ont été recherchées à l'aide des transitions déjà décrites

dans la littérature. Les m/z exactes identifiées dans les conditions d'optimisation des énergies de collision (25,8 V pour le TNF, 10,2 V pour le FTC et 33,1 V pour le DTG) sont de 288,0 → 176,0 et 294,1 → 182,1 pour le TNF et le TNF-D, respectivement, de 247,9 → 129,9 et 252,0 → 132,0 pour le FTC et le FTC-D, respectivement, et de 420,1 → 127,0 et 426,2 → 133,0 pour le DTG et le DTG-D, respectivement.

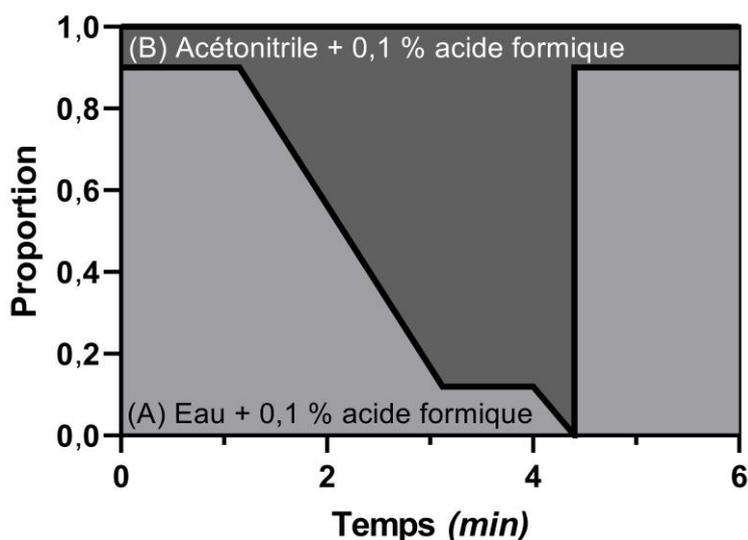


Figure 15. Gradient d'élution de la technique analytique.

2.2.1. Mesure des concentrations plasmatiques

Pour la mesure des concentrations plasmatiques totales, la technique de dosage ainsi que la validation de la méthode de dosage sont décrites dans un article publié par l'équipe de recherche en collaboration avec l'unité fonctionnelle de pharmacologie du Dr Valérie Furlan (AP-HP. Université Paris-Saclay, Hôpital Bicêtre) (Gouget *et al.*, 2020).

Brièvement, 100 µL de plasma sont précipités par 300 µL d'acétonitrile contenant les étalons internes. Les échantillons sont alors vortexés 30 s puis centrifugés à 18 000 rotations par minute (rpm) pendant 10 min à 25 °C. Puis, 50 µL de surnageant sont repris avec 750 µL d'une solution aqueuse contenant 0,1 % d'acide formique (phase mobile A). Enfin, 40 µL sont prélevés puis injectés dans le système LC-MS/MS.

Les courbes de calibration sont linéaires pour l'ensemble des techniques et vont de la limite inférieure de quantification (LOQ) à 5 000 ng/mL. Les LOQ sont de 5, 2,5 et 5 ng/mL pour le TNF, le FTC et le DTG, respectivement.

2.2.2. Mesure de la fraction libre plasmatique

Les formes libre et liée du DTG ont été séparées par ultrafiltration à l'aide du dispositif d'ultrafiltration Centrifree® (Millipore, Molsheim, France) sous l'action de la force centrifuge par passage au travers d'un filtre ne laissant pas passer les protéines. La masse moléculaire maximale pouvant être ultrafiltrée est de 30 kDa. L'ultrafiltrat qui contient la fraction libre du médicament a été recueilli. La concentration totale est mesurée avant ultrafiltration. On obtient la fraction libre ($f_{u,p}$) par le rapport entre la concentration dans l'ultrafiltrat et la concentration totale plasmatique. Pour optimiser les conditions d'utilisation de ces dispositifs, la durée de centrifugation et l'adsorption des médicaments antirétroviraux sur le filtre du dispositif ont été les deux paramètres étudiés. Deux effets principaux sont à prendre en compte pour optimiser la durée de centrifugation : l'effet tamis et l'effet de concentration des protéines au cours de la centrifugation. L'effet tamis est lié à une répartition gaussienne de la taille des pores du filtre. Au cours de l'ultrafiltration, l'eau sort d'abord avec peu de médicament libre puis l'équilibre s'établit. Ainsi, il est nécessaire de recueillir au minimum 50 μ L d'ultrafiltrat. L'effet de concentration des protéines ne perturbe pas la détermination de la concentration de médicament libre si le volume d'ultrafiltrat recueilli est supérieur à 40 % du volume initial (Wright *et al.*, 1996). L'évaluation du phénomène d'adsorption a été réalisée par l'ultrafiltration de plusieurs solutions aqueuses de DTG. La membrane de filtration à l'intérieur du dispositif contient des quantités infimes de glycérine (~2 μ L). Cette substance pouvant interférer avec l'analyse, le dispositif doit être rincé avec de l'eau déionisée jusqu'à ce qu'aucune interférence ne soit plus remarquée. L'ultrafiltrat obtenu doit alors avoir la même concentration que la solution initiale. Le choix a été fait de rincer le dispositif quatre fois avec 900 μ L d'eau en centrifugeant 30 min à 2 000xg à 10 °C. A la suite de ces quatre rinçages, le dispositif a été centrifugé à l'envers pendant 5 min à 2 000xg à 10 °C afin d'éliminer l'eau potentiellement restante dans la partie se situant avant le filtre. Après ce pré-conditionnement, 200 μ L de l'échantillon ont été introduits dans le dispositif et ultracentrifugés pendant 120 min à 2 000xg à 10 °C. Le pourcentage d'adsorption sur le filtre a été déterminé par le rapport des concentrations obtenues avant et après ultracentrifugation. Il est considéré comme négligeable car

inférieur à 20 %. La méthode analytique est identique au dosage plasmatique du DTG total. Seule la gamme d'étalonnage et les CIQ changent : les points de gamme et les CIQ utilisés sont préparés à l'aide de plasma vierge dilué à un facteur 200 par de l'eau déionisée. La courbe de calibration est linéaire entre 0,5 ng/mL et 100 ng/mL.

2.2.3. Mesure des concentrations tissulaires

La mesure des concentrations tissulaires nécessite l'extraction des différentes molécules d'intérêt des différents tissus concernés. Cette étape est réalisée par broyage et homogénéisation du broyat à l'aide d'un solvant d'extraction composé d'un mélange eau/acétonitrile 70/30 v/v selon le principe de l'extraction solide/liquide. Concrètement, un morceau de tissu, le plus propre possible et avec le moins de contamination sanguine d'un point de vue macroscopique, est d'abord pesé et mis en contact avec le solvant précité dans un rapport 1/5 masse du tissu/volume du solvant d'extraction. L'ensemble est ensuite homogénéisé à l'aide d'un homogénéiseur tissulaire (Minilys®, Bertin Technologies, France pour les tissus des études sur les souris; BeadBlaster®, Dutscher, France pour les tissus des études sur les primates non-humains). L'homogénéisation est réalisée à une vitesse de déplacement de 7 m/s. Dix cycles de 30 s sont réalisés avec une pause de 2 min entre les cycles. L'homogénat ainsi obtenu est ensuite analysé selon la même méthode de dosage que pour la forme totale des médicaments antirétroviraux. Les limites de quantification, du fait de la dilution initiale lors de la mise en contact du tissu avec le solvant d'extraction, ont été réévaluées. Elles sont de 5 ng/g, 10 ng/g et 5 ng/g pour le TNF, le FTC et le DTG, respectivement. La conversion entre les concentrations mesurées analytiquement en ng/mL (après prise en compte du facteur de dilution) et les concentrations tissulaires en ng/g a été réalisée en multipliant les concentrations mesurées par la densité tissulaire propre à chacun des tissus d'intérêt. Les données de densité tissulaire sont disponibles dans une base de données accessible en ligne (Hasgall *et al.*, 2018).

3. Etude *in vitro* des caractéristiques de fixation aux protéines plasmatiques

3.1. Contexte

Comme vu précédemment (Tableau 3), il existe 6 principaux facteurs physico-chimiques et pharmacocinétiques qui influencent la pénétration tissulaire. Parmi ceux-ci, la liaison aux protéines plasmatiques est sans doute celui le moins étudié. Même si ce paramètre est systématiquement analysé dans les phases précoces du développement d'un médicament, soit les caractéristiques ne sont pas publiées et donc disponibles, soit elles le sont mais rarement dans le détail.

La fraction libre, non fixée aux protéines plasmatiques, étant la seule fraction qui peut diffuser, ce paramètre n'est déterminant et n'influence la diffusion d'une molécule que si le taux de fixation est important.

Concernant les médicaments antirétroviraux étudiés, les deux appartenant à la classe des INTI sont peu fixés. Le TNF n'est lié aux protéines plasmatiques qu'à hauteur de 0,7 % environ et le FTC à hauteur de 4 %. Une étude plus approfondie de caractéristiques de fixation n'est donc pas nécessaire. Ce paramètre pharmacocinétique n'est pas un facteur pouvant limiter la diffusion de ces deux médicaments antirétroviraux.

En revanche, le DTG est connu pour être fortement fixé aux protéines plasmatiques, à hauteur de plus de 99 % (Min *et al.*, 2010), pouvant limiter sa capacité à diffuser. L'étude des caractéristiques de fixation à chacune des deux principales protéines de fixation au niveau plasmatique est donc nécessaire.

3.2. Objectif et principaux résultats

L'objectif principal de cette étude *in vitro* est ainsi d'étendre les connaissances sur les caractéristiques de fixation du DTG aux protéines plasmatiques dans le but d'évaluer sa capacité de diffusion. La même méthodologie a été appliquée à un autre inhibiteur d'intégrase plus récent, le BIC.

Les liaisons aux protéines plasmatiques, à l'albumine et à l'orosomucoïde du DTG et du BIC ont été mesurées *in vitro* à l'aide de solutions de plasma vierge humain, d'albumine

sérique humaine à 40 g/L ou d'orosomucoïde humain à 0,7 g/L, préparées dans un tampon phosphate salin à pH 7,4. Ces solutions ont été chargées avec du DTG ou du BIC. Les concentrations variaient de 1 000 à 75 000 ng/mL dans le plasma et de 100 à 75 000 ng/mL dans les solutions d'albumine ou d'orosomucoïde.

Les taux observés de fixation aux protéines plasmatiques du DTG et BIC sont d'environ 99 % pour des concentrations équivalentes aux concentrations plasmatiques thérapeutiques décrites. Les deux inhibiteurs de l'intégrase se lient aux deux principales protéines plasmatiques de liaison connues : principalement à l'albumine et, dans une moindre mesure, à l'orosomucoïde.

Concernant les caractéristiques des sites de fixation à l'albumine pour ces deux médicaments antirétroviraux, elles sont similaires. Le DTG et le BIC sont liés à deux classes différentes de sites à l'albumine : un premier avec une forte affinité et un second, non saturable, avec une faible affinité.

L'influence du pH sur la liaison de l'albumine a également été étudiée. L'étude a été réalisée dans une solution d'albumine chargée de DTG (800 et 1 600 ng/mL) ou de BIC (2 500 et 5 000 ng/mL) à des pH allant de 7,0 à 7,8, donc dans la plage de pH physiologique du sang artériel allant de 7,38 à 7,44 (Hinderling and Hartmann, 2005).

Une sensibilité au pH de la fixation à l'albumine de ces deux molécules a également été observée : une diminution de 0,2 unité pH entraîne une diminution du taux de fixation du DTG à l'albumine de 1,7 point, quelle que soit la concentration en DTG ($p = 0,4919$). Pour le BIC, l'effet du pH est dépendant de la concentration totale de BIC : une diminution de 0,2 unité pH entraîne une diminution du taux de fixation du BIC à l'albumine de 1,8 point pour une concentration totale de BIC de 2 500 ng/mL et de 2,6 points pour une concentration totale de BIC de 5 000 ng/mL ($p < 0,0001$).

Concernant la liaison à l'orosomucoïde, le DTG et le BIC s'y fixent avec une liaison non linéaire atypique avec une courbe en forme de U.

Cette étude a ainsi permis d'établir les principales caractéristiques de liaison du DTG et du BIC à l'albumine et à l'orosomucoïde.

3.3. Article 1 : Characteristics of Dolutegravir and Bictegravir Plasma Protein Binding: a First Approach for the Study of Pharmacologic Sanctuaries

Ci-après est présenté l'article publié le 20 octobre 2020 dans le journal *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

GELÉ Thibaut, GOUGET Hélène, FURLAN Valérie, BECKER Pierre-Hadrien, TABURET Anne-Marie, LAMBOTTE Olivier et BARRAIL-TRAN Aurélie

Characteristics of Dolutegravir and Bictegravir Plasma Protein Binding: a First Approach for the Study of Pharmacologic Sanctuaries

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 64, n° 11 (2020): e00895-20

<https://doi.org/10.1128/AAC.00895-20>



Characteristics of Dolutegravir and Bictegravir Plasma Protein Binding: a First Approach for the Study of Pharmacologic Sanctuaries

Thibaut Gelé,^{a,b} Hélène Gouget,^b Valérie Furlan,^c Pierre-Hadrien Becker,^d Anne-Marie Taburet,^b Olivier Lambotte,^{b,e,f}
 Aurélie Barrail-Tran^{a,b,g}

^aAP-HP, Université Paris-Saclay, Hôpital Bicêtre, Service de Pharmacie Clinique, Le Kremlin-Bicêtre, France

^bUniversité Paris-Saclay, Inserm, CEA, Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes, Fontenay-aux-Roses, France

^cAP-HP, Université Paris-Saclay, Hôpital Bicêtre, Unité Fonctionnelle de Pharmacologie-Toxicologie, Le Kremlin-Bicêtre, France

^dAP-HP, Université Paris-Saclay, Hôpital Bicêtre, Service de Biochimie, Le Kremlin-Bicêtre, France

^eAP-HP, Université Paris-Saclay, Hôpital Bicêtre, Service de Médecine Interne - Immunologie, Le Kremlin-Bicêtre, France

^fUniversité Paris-Saclay, Faculté de Médecine, Le Kremlin-Bicêtre, France

^gUniversité Paris-Saclay, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry, France

ABSTRACT This study aimed to characterize *in vitro* dolutegravir (DTG) and bictegravir (BIC) binding. They had a preferential binding to human serum albumin (HSA) with two classes of albumin sites. Human alpha-1-acid glycoprotein (HAAG) binding of DTG and BIC showed an atypical nonlinear binding. The low-affinity site on HSA, the main plasma binding protein, suggests that the high protein binding rate should not impair passive diffusion.

KEYWORDS bictegravir, dolutegravir, human alpha-1-acid glycoprotein, human serum albumin, pharmacokinetics, protein binding

Dolutegravir (DTG) and bictegravir (BIC) are the two most recently marketed human immunodeficiency virus (HIV) integrase strand transfer inhibitors (INSTIs), which are part of the preferred first-line treatment option worldwide (1–4). The major obstacle to a functional cure for HIV infection is the persistence of a latent HIV reservoir. This residual viral replication results partly from the existence of pharmacological sanctuaries largely impenetrable to drugs (5). It is well recognized that the unbound concentration of a drug is considered the active moiety, which is available to cross cell membranes. However, little is known about the determinants of DTG and BIC binding on albumin and alpha-1-acid glycoprotein, the two main plasma proteins known to bind drugs (6).

DTG and BIC protein binding was measured *in vitro*. Blank human plasma (French Blood Bank), human serum albumin (HSA; 40 g/liter), or human alpha-1-acid glycoprotein (HAAG; 0.7 g/liter) solutions prepared in pH 7.4 phosphate-buffered saline were spiked with either DTG or BIC. Concentrations ranged from 1,000 to 75,000 ng/ml in human plasma and from 100 to 75,000 ng/ml in HSA and HAAG solutions.

The influence of pH on HSA binding was studied in HSA solution spiked with DTG (800 and 1,600 ng/ml) or with BIC (2,500 and 5,000 ng/ml) at pHs ranging from 7.0 to 7.8, including the normal pH range of arterial blood of 7.38 to 7.44 (6).

Bound and unbound drugs were separated by ultrafiltration (Centrifree devices; Millipore, France). Total and unbound concentrations were determined with a quality control-validated method based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry as previously described (7). The lower limits of quantification for unbound DTG and BIC concentration were 0.5 ng/ml and 0.4 ng/ml, respectively. The coefficient of variation

Citation Gelé T, Gouget H, Furlan V, Becker P-H, Taburet A-M, Lambotte O, Barrail-Tran A. 2020. Characteristics of dolutegravir and bictegravir plasma protein binding: a first approach for the study of pharmacologic sanctuaries. *Antimicrob Agents Chemother* 64:e00895-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00895-20>.

Copyright © 2020 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Address correspondence to Aurélie Barrail-Tran, aurelie.barrail-tran@aphp.fr.

Received 5 May 2020

Returned for modification 2 June 2020

Accepted 25 August 2020

Accepted manuscript posted online 31 August 2020

Published 20 October 2020

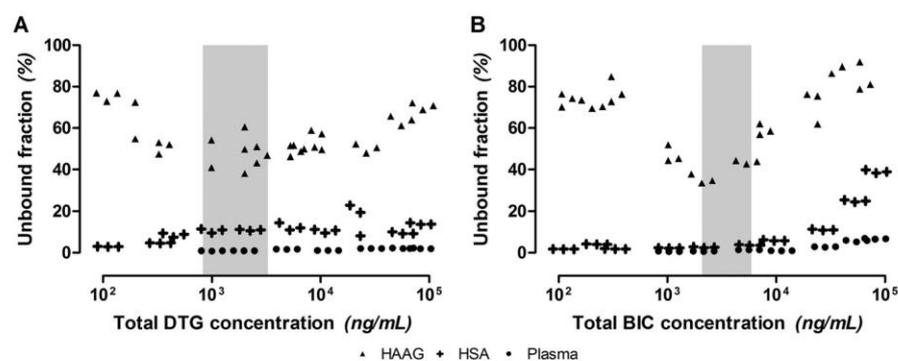


FIG 1 *In vitro* unbound fractions in 0.7 g/liter human alpha-1-acid glycoprotein (triangle), 40 g/liter human serum albumin (cross), and plasma (circle). Gray area depicts the reference therapeutic range (9, 10). (A) Dolutegravir (DTG). (B) Bictegravir (BIC).

for the quality control samples was below 14%. We performed three ultrafiltrations of aqueous solutions spiked with known amounts of DTG or BIC to ensure that nonspecific binding to the device was less than 15%.

The binding characteristics of DTG and BIC were determined as previously described (8).

We used a two-way analysis of variance (ANOVA) to determine if HSA bindings were affected either by total concentrations or by pH values or even both. Each experiment was run in triplicate. The data were analyzed with GraphPad Prism (GraphPad Software, USA). Differences were considered significant if the *P* value was <0.05.

In the range of the studied concentrations, the human plasma unbound fraction (f_u) ranged from 0.8% to 2.1% and from 0.6% to 6.7% for DTG and BIC, respectively. They both showed a nonlinear, concentration-dependent relationship to the total drug concentration. In the range of therapeutic DTG concentrations (up to 5,000 ng/ml) (9), DTG f_u increased significantly from 0.8 to 1.7% ($P < 0.0001$) (Fig. 1A). In contrast, in the range of therapeutic BIC concentrations (up to 10,000 ng/ml) (10), the mean f_u of BIC remained stable at 0.9% (coefficient of variation [CV], 0.3%; $P = 0.0611$) (Fig. 1B). DTG and BIC bound to two classes of albumin sites as follows: one with high affinity and one nonsaturable with low affinity (Table 1). There is a significant pH effect ($P < 0.0001$) and an overall DTG or BIC total concentration effect ($P = 0.0081$ and $P < 0.0001$, respectively). In the pH range from 7.0 to 7.8, a 0.2-U decrease in pH led to a 1.7% decrease in DTG HSA binding, whatever the DTG concentrations ($P = 0.4919$) (Fig. 2). In contrast, the pH effect is dependent on BIC total concentrations as follows: a 0.2-U decrease in pH led to a 1.8% decrease in BIC HSA binding at 2,500 ng/ml and to a 2.6% decrease at 5,000 ng/ml ($P < 0.0001$) (Fig. 2).

The HAAG binding ranged from 24.4% to 53.0% and from 6.6% to 64.7% for DTG and BIC, respectively (Fig. 1). Interestingly, DTG and BIC HAAG binding showed an atypical nonlinear binding with a U-shaped curve (unbound fraction plotted as a function of BIC concentration) (Fig. 1). Namely, the f_u decreased with the increase in total concentration up to 2,500 ng/ml and 2,000 ng/ml for DTG and BIC, respectively. Then, it increased

TABLE 1 Dolutegravir and bictegravir human serum albumin binding characteristics

Human serum albumin binding site ^a	DTG	BIC
High affinity		
K_a (10^3 M ⁻¹)	3,500	4,400
No. (10^{-3})	3.2	21
Nonsaturable, low affinity		
K_a (10^3 M ⁻¹)	43	130
No. (10^{-3})	310	210

^a K_a , association constant; No., number.

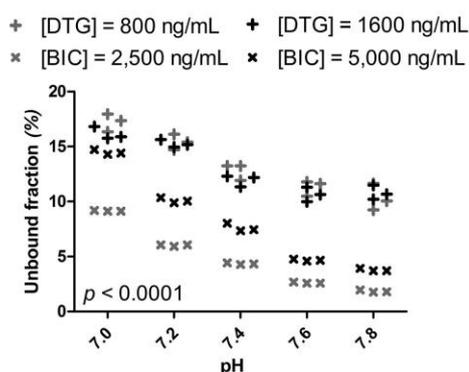


FIG 2 *In vitro* unbound fractions in a 40 g/liter human serum albumin solution at various pH values spiked with two concentrations of dolutegravir (DTG) or bictegravir (BIC).

like a typical nonlinear binding. Due to this atypical nonlinear binding behavior, the DTG and BIC HAAG binding parameters could not be estimated.

We found that DTG and BIC plasma protein bindings are about 99% at therapeutic concentrations as previously described (10, 11) and that both bind to albumin and to HAAG to a minor extent, which are known to be the main drug-binding proteins in plasma (6).

DTG and BIC binding characteristics differ slightly from those of raltegravir, which was shown to be 76% to 83% bound only to albumin (8). However, they are similar to other INSTIs, such as elvitegravir (99.4%) (12) or cabotegravir (99.8%) (13).

Both DTG and BIC bound to two classes of albumin sites as follows: one with high affinity and one nonsaturable with low affinity. DTG and BIC were found to bind to HAAG with an atypical nonlinear binding with a U-shaped curve as described for tigecycline (14–17). As both tetracyclines and INSTIs involve chelation of divalent metal ions, such HAAG binding behavior could probably be explained by metal ion-assisted positive cooperativity (17). Nevertheless, this atypical HAAG binding behavior did not influence DTG and BIC total protein binding in total plasma, which is certainly due to the strong preferential HSA binding.

The observed pH sensitivity of DTG and BIC HSA binding could be explained by pH-induced conformational changes in albumin (6). Therefore, it may favor diffusion within the cell as quiescent human peripheral blood mononuclear cells are pH homeostatic, maintaining an intracellular pH of 7.1 over an extracellular physiological pH of 7.4 (18). Similarly, physiological cerebrospinal fluid pH (7.27 to 7.37) (19) could favor diffusion across the blood-brain barrier, enabling low concentrations although above half maximal inhibitory concentration of wild viral strains in this reservoir (20, 21).

Despite the high protein binding rate of DTG and BIC, the two low-affinity observed sites (on HSA and on HAAG) suggest that passive diffusion should not be impaired in tissues. Indeed, Greener and colleagues reported a low DTG seminal fluid and rectal tissue exposure (7% and 17% of blood plasma, respectively) but one that was higher than the unbound fraction in plasma (22).

In conclusion, our study established the main binding characteristics of DTG and BIC on HSA and HAAG. The high protein binding rate with low-affinity sites and a pH effect should not be a limiting factor of the diffusion of both INSTIs. Binding to tissue proteins remained to be identified in the virological reservoirs.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the UMR1184 research center.

Thibaut Gelé contributed Methodology, Investigation, Formal analysis, Writing – Original Draft; Hélène Gouget contributed Investigation, Validation; Valérie Furlan contributed Validation, Writing – Review & Editing, Supervision; Pierre-Hadrien Becker contributed Investigation; Anne-Marie Taburet contributed Writing – Review & Editing, Supervision; Olivier Lambotte contributed Writing – Review & Editing, Supervision;

Aurélie Barrail-Tran contributed Conceptualization, Methodology, Validation, Writing – Review & Editing, Supervision. All authors read and approved the final manuscript.

Aurélie Barrail-Tran reports grants from ViiV and personal fees from Gilead and Janssen. Olivier Lambotte reports grants from Gilead and personal fees from Bristol-Myers Squibb, Merck Sharp & Dohme, AstraZeneca, Incyte, Genzyme, and Janssen. All other authors have none to declare.

REFERENCES

- Panel on antiretroviral guidelines for adults and adolescents. 2019. Guidelines for the use of antiretroviral agents in adults and adolescents with HIV. Department of Health and Human Services, Washington, DC. <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>.
- European AIDS Clinical Society. 2019. European guidelines for the treatment of HIV-positive adults in Europe. European AIDS Clinical Society, Brussels, Belgium.
- Saag MS, Benson CA, Gandhi RT, Hoy JF, Landovitz RJ, Mugavero MJ, Sax PE, Smith DM, Thompson MA, Buchbinder SP, del Rio C, Eron JJ, Fätkenheuer G, G ntherd HF, Molina J-M, Jacobsen DM, Volberding PA. 2018. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2018 recommendations of the International Antiviral Society–USA panel. *JAMA* 320:379–396. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.8431>.
- World Health Organization. 2019. WHO recommends dolutegravir as preferred HIV treatment option in all populations. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Lorenzo-Redondo R, Fryer HR, Bedford T, Kim E-Y, Archer J, Kosakovsky Pond SL, Chung Y-S, Penugonda S, Chipman JG, Fletcher CV, Schacker TW, Malim MH, Rambaut A, Haase AT, McLean AR, Wolinsky SM. 2016. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. *Nature* 530:51–56. <https://doi.org/10.1038/nature16933>.
- Hinderling PH, Hartmann D. 2005. The pH dependency of the binding of drugs to plasma proteins in man. *Ther Drug Monit* 27:71–85. <https://doi.org/10.1097/00007691-200502000-00014>.
- Gouget H, No e G, Barrail-Tran A, Furlan V. 2020. UPLC–MS/MS method for the simultaneous quantification of bicitegravir and 13 others antiretroviral drugs plus cobicistat and ritonavir boosters in human plasma. *J Pharm Biomed Anal* 181:113057. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113057>.
- Barau C, Furlan V, Yazdanpanah Y, Fagard C, Molina J-M, Taburet A-M, Barrail-Tran A. 2013. Characterization of binding of raltegravir to plasma proteins. *Antimicrob Agents Chemother* 57:5147–5150. <https://doi.org/10.1128/AAC.00625-13>.
- Min S, Sloan L, DeJesus E, Hawkins T, McCurdy L, Song I, Stroder R, Chen S, Underwood M, Fujiwara T, Piscitelli S, Lalezari J. 2011. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of dolutegravir as 10-day monotherapy in HIV-1-infected adults. *AIDS* 25:1737–1745. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32834a1dd9>.
- Gallant JE, Thompson M, DeJesus E, Voskuhl GW, Wei X, Zhang H, White K, Cheng A, Quirk E, Martin H. 2017. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics of bicitegravir as 10-day monotherapy in HIV-1-infected adults. *J Acquir Immune Defic Syndr* 75:61–66. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001306>.
- Moss L, Wagner D, Kanaoka E, Olson K, Yueh YL, Bowers GD. 2015. The comparative disposition and metabolism of dolutegravir, a potent HIV-1 integrase inhibitor, in mice, rats, and monkeys. *Xenobiotica* 45:60–70. <https://doi.org/10.3109/00498254.2014.942409>.
- Podany AT, Scarsi KK, Fletcher CV. 2017. Comparative clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of HIV-1 integrase strand transfer inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 56:25–40. <https://doi.org/10.1007/s40262-016-0424-1>.
- Shaik JSB, Ford SL, Lou Y, Zhang Z, Bakshi KK, Tenorio AR, Trezza C, Spreen WR, Patel P. 2019. A phase 1 study to evaluate the pharmacokinetics and safety of cabotegravir in patients with hepatic impairment and healthy matched controls. *Clin Pharmacol Drug Dev* 8:664–673. <https://doi.org/10.1002/cpdd.655>.
- Deitchman AN, Prasad Singh RS, Derendorf H. 2018. Nonlinear protein binding: not what you think. *J Pharm Sci* 107:1754–1760. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.03.023>.
- Mukker JK, Singh RP, Derendorf H. 2014. Determination of atypical nonlinear plasma–protein-binding behavior of tigecycline using an in vitro microdialysis technique. *J Pharm Sci* 103:1013–1019. <https://doi.org/10.1002/jps.23872>.
- Dorn C, Kratzer A, Liebchen U, Schleibinger M, Murschhauser A, Schlossmann J, Kees F, Simon P, Kees MG. 2018. Impact of experimental variables on the protein binding of tigecycline in human plasma as determined by ultrafiltration. *J Pharm Sci* 107:739–744. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.09.006>.
- Singh RSP, Mukker JK, Deitchman AN, Drescher SK, Derendorf H. 2016. Role of divalent metal ions in atypical nonlinear plasma protein binding behavior of tigecycline. *J Pharm Sci* 105:3409–3414. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.07.013>.
- Deutsch C, Taylor JS, Price M. 1984. pH homeostasis in human lymphocytes: modulation by ions and mitogen. *J Cell Biol* 98:885–893. <https://doi.org/10.1083/jcb.98.3.885>.
- Wagemans MF, Bakker EN, Zuurmond WW, Spoelder EM, Van Loenen AC, De Lange JJ. 1995. Intrathecal administration of high-dose morphine solutions decreases the pH of cerebrospinal fluid. *Pain* 61:55–59. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00149-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00149-9).
- Tiraboschi J, Imaz A, Khoo S, Niubo J, Prieto P, Saumoy M, Penchala SD, Garcia B, Padilla C, Videla S, Podzamczar D. 2020. Total and unbound bicitegravir concentrations and viral suppression in cerebrospinal fluid of human immunodeficiency virus-infected patients (Spanish HIV/AIDS Research Network, PreEC/RIS 56). *J Infect Dis* 221:1425–1428. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz624>.
- Gel e T, Furlan V, Taburet A-M, Pallier C, Becker P-H, Goujard C, Gasnault J, Barrail-Tran A, Ch eret A. 2019. Dolutegravir cerebrospinal fluid diffusion in HIV-1-infected patients with central nervous system impairment. *Open Forum Infect Dis* 6:ofz174. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz174>.
- Greener BN, Patterson KB, Prince HMA, Sykes CS, Adams JL, Dumond JB, Shaheen NJ, Madanick RD, Dellon ES, Cohen MS, Kashuba ADM. 2013. Dolutegravir pharmacokinetics in the genital tract and colorectum of HIV-negative men after single and multiple dosing. *J Acquir Immune Defic Syndr* 64:39–44. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31829ed7a4>.

4. Etude préclinique chez le modèle rongeur

4.1. Contexte

A l'image des différentes étapes de développement d'une nouvelle molécule, et avec un objectif de visée translationnelle, l'évaluation préclinique est menée dans un premier temps chez le modèle rongeur.

Le modèle choisi est la souris BALB/c, parmi les souches murines les plus utilisées avec la souris C57BL/6 (Johnson, 2022). Ce petit modèle animal, la souris (*Mus musculus*), permet à moindre coût de réaliser une première approche de la capacité de diffusion des médicaments antirétroviraux dans de nombreux tissus non accessibles chez l'Homme.

Par ailleurs, cette étude a été élaborée dans le contexte de développement, par notre équipe, d'un nouveau modèle animal pour l'évaluation de stratégies immunomodulatrices de la voie PD1/PD-L1, la souche murine BALB/c Rag2^{tm1Fwa} IL2rg^{tm1Cgn} Sirpa^{NOD} Flk2^{tm1rl} HLA-A2^{HHD} (BRGSF-A2) (Labarthe, 2020). Cette souche comporte différentes mutations facilitant la réalisation de xénogreffes humaines. Elle peut donc être humanisée pour le système immunitaire par la transplantation de cellules souches hématopoïétiques CD34+ (Labarthe *et al.*, 2020).

4.2. Objectifs et principaux résultats

L'objectif principal est d'évaluer la diffusion des trois molécules d'intérêt, administrées simultanément, dans 12 tissus différents dans un modèle de souris.

Dans le but de valider ce modèle de souris d'un point de vue pharmacologique pour notre étude de diffusion tissulaire et pour l'utilisation à d'autres desseins (immunologique et virologique essentiellement), une première sous-étude a consisté à déterminer les paramètres pharmacocinétiques plasmatiques de la souche BALB/c et des souches BRGSF-A2, humanisées ou non pour le système immunitaire. La voie orale a été étudiée dans un objectif de minimisation du stress animal et de leur manipulation. Elle consistait en l'administration des médicaments via leurs biberons utilisés couramment pour l'accès à l'eau. La détermination des paramètres pharmacocinétiques plasmatiques a montré, pour les trois médicaments antirétroviraux, une exposition similaire entre les différentes souches étudiées. Certains paramètres pharmacocinétiques différaient de ceux observés

chez l'Homme. C'est le cas par exemple de la concentration maximale pour le FTC et le DTG avec une répercussion sur l'exposition. Néanmoins, pour les trois molécules et pour les différentes souches étudiées, ces C_{24h} étaient supérieures aux CI_{90} (-AP) respectives, ou très proches pour le FTC et étaient cohérentes avec les données observées chez l'Homme (Barditch-Crovo *et al.*, 2001; Blum *et al.*, 2007; Min *et al.*, 2010).

Cette première sous-étude a ainsi permis de valider pharmacologiquement (posologies et voies d'administrations) les différentes souches de souris utilisées. La voie orale, par administration des médicaments antirétroviraux via leurs biberons d'eau, et la souche BALB/c ont donc été étudiées pour l'évaluation de la diffusion tissulaire en étant confiant quant à l'extrapolation de ces données chez la souche BRGSF-A2, humanisée ou non.

L'étude de la diffusion dans les tissus a mis en avant deux caractéristiques majeures : la forte variabilité observée pour un même tissu entre les différentes molécules et la variabilité, plus modérée, observée pour une même molécule entre les différents tissus.

Concernant le premier point, globalement, le TNF et le FTC présentent une capacité de diffusion supérieure au DTG. En effet, le TNF diffuse suffisamment dans tous les tissus étudiés pour atteindre des concentrations tissulaires supérieures à la CI_{90} du TNF. Pour le FTC, le cerveau est le seul tissu pour lequel les concentrations sont inférieures à la CI_{90} du FTC. En revanche, le DTG ne diffuse suffisamment dans aucun tissu et les concentrations observées sont ainsi toutes inférieures à la CI_{90} -AP du DTG. Ces données sont à mettre en parallèle avec le facteur de pénétration tissulaire observé de chaque médicament antirétroviral. Ce paramètre évalue le ratio des concentrations entre un tissu donné et le plasma. On retrouve ainsi des facteurs de pénétration tissulaire plus élevés pour le TNF, supérieurs à 100 % pour tous les tissus à l'exception des poumons et du cerveau. Pour le FTC, deux tiers des tissus présentent un facteur de pénétration tissulaire supérieur à 100 %. Enfin, pour le DTG, aucun tissu n'a des concentrations tissulaires supérieures aux concentrations plasmatiques. Les facteurs de pénétration tissulaire sont même tous inférieurs à 25 % concernant cette molécule.

Concernant le second point, une variabilité entre les tissus a été observée. Celle-ci est modérée pour le DTG avec un coefficient de variation de l'exposition tissulaire de 38 %, cerveau exclu. Cette variabilité est plus importante pour le FTC (CV = 67 %) et encore plus pour le TNF (CV = 124 %). Cependant, on observe des tendances identiques pour des tissus appartenant à un même système. Ainsi, un regroupement des tissus a été réalisé permettant de classer ces systèmes par ordre de décroissance de la C_{24h} du TNF.

Le tractus digestif avec trois tissus, l'intestin grêle, le cæcum et le côlon est le système présentant les plus fortes concentrations tissulaires. Viennent ensuite les deux principaux sites d'élimination, le foie et le rein. Puis, c'est l'ensemble du système lymphatique avec trois tissus, un nœud lymphatique mésentérique, la rate et le thymus. Le groupe suivant rassemble trois organes non spécifiquement liés l'un à l'autre mais ils n'entraient dans aucun autre groupe. Il s'agit du pancréas, du tissu adipeux et du poumon. Enfin, le dernier tissu compose à lui-seul la dernière catégorie, celle pour laquelle ni le FTC, ni le DTG ne diffusent suffisamment pour atteindre des concentrations supérieures aux $Cl_{90}(-AP)$ respectives. Ce tissu est le cerveau, sanctuaire pharmacologique attendu.

En conclusion, cette étude a permis la réalisation d'une première cartographie de la diffusion dans douze tissus de trois médicaments antirétroviraux administrés simultanément. Elle a aussi permis la validation pharmacologique d'un modèle de souris approprié pour de futures études. Celles-ci pourront être conduites chez des souris humanisées pour le système immunitaire et infectées par le VIH dans le but d'évaluer les réponses immuno-virologiques en fonction des concentrations mesurées des médicaments antirétroviraux dans divers réservoirs et compartiments.

4.3. Article 2 : Pharmacokinetics and tissue distribution of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in mice

Ci-après est présenté l'article publié le 12 janvier 2022 dans *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.

LABARTHE Laura*, GELÉ Thibaut*, GOUGET Hélène, BENZEMRANE Mariam-Sarah, LE CALVEZ Pauline, LEGRAND Nicolas, LAMBOTTE Olivier, LE GRAND Roger, BOURGEOIS Christine et BARRAIL-TRAN Aurélie

Pharmacokinetics and tissue distribution of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in mice

Journal of Antimicrobial Chemotherapy 77, n° 4 (2022): 1094-1101

<https://doi.org/10.1093/jac/dkab501>

* Ces auteurs ont participé à ce travail à part égale.

Pharmacokinetics and tissue distribution of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in mice

Laura Labarthe^{1,2†}, Thibaut Gelé^{3†}, Hélène Gouget¹, Mariam-Sarah Benzemrane¹, Pauline Le Calvez¹, Nicolas Legrand^{2‡}, Olivier Lambotte³, Roger Le Grand¹, Christine Bourgeois¹ and Aurélie Barrail-Tran^{3*}

¹Universit   Paris-Saclay, Inserm, CEA, Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes, 92265, Fontenay-aux-Roses, France; ²genOway Paris, 92265, Fontenay-aux-Roses, France; ³Universit   Paris-Saclay, AP-HP, Hôpital Bicêtre, UMR1184, Inserm, CEA, Le Kremlin-Bicêtre, France

*Corresponding author. E-mail: aurelie.barrail-tran@aphp.fr

†These authors contributed equally to this work.

‡Present address: Oncodesign, 91140, Villebon-sur-Yvette, France.

Received 30 August 2021; accepted 20 December 2021

Background: Studies of antiretroviral drug (ARV) tissue distribution in preclinical models, such as mice, are key to understanding viral persistence.

Objectives: To determine the plasma and tissue pharmacokinetics and tissue distributions of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in mice.

Methods: ARVs were simultaneously administered to two different strains, and their levels in plasma and tissue samples were determined by a validated LC-MS/MS method. A non-compartmental analysis was performed to estimate the main pharmacokinetic parameters. A tissue penetration factor (TPF) was calculated as the ratio of the concentration in the tissue concerned to that in plasma.

Results: ARV plasma pharmacokinetic parameters in both strains were similar to those estimated in the clinical context. Tissue concentrations were highest in the digestive tract, followed by the liver and kidneys, lymphatic system, pancreas, adipose tissue and lungs. Tissue concentrations were lowest in the brain. Triple therapy could not be considered effective in any of the tissues considered. The TPF values obtained showed that tenofovir diffused widely, especially in the digestive tract, liver and kidneys. Emtricitabine had a TPF above 100% in two-thirds of the tissues. Dolutegravir was poorly distributed to all tissues.

Conclusions: Drug specificity was observed, with higher levels of exposure to tenofovir than to emtricitabine or dolutegravir. Tissue specificity was also observed, with strong penetration of the digestive tract and weak penetration of the brain. These data have important implications for future preclinical and clinical studies for developing new HIV therapies with the goal of an HIV cure.

Introduction

HIV infection can be controlled, but not cured, with optimal antiretroviral drug (ARV) therapy.¹ Despite potent ART, and plasma HIV-RNA levels below the limit of quantification, HIV can continue to replicate and replenish the viral reservoir.² One main hypothesis is a limited drug penetration in these reservoirs, leading to subtherapeutic concentrations.³ Therefore, achieving optimal tissue distribution and cellular pharmacokinetics of ARVs is a prerequisite for full control of the virus, elimination of the viral reservoir and, ultimately, the cure of HIV infection.

The mapping of ARV distribution requires access to tissues, fluids and cells. In the clinical context, some of these virological

reservoirs are difficult or impossible to access. The use of animal models is, therefore, essential to improve our knowledge of ARV pharmacokinetics. Non-human primate models are among the most frequently used, owing to the origin of HIV and the phylogenetic proximity of simian immunodeficiency virus (SIV) to HIV.⁴ However, these animals must be used sparingly and are very expensive, and therefore alternative models have been developed. Studies in humanized mouse models have improved our understanding of the specificity of human immune responses to pathogens, including HIV, and now constitute a translational bridge between fundamental research and clinical applications.^{5,6} They have the advantage of being able to be infected with HIV, and not a chimeric or simian virus, allowing observation

in conditions as close as possible to those in humans. Humanized mouse models are also increasingly used as preclinical models for evaluating new therapeutic agents for the cure or post-treatment control of HIV infection. As a prerequisite for further pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) studies, we developed a mouse pharmacokinetic model using three ARVs (tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine and dolutegravir) that were selected based on their preferred use as first-line treatments worldwide.^{7–10}

This study in mice had two main objectives: (i) to estimate and compare the plasma pharmacokinetic parameters of the three ARVs administered via two different routes and in different mouse strains, including humanized mice, in order to validate our models as providing a degree of plasma exposure similar to that in humans; and (ii) to study the steady-state tissue concentrations of these ARVs administered simultaneously in a wild-type murine model.

Methods

Animals

Two different strains of mice were used: wild-type BALB/c and the BALB/c Rag2^{tm1Fwa} IL2rg^{tm1Cgn} Sirpa^{NOD} Flk2^{tm1rl} HLA-A2^{HHd} (BRGSF-A2) strain, which carries multiple mutations in a BALB/c background to facilitate the acceptance of human xenografts.^{11–15} Only female animals (which are more likely to be used for human xenograft transplantation) were used in this study. BRGSF-A2 mice were used either without manipulation (i.e. without human xenografts) or as ‘human immune system’ (HIS) mice after the transplantation of CD34⁺ human haematopoietic stem cells.¹⁵ Mice were housed in stable groups of compatible individuals at the University Paris-Saclay facility, and were provided with access to food and followed light/dark cycles. The experiments performed on BRGSF-A2 mice and BALB/c animals as a control were approved by the local animal care and use committee (Ethics Committee, CEA Life Science Division (CETEA-CEA DSV IdF CEEA 044), Paris, France) and authorized by the French Ministry of Education and Research (reference: APAFIS #9405 & #9382).

Formulation of antiretroviral drugs

The combined antiretroviral therapy consisted of a three-drug regimen based on tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine and dolutegravir. ARV doses selected to approximate the human equivalent dose¹⁶ were tested in previous studies (data not shown) and then adapted to obtain an exposure closed to human. Two different routes of administration were compared: intraperitoneal (IP) and oral.

The solution for IP administration was prepared by dissolving tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine and dolutegravir in sterile water with parenteral-grade Kleptose HPB (Roquette Pharma, France), as previously described,¹⁷ to increase the solubility and the stability of the molecules.¹⁸

The solution for oral administration was prepared in a fashion similar to the IP formulation and then mixed with a sweetened water gel suspension, MediDrop Sucralose (ClearH2O, Westbrook, ME, USA). MediDrop Sucralose is an oral formulation for facilitating the delivery of drugs via water dispensers.

Single dose plasma pharmacokinetic study

Three mouse strains and two routes of administration were studied in a single dose pharmacokinetic study.

A single IP injection of tenofovir disoproxil fumarate (5.1 mg/kg), emtricitabine (40.0 mg/kg) and dolutegravir (2.5 mg/kg) was administered

to each of five BALB/c mice, five BRGSF-A2 mice and five HIS-BRGSF-A2 mice.

An oral formulation of tenofovir disoproxil fumarate (47.7 mg/kg), emtricitabine (188.0 mg/kg) and dolutegravir (12.6 mg/kg) was administered for 24 h via water bottles to 23 BALB/c mice. The concentrations of oral formulation were calculated based on the average daily volume of 5 mL ingested by a mouse.

Blood samples (200 µL) were collected from the anterior facial vein (oral route), 1, 2, 4, 6 and 24 h after the injection or after the end of oral treatment. For the IP injection study, one mouse of each group was sampled at each timepoint. For oral administration, four mice were sampled at T=0 h and T=4 h and five mice were sampled at the other timepoints.

Blood samples were centrifuged at 4000 g for 10 min at +4°C, and plasma samples were collected and stored at –80°C until analysis.

Steady-state tissue pharmacokinetic study

The oral formulation was administered to 25 BALB/c mice for 7 days via water bottles. One bottle per cage was provided *ad libitum* for the 7 days of administration. Five mice were euthanized by carbon dioxide inhalation as recommended by the European guidelines for welfare and euthanasia of small rodents at each timepoint: 0, 2, 4, 6 and 24 h after the end of treatment. Blood samples were collected at the first timepoint, and tissues, including the digestive tract (small intestine, caecum and colon), two elimination sites (liver and kidneys), the lymphatic system (mesenteric lymph nodes, spleen and thymus), three other tissues (pancreas, adipose tissue and lungs) and one expected sanctuary (brain) were collected at each timepoint. Blood samples were centrifuged at 4000 g for 10 min at +4°C and plasma samples were collected and stored at –80°C until analysis. Given the high proportions of the drug found in the faeces, especially for dolutegravir (96.7%),¹⁹ gastrointestinal tract tissue samples were first rinsed with Hank's balanced salt solution and 2% fetal bovine serum. Tissues were snap-frozen and stored at –80°C until analysis.

Drug assays

The tenofovir, emtricitabine and dolutegravir concentrations of plasma samples were measured simultaneously by a LC-MS/MS method, as previously described.²⁰

The tissues were thawed, weighed, mixed (1:5 w:v) with an acetonitrile:water (70:30 v:v) mixture and homogenized with a tissue homogenizer (7 m/s, 10 cycles of 30 s with 2 min of rest between each cycle, Minilys®, Bertin Technologies, France). They were then analysed by the same LC-MS/MS method, adapted to tissue.

Pharmacokinetic and statistical analysis

A non-compartmental analysis was performed with Phoenix WinNonlin 8.1 (Certara, Princeton, NJ, USA) to estimate the pharmacokinetic parameters. For the tissue pharmacokinetic study, the pharmacokinetic parameters were calculated on the median of the concentrations obtained at each timepoint.

The maximal concentration (C_{max}) and the concentration 24 hours post-dose (C_{24h}) were determined by observation. The areas under the curve (AUC) were estimated by the linear-up log-down trapezoidal method until 24 h post-dose (AUC_{0–24h}). The half-life ($t_{1/2}$) of the drug was estimated according to the formula $t_{1/2} = 0.693/\lambda_z$ where λ_z is the elimination rate constant derived from the terminal slope of the log concentration versus time curve.

Plasma and tissue C_{24h} were compared with wild-type HIV-1 90% inhibitory concentrations (IC₉₀) for tenofovir (2.98 ng/mL)²¹ and for emtricitabine (51 ng/mL).²² For dolutegravir, protein-adjusted IC₉₀ (PA-IC₉₀ = 64 ng/mL)²³ has been used as a commonly used and accepted

comparative parameter without knowing whether tissue binding of these drugs is the same as plasma protein binding. A tissue penetration factor (TPF) was calculated to estimate and compare antiretroviral drug penetration. TPF was calculated as the ratio of the tissue concentration of the drug to its concentration in the plasma after the conversion of tissue concentrations to nanograms per millilitre with a tissue density database.²⁴

All statistical analyses were performed with GraphPad Prism (version 9.0.0 for Windows, GraphPad Software). A Kruskal–Wallis test was performed with Dunn's multiple comparison test, to compare the TPFs for the three ARVs. Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant.

All numerical variables are expressed as medians and ranges unless otherwise indicated.

Results

Plasma pharmacokinetics, according to the route of administration and mouse strain

Plots of concentration against time and pharmacokinetic parameters are shown in Figure 1 and Table 1, respectively. After IP injection, the pharmacokinetic parameters were in the same range of magnitude whatever the mouse strain. Interestingly, after stopping the 24 h drug administration via drinking water, C_{24h} and exposures were also in the same range of magnitude as those for the IP route of administration.

For tenofovir and dolutegravir, all C_{24h} values were above the IC_{90} or $PA-IC_{90}$, respectively. For emtricitabine, C_{24h} values were close to the IC_{90} (Figure 1).

Half-lives were short, ranging from 5.4–11.9 h for tenofovir, from 2.8–5.9 h for emtricitabine and from 5.1–10.8 h for dolutegravir (Table 1).

Tissue exposure and distribution

The relative concentrations of the three ARVs as a function of time in the various systems after repeated oral administration are shown in Figure 2. Whatever the ARV, exposure levels in the brain were well below those in other tissues. For tenofovir,

AUC_{0-24h} was 52 ng·h/g in the brain, whereas it ranged from 1750 to 289 579 ng·h/g in the other tissues. Similarly, for emtricitabine, it was 1246 ng·h/g in brain, versus 5762 to 62 282 ng·h/g in other tissues, and for dolutegravir, it was 694 ng·h/g in the brain, versus 4743 to 16 416 ng·h/g in other tissues.

The pharmacokinetic profiles for dolutegravir revealed little variability between tissues, with the exception of the brain [excluding the brain, the coefficient of variation (CV) of the AUC_{0-24h} was 38%]. Greater variability of exposure was observed for emtricitabine (CV = 67%, brain excluded) and for tenofovir (CV = 124%, brain excluded).

Tissue half-lives ranged from 9.0–63.9 h for tenofovir, from 4.6–19.0 h for emtricitabine and from 4.4–6.8 h for dolutegravir. Half-lives were longer than those obtained for plasma in the single oral dose study for some tissues, for tenofovir (colon, pancreas, lymph node, spleen and adipose tissue) and for emtricitabine (small intestine and adipose tissue). Conversely, dolutegravir tissue half-lives were similar to dolutegravir plasma half-lives, for all tissues.

The 24 h post-dose tissue concentrations (C_{24h}) of the three drugs are grouped by system, in decreasing order of C_{24h} , in Figure 3(a): first the digestive tract [tenofovir, 3936 (766–9518) ng/g; emtricitabine, 282 (82–1116) ng/g; dolutegravir, 30 (9–355) ng/g], followed by the two elimination sites, the liver and kidneys [tenofovir, 1470 (1189–2426) ng/g; emtricitabine, 157 (70–615) ng/g; dolutegravir, 39 (26–96) ng/g], then the lymphatic system [tenofovir, 78 (54–337) ng/g; emtricitabine, 147 (79–186) ng/g; dolutegravir, 28 (18–51) ng/g] and other tissues, such as the pancreas, adipose tissue and lungs [tenofovir, 71 (20–705) ng/g; emtricitabine, 67 (44–316) ng/g; dolutegravir, 28 (22–78) ng/g]. Finally, the brain, as expected, was a sanctuary [tenofovir, 5 (4–7) ng/g; emtricitabine, 8 (7–22) ng/g; dolutegravir, 5 (3–6) ng/g]. Concentrations were above the corresponding ICs in all tissues for tenofovir, in all tissues except the brain for emtricitabine, and in none of the tissues for dolutegravir (Figure 3a).

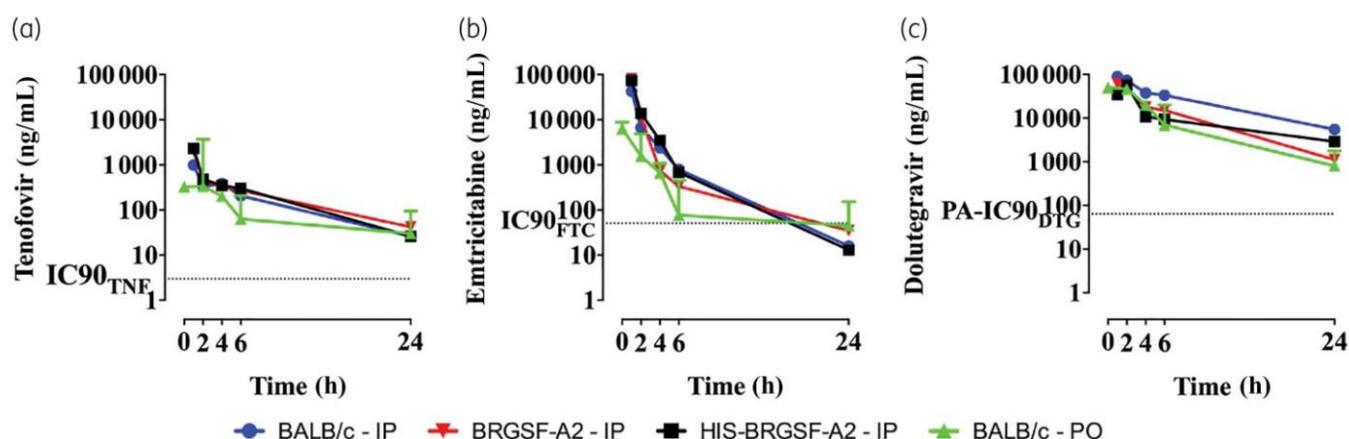


Figure 1. Plasma concentrations over time for tenofovir (a), emtricitabine (b) and dolutegravir (c), following a single administration. Results are shown as the median (range). IP, intraperitoneal route, one mouse sampled per timepoint ($n = 5$). PO, oral route, four or five mice sampled per timepoint ($n = 23$). $IC_{90_{TNF1}}$, wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration for tenofovir. $IC_{90_{FTIC}}$, wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration for emtricitabine. $PA-IC_{90_{DTC}}$, wild-type HIV-1 protein-adjusted 90% inhibitory concentration for dolutegravir. This figure appears in colour in the online version of JAC and in black and white in the print version of JAC.

The tissue penetration factors are shown in Figure 3(b). They ranged from 6.3% to 17 920.6% for tenofovir, 6.3% to 531.5% for emtricitabine and 0.8% to 24.0% for dolutegravir. The TPFs for tenofovir and emtricitabine were not significantly different ($P=0.5251$). These two drugs were found to diffuse widely, particularly in certain tissues, such as the digestive tract, the two elimination sites and the pancreas. The TPFs obtained for tenofovir exceeded 100% in all tissues except the lung and brain. Emtricitabine had a TPF above 100% in two-thirds of the tissues studied. The TPFs obtained for dolutegravir were significantly lower than those for the other two ARVs ($P<0.0001$ versus tenofovir and $P=0.0124$ versus emtricitabine). With TPFs below 100% for all the tissues studied, dolutegravir was considered to have a low penetration capacity.

Discussion

In this study in wild-type (BALB/c) and genetically modified (BRGSF-A2) mice, we demonstrated that it was possible to administer several antiretroviral drugs simultaneously and easily at doses providing an exposure similar to that observed in humans treated at the therapeutic doses.^{23,25,26} In the wild-type BALB/c mouse model, we were able to characterize the tissue exposure and penetration of three ARVs: tenofovir, emtricitabine and dolutegravir. In mouse studies, the effect of ARVs is often evaluated only in terms of the decrease in plasma viral load and the restoration of CD4⁺ T-cell counts,^{27,28} with only a few studies reporting validated pharmacological data.^{29,30} Interestingly, the pharmacokinetic parameters of the three ARVs studied were similar in the three mouse models studied here, including HIS mice. We found that ARV concentrations differed between the tissues studied, and between the three ARVs studied, with possible immunovirological consequences.

The establishment of a mouse model of long-term ARV administration was challenging. We first had to develop a

pharmaceutical formulation for the simultaneous administration of the three chosen ARVs and we then had to characterize the single-dose pharmacokinetics of the three selected drugs. The oral route, with administration via bottles of drinking water, has the advantage of allowing mid- or long-term study and does not require manipulation of the animal, thus reducing the stress experienced by the animal and the possible exposure of experimenters to biohazards; it also requires no physico-chemical adjustment. The use of the oral route resulted in lower maximal concentrations than administration by the IP route, with no change to the AUC, and, thus, exposure, and no decrease in trough concentrations. All the main parameters for all three ARVs were in the same range of magnitude, consistent with human parameters, regardless of the route of administration.^{23,25,26}

Having demonstrated that pharmacokinetic parameters after oral administration via drinking water were similar to those obtained by IP injection, we administered ARVs via drinking water provided *ad libitum*, for repeated administration for the tissue distribution study conducted in BALB/c mice. Few previous studies have described the tissue distributions of ARVs, and most of these studies focused on specific tissues, such as the lymphoid tissues,³¹ brain,³² or genital tract and rectal tissue.³³ This is, to our knowledge, the first description of the distribution of a first-line treatment option worldwide administered simultaneously in several different tissues.

We found that pharmacokinetics differed considerably between tissues and between ARVs. Interestingly, the half-lives were longer for tenofovir and emtricitabine in some tissues. Few previously reported tissue half-lives are available. One study reported longer half-lives in vaginal and colon tissues than in plasma for tenofovir,³⁴ which is consistent with our data. A strong tissue binding of the ARVs concerned in these tissues, a link with the different phosphorylation steps necessary for these nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors or an affinity for any

Table 1. Pharmacokinetic parameters of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir after intraperitoneal and oral administration

Route of administration – mouse strain	C _{max} (ng/mL)	C _{24h} (ng/mL)	AUC _{0→24h} (ng·h/mL)	t _{1/2} (h)
Tenofovir				
IP—BALB/c	995	26	4008	5.7
IP—BRGSF-A2	2064	42	6103	8.1
IP—HIS-BRGSF-A2	2323	26	5810	5.4
PO—BALB/c, median (range)	334 (209–3674)	30 (17–94)	6977	11.9
Emtricitabine				
IP—BALB/c	42 566	16	56 690	3.0
IP—BRGSF-A2	81 277	35	84 510	5.9
IP—HIS-BRGSF-A2	73 899	13	91 960	2.8
PO—BALB/c, median (range)	6334 (3232–8859)	45 (5–153)	86 366	5.6
Dolutegravir				
IP—BALB/c	89 445	5530	592 091	7.2
IP—BRGSF-A2	62 072	1121	292 872	5.9
IP—HIS-BRGSF-A2	57 457	2913	239 590	10.8
PO—BALB/c, median (range)	50 471 (42 376–59 314)	807 (472–1785)	824 601	5.1

IP, intraperitoneal route, one mouse sampled per timepoint ($n=5$). PO, oral route, four or five mice sampled per timepoint ($n=23$). C_{max}, maximal concentration. C_{24h}, 24 h post-dose concentration. AUC_{0→24h}, area under the curve until 24 h post-dose. t_{1/2}, half-life.

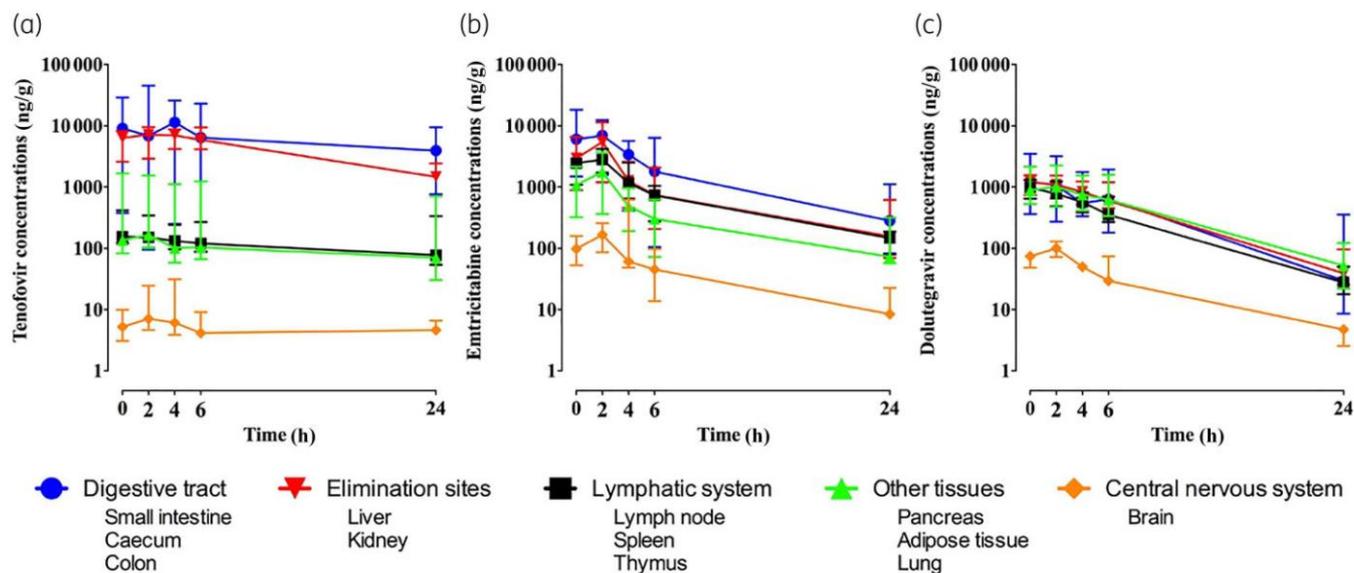


Figure 2. Changes in tissue concentrations over time for tenofovir (a), emtricitabine (b) and dolutegravir (c) at steady-state after oral administration in BALB/c mice. Results are shown as the median (range) for five mice per tissue, except for the lymph nodes ($n=1$) and thymus ($n=2$). This figure appears in colour in the online version of *JAC* and in black and white in the print version of *JAC*.

influx transporter are part of our hypotheses. Concerning the 24 h post-dose concentrations, this variability between tissues was decreased by grouping tissues by system. C_{24h} were the highest in the digestive tract. For the selected dose regimen, tenofovir and emtricitabine concentrations were of a similar order of magnitude to those reported for the ileum, duodenum or rectum in humans.^{21,35,36} Pharmacokinetic parameters for dolutegravir have been reported for human colorectal tissue and were similar to those obtained in our murine model.³³ Furthermore, the tissue penetration factors of the three drugs studied in the digestive tract were close to that in humans.²¹ Despite this high degree of tissue penetration for dolutegravir, digestive tract concentrations remained below PA-IC₉₀.

The kidneys and liver, the elimination sites studied, were the tissues with the second-highest level of exposure, potentially reflecting their high degree of vascularization. Moreover, tenofovir is eliminated principally via the proximal tubules of the kidney. Both influx (SLC22A6, SLC22A8) and efflux (ABCC4, ABCC10) transporters are therefore believed to play a role in long-term kidney toxicity, due to the accumulation of tenofovir in the proximal tubule cells.³⁷ Renal elimination levels were high for emtricitabine (86%),³⁸ and low for dolutegravir (<1%).³⁹ This finding is consistent with the observed concentrations of tenofovir and emtricitabine above the corresponding IC₉₀ values and dolutegravir concentrations below the PA-IC₉₀ for the kidney.

The lymphatic system, including the lymph nodes, spleen and thymus, and various other tissues, including the pancreas, adipose tissue and lungs, presented similar levels of exposure to the three ARVs studied. Very similar concentrations of tenofovir, emtricitabine,⁴⁰ and dolutegravir⁴¹ were observed in the lymph nodes. The relatively poor distribution of these drugs in the adipose tissue may be partly explained by the hydrophilic nature of the two nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors. Interestingly, the lungs were the only organ other than the brain

for which the tissue penetration factor was below 100% for all three ARVs. Overall, exposure to tenofovir and emtricitabine was sufficient, with concentrations above the corresponding IC₉₀ values, but insufficient for dolutegravir, with trough concentrations below the PA-IC₉₀ in all tissues tested.

The brain, which is an expected pharmacological sanctuary, had the lowest level of exposure, with only tenofovir reaching concentrations above the IC₉₀. The tissue penetration factors obtained were similar to those reported in a post-mortem study on humans.³² The poor distribution of these drugs to the brain can be accounted for by the intrinsic properties of brain tissues. Indeed, the blood-brain barrier can limit the diffusion of ARVs into the brain. Moreover, there is a high density of efflux proteins at the blood-brain barrier. For example, dolutegravir is a substrate for the efflux transporters ABCB1 and ABCG2, both of which are present at the blood-brain barrier.⁴² In addition, the high plasma protein binding rate of dolutegravir may limit its diffusion.

Our animal model made it possible to compare the tissue distributions of the three ARVs, which we were able to classify on the basis of diffusion capacity. Tenofovir and emtricitabine had the highest diffusion capacity, followed by dolutegravir, for which all tissue concentrations were below plasma concentrations. These differences can be explained by the physicochemical and pharmacokinetic differences between these ARVs. For example, tenofovir and emtricitabine have lower molecular weights and are less bound to plasma proteins.^{38,43} In contrast, dolutegravir displays a high rate of binding to plasma proteins and is a substrate of ubiquitous efflux transporters.^{42,44} This may explain why tissue levels of dolutegravir were <25% of the levels in plasma, regardless of the tissue explored. Importantly, none of the 12 tissues studied could be considered to be subject to effective triple therapy. These data raise concerns about virological persistence in these tissue reservoirs.

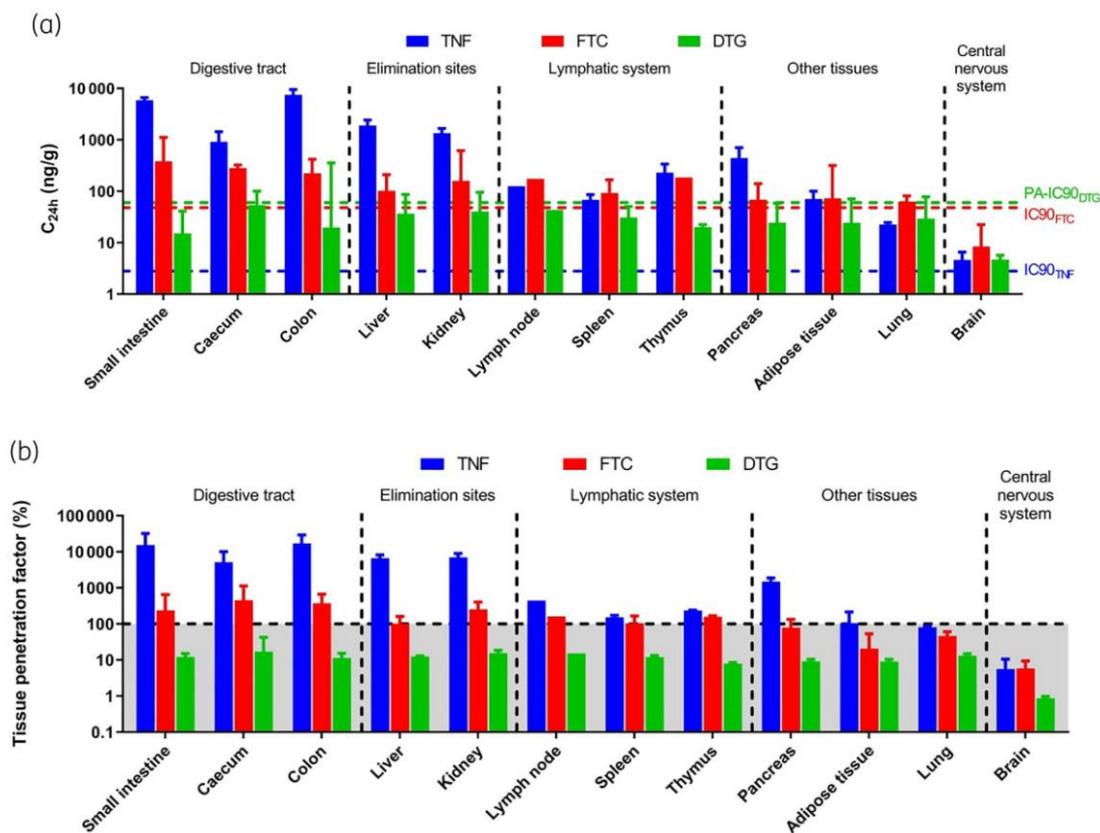


Figure 3. 24 h post-dose tissue concentrations (a) and tissue penetration factors (b) for tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in various tissues of BALB/c mice. Results are shown as the median (range) for five mice per tissue, except for the lymph nodes ($n=1$) and thymus ($n=2$). PA-IC₉₀_{DTG}, wild-type HIV-1 protein-adjusted 90% inhibitory concentration for dolutegravir (DTG). IC₉₀_{FTC}, wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration for emtricitabine (FTC). IC₉₀_{TNF}, wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration for tenofovir (TNF). This figure appears in colour in the online version of JAC and in black and white in the print version of JAC.

This study has a number of limitations. First, oral administration via freely available drinking water results in uncertainties concerning the amount of drug ingested. However, mice are known to drink overnight, leading to a steady-state concentration with a C_{max} in the morning and a trough at the end of the day. Our data are consistent with this model, as trough concentrations were higher than the IC₉₀ in plasma and consistent with human data. We can, therefore, conclude that such administration is safe and convenient for a steady-state PK/PD model in humanized mice. Second, the active forms, tenofovir 5'-diphosphate and emtricitabine 5'-triphosphate, were not assayed. Nevertheless, tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine, which reached high concentrations in some tissues, would be expected to be phosphorylated to produce the active moiety, provided that kinase activities are not a limiting factor. Third, tissue diffusion was studied in less costly BALB/c mice. It remains unclear what effect humanization and different immunological surroundings would have on diffusion. Nevertheless, we obtained ARV plasma pharmacokinetic parameters of the same order of magnitude for all mouse strains tested.

In conclusion, we have developed an appropriate mouse model for further PK/PD studies in HIV-infected humanized mice with the goal of evaluating immunovirological responses

as a function of drug concentration in various reservoirs and compartments. For a more accurate assessment of the impact on viral latency, we would need to determine intracellular anti-retroviral drug concentrations. These data have important implications for future preclinical and clinical studies for the development of new HIV therapies towards an HIV cure.

Acknowledgements

We thank James P. Di Santo for providing the BRGSF-A2 mice. We thank Anne-Marie Taburet and Guillemette Masse-Ranson for their expertise and help with this study. Thibaut Gelé thanks ANRS *Maladies infectieuses émergentes* for funding the third year of his PhD.

Funding

This study was supported by the UMR1184 research centre. Thibaut Gelé was supported by ANRS *Maladies Infectieuses émergentes* for the third year of his PhD (grant number 20441).

Transparency declarations

O.L. reports speaker fees from MSD and Gilead, and a grant from Gilead outside the submitted work. A.B.T. reports personal fees from Gilead, ViiV,

Janssen, Roche, Abbvie, and MSD. None of the other authors have any conflicts to report.

References

- 1 Molina J-M, Clotet B, van Lunzen J et al. Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir for treatment-naïve adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 96 week results from a randomised, open-label, phase 3b study. *Lancet HIV* 2015; **2**: e127–36.
- 2 Lorenzo-Redondo R, Fryer HR, Bedford T et al. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. *Nature* 2016; **530**: 51–6.
- 3 Fletcher CV, Staskus K, Wietgreffe SW et al. Persistent HIV-1 replication is associated with lower antiretroviral drug concentrations in lymphatic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; **111**: 2307–12.
- 4 Worobey M, Telfer P, Souquière S et al. Island biogeography reveals the deep history of HIV. *Science* 2010; **329**: 1487–7.
- 5 Shultz LD, Brehm MA, Garcia-Martinez JV et al. Humanized mice for immune system investigation: progress, promise and challenges. *Nat Rev Immunol* 2012; **12**: 786–98.
- 6 Akkina R. New generation humanized mice for virus research: comparative aspects and future prospects. *Virology* 2013; **435**: 14–28.
- 7 Department of Health and Human Services. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. 2019. <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>.
- 8 European AIDS Clinical Society. European Guidelines for the treatment of HIV-positive adults in Europe. 2019. https://www.eacsociety.org/files/2019_guidelines-10.0_final.pdf.
- 9 Saag MS, Benson CA, Gandhi RT et al. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2018 recommendations of the international antiviral society–USA panel. *JAMA* 2018; **320**: 379.
- 10 World Health Organization. WHO recommends dolutegravir as preferred HIV treatment option in all populations. 2019. <https://www.who.int/news-room/detail/22-07-2019-who-recommends-dolutegravir-as-preferred-hiv-treatment-option-in-all-populations>.
- 11 Legrand N, Huntington ND, Nagasawa M et al. Functional CD47/signal regulatory protein alpha (SIRP(alpha)) interaction is required for optimal human T- and natural killer- (NK) cell homeostasis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; **108**: 13224–9.
- 12 Li Y, Mention J-J, Court N et al. A novel Flt3-deficient HIS mouse model with selective enhancement of human DC development. *Eur J Immunol* 2016; **46**: 1291–9.
- 13 DiSanto JP, Müller W, Guy-Grand D et al. Lymphoid development in mice with a targeted deletion of the interleukin 2 receptor gamma chain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; **92**: 377–81.
- 14 Mackaretschian K, Hardin JD, Moore KA et al. Targeted disruption of the flk2/flt3 gene leads to deficiencies in primitive hematopoietic progenitors. *Immunity* 1995; **3**: 147–61.
- 15 Labarthe L, Henriquez S, Lambotte O et al. Frontline science: exhaustion and senescence marker profiles on human T cells in BRGSF-A2 humanized mice resemble those in human samples. *J Leukoc Biol* 2020; **107**: 27–42.
- 16 US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry - Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005. <https://www.fda.gov/media/72309/download>.
- 17 Del Prete GQ, Smedley J, Macallister R et al. Short communication: comparative evaluation of coformulated injectable combination antiretroviral therapy regimens in simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2016; **32**: 163–8.
- 18 Loftsson T, Jarho P, Måsson M et al. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 2005; **2**: 335–51.
- 19 Moss L, Wagner D, Kanaoka E et al. The comparative disposition and metabolism of dolutegravir, a potent HIV-1 integrase inhibitor, in mice, rats, and monkeys. *Xenobiotica* 2015; **45**: 60–70.
- 20 Gouget H, Noé G, Barrail-Tran A et al. UPLC–MS/MS method for the simultaneous quantification of bicitegravir and 13 others antiretroviral drugs plus cobicistat and ritonavir boosters in human plasma. *J Pharm Biomed Anal* 2020; **181**: 113057.
- 21 Thompson CG, Rosen EP, Prince HMA et al. Heterogeneous antiretroviral drug distribution and HIV/SHIV detection in the gut of three species. *Sci Transl Med* 2019; **11**: eaap8758.
- 22 Flynn PM, Mirochnick M, Shapiro DE et al. Pharmacokinetics and safety of single-dose tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine in HIV-1-infected pregnant women and their infants. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**: 5914–22.
- 23 Min S, Song I, Borland J et al. Pharmacokinetics and safety of S/GSK1349572, a next-generation HIV integrase inhibitor, in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 254–8.
- 24 Hasgall P, Di Gennaro F, Baumgartner C et al. IT'IS Database for thermal and electromagnetic parameters of biological tissues. 2018; Version 4.0.
- 25 Barditch-Crovo P, Deeks SG, Collier A et al. Phase i/ii trial of the pharmacokinetics, safety, and antiretroviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in human immunodeficiency virus-infected adults. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**: 2733–9.
- 26 Blum MR, Chittick GE, Begley JA et al. Steady-state pharmacokinetics of emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate administered alone and in combination in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 2007; **47**: 751–9.
- 27 Denton PW, Olesen R, Choudhary SK et al. Generation of HIV latency in humanized BLT mice. *J Virol* 2012; **86**: 630–4.
- 28 Marsden MD, Kovochich M, Suree N et al. HIV latency in the humanized BLT mouse. *J Virol* 2012; **86**: 339–47.
- 29 Choudhary SK, Rezk NL, Ince WL et al. Suppression of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) viremia with reverse transcriptase and integrase inhibitors, CD4⁺ T-cell recovery, and viral rebound upon interruption of therapy in a new model for HIV treatment in the humanized Rag2^{-/-}γc^{-/-} mouse. *J Virol* 2009; **83**: 8254–8.
- 30 Nischang M, Suttmüller R, Gers-Huber G et al. Humanized mice recapitulate key features of HIV-1 infection: a novel concept using long-acting anti-retroviral drugs for treating HIV-1. *PLoS One* 2012; **7**: e38853.
- 31 Dyavar SR, Gautam N, Podany AT et al. Assessing the lymphoid tissue bioavailability of antiretrovirals in human primary lymphoid endothelial cells and in mice. *J Antimicrob Chemother* 2019; **74**: 2974–8.
- 32 Nicol MR, Pastick KA, Taylor J et al. Cerebrospinal fluid and brain tissue penetration of tenofovir, lamivudine, and efavirenz in postmortem tissues with cryptococcal meningitis. *Clin Transl Sci* 2019; **12**: 445–9.
- 33 Greener BN, Patterson KB, Prince HMA et al. Dolutegravir pharmacokinetics in the genital tract and colorectum of HIV-negative men after single and multiple dosing. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013; **64**: 39–44.
- 34 Louissaint NA, Cao Y-J, Skipper PL et al. Single dose pharmacokinetics of oral tenofovir in plasma, peripheral blood mononuclear cells, colonic tissue, and vaginal tissue. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2013; **29**: 1443–50.
- 35 Asmuth DM, Thompson CG, Chun T-W et al. Tissue pharmacologic and virologic determinants of duodenal and rectal gastrointestinal-associated lymphoid tissue immune reconstitution in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2017; **216**: 813–8.
- 36 Patterson KB, Prince HA, Kraft E et al. Penetration of tenofovir and emtricitabine in mucosal tissues: implications for prevention of HIV-1 transmission. *Sci Transl Med* 2011; **3**: 112re4.

- 37** Moss DM, Neary M, Owen A. The role of drug transporters in the kidney: lessons from tenofovir. *Front Pharmacol* 2014; **5**: 248.
- 38** FDA Approved Drug Products. EMTRIVA® (emtricitabine) capsule, for oral use. 2003.
- 39** FDA Approved Drug Products. TIVICAY® (dolutegravir) tablets, for oral use. 2013.
- 40** Burgunder E, Fallon JK, White N *et al*. Antiretroviral drug concentrations in lymph nodes: a cross-species comparison of the effect of drug transporter expression, viral infection, and sex in humanized mice, nonhuman primates, and humans. *J Pharmacol Exp Ther* 2019; **370**: 360–8.
- 41** Fletcher CV, Thorkelson A, Winchester LC *et al*. Comparative lymphoid tissue pharmacokinetics (PK) of integrase inhibitors (INSTI). The 25th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 4-7 March 2018. Boston, Massachusetts. 2018. Abstract 27.
- 42** Reese MJ, Savina PM, Generaux GT *et al*. In vitro investigations into the roles of drug transporters and metabolizing enzymes in the disposition and drug interactions of dolutegravir, a HIV integrase inhibitor. *Drug Metab Dispos* 2013; **41**: 353–61.
- 43** Custodio JM, Fordyce M, Garner W *et al*. Pharmacokinetics and safety of tenofovir alafenamide in HIV-uninfected subjects with severe renal impairment. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; **60**: 5135–40.
- 44** Gelé T, Gouget H, Furlan V *et al*. Characteristics of dolutegravir and bictegravir plasma protein binding: a first approach for the study of pharmacologic sanctuaries. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; **64**: e00895-20.

5. Etudes précliniques chez le modèle primate non-humain

5.1. Contexte

Après la validation pharmacologique et l'étude de la diffusion tissulaire réalisées chez un petit modèle animal, le modèle rongeur, ces mêmes études sont nécessaires chez un modèle animal plus grand et plus proche de l'Homme : le primate non-humain. En effet, dans ce modèle plus grand, certaines parties d'un tissu spécifique peuvent alors être étudiées séparément, permettant l'obtention d'une cartographie plus fine. C'est le cas par exemple au niveau du tractus digestif où les différentes parties de l'intestin grêle peuvent être étudiées séparément. De plus certains tissus trop petits chez le modèle rongeur, *a fortiori* chez la souris pourront être étudiés. C'est le cas des tonsilles par exemple.

Cette étude préclinique se place dans un contexte de développement d'un modèle primate non-humain chroniquement infecté par le SIV et traité pendant 24 mois avec la combinaison antirétrovirale étudiée. Cette ressource, appelée SIVART et financée par l'ANRS | MIE est accessible à la communauté scientifique pour l'étude des réservoirs viraux, des sanctuaires pharmacologiques et des stratégies de preuve de concept de guérison. SIVART est un groupe de 18 primates non-humains (Desjardins *et al.*, 2016).

L'étude de la diffusion tissulaire chez le macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*) comporte les deux mêmes étapes que chez la souris. La première étape est une étude plasmatique de validation des voies d'administration et des posologies associées. La deuxième étape est une étude au niveau tissulaire des concentrations des trois médicaments antirétroviraux.

5.2. Etude pharmacocinétique plasmatique

5.2.1. Objectif et principaux résultats

Le but de cette première étude chez le PNH est de valider pharmacologiquement un modèle chroniquement infecté par la souche pathogène SIVmac251 et traité au long terme avec les trois médicaments antirétroviraux étudiés.

Une première sous-étude pharmacocinétique à dose unique de TDF, FTC et DTG chez treize macaques non infectés a d'abord été menée pour comparer les voies et déterminer, sur la base des paramètres pharmacocinétiques, la voie d'administration la plus appropriée (n = 2 pour la voie orale, n = 7 pour la voie SC et n = 4 pour la voie IV). Puis, dans une seconde sous-étude, douze macaques infectés chroniquement par la souche pathogène SIVmac251 ont été traités avec ces trois mêmes médicaments antirétroviraux pendant au moins 2 ans. Un suivi thérapeutique pharmacologique a été réalisé et l'efficacité virologique ainsi que la sécurité ont été évaluées tout au long de l'étude.

Pour l'étude pharmacocinétique à dose unique, les concentrations plasmatiques 24 h après l'administration étaient supérieures à la CI_{90} chez tous les macaques, à l'exception du FTC chez trois macaques parmi les sept traités par voie SC. Pour ceux-ci, les concentrations étaient néanmoins proches de la CI_{90} du FTC. L'administration de la combinaison antirétrovirale par voie SC a permis d'obtenir des concentrations plasmatiques cohérentes aux données humaines, avec de plus faibles variabilités interindividuelles par rapport à la voie orale. Cette voie d'administration a donc été choisie pour le traitement au long terme des macaques chroniquement infectés par la souche SIVmac251.

Au cours du suivi d'au moins deux ans, les données pharmacologiques étaient cohérentes avec les données observées chez l'Homme avec des variabilités inter et intra-individuelles faibles. Une efficacité virologique rapide et soutenue a également été observée chez les macaques avec un bon profil de tolérance.

Dans l'ensemble, le modèle de PNH chroniquement infecté et traité avec la combinaison de médicaments antirétroviraux TDF, FTC et DTG sur une période de deux ans est un modèle approprié pour étudier la question des sanctuaires pharmacologiques dans l'infection par le VIH et pour explorer des stratégies d'éradication ou de guérison du VIH.

5.2.2. Article 3 : Pharmacological Validation of Long-Term Treatment with Antiretroviral Drugs in a Model of SIV-Infected Non-Human Primates

Ci-après est présenté l'article publié le 25 octobre 2022 dans le journal *Pharmaceutics*.

GELÉ Thibaut, GOUGET Hélène, DEREUDDRE-BOSQUET Nathalie, FURLAN Valérie, LE GRAND Roger, LAMBOTTE Olivier, DESJARDINS Delphine et BARRAIL-TRAN Aurélie

Pharmacological Validation of Long-Term Treatment with Antiretroviral Drugs in a Model of SIV-Infected Non-Human Primates

Pharmaceutics 14, n° 11 (2022): 2282

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112282>

Article

Pharmacological Validation of Long-Term Treatment with Antiretroviral Drugs in a Model of SIV-Infected Non-Human Primates

Thibaut Gelé ¹, Hélène Gouget ¹, Nathalie Dereuddre-Bosquet ¹, Valérie Furlan ², Roger Le Grand ¹, Olivier Lambotte ³, Delphine Desjardins ¹ and Aurélie Barrail-Tran ^{4,*}

¹ Immunologie des Maladies Virales, Auto-Immunes, Hématologiques et Bactériennes, Université Paris-Saclay, Inserm, CEA, 92265 Fontenay-aux-Roses, France

² Service de Pharmacologie-Toxicologie, Hôpital Bicêtre, AP-HP, Université Paris-Saclay, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

³ Immunologie des Maladies Virales, Auto-Immunes, Hématologiques et Bactériennes, Service de Médecine Interne Immunologie Clinique, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay, AP-HP, Inserm, CEA, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

⁴ Immunologie des Maladies Virales, Auto-immunes, Hématologiques et Bactériennes, Service de Pharmacie, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay, AP-HP, Inserm, CEA, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France

* Correspondence: aurelie.barrail-tran@aphp.fr; Tel.: +33-1-45-21-29-64

Citation: Gelé, T.; Gouget, H.; Dereuddre-Bosquet, N.; Furlan, V.; Le Grand, R.; Lambotte, O.; Desjardins, D.; Barrail-Tran, A. Pharmacological Validation of Long-Term Treatment with Antiretroviral Drugs in a Model of SIV-Infected Non-Human Primates. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 2282. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112282>

Academic Editor: Maria Teresa Cruz

Received: 23 September 2022

Accepted: 20 October 2022

Published: 25 October 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The development of animal models undergoing long-term antiretroviral treatment (ART) makes it possible to understand a number of immunological, virological, and pharmacological issues, key factors in the management of HIV infection. We aimed to pharmacologically validate a non-human primate (NHP) model treated in the long term with antiretroviral drugs after infection with the pathogenic SIVmac251 strain. A single-dose pharmacokinetic study of tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and dolutegravir was first conducted on 13 non-infected macaques to compare three different routes of administration. Then, 12 simian immunodeficiency virus (SIV)-infected (SIV⁺) macaques were treated with the same regimen for two years. Drug monitoring, virological efficacy, and safety were evaluated throughout the study. For the single-dose pharmacokinetic study, 24-h post-dose plasma concentrations for all macaques were above or close to 90% inhibitory concentrations and consistent with human data. During the two-year follow-up, the pharmacological data were consistent with those observed in humans, with low inter- and intra-individual variability. Rapid and sustained virological efficacy was observed for all macaques, with a good safety profile. Overall, our SIV⁺ NHP model treated with the ART combination over a two-year period is suitable for investigating the question of pharmacological sanctuaries in HIV infection and exploring strategies for an HIV cure.

Keywords: tenofovir/emtricitabine/dolutegravir; pharmacokinetics; long-term treatment; non-human primate

1. Introduction

In the management of people living with HIV (PLWHIV), current antiretroviral treatment (ART) is effective in achieving and maintaining undetectable plasma HIV-RNA levels [1]. However, it does not eradicate the virus from reservoirs [2]. Among the factors of viral persistence is the presence of long-lived cells harbouring replication-competent HIV in a latent state coupled with insufficient tissular diffusion of current antiretroviral drugs (ARVs), leading to subtherapeutic concentrations and the establishment of pharmacological sanctuaries [3–6]. A better understanding of the mechanisms of HIV persistence is crucial for the optimisation of strategies to achieve an HIV cure [7]. Studies to investigate

determinants of HIV reservoirs, such as the distribution of antiretroviral drugs in tissues or immunological responses, require access to tissues and cells [8–10].

Animal models are critical for tissue-based studies. Non-human primates (NHPs) can be infected with the pathogenic simian immunodeficiency virus (SIV), which recapitulates many of the characteristics of HIV infection and AIDS in humans [11,12]. The use of this animal model over the last several decades has allowed a better understanding of the disease [13]. Comparisons of the results obtained in NHP models with those observed in human studies will lead to further improvement in our scientific knowledge [14–16], especially for the development of therapeutic strategies towards an HIV cure.

Access to NHP models that show plasma exposure similar to that in humans and robust suppression of viremia is a prerequisite for understanding the mechanisms of viral persistence under suppressive ART. We selected tenofovir (TNF) disoproxil fumarate (TDF), emtricitabine (FTC), and dolutegravir (DTG), as they are among the preferred first-line treatment options worldwide [17–20].

This study had two main objectives: (1) to estimate and compare plasma pharmacokinetic (PK) parameters of the three ARVs administered by three different routes of administration to determine whether the selected doses result in plasma exposure equivalent to that observed in humans and (2) to determine the systemic levels of ARV drugs in our SIV-infected (SIV⁺) NHP model on long-term ART.

2. Materials and Methods

2.1. Animals

Cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) were imported from Mauritius and housed at the IDMIT animal facility at the Commissariat à l’Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA, Fontenay-aux-Roses, France). All NHP studies at the CEA are conducted in accordance with French National Regulations under the supervision of National Veterinary Inspectors (CEA accreditation number D92-032-02). The CEA complies with the Standards for Human Care and Use of Laboratory Animals of the Office for Laboratory Animal Welfare (OLAW, Bethesda, MD, USA) under OLAW Assurance number #A5826-01. All experimental procedures were conducted according to European Directive 2010/63 (Recommendation number 9). The study was approved by the ethics committee “Comité d’éthique en expérimentation animale dn°44” and the French Ministry of Education and Research under reference APAFIS#2453-2015102713323361.

Two groups of macaques were used in this study: 13 non-infected macaques and 12 macaques infected with the pathogenic SIVmac251 strain.

2.2. Antiretroviral Drug Formulations

The combined antiretroviral therapy (cART) consisted of a three-drug regimen comprised of TDF, FTC, and DTG. Three different routes of administration were compared: oral (PO), subcutaneous (SC), and intravenous (IV).

Treatment for the PO route was prepared by crushing commercially available 300 mg TDF and 50 mg DTG tablets and opening commercially available 200 mg FTC capsules and resuspending the powder in the flavoured oral suspending vehicle Ora-Blend (Perigo Company plc, Allegan, MI, USA).

Solutions for the SC and IV routes were prepared by dissolving TDF, FTC, and DTG in sterile water using parenteral grade Kleptose HPB (Roquette Pharma, Lestrem, France), as previously described [21], to enhance the solubility and stability of the molecules.

2.3. Single-Dose Antiretroviral Drug Plasma Pharmacokinetic Study

To compare the pharmacokinetic parameters, 13 non-infected male cynomolgus macaques were assigned to three groups according to the route of administration. ARV doses were selected to approximate the human equivalent dose [22]. The oral formulation of TDF (44 mg/kg), FTC (50 mg/kg), and DTG (20 mg/kg) was administered once by gavage

to two cynomolgus macaques. A single SC or IV injection of TDF (5.1 mg/kg), FTC (40.0 mg/kg), and DTG (2.5 mg/kg) was administered to seven and four cynomolgus macaques, respectively.

2.4. Repeated Antiretroviral Doses in Long-Term ART-Treated SIV-Infected NHP

To investigate the long-term administration of ARVs, 12 cynomolgus macaques were inoculated by the intravenous route with 1000 50% animal infectious doses (AID50) of cell-free SIVmac251 (kindly provided by A.M. Aubertin, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France). The pathogenicity of this strain without antiretroviral treatment has already been shown, hence the absence of a control group [23].

The treatment was initiated 17 weeks post-infection, during the chronic phase of infection, for all NHPs [23]. Infected animals were assigned into two groups according to the route of ART administration at the time of initiation: six animals treated by the SC route and six animals by the PO route for the first eight weeks. For the PO route, ART was administered using an oral formulation of TDF (30 mg/kg), FTC (40 mg/kg), and DTG (20 mg/kg). For the SC route, the doses were 5.1/40.0/2.5 mg/kg for TDF/FTC/DTG, respectively. After eight weeks, all macaques were treated by the SC route for two years (Figure S1).

2.5. Blood Samples and Antiretroviral Drug Assays

For the single-dose pharmacokinetic study, blood samples were collected 0.25 (only for IV injection), 1, 2, 4, 6, and 24 h after ART administration.

For the long-term study, blood samples were collected just before ART administration and on days 1, 3, 8, 15, 21, 28, 43, and 58 and then every one or two months up to two years after treatment initiation. All animals were euthanised at the last sample time.

Blood samples were centrifuged at $4000\times g$ for 10 min at $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ and the resulting plasma samples collected and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. The concentrations of TNF, FTC, and DTG were measured simultaneously in plasma samples using an LC-MS/MS method, as previously described [24]. Briefly, 100 μL plasma was mixed with 300 μL acetonitrile containing deuterated internal standards. The samples were then vortexed and centrifuged and 50 μL of the supernatant mixed with 750 μL of an aqueous solution containing 0.1% formic acid. Finally, 20 μL was injected into the LC-MS/MS system (TSQ AL-TIS, Thermo Fisher Scientific, Villebon-sur-Yvette, France).

2.6. Efficacy and Safety Assessments

Quantitative RT-PCR was performed on the plasma of ART-treated SIV⁺ NHPs to monitor plasma viral load (VL) using a SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR Kit (Thermo Fisher Scientific, Villebon-sur-Yvette, France) with a CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France). Primary virological efficacy was assessed based on the change from pre-cART plasma VL to the VL at week 8 of cART, the last sampling before switching from the oral treatment to the SC route for the oral group. The secondary virological efficacy endpoint was the percentage of macaques with a plasma viral load <40 copies/mL at month 6 and at the end of the study.

The treatment-emergent adverse events were recorded to evaluate safety, both in the single-dose study and for the ART-treated SIV⁺ NHPs. In addition, given the known risk of a progressive decline in the estimated glomerular filtration rate (eGFR) linked to TDF-based regimens [25,26], renal safety was assessed by monitoring creatinine levels.

2.7. Pharmacokinetic Analysis

For the single-dose pharmacokinetic study, a non-compartmental analysis using Phoenix WinNonlin 8.1 (Certara, St. Louis, MO, USA) was performed to estimate the pharmacokinetic parameters. The observed parameters were the maximal concentration (C_{max}), 24-h post-dose concentration ($C_{24\text{h}}$), and time required to reach C_{max} (T_{max}). The half-life

($t_{1/2}$) was estimated from the log-linear terminal portion of the phase of decrease in concentration according to the formula $t_{1/2} = 0.693/\lambda_z$, where λ_z is the slope of the decrease in concentration. Areas under the curve (AUCs) were estimated using the linear up log down trapezoidal method until 24 h post dose (AUC_{0-24h}).

For the repeated long-term pharmacokinetic study, the observed parameter was the trough concentration (C_t).

Plasma C_{24h} or C_t were compared to wild-type HIV-1 90% inhibitory concentrations (IC_{90}) for TNF (2.98 ng/mL) [27] and FTC (51 ng/mL) [28] and to the protein-adjusted IC_{90} ($PA-IC_{90} = 64$ ng/mL) for DTG [29].

2.8. Statistical Analysis

Intra-individual variability was calculated as the coefficient of variation of the C_t for each NHP from day 3 to the end of the study. For NHPs first treated via the oral route, intra-individual variability was calculated from day 3 to day 58 for the oral data and then from day 85 to the end of the study for the subcutaneous data. Inter-individual variability was calculated as the coefficient of variation of C_t at each time point from day 3 to the end of the study.

The data were analysed using GraphPad Prism (version 9.0.0 for Windows, GraphPad Software, San Diego, CA, USA). A Mann–Whitney test was performed to compare the inter- and intra-individual variability between the different routes of administration for the three ARVs. The threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$. All numerical variables are expressed as medians and interquartile ranges (IQR) unless otherwise indicated.

3. Results

3.1. Single-Dose Antiretroviral Drug Plasma Pharmacokinetic Study

Plots of the concentration against the time after IV, PO, and SC administration of TDF, FTC, and DTG are shown in Figure 1. Antiretroviral pharmacokinetic parameters are shown in Table 1.

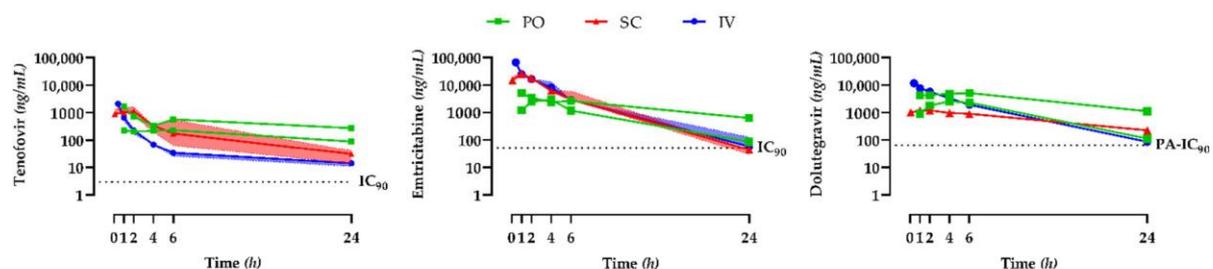


Figure 1. Tenofovir, emtricitabine, and dolutegravir total plasma pharmacokinetic profiles after a single dose. For the subcutaneous (SC, red) and intravenous (IV, blue) routes, the continuous lines and coloured areas represent the median and interquartile range, respectively. Individual data are represented for the oral (PO, green) route. Abbreviations: IC_{90} : wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration, $PA-IC_{90}$: protein-adjusted wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration.

The PO route showed large differences between the two macaques for the three drugs. The C_{24h} was above the IC_{90} for TNF and the $PA-IC_{90}$ for DTG, regardless of the route of administration. For FTC, the C_{24h} was above the IC_{90} , except for three macaques that received the ART by the SC route. TNF C_{24h} inter-individual variability was similar for the IV and SC routes (58%). DTG and FTC C_{24h} inter-individual variability was lower for the IV than the SC route: 108% vs. 59% for FTC and 26% vs. 13% for DTG.

For TNF and FTC, the $t_{1/2}$ was similar for both the IV and SC routes. However, the $t_{1/2}$ was higher for DTG given by the SC or PO route than by the IV route, suggesting a flip-flop phenomenon.

Table 1. Tenofovir/emtricitabine/dolutegravir single-dose pharmacokinetic parameters.

	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	C_{24h} (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)
Tenofovir					
PO	1668	1.0	272	31.0	11,115
(n = 2)	231	6.0	88	14.2	3857
SC	1103	1.0	32	4.7	4391
(n = 7)	(954–1654)	(1.0–2.0)	(16–50)	(1.2–6.1)	(2326–8598)
IV	2096	0.25	21	5.1	1983
(n = 4)	(1583–2352)	(0.25–0.25)	(12–38)	(1.4–14.1)	(1825–2570)
Emtricitabine					
PO	5062	1.0	632	9.6	42,768
(n = 2)	2957	4.0	87	4.8	19,280
SC	25,882	1.0	44	3.1	79,578
(n = 7)	(19,607–28,634)	(1.0–1.0)	(29–61)	(2.6–3.2)	(76,106–96,001)
IV	67,732	0.25	58	3.0	111,530
(n = 4)	(62,920–70,569)	(0.25–0.25)	(54–127)	(2.8–3.2)	(106,512–116,484)
Dolutegravir					
PO	5105	6.0	1109	8.2	72,426
(n = 2)	2550	4.0	113	4.1	23,956
SC	1229	1.0	224	9.2	15,352
(n = 7)	(1082–1467)	(1.0–2.0)	(180–281)	(8.8–9.7)	(11,401–16,540)
IV	11,643	0.25	86	3.8	39,601
(n = 4)	(10,995–12,583)	(0.25–0.25)	(82–102)	(3.7–4.2)	(37,865–42,241)

Variables are expressed as medians and interquartile ranges (IQR) when $n \geq 3$. For the oral (PO) route, individual values are expressed. Abbreviations: PO: oral route, SC: subcutaneous route, IV: intravenous route, C_{max} : maximal concentration, C_{max} values for intravenous administration were observations at 0.25 h (as first point of blood sampling), T_{max} : time to reach C_{max} , C_{24h} : 24-h post-dose concentration, $t_{1/2}$: half-life, AUC_{0-24h} : area under the curve until 24 h post dose.

Except for DTG given by the SC route, the three drugs showed AUCs similar to or higher than those observed for humans. AUC inter-individual variability was lower for the IV than the SC route: 64% vs. 20% for TNF, 25% vs. 5% for FTC, and 19% vs. 6% for DTG. No adverse effects were recorded in this single-dose study.

3.2. Pharmacokinetics, Efficacy, and Safety in the Long-Term Treatment Model

The C_t for TNF, FTC, and DTG over two years of treatment is shown in Figure 2. Steady-state concentrations were reached for the three drugs for all animals from day 3. At steady state, all TNF and DTG C_t values (except one concentration of 49 ng/mL by the PO route on day 43) were above the IC_{90} or $PA-IC_{90}$, respectively, regardless of the route of administration, PO or SC.

For FTC by the PO route, the C_t (except one concentration of 40 ng/mL on day 28 and one concentration of 28 ng/mL on day 43) was above the IC_{90} . By the SC route, the C_t was close to the IC_{90} during the first 43 days and then above the IC_{90} throughout the rest of the treatment, except at month 9. At this time point, three macaques (25%) had exceptionally low C_t values (below 10 ng/mL).

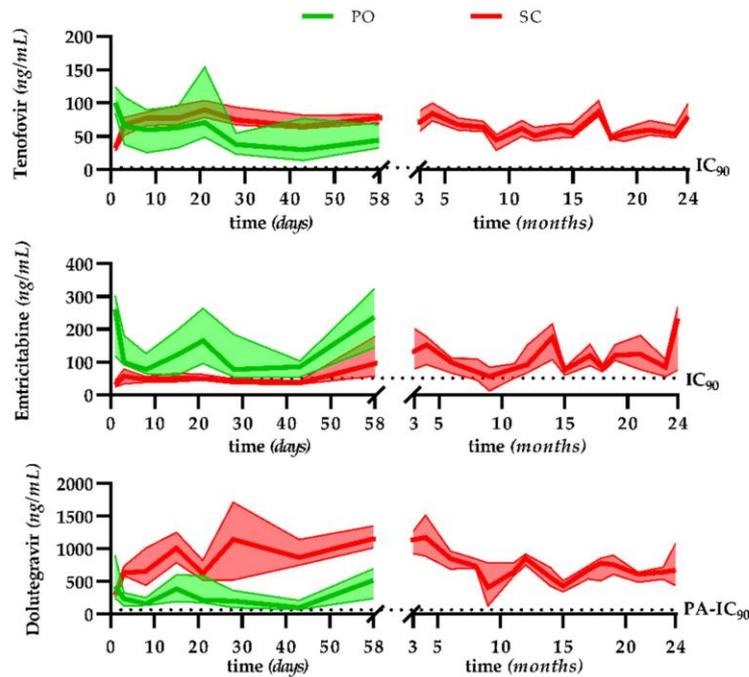


Figure 2. Tenofovir, emtricitabine, and dolutegravir trough plasma concentrations during long-term treatment of SIV⁺ macaques. The continuous lines and coloured areas represent the median and interquartile range, respectively. Oral (PO) route: green, subcutaneous (SC) route: red. Abbreviations: IC₉₀: wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration, PA-IC₉₀: protein-adjusted wild-type HIV-1 90% inhibitory concentration.

The intra-individual and inter-individual variability of the C_t at steady state is shown in Figure 3. C_t values were significantly lower for the PO than the SC route for TNF (51 vs. 66 ng/mL, *p* = 0.007) and DTG (221 vs. 727 ng/mL, *p* < 0.001), but were significantly higher for FTC (86 vs. 100 ng/mL, *p* = 0.012).

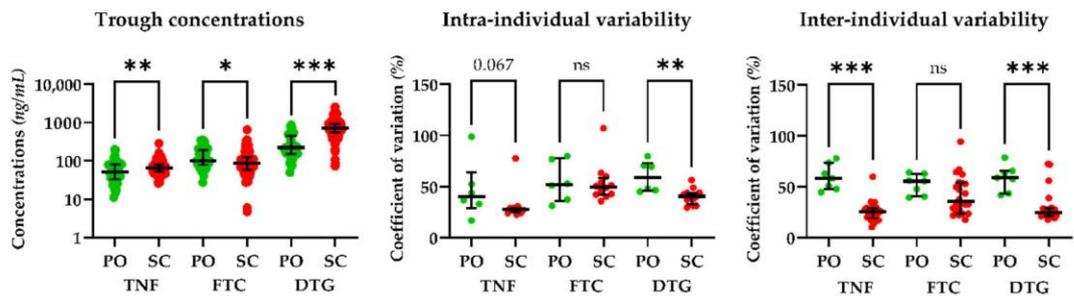


Figure 3. Steady-state trough concentrations depending on the route of administration and the intra- and inter-individual variability. The boxplot graphs represent trough concentrations (left), intra-individual variability (middle), and inter-individual variability (right); continuous lines represent the median and interquartile range values. Statistically significant differences are indicated as follows: * *p* < 0.05, ** *p* < 0.01, *** *p* < 0.001, ns: non-significant. Abbreviations: TNF: tenofovir, FTC: emtricitabine, DTG: dolutegravir, PO: oral route, SC: subcutaneous route.

Intra- and inter-individual variability were relatively low, with only one intra-individual coefficient of variation above 100%. There were no significant differences in the intra-individual variability between the SC and PO routes for TNF (*p* = 0.067) or FTC (*p* = 0.892) but it was significantly lower for the SC than the PO route for DTG (*p* = 0.003). The

inter-individual variability was significantly lower for the SC than the PO route for TNF ($p < 0.001$) and DTG ($p = 0.001$) but was not significantly different for FTC ($p = 0.079$).

Plasma viral loads declined in all animals after the initiation of treatment. We observed a significant reduction in plasma viral load from baseline (before treatment initiation, median [IQR]: 4.3 [4.8] log₁₀ copies/mL) to month 2. After two months under ART, all macaques had plasma viral loads <40 copies/mL, except one animal. This macaque belonged to the oral group and showed high viremia prior to treatment. Its plasma viral load became quickly undetectable after switching to the SC route. Antiviral drug pressure was then sustained without any viral rebound between month 6 and the end of the treatment phase for all NHPs, including the three macaques with FTC C_t values below the IC_{90} at month 9 (Table S1).

In terms of safety, few drug-related adverse events were reported during the entire follow-up period. Two adverse events were related to the treatment administration procedure (SC route for the majority of the study): induration or abscess and bleeding or hematomas. Diarrhoea was also observed, but even more rarely. None required treatment interruption, and all were self-limiting. After two years of treatment, changes in the level of the renal biomarker creatinine were small, with a median [IQR] increase of 2 [2] mg/L, i.e., 16.0% [23.8%]. The median [IQR] creatinine concentration was 13 [3] mg/L and was still within the usual biological reference values, except for two macaques with concentrations of 17 and 18 mg/L.

4. Discussion

In this study, we evaluated the plasma pharmacokinetics of TDF/FTC/DTG given simultaneously to healthy NHPs by three different routes of administration. We also reported the long-term plasma pharmacokinetics of these molecules in SIV⁺ NHPs. We thus demonstrated that it is possible to simultaneously and easily administer a three-antiretroviral-drug formulation at doses that enable a level of exposure close to that observed in humans over a two-year period with virological efficacy.

Developing and validating an NHP model for the long-term administration of three combined ARVs (two years) is of particular interest for further immunological, virological, and pharmacological studies.

Before validating our SIV⁺ long-term ART-treated NHP model, we determined the single-dose pharmacokinetics of the three selected drugs to validate the doses for the three routes of administration. These routes included that used clinically (PO), that used in pre-clinical studies in NHPs for long-term treatment (SC), and that used as the reference in pharmacokinetic studies (IV). They were tested to evaluate the difference between each main pharmacokinetic parameter. As ARVs may be considered as time-dependant anti-infective agents, the most important pharmacokinetic parameter is the C_{24h} , which should be above the (PA-) IC_{90} . The C_{24h} was above or close to the (PA-) IC_{90} for all three ARVs. For TNF and DTG, the C_{24h} was slightly lower than that observed in humans but was, nonetheless, above the respective IC_{90} or PA- IC_{90} [30,31]. For FTC, the C_{24h} was close to both that observed in humans and the IC_{90} [32]. For TNF and FTC, the high AUCs or C_{max} observed could be attributed to higher-weighted doses than used in humans [30,33]. However, no dose-effect toxicity was observed in our single-dose study. For DTG, the use of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and the SC route could be responsible for the observed flip-flop phenomenon, leading to a lower C_{max} and AUC and a higher $t_{1/2}$ than expected and compared to those observed in humans [34–37].

The inter-individual variability for the AUC and C_{24h} was relatively low but higher for the oral than the SC and IV routes, the IV route showing the lowest inter-individual variability for the three ARVs studied. This can be explained by the different absorption mechanisms involved. Indeed, the oral route requires multiple mechanisms involved in drug absorption, whereas the SC route only requires that the drugs cross the capillary barrier without an intestinal or hepatic first-pass effect. For the IV route, the entire dose is immediately delivered to the systemic circulation without limiting factors. Overall, based

on the C_{24h} , the main pharmacokinetic parameter, all NHPs had concentrations within the expected therapeutic range for all three ARVs and the three routes of administration. Thus, the pharmaceutical formulations were validated. The C_{24h} for TDF and FTC was slightly higher for the oral route than that observed in humans and higher than that for the SC or IV routes in our study. Thus, the doses of these two ARVs were slightly reduced for the long-term study of the ART of SIV⁺ macaques.

We developed a model of long-term ART in macaques chronically infected with SIVmac251. At the time of ART initiation, we compared two routes of administration: the oral route, with the ARV administered in fruit, and the SC route. The IV route was not used for obvious reasons of ease of administration and the requirement of sedation. Compared to the administration by the oral route, the SC route has the advantage that the exact amount of drug intake is known and that no flavour adjustment is required. Flavour was a key point in the acceptance of oral treatment by the cynomolgus macaques. The oral suspending vehicle used had a sweet citrus-berry flavour, which appeared to be suitable.

Our data show rapid and sustained virological efficacy and good tolerance of the ARV treatments throughout the study. The slight increase in creatinine levels after two years under ART, although still within the usual biological reference values [38], is consistent with observed data in treatment-naïve patients after 96 weeks [39,40]. This increase can be explained by two phenomena: the inhibition of the renal transporters SCL22A2 and SLC47A1 by DTG [41], both involved in the tubular secretion of creatinine [42,43], and the potential renal toxicity of tenofovir due to accumulation in the proximal tubular cells [25,26].

The novelty of our study consists of the pharmacological validation of the NHP model. In contrast to many studies that reported little or even no pharmacological data, we carried out regular long-term monitoring of the trough concentrations of the three ARVs used. Unlike the single-dose study, the C_t values of TNF and DTG were statistically higher following administration by the SC than the PO route. This can be explained by the use of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, an excipient for the SC formulation, which may be responsible for the flip-flop phenomenon and therefore produce a delayed-release form, increasing the drug accumulation ratio. However, despite these statistical differences between routes, all concentrations sampled 24 h after the previous administration were above the (PA-)IC₉₀ throughout the study and consistent with clinical data. At month 9, three macaques had FTC C_t values below the IC₉₀. However, a delay in the administration (median = 29 h 27 min, IQR = 1 min, after the previous one) and, therefore, in the residual sampling for this time point, could explain these low C_t values, also observed for TNF and DTG but with C_t values still above the (PA-)IC₉₀. We observed no viral rebound around this sampling time for any of the three macaques. Therefore, these lower concentrations had no impact on the plasma viral load.

Only one previous study has reported long-term treatment and follow-up in NHPs [44]. The study was performed in rhesus macaques (*Macaca mulatta*) treated solely with TNF by the SC route and reported no trough concentrations, making a comparison with our results difficult. In addition, as for our single-dose study, the inter-individual variability was greater by the oral than the SC route. The potential impact of high doses on intestinal absorption, the hepatic first-pass effect, and the administration via the fruit with which the treatment is given may explain such differences.

Overall, our pharmacological data, associated with the robust viral suppression observed in the animals, allowed us to validate our long-term ART-treated SIV-infected macaque model. This model will be used for further pharmacokinetic/pharmacodynamic studies. We will characterize the diffusion of the three ARVs into different tissues to identify pharmacological sanctuaries. This model will also be a valuable tool to evaluate the impact of ARVs on viral reservoirs and on immunological parameters [45,46].

Our study had several limitations. First, the SC route is an injectable route. It is not the route used in humans for these ARVs and it may cause safety problems, such as injection-site pain, injection-site reactions, or a greater risk of infection. Nevertheless, only a

few injection-site reactions and no infections arose during our two-year follow-up study. Moreover, being an injectable route, the SC route provides the advantage of lower intra- and inter-individual variability relative to the oral route and the precise dose administered is known. Second, the follow-up of the oral route arm was only carried out two months before the switch to the SC route. However, considering that the concentrations were close to those of the SC route arm and were virologically effective, the oral route also appears to be a potential route of administration for long-term follow-up.

Given that antiretroviral drugs are a long-term treatment modality for PLWHIV, our study, which highlights the pharmacokinetic and other advantages of oral and SC administration, makes an important contribution. This study provides the first description of long-term pharmacological exposure of a first-line worldwide treatment option administered simultaneously in an NHP model. Understanding the virus/drug interactions will be necessary to optimize newly developed ARV combinations. These data will have important implications towards an HIV cure.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/pharmaceutics14112282/s1>, Figure S1: Repeated-dose study design, Table S1: Virological follow-up.

Author Contributions: Conceptualization, R.L.G., O.L., D.D., and A.B.-T.; methodology, T.G., H.G., V.F., and A.B.-T.; formal analysis, T.G. and A.B.-T.; investigation, T.G., H.G., D.D., and A.B.-T.; resources, N.D.-B., R.L.G., and D.D.; data curation, T.G., H.G., and A.B.-T.; writing—original draft preparation, T.G. and A.B.-T.; writing—review and editing, O.L. and D.D.; visualization, T.G. and A.B.-T.; supervision, R.L.G., O.L., D.D., and A.B.-T.; project administration, N.D.-B. and D.D.; funding acquisition, R.L.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was supported by the UMR1184 research centre. This work was supported by the “Programme Investissements d’Avenir” (PIA), managed by the ANR under reference ANR-11-INBS-0008, funding the Infectious Disease Models and Innovative Therapies (IDMIT, Fontenay-aux-Roses, France) infrastructure, and ANR-10-EQPX-02-01, funding the FlowCyTech facility (IDMIT, Fontenay-aux-Roses, France). The animal studies were supported by the ANRS, as part of the SI-VART ANRS-IDMIT CO1 research program.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the ethics committee “Comité d’éthique en expérimentation animale dn°44” and the French Ministry of Education and Research under reference APAFIS#2453-2015102713323361.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy.

Acknowledgments: We thank Gilead and ViiV for providing the antiretroviral drugs.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Perelson, A.S.; Essunger, P.; Cao, Y.; Vesanen, M.; Hurley, A.; Saksela, K.; Markowitz, M.; Ho, D.D. Decay Characteristics of HIV-1-Infected Compartments during Combination Therapy. *Nature* **1997**, *387*, 188–191. <https://doi.org/10.1038/387188a0>.
2. Henderson, L.J.; Reoma, L.B.; Kovacs, J.A.; Nath, A. Advances toward Curing HIV-1 Infection in Tissue Reservoirs. *J. Virol.* **2020**, *94*, e00375-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-19>.
3. Cory, T.J.; Schacker, T.W.; Stevenson, M.; Fletcher, C.V. Overcoming Pharmacologic Sanctuaries. *Curr. Opin. HIV AIDS* **2013**, *8*, 190–195. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32835fc68a>.
4. Fletcher, C.V.; Staskus, K.; Wietgreffe, S.W.; Rothenberger, M.; Reilly, C.; Chipman, J.G.; Beilman, G.J.; Khoruts, A.; Thorkelson, A.; Schmidt, T.E.; et al. Persistent HIV-1 Replication Is Associated with Lower Antiretroviral Drug Concentrations in Lymphatic Tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 2307–2312. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318249111>.
5. Lorenzo-Redondo, R.; Fryer, H.R.; Bedford, T.; Kim, E.-Y.; Archer, J.; Kosakovsky Pond, S.L.; Chung, Y.-S.; Penugonda, S.; Chipman, J.G.; Fletcher, C.V.; et al. Persistent HIV-1 Replication Maintains the Tissue Reservoir during Therapy. *Nature* **2016**, *530*, 51–56. <https://doi.org/10.1038/nature16933>.
6. Mzingwane, M.L.; Tiemessen, C.T. Mechanisms of HIV Persistence in HIV Reservoirs. *Rev. Med. Virol.* **2017**, *27*, e1924. <https://doi.org/10.1002/rmv.1924>.
7. Deeks, S.G.; Autran, B.; Berkhout, B.; Benkirane, M.; Cairns, S.; Chomont, N.; Chun, T.-W.; Churchill, M.; Mascio, M.D.; Katlama, C.; et al. Towards an HIV Cure: A Global Scientific Strategy. *Nat. Rev. Immunol.* **2012**, *12*, 607–614. <https://doi.org/10.1038/nri3262>.

8. Kline, C.; Ndjomou, J.; Franks, T.; Kiser, R.; Coalter, V.; Smedley, J.; Piatak, M.; Mellors, J.W.; Lifson, J.D.; Ambrose, Z. Persistence of Viral Reservoirs in Multiple Tissues after Antiretroviral Therapy Suppression in a Macaque RT-SHIV Model. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e84275. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084275>.
9. Wong, J.K.; Yukl, S.A. Tissue Reservoirs of HIV. *Curr. Opin. HIV AIDS* **2016**, *11*, 362–370. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000293>.
10. Labarthe, L.; Gelé, T.; Gouget, H.; Benzemrane, M.-S.; Le Calvez, P.; Legrand, N.; Lambotte, O.; Le Grand, R.; Bourgeois, C.; Barrail-Tran, A. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Tenofovir, Emtricitabine and Dolutegravir in Mice. *J. Antimicrob. Chemother.* **2022**, *77*, 1094–1101. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab501>.
11. Bruel, T.; Hamimi, C.; Dereuddre-Bosquet, N.; Cosma, A.; Shin, S.Y.; Corneau, A.; Versmisse, P.; Karlsson, I.; Malleret, B.; Targat, B.; et al. Long-Term Control of Simian Immunodeficiency Virus (SIV) in Cynomolgus Macaques Not Associated with Efficient SIV-Specific CD8+ T-Cell Responses. *J. Virol.* **2015**, *89*, 3542–3556. <https://doi.org/10.1128/JVI.03723-14>.
12. Terrade, G.; Huot, N.; Petitdemange, C.; Lazzerini, M.; Orta Resendiz, A.; Jacquelin, B.; Müller-Trutwin, M. Interests of the Non-Human Primate Models for HIV Cure Research. *Vaccines* **2021**, *9*, 958. <https://doi.org/10.3390/vaccines9090958>.
13. Harding, J.D. Nonhuman Primates and Translational Research: Progress, Opportunities, and Challenges. *ILAR J.* **2017**, *58*, 141–150. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilx033>.
14. Bender, A.M.; Simonetti, F.R.; Kumar, M.R.; Fray, E.J.; Bruner, K.M.; Timmons, A.E.; Tai, K.Y.; Jenike, K.M.; Antar, A.A.R.; Liu, P.-T.; et al. The Landscape of Persistent Viral Genomes in ART Treated SIV, SHIV, and HIV-2 Infections. *Cell Host Microbe* **2019**, *26*, 73–85.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.06.005>.
15. Burgunder, E.; Fallon, J.K.; White, N.; Schauer, A.P.; Sykes, C.; Remling-Mulder, L.; Kovarova, M.; Adamson, L.; Luciw, P.; Garcia, J.V.; et al. Antiretroviral Drug Concentrations in Lymph Nodes: A Cross-Species Comparison of the Effect of Drug Transporter Expression, Viral Infection, and Sex in Humanized Mice, Nonhuman Primates, and Humans. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2019**, *370*, 360–368. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.259150>.
16. Harper, J.; Ribeiro, S.P.; Chan, C.N.; Aid, M.; Deleage, C.; Micci, L.; Pino, M.; Cervasi, B.; Raghunathan, G.; Rimmer, E.; et al. Interleukin-10 Contributes to Reservoir Establishment and Persistence in SIV-Infected Macaques Treated with Antiretroviral Therapy. *J. Clin. Invest.* **2022**, *132*, e155251. <https://doi.org/10.1172/JCI155251>.
17. Saag, M.S.; Gandhi, R.T.; Hoy, J.F.; Landovitz, R.J.; Thompson, M.A.; Sax, P.E.; Smith, D.M.; Benson, C.A.; Buchbinder, S.P.; del Rio, C.; et al. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2020 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. *JAMA* **2020**, *324*, 1651. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17025>.
18. Department of Health and Human Services. *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV*; Department of Health and Human Services: Washington, DC, USA, 2021.
19. European AIDS Clinical Society. *European AIDS Clinical Society Guidelines V11*; European AIDS Clinical Society: Brussels, Belgium, 2021.
20. Organisation Mondiale de la Santé. *Consolidated Guidelines on HIV Prevention, Testing, Treatment, Service Delivery and Monitoring: Recommendations for a Public Health Approach*; Organisation Mondiale de la Santé: Geneva, Switzerland, 2021; p. 592.
21. Del Prete, G.Q.; Smedley, J.; Macallister, R.; Jones, G.S.; Li, B.; Hattersley, J.; Zheng, J.; Piatak, M.; Keele, B.F.; Hesselgesser, J.; et al. Short Communication: Comparative Evaluation of Coformulated Injectable Combination Antiretroviral Therapy Regimens in Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Macaques. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2016**, *32*, 163–168. <https://doi.org/10.1089/AID.2015.0130>.
22. U.S. Department of Health and Human Services; Food and Drug Administration; Center for Drug Evaluation and Research (CDER). *Guidance for Industry | Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers*; Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA, 2005.
23. Karlsson, I.; Malleret, B.; Brochard, P.; Delache, B.; Calvo, J.; Le Grand, R.; Vaslin, B. Dynamics of T-Cell Responses and Memory T Cells during Primary Simian Immunodeficiency Virus Infection in Cynomolgus Macaques. *J. Virol.* **2007**, *81*, 13456–13468. <https://doi.org/10.1128/JVI.01619-07>.
24. Gouget, H.; Noé, G.; Barrail-Tran, A.; Furlan, V. UPLC–MS/MS Method for the Simultaneous Quantification of Bictegravir and 13 Others Antiretroviral Drugs plus Cobicistat and Ritonavir Boosters in Human Plasma. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2020**, *181*, 113057. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113057>.
25. Cooper, R.D.; Wiebe, N.; Smith, N.; Keiser, P.; Naicker, S.; Tonelli, M. Systematic Review and Meta-Analysis: Renal Safety of Tenofovir Disoproxil Fumarate in HIV-Infected Patients. *Clin. Infect. Dis.* **2010**, *51*, 496–505. <https://doi.org/10.1086/655681>.
26. Moss, D.M.; Neary, M.; Owen, A. The Role of Drug Transporters in the Kidney: Lessons from Tenofovir. *Front. Pharmacol.* **2014**, *5*, 248. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00248>.
27. Thompson, C.G.; Rosen, E.P.; Prince, H.M.A.; White, N.; Sykes, C.; de la Cruz, G.; Mathews, M.; Deleage, C.; Estes, J.D.; Charlins, P.; et al. Heterogeneous Antiretroviral Drug Distribution and HIV/SHIV Detection in the Gut of Three Species. *Sci. Transl. Med.* **2019**, *11*, eaap8758. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aap8758>.
28. Flynn, P.M.; Mirochnick, M.; Shapiro, D.E.; Bardeguéz, A.; Rodman, J.; Robbins, B.; Huang, S.; Fiscus, S.A.; Van Rompay, K.K.A.; Rooney, J.F.; et al. Pharmacokinetics and Safety of Single-Dose Tenofovir Disoproxil Fumarate and Emtricitabine in HIV-1-Infected Pregnant Women and Their Infants. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 5914–5922. <https://doi.org/10.1128/AAC.00544-11>.

29. Min, S.; Song, I.; Borland, J.; Chen, S.; Lou, Y.; Fujiwara, T.; Piscitelli, S.C. Pharmacokinetics and Safety of S/GSK1349572, a Next-Generation HIV Integrase Inhibitor, in Healthy Volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 254–258. <https://doi.org/10.1128/AAC.00842-09>.
30. Barditch-Crovo, P.; Deeks, S.G.; Collier, A.; Safrin, S.; Coakley, D.F.; Miller, M.; Kearney, B.P.; Coleman, R.L.; Lamy, P.D.; Kahn, J.O.; et al. Phase i/li Trial of the Pharmacokinetics, Safety, and Antiretroviral Activity of Tenofovir Disoproxil Fumarate in Human Immunodeficiency Virus-Infected Adults. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 2733–2739. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.10.2733-2739.2001>.
31. Min, S.; Sloan, L.; DeJesus, E.; Hawkins, T.; McCurdy, L.; Song, I.; Stroder, R.; Chen, S.; Underwood, M.; Fujiwara, T.; et al. Antiviral Activity, Safety, and Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Dolutegravir as 10-Day Monotherapy in HIV-1-Infected Adults. *AIDS* **2011**, *25*, 1737–1745. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32834a1dd9>.
32. Zong, J.; Chittick, G.E.; Wang, L.H.; Hui, J.; Begley, J.A.; Blum, M.R. Pharmacokinetic Evaluation of Emtricitabine in Combination With Other Nucleoside Antivirals in Healthy Volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* **2007**, *47*, 877–889. <https://doi.org/10.1177/0091270007300808>.
33. Han, W.-L.; Shang, J.-C.; Yan, B.; Tan, R.; Huang, W.-X.; Zhong, X.-N.; Yang, J.-Q.; Huang, A.-L. Pharmacokinetics of Single- and Multiple-Dose Emtricitabine in Healthy Male Chinese Volunteers. *PHA* **2014**, *93*, 166–171. <https://doi.org/10.1159/000360639>.
34. Loftsson, T.; Jarho, P.; Másson, M.; Järvinen, T. Cyclodextrins in Drug Delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2005**, *2*, 335–351. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.1.335>.
35. Yáñez, J.A.; Remsberg, C.M.; Sayre, C.L.; Forrest, M.L.; Davies, N.M. Flip-Flop Pharmacokinetics—Delivering a Reversal of Disposition: Challenges and Opportunities during Drug Development. *Ther. Deliv.* **2011**, *2*, 643–672. <https://doi.org/10.4155/tde.11.19>.
36. Adams, J.L.; Patterson, K.B.; Prince, H.M.A.; Sykes, C.; Greener, B.N.; Dumond, J.B.; Kashuba, A.D.M. Single and Multiple Dose Pharmacokinetics of Dolutegravir in the Genital Tract of HIV-Negative Women. *Antivir. Ther.* **2013**, *18*, 1005–1013. <https://doi.org/10.3851/IMP2665>.
37. Greener, B.N.; Patterson, K.B.; Prince, H.M.A.; Sykes, C.S.; Adams, J.L.; Dumond, J.B.; Shaheen, N.J.; Madanick, R.D.; Dellon, E.S.; Cohen, M.S.; et al. Dolutegravir Pharmacokinetics in the Genital Tract and Colorectum of HIV-Negative Men after Single and Multiple Dosing. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2013**, *64*, 39–44. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31829ed7a4>.
38. Koo, B.-S.; Lee, D.-H.; Kang, P.; Jeong, K.-J.; Lee, S.; Kim, K.; Lee, Y.; Huh, J.-W.; Kim, Y.-H.; Park, S.-J.; et al. Reference Values of Hematological and Biochemical Parameters in Young-Adult Cynomolgus Monkey (*Macaca Fascicularis*) and Rhesus Monkey (*Macaca Mulatta*) Anesthetized with Ketamine Hydrochloride. *Lab. Anim. Res.* **2019**, *35*, 7. <https://doi.org/10.1186/s42826-019-0006-0>.
39. van Lunzen, J.; Maggiolo, F.; Arribas, J.R.; Rakhmanova, A.; Yeni, P.; Young, B.; Rockstroh, J.K.; Almond, S.; Song, I.; Brothers, C.; et al. Once Daily Dolutegravir (S/GSK1349572) in Combination Therapy in Antiretroviral-Naive Adults with HIV: Planned Interim 48 Week Results from SPRING-1, a Dose-Ranging, Randomised, Phase 2b Trial. *Lancet Infect. Dis.* **2012**, *12*, 111–118. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70290-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70290-0).
40. Cahn, P.; Madero, J.S.; Arribas, J.R.; Antinori, A.; Ortiz, R.; Clarke, A.E.; Hung, C.-C.; Rockstroh, J.K.; Girard, P.-M.; Sievers, J.; et al. Dolutegravir plus Lamivudine versus Dolutegravir plus Tenofovir Disoproxil Fumarate and Emtricitabine in Antiretroviral-Naive Adults with HIV-1 Infection (GEMINI-1 and GEMINI-2): Week 48 Results from Two Multicentre, Double-Blind, Randomised, Non-Inferiority, Phase 3 Trials. *Lancet* **2019**, *393*, 143–155. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32462-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32462-0).
41. Reese, M.J.; Savina, P.M.; Generaux, G.T.; Tracey, H.; Humphreys, J.E.; Kanaoka, E.; Webster, L.O.; Harmon, K.A.; Clarke, J.D.; Polli, J.W. In Vitro Investigations into the Roles of Drug Transporters and Metabolizing Enzymes in the Disposition and Drug Interactions of Dolutegravir, a HIV Integrase Inhibitor. *Drug Metab. Dispos.* **2013**, *41*, 353–361. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.048918>.
42. Urakami, Y.; Kimura, N.; Okuda, M.; Inui, K. Creatinine Transport by Basolateral Organic Cation Transporter HOCT2 in the Human Kidney. *Pharm. Res.* **2004**, *21*, 976–981. <https://doi.org/10.1023/b:pham.0000029286.45788.ad>.
43. Tanihara, Y.; Masuda, S.; Sato, T.; Katsura, T.; Ogawa, O.; Inui, K.-I. Substrate Specificity of MATE1 and MATE2-K, Human Multidrug and Toxin Extrusions/H⁺-Organic Cation Antiporters. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *74*, 359–371. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.04.010>.
44. Van Rompay, K.K.A.; Durand-Gasselín, L.; Brignolo, L.L.; Ray, A.S.; Abel, K.; Cihlar, T.; Spinner, A.; Jerome, C.; Moore, J.; Kearney, B.P.; et al. Chronic Administration of Tenofovir to Rhesus Macaques from Infancy through Adulthood and Pregnancy: Summary of Pharmacokinetics and Biological and Virological Effects. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 3144–3160. <https://doi.org/10.1128/AAC.00350-08>.
45. Lemaitre, J.; Desjardins, D.; Gallouët, A.-S.; Gomez-Pacheco, M.; Bourgeois, C.; Favier, B.; Sáez-Cirión, A.; Le Grand, R.; Lambotte, O. Expansion of Immature Neutrophils During SIV Infection Is Associated With Their Capacity to Modulate T-Cell Function. *Front. Immunol.* **2022**, *13*, 781356. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.781356>.
46. Mausoléo, A.; Olivo, A.; Desjardins, D.; Sáez-Cirión, A.; Barrail-Tran, A.; Avettand-Fenoel, V.; Noël, N.; Lagathu, C.; Béréziat, V.; Le Grand, R.; et al. Prolonged Antiretroviral Treatment Induces Adipose Tissue Remodelling Associated with Mild Inflammation in SIV-Infected Macaques. *Cells* **2022**, *11*, 3104. <https://doi.org/10.3390/cells11193104>.

Pharmacological validation of long-term treatment with antiretroviral drugs in a model of SIV-infected non-human primates

Thibaut Gelé, Hélène Gouget, Nathalie Dereuddre-Bosquet, Valérie Furlan, Roger Le Grand, Olivier Lambotte, Delphine Desjardins and Aurélie Barrail-Tran

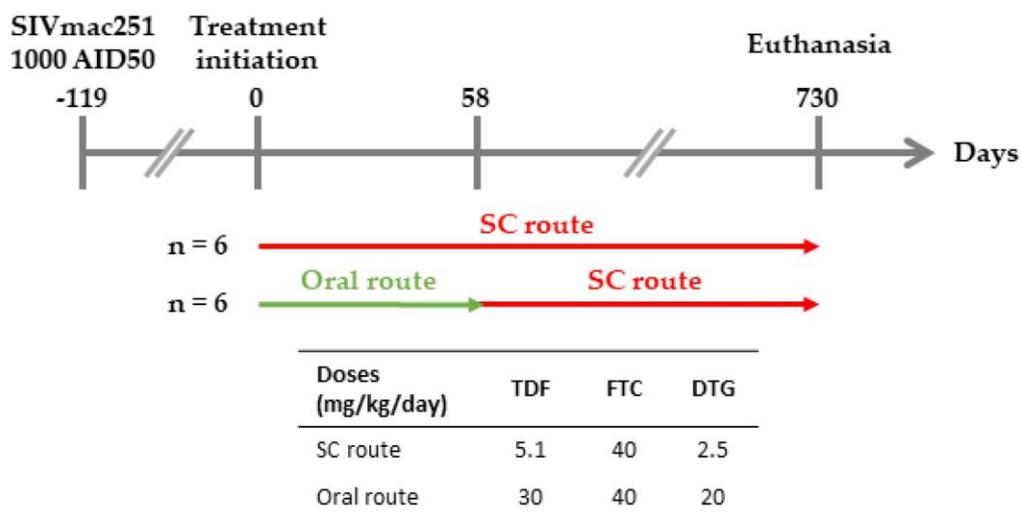


Figure S1. Repeated-dose study design. Abbreviations: AID50: 50% animal infectious doses, SC: subcutaneous, TDF: tenofovir disoproxil fumarate, FTC: emtricitabine, DTG: dolutegravir.

Table S1. Virological follow-up.

	Plasma viral load (log ₁₀ copies/mL)	Percentage of NHPs with undetectable plasma viral load (threshold = 40 copies/mL = 1.6 log ₁₀ copies/mL)			
	Baseline	Month 2	Month 6	Month 12	End of treatment
PO (n = 6)	4.3 (4.6)	83 %	/	/	/
SC (n = 6)	4.4 (4.9)	100 %	/	/	/
Total (n = 12)	4.3 (4.8)	92 %	100 %	100 %	100 %

Variables are expressed as medians and interquartile ranges (IQR). Abbreviations: PO: oral route, SC: subcutaneous route, IV: intravenous route, NHP: non-human primate.

5.3. Cartographie corps entier de la diffusion tissulaire

5.3.1. Objectif et principaux résultats

L'objectif de cette seconde étude chez le PNH est de réaliser la cartographie corps entier de la diffusion tissulaire des trois mêmes médicaments antirétroviraux, le TDF, le FTC et le DTG.

Huit macaques cynomolgus non infectés ont reçu une injection unique d'une solution contenant les trois molécules d'intérêt aux mêmes posologies que la première étude (TDF/FTC/DTG 5,1/40,0/2,5 mg/kg). Deux voies d'administration différentes ont été utilisées, la voie sous-cutanée (n = 4) et la voie intraveineuse (n = 4). Quarante-cinq tissus différents ont été prélevés 24 h après l'injection. Le dosage des trois médicaments antirétroviraux a été réalisé en trois points non contigus pour chaque tissu avec pour objectif d'évaluer l'hétérogénéité intratissulaire.

Globalement, les trois médicaments antirétroviraux présentent des facteurs de pénétration tissulaire très différents. Les facteurs médians de pénétration tissulaire sont de 45,4, 5,8 et 0,5 pour le TNF, le FTC et le DTG, respectivement, et sont statistiquement différents entre les trois ARV.

Une variabilité entre les tissus a été observée. Pour les trois médicaments antirétroviraux, on observe environ 2 log de différence entre les tissus avec les facteurs de pénétration tissulaire les plus élevés et ceux avec les facteurs les plus bas. Si l'on classe les tissus par ordre de décroissance de ces facteurs de pénétration, on obtient le même classement pour les trois médicaments antirétroviraux. On observe également des tendances identiques pour des tissus appartenant à un même système. Ainsi, le système digestif est le système présentant les plus fortes concentrations tissulaires. Viennent ensuite les deux principaux sites d'élimination, le foie et le rein, ainsi que les tissus des systèmes cardiopulmonaire et urinaire. Puis, c'est l'ensemble du système lymphatique avec les différents nœuds lymphatiques, le thymus, la rate et les tonsilles. Le groupe suivant rassemble le système reproducteur, les tissus adipeux et la peau. Enfin, les deux derniers tissus sont le muscle et le système nerveux central où la diffusion des ARV est la plus faible.

Peu de différences sont observées entre les facteurs de pénétration tissulaire calculés pour les deux voies d'administration. Les ratios des facteurs de pénétration entre les deux voies sont tous inférieurs à 1 log pour le FTC et le DTG. Pour le TNF, seuls deux tissus ont un ratio supérieur à 1 log, avec une diffusion plus importante par voie intraveineuse dans le tissu adipeux abdominal sous-cutané et par voie sous-cutanée au niveau du site d'injection.

L'évaluation du potentiel d'efficacité antivirale, par le calcul du QI, montre des différences du même ordre que celles entre les facteurs de pénétration tissulaire. Ainsi, le TNF possède au niveau tissulaire un potentiel d'efficacité supérieur au FTC, lui-même avec un potentiel supérieur au DTG. En effet, le TNF et le FTC diffusent suffisamment dans tous les tissus étudiés pour atteindre des concentrations tissulaires supérieures aux CI_{90} respectives. En revanche, les concentrations de DTG ne sont supérieures à la CI_{90} -AP que dans vingt-deux des quarante-cinq tissus étudiés. Et elles sont toutes inférieures à ce seuil pour les trois localisations de tissus adipeux étudiés et les cinq tissus du système nerveux central.

Enfin, la variabilité intra-tissulaire est plutôt faible avec une médiane des coefficients de variation des concentrations autour de 15 %, avec seulement deux valeurs supérieures à 50 % (au site d'injection pour le TNF et le DTG) et aucune valeur supérieure à 80 %. Pour le FTC, cette variabilité intra-tissulaire était significativement plus élevée que pour le TNF et le DTG.

En conclusion, cette étude a permis de réaliser la première cartographie de diffusion corps entier de trois ARV dans un modèle de PNH validé. Ce modèle permettra la réalisation d'études PK/PD sur des PNH infectés par la souche SIVmac251 afin d'évaluer les réponses immuno-virologiques en fonction de la concentration de médicament dans les divers réservoirs et compartiments. Ces données sont importantes pour les futures études précliniques et cliniques dans le développement de nouvelles thérapies contre le VIH en vue d'une éradication ou d'une guérison du VIH.

5.3.2. Article 4 : Whole-body Diffusion Mapping of Tenofovir, Emtricitabine and Dolutegravir in Non-human Primates

Ci-après est présenté l'article en cours d'écriture en vue d'une publication dans *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.

GELÉ Thibaut, GOUGET Hélène, FURLAN Valérie, PARRY M. Chris, LE GRAND Roger, LAMBOTTE Olivier, DESJARDINS Delphine et BARRAIL-TRAN Aurélie

Whole-body Diffusion Mapping of Tenofovir, Emtricitabine and Dolutegravir in Non-human Primates

Journal of Antimicrobial Chemotherapy

Whole-body Diffusion Mapping of Tenofovir, Emtricitabine and Dolutegravir in Non-human Primates

Running title: Diffusion Mapping of TDF/FTC/DTG in NHP

Thibaut GELÉ¹, Hélène GOUGET¹, Valérie FURLAN², Chris M. PARRY³, Roger LE GRAND¹, Olivier LAMBOTTE⁴, Delphine DESJARDINS¹, Aurélie BARRAIL-TRAN⁵

1. Université Paris-Saclay, Inserm, CEA, Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes, 92265, Fontenay-aux-Roses, France.
2. AP-HP. Université Paris-Saclay, Hôpital Bicêtre, Service de Pharmacologie-Toxicologie, Le Kremlin-Bicêtre, France.
3. ViiV Healthcare, 980 Great West Road, London TW8 9GS, UK.
4. Université Paris-Saclay, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Service de Médecine Interne Immunologie Clinique, Inserm, CEA, Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes, Le Kremlin-Bicêtre, France.
5. Université Paris-Saclay, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Service de Pharmacie, Inserm, CEA, Immunologie des maladies virales, auto-immunes, hématologiques et bactériennes, Le Kremlin-Bicêtre, France.

Corresponding author

Aurélie Barrail-Tran

Department of Clinical Pharmacy

Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

AP-HP. Université Paris-Saclay, Hôpital Bicêtre

78 rue du Général Leclerc

94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

Phone +33 1 45 21 29 64

E-mail aurelie.barrail-tran@aphp.fr

Abstract

One major barrier to HIV cure is the persistence of virus, possibly linked to an insufficient antiretroviral drug (ARV) diffusion into tissues. The aim of this study is to draw the whole-body diffusion mapping of three antiretroviral drugs, tenofovir (TNF) disoproxil fumarate, emtricitabine (FTC) and dolutegravir (DTG) in non-human primates (NHPs). Eight uninfected NHPs received a single injection of a solution containing the three ARVs. Forty-five different tissues were sampled 24 hours after injection. Median tissue penetration factors (TPFs) were 45.4, 5.8 and 0.5 for TNF, FTC and DTG, respectively, and were statistically different between the three ARVs. Tissues were grouping by system and ranking in order of decreasing TPFs. The digestive system is the system with the highest tissue concentrations. Next, come the two main sites of elimination, the liver and the kidney, as well as the tissues of the cardiopulmonary and urinary systems. Then, it is the whole lymphatic system. The next group includes the reproductive system, the adipose tissue and the skin. At the end, the last two systems are the muscle and the central nervous system. TNF and FTC diffuse sufficiently in all the tissues to reach concentrations above the respective 90% inhibitory concentration. Conversely, DTG diffuses sufficiently in only 22 of the 45 tissues, raising the question of antiretroviral activity in the other tissues. The intra-tissue variability is rather low with a median coefficient of variation of the concentrations around 15% and no value greater than 80%. Overall, this study realize the first whole-body diffusion mapping in a validated NHP model. These data have important implications for future preclinical and clinical studies for the development of novel HIV therapies towards an HIV cure.

Keywords: tenofovir, emtricitabine, dolutegravir, whole-body mapping, diffusion, non-human primate

Introduction

The improvement in antiretroviral (ARV) treatments over more than 30 years associated with their better availability throughout the world has significantly increased the survival but also the quality of life of the people living with HIV (PLWH). The current treatments make possible to quickly and sustainably obtain an undetectable plasma viral load in a large majority of PLWH (Perelson *et al.*, 1997). In 2021, 90% of PLWH on ARV therapy (ART) have suppressed plasma viral loads (UNAIDS, 2021). However, despite these successes, standard therapies do not fully restore health or a normal immune status in PLWH and interruption of ART almost invariably leads to the re-emergence of detectable viral replication and the progression to AIDS (Li *et al.*, 2021). One major barrier to HIV cure is the persistence of virus within the body's tissues, even during ART. It has been suggested that insufficient ARV penetration into tissues may create pharmacological sanctuaries where HIV could continue to replicate (Fletcher *et al.*, 2014; Lorenzo-Redondo *et al.*, 2016). Studies to map the distribution of antiretroviral drugs require access to tissues and cells. For obvious reasons, many tissues are not available in humans. Animal models are commonly developed in HIV investigations and contribute to the improvement of knowledge and their development allows a first approach to study the diffusion of ARVs in all tissues (Labarthe *et al.*, 2022). Non-human primates (NHP) are widely considered as the gold standard because of the origin of HIV and the phylogenetic proximity of the simian immunodeficiency virus (SIV) (Worobey *et al.*, 2010).

Our primary objective was to draw a whole-body diffusion mapping of three different ARVs in a validated model of cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). The ARVs selected were tenofovir (TNF) disoproxil fumarate (TDF), emtricitabine (FTC) and dolutegravir (DTG). ARV drug selection was based on their preferred use as first-line treatments worldwide (Saag *et al.*, 2020; Department of Health and Human Services, 2021; European AIDS Clinical Society, 2021; World Health Organization, 2021).

Methods

Ethics statement

Cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) were imported from Mauritius and housed at the IDMIT animal facility at the Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA, Fontenay-aux-Roses, France). All NHP studies at the CEA are conducted in accordance with French National Regulations under the supervision of National Veterinary Inspectors (CEA accreditation number D92-032-02). The CEA complies with the Standards for Human Care and Use of Laboratory Animals of the Office for Laboratory Animal Welfare (OLAW, USA) under OLAW Assurance number #A5826-01. All experimental procedures were conducted according to European Directive 2010/63 (Recommendation number 9). The

study was approved by the ethics committee “Comité d'éthique en expérimentation animale dn°44” and the French Ministry of Education and Research.

Antiretroviral drug formulations and doses

The combined antiretroviral therapy (cART) consisted of a three-drug regimen with TDF, FTC and DTG. Solution was prepared by dissolving TDF, FTC and DTG in sterile water using Kleptose HPB parenteral grade (Roquette Pharma, France) as previously described (Del Prete *et al.*, 2016) in order to enhance the solubility and the stability of the molecules. A single subcutaneous (SC) or intravenous (IV) injection of TDF (5.1 mg/kg), FTC (40.0 mg/kg) and DTG (2.5 mg/kg) was administered to eight young adult male non-infected cynomolgus macaques, which were assigned in a 1:1 ratio in two groups according to the route of administration.

Tissue collection, processing and quantification of ARV concentrations

Blood samples and tissue collections were performed at 24h after the single dose. Blood samples were centrifuged at 4,000 g during 10 minutes at +4 °C and plasma samples were collected and stored at –80 °C until analysis. For tissue collection, the animals were euthanized following anaesthesia. Forty-five different tissues, from nine different systems, were excised and snap-frozen. Eleven tissues belong to the digestive system (stomach, duodenum, jejunum, ileum, caecum, ascending colon, transverse colon, descending colon, sigmoid colon, rectum and the tail of pancreas), two were the main elimination sites (kidney and liver), three belong to the cardiopulmonary system (lung, apex of the heart and atrium), two were from the urinary system (bladder and urethra). Eight different lymph nodes (LN) (submandibular, cervical, inferior cervical, superior mesenteric, inferior mesenteric, iliac and inguinal LNs), thymus, spleen and tonsils are part of the lymphatic system. Three different adipose tissue were sampled: visceral, abdominal subcutaneous and axillary subcutaneous adipose tissue. Five tissues belong to the reproductive system: testis, epididymis, deferent duct, seminal vesicle and the prostate. Two different skins (from the injection site and from the thigh) and the quadriceps femoris muscle were sampled. Last, five different parts from the central nervous system were excised: cerebellum, frontal lobe, occipital lobe, cerebrum and the brainstem. Collected tissues were snap-frozen and stored at –80 °C until analysis.

The TNF, FTC and DTG plasma concentrations were measured simultaneously by a LC-MS/MS method, as previously described (Gouget *et al.*, 2020). The tissue samples were thawed, weighed, mixed (1:5 w:v) with an acetonitrile:water (70:30 v:v) mixture and homogenized with a tissue homogenizer (7 m/s, 10 cycles of 30 s with 2 min of rest between each cycle, BeadBlaster®, Dutscher, France). In order to take into account the intra-tissue variability of the diffusion of the three ARVs tested, three samples, when possible, of each

tissue were prepared, each taken in non-contiguous areas. They were then analysed by the same LC-MS/MS method, adapted to tissue.

Data and statistical analysis

A tissue penetration factor (TPF) was calculated to estimate and compare ARV penetration. TPF was calculated as the ratio of the tissue concentration of the drug to its plasma 24-hour post-dose concentrations (C_{24h}) after the conversion of tissue concentrations to nanograms per millilitre with a tissue density database (Hasgall *et al.*, 2018). The fold change increase in TPFs with SC versus IV administration were also calculated.

To determine whether the diffusion of the ARV is sufficient to inhibit viral replication, we calculated the inhibitory quotient (IQ) as the ratio of the concentration of each ARV drug achieved in tissue to the *in vitro* concentration of that ARV drug required to inhibit HIV replication by 90% (IC_{90}). In these calculations, we used the following IC_{90} values: TNF, 2.98 ng/mL (Thompson *et al.*, 2019) and FTC, 51 ng/mL (Flynn *et al.*, 2011). We used the protein-adjusted IC_{90} (PA- IC_{90}) for DTG (64 ng/mL) (Min *et al.*, 2010) as DTG displays a high rate of binding to plasma proteins (Gel e *et al.*, 2020). PA- IC_{90} has been used as a commonly used and accepted comparative parameter without knowing whether tissue binding of these drugs is the same as plasma protein binding.

Intra-tissue variability was also assessed by calculating the coefficient of variation of the concentrations obtained for each triplicate performed for each tissue of each macaque and was then compared between the three ARVs.

Statistical analyses were performed among the IQs, the TPFs and the intra-tissue variabilities obtained from TNF, FTC and DTG using the Kruskal–Wallis test with Dunn’s multiple comparisons tests (GraphPad Prism, version 9.0.0 for Windows, GraphPad Software). The threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$. All numerical variables are expressed as medians and interquartile ranges (IQR) unless otherwise indicated.

Results

The ARV doses, selected to approximate human equivalent doses, achieved plasma concentrations close to those observed in humans. Plasma 24-hour post-dose TNF concentrations were 29.3 (36.1) and 21.0 (14.0) ng/mL for SC and IV group, respectively. Similarly, FTC C_{24h} were 52.5 (63.8) and 57.9 (28.3) ng/mL and DTG C_{24h} were 197.8 (55.1) and 86.0 (9.0) ng/mL for SC and IV group, respectively.

Figure 1A presents the median TPF values at 24 h post-dose for each ARV and each tissue and Figure 2A, the comparison of the values between the three ARVs. Median TPFs were 45.4, 5.8 and 0.5 for TNF, FTC and DTG, respectively, and were statistically different between the three ARVs. TNF had a strong diffusion capacity since 100% of tissues had a

TPF above unity. FTC had a very good one with only two tissues, the visceral adipose tissue and the occipital lobe, with a TPF below unity. Last, DTG presented a weak diffusion capacity as only 10 tissues (22%) had a TPF above unity. The observed differences of TPFs between tissues were decreased by grouping tissues by system. Tissue TPFs from the digestive system were the highest followed by those from the two elimination sites, the cardiopulmonary system and the urinary system. Then come those from the skin, the lymphatic system, the adipose tissue and the reproductive system. At last, tissue TPFs were the lowest from muscles and the central nervous system.

For FTC and DTG, the changes in the median 24 h post-dose TPF between the SC administration and the IV administration, were all less than one log (Supplemental Figure S1). For TNF, only two tissues have a ratio greater than one log, with greater diffusion via the intravenous route in the abdominal subcutaneous adipose tissue and via the subcutaneous route at the injection site.

The Figure 1B show the median IQs of the ARV drugs in the 45 tissues and, Figure 2B the comparison of the values between the three ARVs. IQs were 184.5, 6.9 and 1.0 for TNF, FTC and DTG respectively and were statistically different between the 3 drugs.

For each drug, IQ values and TPF values have similar trends. Almost the same statistically significant difference was observed between these three ARVs, with approximately a tenfold difference from one molecule to another (Figure 2B). TNF and FTC had the highest viral replication inhibition capacity with IQ median values above unity for all the tissues. Conversely, DTG had the weakest capacity with only 22 tissues out of the 45 with IQ values above unity.

A low variation in concentrations for an ARV in the same tissues was observed (Supplemental Figure S2). Indeed, for tissue with triplicate samples (Supplemental Figure S3), the median intra-tissue variability is around 15%, with only two values above 50% (at the skin injection site for TNF and DTG) and no value above 80% (Figure 3). For FTC, the intra-tissue variability was significantly higher than for TNF and DTG.

Discussion

In this study, in healthy non-human primate, we were able to characterize the tissue exposure and penetration of three major ARVs simultaneously administered: TNF, FTC and DTG. Forty-five different tissues were studied allowing the first whole-body diffusion mapping of these ARVs.

ARV doses were chosen according to previous unpublished data. Observed 24 h post-dose concentrations were in the same order of magnitude than human 24 h post-dose

concentrations for all three ARVs and for both routes of administration (Barditch-Crovo *et al.*, 2001; Blum *et al.*, 2007; Min *et al.*, 2010).

We observed that ARV diffusion differed considerably between tissues and between ARVs. TPFs were statistically different between the three ARVs. TNF is undoubtedly the studied ARV with the highest diffusion capacity since all TNF TPFs were above unity. FTC is the second one and DTG is the last one. These results are consistent with previously reported data in another animal model, the mouse (Labarthe *et al.*, 2022). These observations are also in agreement with some physicochemical parameters such as degree of lipophilicity and their ability to bind to protein or due to involvement of drug efflux transporters (FDA Approved Drug Products, 2001, 2003, 2013; National Center for Biotechnology Information, 2022b, 2022a, 2022c).

Concerning the differences of TPFs observed between tissues, the variability was decreased by grouping tissue by system. Interestingly, the ranking in decreasing order of TPF is almost similar for the three ARVs and is in agreement with our previously reported twelve-tissue mapping in a murine model (Labarthe *et al.*, 2022).

Digestive tract TPFs were close to human data in the ileum (Thompson *et al.*, 2019) and the rectum (Karim *et al.*, 2011; Patterson *et al.*, 2011; Greener *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2014; Fonsart *et al.*, 2017). The high observed TPFs in rectum are consistent with the use of TDF and FTC for preexposure prophylaxis (García-Lerma *et al.*, 2008; Molina *et al.*, 2015). The colon is the tissue with significant differences for TNF and FTC between human and NHP (Louissaint *et al.*, 2013; Hendrix *et al.*, 2016). This could possibly be explained by the sampling method and therefore the cellular composition. Indeed, a biopsy, carried out in humans, is mainly composed of cell types close to the intestinal lumen, while the assay carried out in our study by tissue homogenization is composed of all the cell types of the colon. No data are currently available for DTG for the colon.

The two elimination sites, kidney and liver, the cardiopulmonary system tissues and the urinary system tissues were the tissues with the second-highest level of exposure. It is potentially the representation of a high degree of vascularization for the liver and the cardiopulmonary system. Concerning kidney and urinary system, TNF is known to be eliminated via the proximal tubules. Both influx (SLC22A6, SLC22A8) and efflux (ABCC4, ABCC10) transporters seem to be involved in long-term kidney toxicity, due to the accumulation of TNF in these cells (Moss *et al.*, 2014). Also, renal elimination levels were reported to be high for FTC (86%) (FDA Approved Drug Products, 2003) and low for DTG (< 1%) (FDA Approved Drug Products, 2013). These findings are consistent with the observed urinary system TPFs.

The lymphatic system, including eight different lymph nodes, spleen, thymus and tonsil presented similar levels of exposure for each ARVs studied. For lymph nodes, compared to humans, TPFs were greater in macaques for the 3 drugs (Fletcher *et al.*, 2018; Burgunder *et*

al., 2019). This enhanced distribution into lymph nodes could be explained by the use of the SC route in NHPs leading to the absorption into lymphatic vessels at the site of injection and further distribution into lymphatics (McLennan *et al.*, 2005; Richter & Jacobsen, 2014).

The reproductive system is a major system due to being the main mode of contamination of HIV infection. However, only a few studies focus on the male genital tract (Else *et al.*, 2011; Greener *et al.*, 2013). Observed TPFs were very similar to TPFs in male humans for the three ARVs. These observations are also consistent with reported data in seminal fluid (Ghosn *et al.*, 2004; Valade *et al.*, 2015; Hendrix *et al.*, 2016).

Linked to the HIV neurotropism (Grant *et al.*, 1987), the CNS is a major HIV reservoir and HIV-related CNS impairment is still a significant complication of HIV (Saylor *et al.*, 2016; Veenstra *et al.*, 2017). However, reported brain concentrations in humans are uncommon due to ethical reasons. In NHPs, the brain tissues are those with the lowest TPFs for all three ARVs studied. The TPFs obtained were similar to those reported in a few postmortem studies for TNF (Nicol *et al.*, 2019; Ferrara *et al.*, 2020) and FTC (Ferrara *et al.*, 2020). Data on intracerebral concentrations in humans for DTG are lacking. Nevertheless, data have been observed at the CSF level (Letendre *et al.*, 2014; Gelé *et al.*, 2019; Calcagno *et al.*, 2021; Tiraboschi *et al.*, 2021) and a weak diffusion in this compartment is observed, consistent with the CNS data obtained in macaques. The poor diffusion of these ARVs to the brain could be explained by the presence of the blood–brain barrier, which is a physical barrier and presents a high density of efflux proteins. For instance, DTG is a substrate for both major efflux transporters present at this blood-brain barrier, ABCB1 and ABCG2 (Reese *et al.*, 2013). Moreover, DTG is a highly protein bound drug that may limit its diffusion (Gelé *et al.*, 2020).

No previous study reported human data for skin, adipose tissue nor muscle. Overall, the factors are rather among the weakest.

Aiming to evaluate the potential efficacy of these three ARVs, the IQ was calculated. This parameter is considered by the FDA as a useful tool for the development of new antiviral drugs (U.S. Department of Health and Human Services *et al.*, 2006). The differences observed between the tissues for the same ARV are consistent with the differences observed for the TPFs. TNF and FTC IQs were greater than unity for all tissues, suggesting that the tissue concentrations are sufficient to inhibit the virus and minimize the development of resistance. However, these IQs were greater than unity for only 22 of the 45 tissues studied for DTG. Thus, only these 22 tissues can be considered as being under an effective triple therapy, raising questions of whether sufficient anti-HIV activity could be achieved. Targeted tissue delivery approaches may be necessary to improve the diffusion in these tissues, especially for some ARVs like DTG.

This study has a number of limitations. First, the assay was carried out on homogenized tissue with potential residual blood contamination. To minimize this potential contamination,

the samples were chosen from the least macroscopically contaminated places. The tissues were not flushed, as it would modify the homeostatic balance of the concentrations between the tissue environment and the circulating blood, leading to an underestimation of tissue concentrations. Other authors recommend a correction of the concentrations observed by a factor specific to each tissue taking into account the quantity of residual blood observed in this tissue (Khor *et al.*, 1991; Khor & Mayersohn, 1991; Giudicelli *et al.*, 2004; Fridén *et al.*, 2010) or by the circulating hemoglobin level (de Boer *et al.*, 2005), but these corrections are not errorless (Fridén *et al.*, 2010). Second, the active forms, tenofovir 5'-diphosphate and emtricitabine 5'-triphosphate, were not assayed. However, TDF and FTC reached high concentrations in a large amount of tissues. Therefore, they would be expected to be phosphorylated to produce the active moiety if kinase activities are not a limiting factor. The last limitation is the single-dose design of the study whereas the ARVs are administered in repeated doses for PLWH. Repeated daily administration should lead to tissue accumulation of all three ARVs and make it possible to observe less weak concentrations, in particular for DTG.

In conclusion, we reported a whole-body diffusion mapping in an appropriate NHP model. This validated NHP model will be suitable for further PK/PD studies in SIV-infected NHP with the goal of evaluating immunovirological responses as a function of drug concentration in various reservoirs and compartments. These data have important implications for future preclinical and clinical studies for the development of new HIV therapies towards an HIV cure.

Funding

This research was funded by the ANRS RHIVIERA and ViiV Healthcare.

Transparency declarations

Chris M. Parry is employed by ViiV Healthcare and has stock/shares in GSK. All other authors: none to declare.

Acknowledgements

The Infectious Disease Models and Innovative Therapies (IDMIT) research infrastructure is supported by the "Programme Investissements d'Avenir" managed by the ANR under reference ANR-11-INBS-0008. We thank Gilead and ViiV for providing the antiretroviral drugs.

References

- Barditch-Crovo, P., Deeks, S. G., Collier, A., Safrin, S., Coakley, D. F., Miller, M., Kearney, B. P., Coleman, R. L., Lamy, P. D., Kahn, J. O., McGowan, I., & Lietman, P. S. (2001). Phase i/ii trial of the pharmacokinetics, safety, and antiretroviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in human immunodeficiency virus-infected adults. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(10), 2733-2739. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.10.2733-2739.2001>
- Blum, M. R., Chittick, G. E., Begley, J. A., & Zong, J. (2007). Steady-state pharmacokinetics of emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate administered alone and in combination in healthy volunteers. *Journal of Clinical Pharmacology*, 47(6), 751-759. <https://doi.org/10.1177/0091270007300951>
- Burgunder, E., Fallon, J. K., White, N., Schauer, A. P., Sykes, C., Remling-Mulder, L., Kovarova, M., Adamson, L., Luciw, P., Garcia, J. V., Akkina, R., Smith, P. C., & Kashuba, A. D. M. (2019). Antiretroviral Drug Concentrations in Lymph Nodes: A Cross-Species Comparison of the Effect of Drug Transporter Expression, Viral Infection, and Sex in Humanized Mice, Nonhuman Primates, and Humans. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 370(3), 360-368. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.259150>
- Calcagno, A., Moltó, J., Borghetti, A., Gervasoni, C., Milesi, M., Valle, M., Avataneo, V., Alcantarini, C., Pla-Junca, F., Trunfio, M., D'Avolio, A., Di Giambenedetto, S., Cattaneo, D., Di Perri, G., & Bonora, S. (2021). Older Age is Associated with Higher Dolutegravir Exposure in Plasma and Cerebrospinal Fluid of People Living with HIV. *Clinical Pharmacokinetics*, 60(1), 103-109. <https://doi.org/10.1007/s40262-020-00916-9>
- de Boer, V. C. J., Dihal, A. A., van der Woude, H., Arts, I. C. W., Wolffram, S., Alink, G. M., Rietjens, I. M. C. M., Keijer, J., & Hollman, P. C. H. (2005). Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. *The Journal of Nutrition*, 135(7), 1718-1725. <https://doi.org/10.1093/jn/135.7.1718>
- Del Prete, G. Q., Smedley, J., Macallister, R., Jones, G. S., Li, B., Hattersley, J., Zheng, J., Piatak, M., Keele, B. F., Hesselgesser, J., Geleziunas, R., & Lifson, J. D. (2016). Short Communication: Comparative Evaluation of Coformulated Injectable Combination Antiretroviral Therapy Regimens in Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Macaques. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 32(2), 163-168. <https://doi.org/10.1089/AID.2015.0130>

- Department of Health and Human Services. (2021). *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV*.
<https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/documents/AdultandAdolescentGL.pdf>
- Else, L. J., Taylor, S., Back, D. J., & Khoo, S. H. (2011). Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: The male and female genital tract. *Antiviral Therapy*, 16(8), 1149-1167. <https://doi.org/10.3851/IMP1919>
- European AIDS Clinical Society. (2021). *European AIDS Clinical Society Guidelines v11*.
https://www.eacsociety.org/media/final2021eacsguidelinesv11.0_oct2021.pdf
- FDA Approved Drug Products. (2001). *VIREAD® (tenofovir disoproxil fumarate) tablets, for oral use*.
- FDA Approved Drug Products. (2003). *EMTRIVA® (emtricitabine) capsule, for oral use*.
- FDA Approved Drug Products. (2013). *TIVICAY® (dolutegravir) tablets, for oral use*.
- Ferrara, M., Bumpus, N. N., Ma, Q., Ellis, R. J., Soontornniyomkij, V., Fields, J. A., Bharti, A., Achim, C. L., Moore, D. J., & Letendre, S. L. (2020). Antiretroviral drug concentrations in brain tissue of adult decedents. *AIDS*, 34(13), 1907-1914.
<https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002628>
- Fletcher, C. V., Staskus, K., Wietgreffe, S. W., Rothenberger, M., Reilly, C., Chipman, J. G., Beilman, G. J., Khoruts, A., Thorkelson, A., Schmidt, T. E., Anderson, J., Perkey, K., Stevenson, M., Perelson, A. S., Douek, D. C., Haase, A. T., & Schacker, T. W. (2014). Persistent HIV-1 replication is associated with lower antiretroviral drug concentrations in lymphatic tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(6), 2307-2312. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318249111>
- Fletcher, C. V., Thorkelson, A., Winchester, L. C., Mykris, T. M., Weinhold, J. A., Campbell, K. M., Anderson, J., Zulk, J., Moshele, P., & Schacker, T. W. (2018). *Comparative lymphoid tissue pharmacokinetics (PK) of integrase inhibitors (INSTI)*. [Abstract 27]. *From the 25th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. March 4-7, 2018. Boston, Massachusetts*.
- Flynn, P. M., Mirochnick, M., Shapiro, D. E., Bardeguet, A., Rodman, J., Robbins, B., Huang, S., Fiscus, S. A., Van Rompay, K. K. A., Rooney, J. F., Kearney, B., Mofenson, L. M., Watts, D. H., Jean-Philippe, P., Heckman, B., Thorpe, E., Cotter, A., & Purswani, M. (2011). Pharmacokinetics and Safety of Single-Dose Tenofovir Disoproxil Fumarate and Emtricitabine in HIV-1-Infected Pregnant Women and Their Infants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(12), 5914-5922.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00544-11>

- Fonsart, J., Saragosti, S., Taouk, M., Peytavin, G., Bushman, L., Charreau, I., Hance, A., Goldwirt, L., Morel, S., Mammano, F., Loze, B., Capitant, C., Clavel, F., Mahjoub, N., Meyer, L., Anderson, P. L., Delaugerre, C., & Molina, J.-M. (2017). Single-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral tenofovir and emtricitabine in blood, saliva and rectal tissue: A sub-study of the ANRS IPERGAY trial. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *72*(2), 478-485. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw412>
- Fridén, M., Ljungqvist, H., Middleton, B., Bredberg, U., & Hammarlund-Udenaes, M. (2010). Improved Measurement of Drug Exposure in the Brain Using Drug-Specific Correction for Residual Blood. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *30*(1), 150-161. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.200>
- García-Lerma, J. G., Otten, R. A., Qari, S. H., Jackson, E., Cong, M.-E., Masciotra, S., Luo, W., Kim, C., Adams, D. R., Monsour, M., Lipscomb, J., Johnson, J. A., Delinsky, D., Schinazi, R. F., Janssen, R., Folks, T. M., & Heneine, W. (2008). Prevention of rectal SHIV transmission in macaques by daily or intermittent prophylaxis with emtricitabine and tenofovir. *PLoS Medicine*, *5*(2), e28. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050028>
- Gelé, T., Furlan, V., Taburet, A.-M., Pallier, C., Becker, P.-H., Goujard, C., Gasnault, J., Barrail-Tran, A., & Chéret, A. (2019). Dolutegravir Cerebrospinal Fluid Diffusion in HIV-1-Infected Patients with Central Nervous System Impairment. *Open Forum Infectious Diseases*, *6*(6), ofz174. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz174>
- Gelé, T., Gouget, H., Furlan, V., Becker, P.-H., Taburet, A.-M., Lambotte, O., & Barrail-Tran, A. (2020). Characteristics of Dolutegravir and Bictegravir Plasma Protein Binding: A First Approach for the Study of Pharmacologic Sanctuaries. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *64*(11), e00895-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00895-20>
- Ghosn, J., Chaix, M.-L., Peytavin, G., Rey, E., Bresson, J.-L., Goujard, C., Katlama, C., Viard, J.-P., Tréluyer, J.-M., & Rouzioux, C. (2004). Penetration of enfuvirtide, tenofovir, efavirenz, and protease inhibitors in the genital tract of HIV-1-infected men. *AIDS*, *18*(14), 1958-1961. <https://doi.org/10.1097/00002030-200409240-00014>
- Giudicelli, C., Dricot, E., Moati, F., Strolin-Benedetti, M., & Giudicelli, J.-F. (2004). Is it important to correct apparent drug tissue concentrations for blood contamination in the dog? *Fundamental & Clinical Pharmacology*, *18*(3), 281-286. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2004.00246.x>
- Gouget, H., Noé, G., Barrail-Tran, A., & Furlan, V. (2020). UPLC–MS/MS method for the simultaneous quantification of bictegravir and 13 others antiretroviral drugs plus cobicistat and ritonavir boosters in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *181*, 113057. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113057>

- Grant, I., Atkinson, J. H., Hesselink, J. R., Kennedy, C. J., Richman, D. D., Spector, S. A., & McCutchan, J. A. (1987). Evidence for early central nervous system involvement in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and other human immunodeficiency virus (HIV) infections. Studies with neuropsychologic testing and magnetic resonance imaging. *Annals of Internal Medicine*, *107*(6), 828-836. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-107-6-828>
- Greener, B. N., Patterson, K. B., Prince, H. M. A., Sykes, C. S., Adams, J. L., Dumond, J. B., Shaheen, N. J., Madanick, R. D., Dellon, E. S., Cohen, M. S., & Kashuba, A. D. M. (2013). Dolutegravir pharmacokinetics in the genital tract and colorectum of HIV-negative men after single and multiple dosing. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *64*(1), 39-44. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31829ed7a4>
- Hasgall, P., Di Gennaro, F., Baumgartner, C., Neufeld, E., Lloyd, B., Gosselin, M., Payne, D., Klingenböck, A., & Kustner, A. (2018). *IT'IS Database for thermal and electromagnetic parameters of biological tissues. Version 4.0.* <https://doi.org/10.13099/VIP21000-04-0>
- Hendrix, C. W., Andrade, A., Bumpus, N. N., Kashuba, A. D., Marzinke, M. A., Moore, A., Anderson, P. L., Bushman, L. R., Fuchs, E. J., Wiggins, I., Radebaugh, C., Prince, H. A., Bakshi, R. P., Wang, R., Richardson, P., Shieh, E., McKinstry, L., Li, X., Donnell, D., ... Patterson, K. B. (2016). Dose Frequency Ranging Pharmacokinetic Study of Tenofovir-Emtricitabine After Directly Observed Dosing in Healthy Volunteers to Establish Adherence Benchmarks (HPTN 066). *AIDS Research and Human Retroviruses*, *32*(1), 32-43. <https://doi.org/10.1089/AID.2015.0182>
- Karim, S. S. A., Kashuba, A. D., Werner, L., & Karim, Q. A. (2011). Drug concentrations after topical and oral antiretroviral pre-exposure prophylaxis: Implications for HIV prevention in women. *The Lancet*, *378*(9787), 279-281. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60878-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60878-7)
- Khor, S. P., Bozigian, H., & Mayersohn, M. (1991). Potential error in the measurement of tissue to blood distribution coefficients in physiological pharmacokinetic modeling. Residual tissue blood. II. Distribution of phencyclidine in the rat. *Drug Metabolism and Disposition*, *19*(2), 486-490.
- Khor, S. P., & Mayersohn, M. (1991). Potential error in the measurement of tissue to blood distribution coefficients in physiological pharmacokinetic modeling. Residual tissue blood. I. Theoretical considerations. *Drug Metabolism and Disposition*, *19*(2), 478-485.

- Labarthe, L., Gelé, T., Gouget, H., Benzemrane, M.-S., Le Calvez, P., Legrand, N., Lambotte, O., Le Grand, R., Bourgeois, C., & Barrail-Tran, A. (2022). Pharmacokinetics and tissue distribution of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in mice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(4), 1094-1101. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab501>
- Letendre, S. L., Mills, A. M., Tashima, K. T., Thomas, D. A., Min, S. S., Chen, S., Song, I. H., & Piscitelli, S. C. (2014). ING116070 : A Study of the Pharmacokinetics and Antiviral Activity of Dolutegravir in Cerebrospinal Fluid in HIV-1–Infected, Antiretroviral Therapy–Naive Subjects. *Clinical Infectious Diseases*, 59(7), 1032-1037. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu477>
- Li, J. Z., Aga, E., Bosch, R. J., Pilkinton, M., Kroon, E., MacLaren, L., Keefer, M., Fox, L., Barr, L., Acosta, E., Ananworanich, J., Coombs, R., Mellors, J. W., Landay, A. L., Macatangay, B., Deeks, S., Gandhi, R. T., Smith, D. M., & AIDS Clinical Trials Group A5345 Study Team. (2021). Time to Viral Rebound After Interruption of Modern Antiretroviral Therapies. *Clinical Infectious Diseases*, ciab541. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab541>
- Lorenzo-Redondo, R., Fryer, H. R., Bedford, T., Kim, E.-Y., Archer, J., Kosakovsky Pond, S. L., Chung, Y.-S., Penugonda, S., Chipman, J. G., Fletcher, C. V., Schacker, T. W., Malim, M. H., Rambaut, A., Haase, A. T., McLean, A. R., & Wolinsky, S. M. (2016). Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. *Nature*, 530(7588), 51-56. <https://doi.org/10.1038/nature16933>
- Louissaint, N. A., Cao, Y.-J., Skipper, P. L., Liberman, R. G., Tannenbaum, S. R., Nimmagadda, S., Anderson, J. R., Everts, S., Bakshi, R., Fuchs, E. J., & Hendrix, C. W. (2013). Single Dose Pharmacokinetics of Oral Tenofovir in Plasma, Peripheral Blood Mononuclear Cells, Colonic Tissue, and Vaginal Tissue. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 29(11), 1443-1450. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0044>
- McLennan, D. N., Porter, C. J. H., & Charman, S. A. (2005). Subcutaneous drug delivery and the role of the lymphatics. *Drug Discovery Today. Technologies*, 2(1), 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2005.05.006>
- Min, S., Song, I., Borland, J., Chen, S., Lou, Y., Fujiwara, T., & Piscitelli, S. C. (2010). Pharmacokinetics and Safety of S/GSK1349572, a Next-Generation HIV Integrase Inhibitor, in Healthy Volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 254-258. <https://doi.org/10.1128/AAC.00842-09>

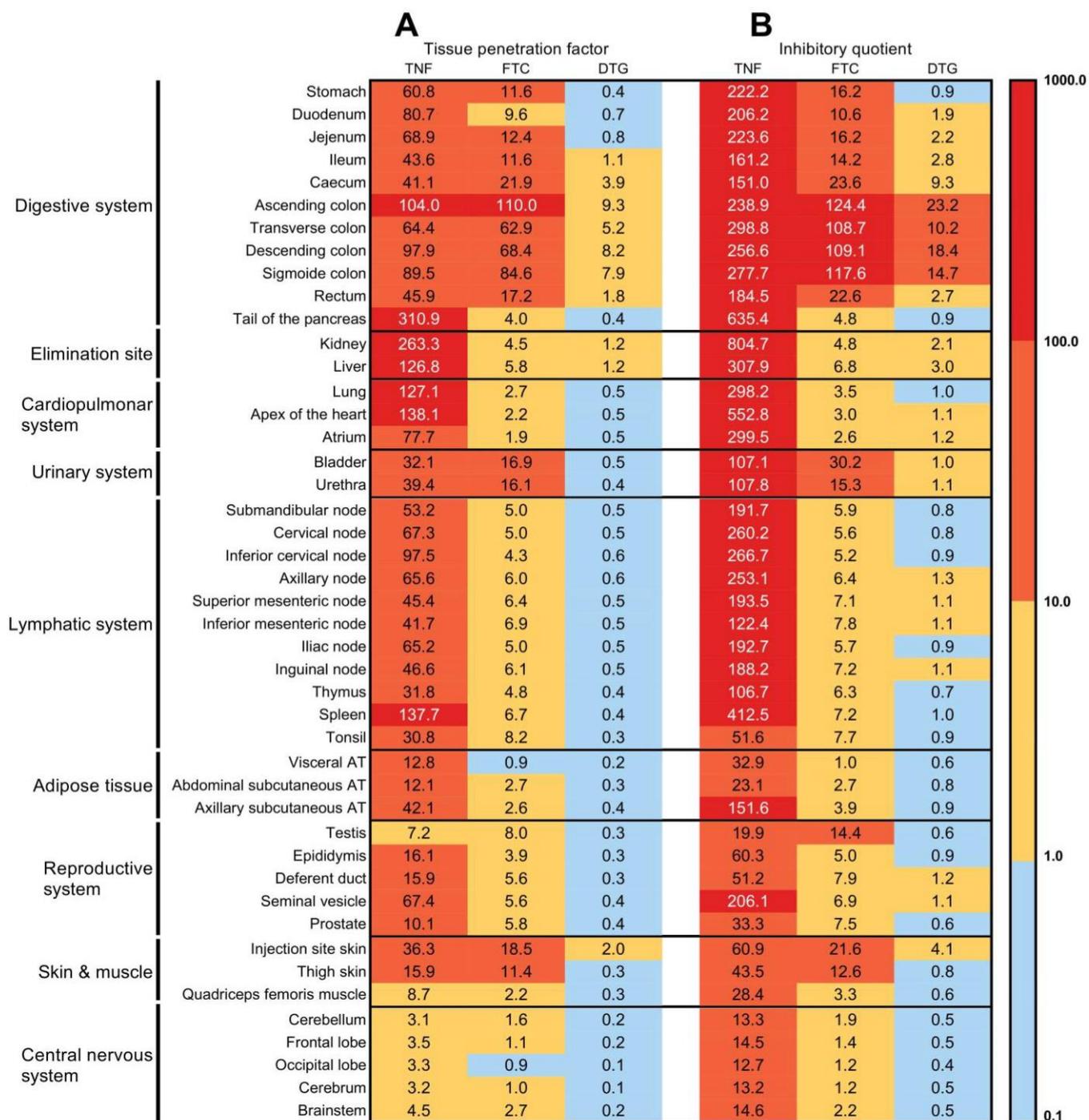
- Molina, J.-M., Capitant, C., Spire, B., Pialoux, G., Cotte, L., Charreau, I., Tremblay, C., Le Gall, J.-M., Cua, E., Pasquet, A., Raffi, F., Pintado, C., Chidiac, C., Chas, J., Charbonneau, P., Delaugerre, C., Suzan-Monti, M., Loze, B., Fonsart, J., ... ANRS IPERGAY Study Group. (2015). On-Demand Preexposure Prophylaxis in Men at High Risk for HIV-1 Infection. *The New England Journal of Medicine*, 373(23), 2237-2246. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1506273>
- Moss, D. M., Neary, M., & Owen, A. (2014). The role of drug transporters in the kidney : Lessons from tenofovir. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 248. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00248>
- National Center for Biotechnology Information. (2022a). *PubChem Compound Summary for CID 60877, Emtricitabine*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60877>
- National Center for Biotechnology Information. (2022b). *PubChem Compound Summary for CID 464205, Tenofovir*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/464205>
- National Center for Biotechnology Information. (2022c). *PubChem Compound Summary for CID 54726191, Dolutegravir*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54726191>
- Nicol, M. R., Pastick, K. A., Taylor, J., Namuju, O. C., Rhein, J., Williams, D. A., Meya, D. B., Boulware, D. R., & Lukande, R. (2019). Cerebrospinal Fluid and Brain Tissue Penetration of Tenofovir, Lamivudine, and Efavirenz in Postmortem Tissues with Cryptococcal Meningitis. *Clinical and Translational Science*, 12(5), 445-449. <https://doi.org/10.1111/cts.12661>
- Patterson, K. B., Prince, H. A., Kraft, E., Jenkins, A. J., Shaheen, N. J., Rooney, J. F., Cohen, M. S., & Kashuba, A. D. M. (2011). Penetration of tenofovir and emtricitabine in mucosal tissues : Implications for prevention of HIV-1 transmission. *Science Translational Medicine*, 3(112), 112re4. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003174>
- Perelson, A. S., Essunger, P., Cao, Y., Vesanen, M., Hurley, A., Saksela, K., Markowitz, M., & Ho, D. D. (1997). Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature*, 387(6629), 188-191. <https://doi.org/10.1038/387188a0>
- Reese, M. J., Savina, P. M., Generaux, G. T., Tracey, H., Humphreys, J. E., Kanaoka, E., Webster, L. O., Harmon, K. A., Clarke, J. D., & Polli, J. W. (2013). In Vitro Investigations into the Roles of Drug Transporters and Metabolizing Enzymes in the Disposition and Drug Interactions of Dolutegravir, a HIV Integrase Inhibitor. *Drug Metabolism and Disposition*, 41(2), 353-361. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.048918>
- Richter, W. F., & Jacobsen, B. (2014). Subcutaneous absorption of biotherapeutics : Knowns and unknowns. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 42(11), 1881-1889. <https://doi.org/10.1124/dmd.114.059238>

- Saag, M. S., Gandhi, R. T., Hoy, J. F., Landovitz, R. J., Thompson, M. A., Sax, P. E., Smith, D. M., Benson, C. A., Buchbinder, S. P., del Rio, C., Eron, J. J., Fätkenheuer, G., Günthard, H. F., Molina, J.-M., Jacobsen, D. M., & Volberding, P. A. (2020). Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults : 2020 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. *JAMA*, 324(16), 1651. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17025>
- Saylor, D., Dickens, A. M., Sacktor, N., Haughey, N., Slusher, B., Pletnikov, M., Mankowski, J. L., Brown, A., Volsky, D. J., & McArthur, J. C. (2016). HIV-associated neurocognitive disorder—Pathogenesis and prospects for treatment. *Nature reviews. Neurology*, 12(4), 234-248. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.27>
- Thompson, C. G., Rosen, E. P., Prince, H. M. A., White, N., Sykes, C., de la Cruz, G., Mathews, M., Deleage, C., Estes, J. D., Charlins, P., Mulder, L. R., Kovarova, M., Adamson, L., Arora, S., Dellon, E. S., Peery, A. F., Shaheen, N. J., Gay, C., Muddiman, D. C., ... Kashuba, A. D. M. (2019). Heterogeneous antiretroviral drug distribution and HIV/SHIV detection in the gut of three species. *Science Translational Medicine*, 11(499), eaap8758. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aap8758>
- Tiraboschi, J., Rojas, J., Zetterberg, H., Blennow, K., Niubo, J., Gostner, J., Navarro-Alcaraz, A., Piatti, C., Fuchs, D., Gisslén, M., Rigo-Bonnin, R., Martinez, E., & Podzamczek, D. (2021). No Changes in Human Immunodeficiency Virus (HIV) Suppression and Inflammatory Markers in Cerebrospinal Fluid in Patients Randomly Switched to Dolutegravir Plus Lamivudine (Spanish HIV/AIDS Research Network, PreEC/RIS 62). *The Journal of Infectious Diseases*, 223(11), 1928-1933. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa645>
- UNAIDS. (2021). *AIDSinfo*. <https://aidsinfo.unaids.org/>
- U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, & Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (2006). *Guidance for Industry | Antiviral Product Development—Conducting and Submitting Virology Studies to the Agency*. <https://www.fda.gov/media/71223/download>
- Valade, E., Tréluyer, J.-M., Illamola, S. M., Bouazza, N., Foissac, F., De Sousa Mendes, M., Lui, G., Chenevier-Gobeaux, C., Suzan-Monti, M., Rouzioux, C., Assoumou, L., Viard, J.-P., Hirt, D., Urien, S., Ghosn, J., & Evarist ANRS-EP 49 Study Group. (2015). Emtricitabine seminal plasma and blood plasma population pharmacokinetics in HIV-infected men in the EVARIST ANRS-EP 49 study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(11), 6800-6806. <https://doi.org/10.1128/AAC.01517-15>

- Veenstra, M., León-Rivera, R., Li, M., Gama, L., Clements, J. E., & Berman, J. W. (2017). Mechanisms of CNS Viral Seeding by HIV+ CD14+ CD16+ Monocytes: Establishment and Reseeding of Viral Reservoirs Contributing to HIV-Associated Neurocognitive Disorders. *MBio*. <https://doi.org/10.1128/mBio.01280-17>
- World Health Organization. (2021). *Consolidated guidelines on HIV prevention, testing, treatment, service delivery and monitoring: Recommendations for a public health approach* (2021 update). World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/342899>
- Worobey, M., Telfer, P., Souquière, S., Hunter, M., Coleman, C. A., Metzger, M. J., Reed, P., Makuwa, M., Hearn, G., Honarvar, S., Roques, P., Apetrei, C., Kazanji, M., & Marx, P. A. (2010). Island Biogeography Reveals the Deep History of SIV. *Science*, 329(5998), 1487-1487. <https://doi.org/10.1126/science.1193550>
- Yang, K.-H., Hendrix, C., Bumpus, N., Elliott, J., Tanner, K., Mauck, C., Cranston, R., McGowan, I., Richardson-Harman, N., Anton, P. A., & Kashuba, A. D. M. (2014). A Multi-Compartment Single and Multiple Dose Pharmacokinetic Comparison of Rectally Applied Tenofovir 1% Gel and Oral Tenofovir Disoproxil Fumarate. *PLoS One*, 9(10), 14.

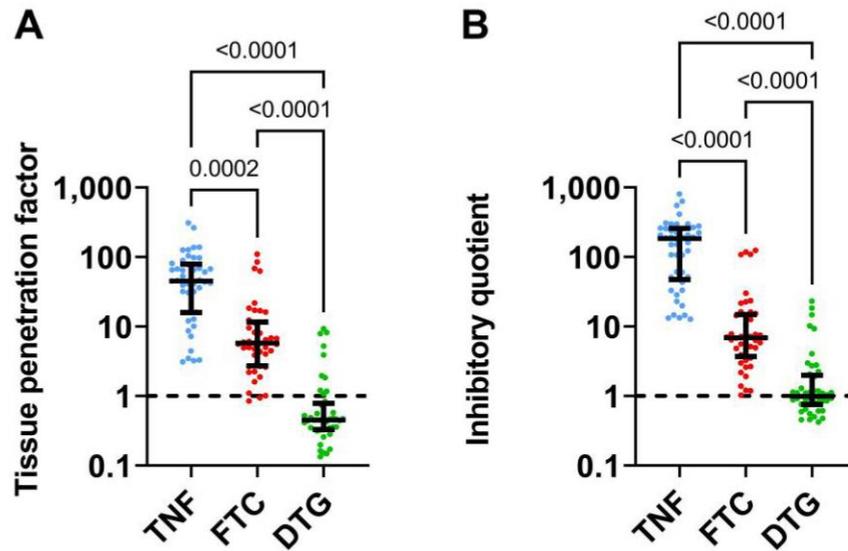
Figures

Figure 1. Tissue penetration factors (A) and inhibitory quotients (B) of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir in 45 tissues.



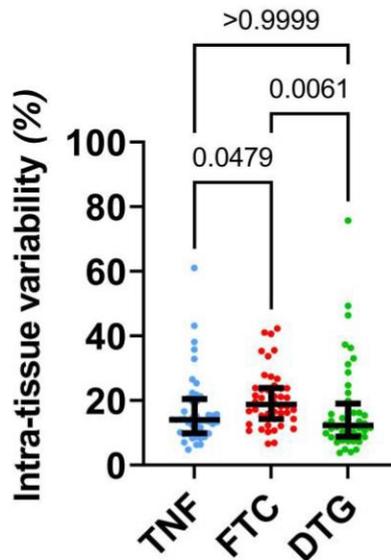
Median tissue penetration factor (A) and inhibitory quotient (B) values are shown in each box and the scale for the colour codes is indicated above. The black bold borders delimit the tissues of the same system. TNF, tenofovir; FTC, emtricitabine; DTG, dolutegravir; AT, adipose tissue.

Figure 2. Comparison of the tissue penetration factors (A) and the inhibitory quotients (B) of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir.



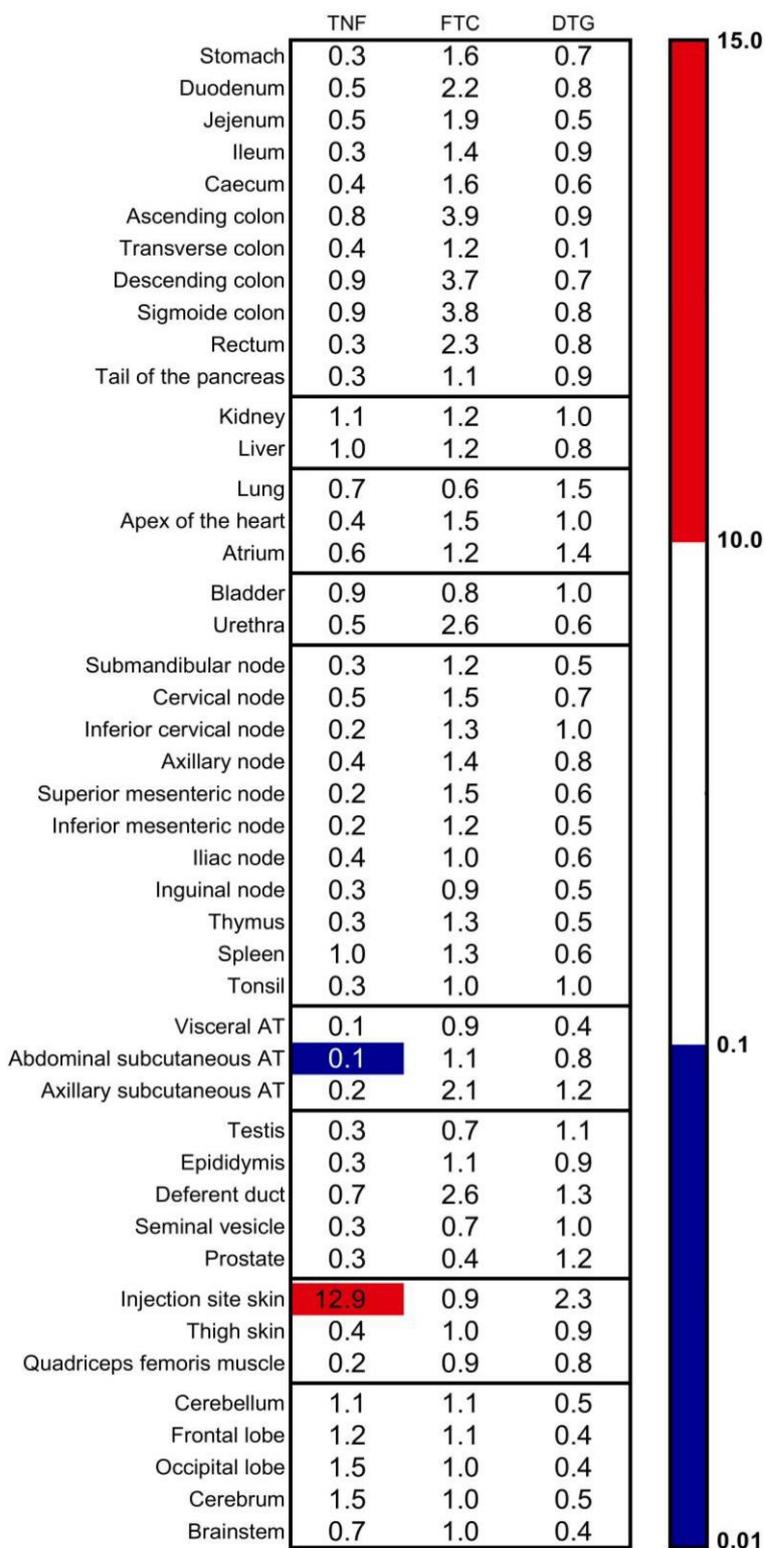
Each dot represents median tissue penetration factor (A) and inhibitory quotient (B) value of each tissue. TNF, tenofovir; FTC, emtricitabine; DTG, dolutegravir.

Figure 3. Intra-tissue variability.



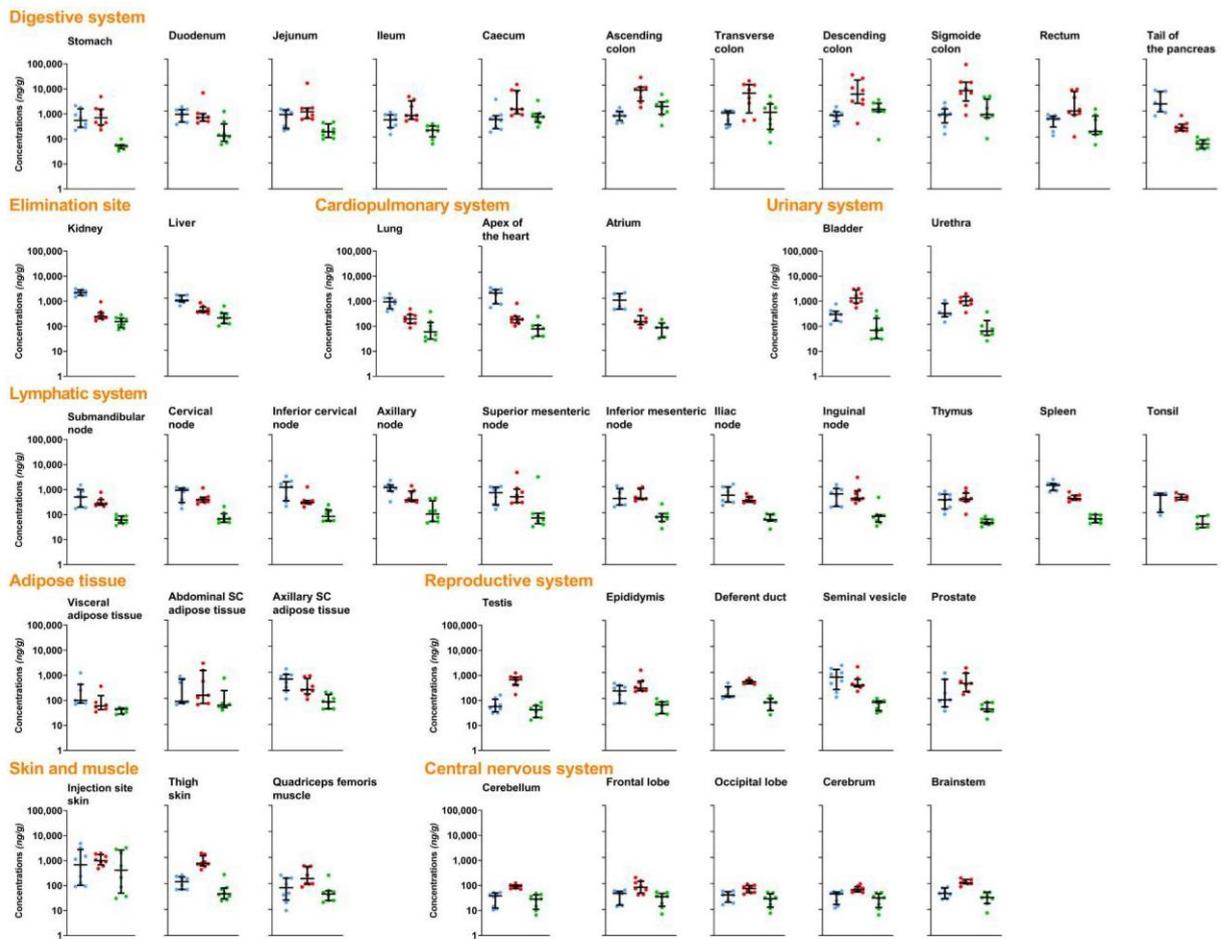
Each dot represents the median coefficient of variation of the concentrations obtained for each tissue, calculated for each triplicate of each non-human primate. TNF, tenofovir; FTC, emtricitabine; DTG, dolutegravir.

Figure S1. Heat map of the change in the tissue penetration factors observed with subcutaneous route of administration compared with intravenous route.



The median change in tissue penetration factor values is shown in each box and the scale for the colour codes is indicated below. The black bold borders delimit the tissues of the same system. TNF, tenofovir; FTC, emtricitabine; DTG, dolutegravir; AT, adipose tissue.

Figure S2. Median concentrations of tenofovir, emtricitabine and dolutegravir, tissue by tissue.



Each dot represents the median concentrations obtained for each NHP calculated from each triplicate samples, when possible, of each tissue. Blue dots refer to tenofovir, red dots to emtricitabine and green dots to dolutegravir. SC: subcutaneous.

Figure S3. Number of samples whose concentrations were measured for each tissue and for each macaque.

	SC route				IV route			
	NHP1	NHP2	NHP3	NHP4	NHP5	NHP6	NHP7	NHP8
Stomach	3	3	3	3	3	3	3	3
Duodenum	3	3	3	3	3	3	3	3
Jejunum	3	3	3	3	3	3	3	3
Ileum	3	3	3	3	3	3	3	3
Caecum	3	3	3	3	3	3	3	2
Ascending colon	3	3	3	3	3	3	3	3
Transverse colon	3	3	3	3	3	3	3	3
Descending colon	3	3	3	3	3	3	3	3
Sigmoide colon	3	3	3	3	3	3	3	3
Rectum	3	3	3	3	3	3	3	3
Tail of the pancreas	3	3	3	3	3	3	3	3
Kidney	6	6	6	6	6	6	6	6
Liver	3	3	3	3	3	3	3	3
Lung	3	3	3	3	3	3	3	3
Apex of the heart	3	3	3	3	3	3	3	3
Atrium	6	6	5	6	6	0	0	6
Bladder	3	3	3	3	3	3	3	3
Urethra	3	0	1	2	1	1	0	1
Submandibular node	5	2	4	6	6	6	6	6
Cervical node	5	2	3	1	6	3	5	5
Inferior cervical node	3	3	4	5	4	1	5	2
Axillary node	6	5	6	6	6	6	6	6
Superior mesenteric node	3	3	3	2	2	3	3	3
Inferior mesenteric node	3	3	3	2	3	3	3	3
Iliac node	6	6	4	6	6	6	6	6
Inguinal node	4	5	6	6	6	5	6	6
Thymus	3	3	3	3	3	3	3	3
Spleen	3	3	2	3	3	3	3	3
Tonsil	4	4	0	0	5	1	0	2
Visceral AT	3	3	3	3	0	3	3	3
Abdominal subcutaneous AT	3	3	3	3	0	3	3	3
Axillary subcutaneous AT	6	6	6	6	5	6	6	6
Testis	6	6	6	6	6	6	6	6
Epididymis	6	6	6	6	6	6	6	6
Deferent duct	6	2	2	4	0	2	0	4
Seminal vesicle	6	6	6	6	6	6	6	6
Prostate	3	3	3	3	3	0	3	3
Injection site skin	3	3	3	3	3	3	3	3
Thigh skin	3	3	3	3	3	3	3	3
Quadriceps femoris muscle	3	6	6	6	6	6	6	6
Cerebellum	3	3	3	3	3	3	3	3
Frontal lobe	3	3	3	3	3	3	3	3
Occipital lobe	3	3	3	3	3	3	3	3
Cerebrum	6	6	6	6	6	6	6	6
Brainstem	1	1	1	1	1	1	1	1

Each box indicates the number of samples whose concentrations were measured for each tissue and for each macaque. For paired organs, the number may be greater than 3 because the left and right organs were collected. In green, the boxes for which the triplicate could be carried out. AT, adipose tissue, SC: subcutaneous, IV: intravenous.

DISCUSSION

L'étude de la diffusion des médicaments antirétroviraux est un enjeu actuel important dans le cadre de la recherche sur la persistance de la réplication du VIH (Deeks *et al.*, 2016, 2021; Kalada and Cory, 2021; Scholz and Kashuba, 2021). Chaque nouvelle donnée est une pièce supplémentaire dans la compréhension des mécanismes mis en jeu. Dans le dessein d'obtenir une vue translationnelle de la diffusion des médicaments antirétroviraux d'intérêt, les travaux engagés pour cette thèse peuvent être classés en trois principaux niveaux. Le premier est le domaine de l'*in vitro* avec une étude concernant uniquement le DTG. Le deuxième niveau est une étude réalisée sur un petit modèle, le modèle rongeur. Enfin, la troisième est une étude réalisée sur un grand modèle, le modèle primate non-humain. Ce procédé d'études va dans le même sens que les études précliniques réalisées pour tout candidat médicament selon les recommandations des différentes agences de régulation des médicaments à usage humain, à savoir l'utilisation de deux espèces de la classe des mammifères (dont une n'étant pas de l'ordre des rongeurs) (European Medicines Agency, 2009; U.S. Department of Health and Human Services *et al.*, 2010). La multiplicité des données issues de modèles différents permet une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques et ainsi augmente le niveau de confiance pour extrapoler les données chez l'Homme.

Afin de pouvoir réaliser l'ensemble des études, l'utilisation de méthodes analytiques de dosage validées est une condition importante et *sine qua non*. Ces différentes méthodes de dosage ont soit fait l'objet de publication, concernant le dosage plasmatique (Gouget *et al.*, 2020), soit été adaptées en vue de la réalisation de dosages dans des matrices spécifiques, ultrafiltrat plasmatique (pour le calcul de la fraction libre) ou tissus. Quoi qu'il en soit, ces différentes méthodes de dosages ont toutes été validées selon les recommandations européennes (European Medicines Agency, 2018d). Elles sont, *in fine*, exactes, justes, reproductibles, spécifiques et permettent une détermination simultanée des concentrations des trois médicaments antirétroviraux d'intérêt avec une seule prise d'essai, la plus faible possible. Ces techniques sont robustes et permettent donc d'obtenir un niveau de confiance optimum concernant les résultats, d'un point de vue analytique.

Le premier niveau concerne donc le domaine de l'*in vitro* avec pour objectif de compléter les connaissances sur les caractéristiques de fixation du DTG aux principales protéines plasmatiques fixatrices. Ainsi, comme vu précédemment (Tableau 3), plusieurs propriétés et paramètres entrent en jeu pour évaluer le potentiel de diffusion et d'efficacité d'une molécule au niveau tissulaire, dont le taux de fixation aux protéines plasmatiques et les

caractéristiques de ces liaisons. L'étude réalisée a permis de mettre en évidence trois points importants. Le premier est qu'il peut exister des similitudes de liaison aux protéines plasmatiques dans une même classe pharmaco-thérapeutique. En effet, cette étude portait également sur le BIC, autre inhibiteur d'intégrase, très proche du DTG concernant la structure chimique. Ainsi ces deux inhibiteurs de l'intégrase ont une forte fixation (> 99 %) aux protéines plasmatiques avec une fixation majoritaire à l'albumine. Ces données pourraient être utiles pour l'étude ultérieure d'autres médicaments antirétroviraux pour lesquels les caractéristiques de fixation n'ont pas été définies. Cette similitude pour une même classe pharmaco-thérapeutique reste toutefois conditionnée à une structure chimique très proche. Parmi les inhibiteurs de l'intégrase, EVG, DTG, BIC et CAB possèdent, en effet, une structure chimique assez proche quand le RAL en possède une légèrement différente avec le groupement oxadiazole-2-carboxamide conférant un aspect moins rectiligne à cette molécule (Figure 16). Ainsi, la structure en trois dimensions et l'encombrement stérique du RAL diffèrent des autres inhibiteurs d'intégrase et peuvent expliquer les différences observées au niveau des caractéristiques de fixation aux protéines plasmatiques pour le RAL (Barau *et al.*, 2013).

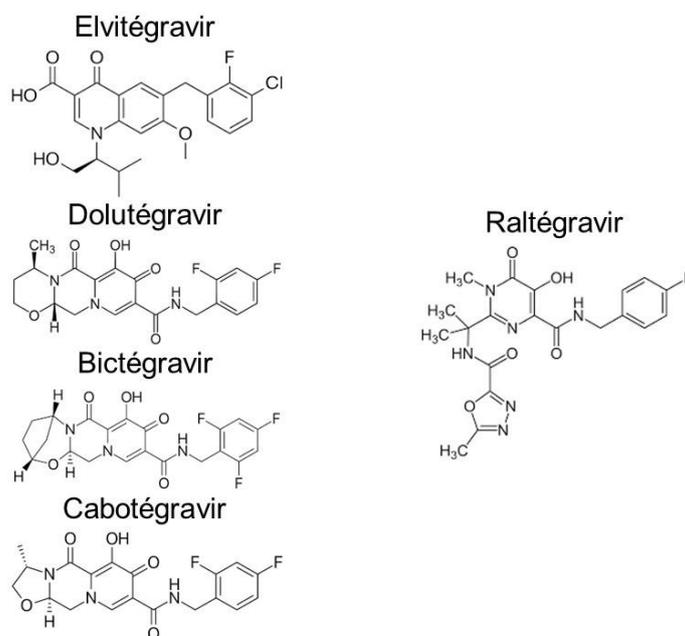


Figure 16. Structures chimiques des inhibiteurs de l'intégrase.

Le second point important mis en exergue par cette étude *in vitro* est la présence d'un site de fixation de faible affinité à l'albumine. Ainsi, malgré le taux de fixation protéique très important (> 99 %), cette faible affinité pourrait être une caractéristique en faveur d'un potentiel de diffusion pas si limité. En effet, comme vu précédemment dans ce manuscrit, la diffusion d'un médicament peut être évaluée par le paramètre pharmacocinétique qu'est le volume de distribution (V_D). Ce dernier est dépendant des taux de fixations protéiques plasmatique et tissulaire. Si la fixation aux protéines tissulaires est de plus forte affinité que celle du site de faible affinité à l'albumine, alors la diffusion du DTG sera plus importante qu'elle aurait pu être espérée en se basant uniquement sur le taux plasmatique brut de fixation protéique.

Le troisième élément de cette étude *in vitro* est l'influence du pH sur la fixation à l'albumine. Nous avons observé qu'une diminution du pH entraîne une augmentation de la fraction non liée. Cette observation est également en faveur d'un potentiel de diffusion du DTG un peu plus important qu'espéré. Ainsi, avec un pH homéostatique intracellulaire des CMSP humaines quiescentes de 7,1 et un pH physiologique au niveau du LCS entre 7,27 et 7,37, inférieurs donc au pH physiologique extracellulaire de 7,4 (Deutsch *et al.*, 1984; Wagemans *et al.*, 1995), cette caractéristique pourrait favoriser la diffusion au sein de ces deux systèmes.

De ce fait, les rares études de diffusion du DTG associées à l'évaluation des concentrations plasmatiques chez l'Homme montrent un facteur de pénétration tissulaire souvent supérieur à la fraction libre plasmatique (< 1 %). Ainsi, il est de l'ordre de 17 % au niveau du tissu rectal (Greener *et al.*, 2013), de 10 % dans le liquide cervico-vaginal (Adams *et al.*, 2013) et de 7 % au niveau du tissu génital masculin (Greener *et al.*, 2013), suffisant pour observer une diminution rapide de la charge virale séminale (Imaz *et al.*, 2016). Seules les études de diffusion dans le LCS montrent un facteur de pénétration du même ordre de grandeur que la fraction libre (Letendre *et al.*, 2014; Gelé *et al.*, 2019; Calcagno *et al.*, 2021; Tiraboschi *et al.*, 2021a). Le fait que le DTG soit substrat de deux transporteurs d'efflux (ABCB1 et ABCG2) présents à la surface de la barrière hémato-encéphalique pourrait expliquer la plus faible diffusion à ce niveau (Reese *et al.*, 2013).

Le potentiel de diffusion des trois médicaments antirétroviraux d'intérêt peut ainsi être résumé en prenant en compte les résultats de cette étude sur le DTG et ses différentes caractéristiques de fixation et en reprenant les paramètres présentés au Tableau 3. Le Tableau 13 synthétise donc ses données. Les paramètres en vert reflètent ceux en

faveur d'un bon potentiel de diffusion et/ou d'efficacité de la molécule. Ceux en rouge sont ceux en défaveur. Enfin, ceux en orange reflètent des paramètres ni en faveur ni en défaveur. En conséquence, selon ce tableau, le FTC possède *a priori* le meilleur profil devant le TNF très proche. Le DTG a clairement le moins bon profil. Le FTC se démarque des autres par l'état non ionisé à pH physiologique. Le TNF et le FTC possèdent un avantage certain par rapport au DTG sur les deux paramètres suivants. Leurs taux de fixation aux protéines plasmatiques sont très faibles, inférieurs à 5 %. Leurs volumes de distribution sont proches voire supérieurs au seuil de 1 000 mL/kg communément admis comme le seuil à partir duquel on peut considérer que la diffusion de la molécule est forte. A noter tout de même que le DTG est le seul parmi les trois médicaments antirétroviraux à posséder un caractère plutôt lipophile avec un logP positif.

La détermination *a priori* du potentiel de diffusion et/ou d'efficacité d'une molécule ne reste néanmoins qu'une première étape. En effet, la mesure réelle des concentrations d'une molécule, directement au sein des tissus, constitue la méthode de référence pour évaluer sa diffusion et, ainsi, repérer et caractériser les éventuels sanctuaires pharmacologiques. D'un point de vue pratique et éthique, les sujets d'intérêt étant les êtres humains, il est non imaginable de réaliser ces études. C'est à cet instant que les modèles animaux ont toute leur place. Leur utilisation repose sur leur évaluation et leur validation dans le domaine d'étude prévu.

Tableau 13. Propriétés et paramètres reflétant la diffusion et le potentiel d'efficacité des trois médicaments antirétroviraux d'intérêt.

	Ténofovir	Emtricitabine	Dolutégravir
Propriétés physico-chimiques			
Lipophilie logP	-1,6	-0,4	2,2
Masse moléculaire (g/mol)	287,2	247,3	419,4
État d'ionisation à pH = 7,4	Ionisé	Non ionisé	Ionisé
Propriétés pharmacocinétiques			
Taux de fixation aux protéines plasmatiques	< 1 %	< 4 %	> 99 % ^a
Volume de distribution	800 mL/kg	1400 mL/kg	200 mL/kg
Substrat des transporteurs ^b	Efflux : 4/5 Influx : 6/10	Efflux : 1/5 Influx : 0/10	Efflux : 2/5 Influx : 0/10
Autres paramètres			
Galénique	Pas de voie IV Pas de forme galénique spécifique disponible		
Posologie	En pratique, posologie non augmentée en vue d'une meilleure diffusion		
Potentiel d'efficacité			
Concentration cible à atteindre ^c	3 ng/mL	51 ng/mL	64 ng/mL
Synthèse^d	5 + / 0 ± / 5 -	5 + / 1 ± / 4 -	3 + / 2 ± / 5 -

^a **Taux de fixation aux protéines plasmatiques du DTG** : forte fixation principalement à l'albumine mais présence d'un site de faible affinité, fixation dépendante du pH.

^b **Substrat des transporteurs** : score calculé selon le nombre de transporteurs (d'efflux ou d'influx) dont la molécule est substrat, rapporté au nombre total de transporteur (d'efflux ou d'influx) décrit comme possible transporteur des médicaments antirétroviraux (Tableau 1).

^c **Concentration cible à atteindre** : CI₉₀ pour le TNF et le FTC ; CI₉₀-AP pour le DTG.

^d **Synthèse** : somme des paramètres en vert (en faveur d'un bon potentiel de diffusion et/ou d'efficacité de la molécule) / en orange (ni vert, ni rouge) / en rouge (en défaveur d'un bon potentiel de diffusion et/ou d'efficacité de la molécule).

Sources : European Medicines Agency, 2002, 2003a, 2013, 2014a, 2018a, 2021; Janneh *et al.*, 2009; Flynn *et al.*, 2011; Lepist *et al.*, 2012; Michaud *et al.*, 2012; Reese *et al.*, 2013, 2016; Thompson *et al.*, 2019; National Center for Biotechnology Information, 2022b, 2022c, 2022d

Ainsi, le deuxième niveau des études réalisées dans le cadre de cette thèse porte sur l'utilisation du modèle rongeur en vue de l'étude de la diffusion des médicaments antirétroviraux dans les différents tissus. Cette étude est donc divisée en deux sous-études.

La première sous-étude a consisté en la validation de ce modèle par la détermination des profils et des paramètres pharmacocinétiques au niveau plasmatique des trois médicaments antirétroviraux selon différentes voies d'administration. La comparaison de ces différentes voies est essentielle, surtout dans le cas où la voie d'étude prévue ultérieurement est différente de la voie d'administration usuellement utilisée chez l'Homme. Il est important, en effet, de pouvoir vérifier que les voies d'administration alternatives permettent d'obtenir des paramètres pharmacocinétiques ou une exposition du même ordre de grandeur que la voie d'administration préférentielle, chez l'Homme, la voie orale. Pour faciliter l'étude et pour minimiser la manutention des animaux, nous avons étudié parmi les voies d'administration celle de la voie orale continue, à savoir l'administration via l'eau de boisson contenue dans les biberons des rongeurs. Diminuer la manutention des animaux est, en effet, particulièrement important car chaque manipulation est un moment à risque pour les animaux avec une augmentation du stress liée à ce maniement mais également pour les manipulateurs avec un risque accru de morsures et donc potentiellement d'exposition à des liquides biologiques contaminés. Il peut être un moment à risque également pour l'étude avec une potentielle confusion sur les sujets étudiés. Cette première sous-étude a ainsi montré une équivalence entre les différentes voies utilisées avec des paramètres pharmacocinétiques, au moins pour les principaux, du même ordre de grandeur que ceux observés chez l'Homme. Notre modèle animal de souris, dans son entièreté (souche utilisée, posologie, voie d'administration), est donc validé. Ceci permet donc d'obtenir un niveau de confiance optimum concernant les résultats de la seconde sous-étude.

Cette seconde sous-étude avait pour objectif la caractérisation de la diffusion tissulaire après une administration répétée, c'est-à-dire à l'équilibre des concentrations. Il s'agit de la première description simultanée des paramètres pharmacocinétiques tissulaires ainsi que des facteurs de pénétration tissulaire de trois médicaments antirétroviraux majeurs. De surcroît, cette étude a été réalisée dans un nombre de tissus supérieur à toutes les autres études précédemment publiées dans le modèle souris. Douze tissus différents ont été étudiés permettant une large cartographie chez ce modèle avec les principaux tissus connus pour être des réservoirs virologiques (Henderson *et al.*, 2020). Les résultats

confirment l'évaluation *a priori* réalisée et résumée dans le Tableau 13. Les capacités de diffusion du TNF et FTC ne sont pas statistiquement différentes mais elles sont toutes deux bien supérieures à celle du DTG. Ce dernier possède, en effet, un facteur de pénétration tissulaire inférieur à 100 % (et même inférieur à 25 %) pour l'ensemble des tissus étudiés. Cette faible capacité de diffusion du DTG n'est pas compensée par une puissante activité intrinsèque (faible CI_{90} -AP) puisqu'aucune concentration tissulaire n'est supérieure à ce seuil. Cette absence de trithérapie efficace au niveau tissulaire pose la question de l'impact de cette insuffisante pression antirétrovirale sur la persistance de la réplication du virus dans ces réservoirs. Au niveau cérébral, les observations sont même plus inquiétantes puisque seul le TNF présente des concentrations efficaces. Cette étude met également en exergue la grande hétérogénéité de diffusion pour un même médicament antirétroviral entre les différents tissus. On observe un facteur d'environ 800 entre les concentrations les plus hautes dans le tractus digestif et celles les plus basses dans le cerveau pour le TNF. Ces facteurs sont de 35 pour le FTC (entre les mêmes systèmes) et de 8 pour le DTG (entre les concentrations dans le foie et les reins et celles au niveau du cerveau). Pour le TNF, cette importante hétérogénéité pose la question de la toxicité éventuelle à de telles concentrations. Ainsi, les reins sont parmi les organes les plus exposés au TNF, avec des concentrations plus de 300 fois supérieures à la CI_{90} , et sont connus pour être sujets à une dégradation progressive de leur fonction sur le long terme chez l'Homme exposé (Casado, 2016). Toujours chez l'Homme, l'utilisation de son analogue, le TAF, conduit à une diminution des risques de dégradation de la fonction rénale (Gupta *et al.*, 2019). En effet, le TAF est associé à des plus faibles concentrations plasmatiques de TNF (Ruane *et al.*, 2013) laissant donc supposer des plus faibles concentrations tissulaires de TNF.

Ces premières données recueillies sur le modèle rongeur permettent d'obtenir une première cartographie détaillée de la diffusion de ces trois médicaments antirétroviraux dans 12 tissus parmi les principaux réservoirs virologiques reconnus. La petite taille du modèle animal ne permet cependant pas une vision plus fine et détaillée de cette cartographie. C'est alors l'avantage que présente le modèle primate non-humain. Sa taille plus importante, entre un tiers et un quart de celle d'un Homme, permet une compartimentalisation de certains organes. C'est ainsi, par exemple, que le côlon peut être subdivisé en quatre segments différents chez ce modèle plus grand. Aussi, du fait de la taille plus importante de nombreux organes, la réalisation du dosage en trois points non contigus permet une appréciation de l'hétérogénéité intratissulaire de la diffusion des médicaments antirétroviraux d'intérêt. A l'instar de celle sur le modèle rongeur, cette

étude est ainsi la première réalisation d'une cartographie détaillée de la diffusion de trois des médicaments antirétroviraux les plus prescrits au niveau mondial. Au total, ce sont 45 tissus différents dans lesquels les concentrations ont été déterminées. Tout comme pour le modèle rongeur, une première étude a été menée avec pour objectif de valider notre modèle avant de réaliser l'étude plus approfondie de la diffusion tissulaire.

Une première sous-étude a consisté à étudier le profil et les paramètres pharmacocinétiques des trois médicaments antirétroviraux selon 3 voies d'administration différentes, toujours dans l'objectif de vérifier que celles-ci permettent d'obtenir des expositions du même ordre de grandeur que chez l'Homme. Une deuxième sous-étude a comporté une validation du modèle sur le long terme à trois niveaux : pharmacologie, efficacité et tolérance. Ainsi, nous disposons d'un suivi sur plus de 2 ans, au niveau pharmacologique avec des prélèvements réalisés en résiduel, juste avant l'injection suivante, au niveau virologique avec mesures régulières des charges virales plasmatiques et au niveau tolérance avec un relevé des différents événements indésirables ainsi qu'un suivi de la fonction rénale par le dosage de la créatinine. Cette étude se place dans un contexte de développement d'un modèle primate non-humain chroniquement infecté par le SIV et traité pendant 24 mois avec la combinaison antirétrovirale étudiée. Cette ressource, appelée SIVART et financée par l'ANRS | MIE est accessible à la communauté scientifique pour l'étude des réservoirs viraux, des sanctuaires pharmacologiques et des stratégies de preuve de concept de guérison (Desjardins *et al.*, 2016). Les résultats de l'étude réalisée dans le cadre de cette thèse valident donc ce modèle et sont fondamentaux pour son utilisation. D'un point de vue pharmacologique, on observe des concentrations cohérentes avec celles observées chez l'Homme et avec des variabilités inter-individuelle et intra-individuelle plutôt faibles, surtout lors des administrations par voie sous-cutanée. Ces données pharmacologiques optimales ont ainsi permis d'obtenir un profil d'efficacité comparable voire supérieur aux études réalisées chez l'Homme (van Lunzen *et al.*, 2012; Raffi *et al.*, 2013b; Clotet *et al.*, 2014). Deux mois après l'initiation des traitements, seul un macaque (~8 %) présentait encore une charge virale plasmatique supérieure au seuil de 40 copies/mL et, à six mois, tous présentaient une CVp inférieure à ce seuil. Par la suite, aucune CVp n'a été détectée au-dessus de ce seuil objectivant une réelle efficacité virologique au niveau plasmatique de la combinaison antirétrovirale administrée. D'un point de vue tolérance, sur les deux ans de traitement, aucun arrêt de traitement n'a été nécessaire, seules quelques réactions au point d'injection ont été observées. La légère augmentation des concentrations sériques de la créatinine, du même ordre de grandeur que celle observée

chez l'Homme, probablement en lien avec l'effet du DTG sur les transporteurs rénaux, laisse supposer que la fonction rénale des douze macaques n'a pas été altérée (Stellbrink *et al.*, 2013; Cahn *et al.*, 2020).

Par conséquent, les résultats de l'étude de la diffusion tissulaire dans ce modèle peuvent être considérés comme robustes et avec un fort niveau de preuve.

L'étude des quarante-cinq tissus différents a permis de mettre en avant les principaux sanctuaires pharmacologiques et de comparer les capacités de diffusion pour les trois médicaments antirétroviraux. Tout comme avec le modèle souris, le DTG est la molécule qui possède la moins bonne capacité de diffusion. Statistiquement, le TNF est, dans ce modèle, celui qui possède la meilleure capacité de diffusion. On peut ainsi avoir comme ordre de grandeur un log de différence entre le TNF et le FTC et entre le FTC et le DTG sur la valeur du facteur de pénétration tissulaire. Les concentrations tissulaires sont toutes supérieures aux concentrations plasmatiques pour le TNF et toutes sauf pour deux tissus (le tissu adipeux viscéral et le lobe occipital) pour le FTC. Pour le DTG, en revanche, seuls dix tissus, principalement au niveau du système digestif et des sites d'élimination, sont concernés par un tel ratio. Ces données confirment donc celles du Tableau 13 et de l'étude chez la souris. En observant, le potentiel d'efficacité, évalué par le QI, on observe le même facteur 10 et dans le même ordre entre les trois médicaments antirétroviraux. A noter que pour ce modèle, l'ensemble des tissus étudiés peut être considéré sous une bithérapie TNF/FTC effective, au minimum, et presque la moitié (22 tissus parmi les 45) sous une trithérapie effective. Ces résultats sont rassurants par rapport à ceux observés chez la souris lorsque l'on extrapole ces données chez l'Homme. Parmi les tissus dont le DTG n'atteint pas des concentrations *a priori* suffisantes, une majorité appartient au système lymphatique, au système reproducteur ou au système nerveux central. Or ces trois systèmes sont parmi les principaux réservoirs virologiques avec :

- un grand nombre de cellules CD4+, cible du virus, dans le système lymphatique ;
- un système stratégique et clef dans la transmission interhumaine pour le système reproducteur ;
- de nombreuses déficiences et comorbidités associées au système nerveux central.

Cette étude a également permis de comparer la diffusion intratissulaire après administration par deux voies différentes : la voie sous-cutanée et la voie intraveineuse. Globalement, l'impact de la voie d'administration semble assez faible. Un rapport de plus d'un log entre les concentrations tissulaires observées après administration par deux voies n'est que très peu observé. Ce rapport est de 1,1 log au niveau du tissu adipeux abdominal sous-cutané avec une diffusion du TNF plus importante s'il est administré par voie intraveineuse. Cette différence n'était pas attendue. Elle pourrait faire l'objet d'études ultérieures dans le but, dans un premier temps, de confirmer cette observation puis, dans un second temps, de déterminer les mécanismes impliqués dans cette différence observée. Au niveau du site d'injection, le rapport des concentrations est également de 1,1 log, toujours pour le TNF, mais en faveur de la voie sous-cutanée. Cette accumulation de TNF au niveau du site d'injection paraît moins inattendue mais n'est pas retrouvée pour les deux autres molécules (0,0 log et 0,4 log pour le FTC et le DTG, respectivement). Cette différence entre les trois médicaments antirétroviraux pourrait s'expliquer par l'injection, dans le cas du TNF, d'un sel, le fumarate de ténofovir disoproxil. Cependant, ces faibles différences de concentrations observées pour un même tissu entre les différentes voies d'administration n'impactent pas le potentiel d'efficacité de ces médicaments antirétroviraux dans ces tissus.

Enfin, cette étude a montré la relative faible hétérogénéité de la diffusion au sein d'un même tissu d'un même macaque cynomolgus. Le dosage réalisé au niveau de 3 sites de prélèvements non contigus pour chaque tissu permet cette évaluation. Cette variabilité ne dépasse que très rarement 50 % avec des médianes de l'ordre de 15 % pour chacun des trois médicaments antirétroviraux. A noter, on observe une variabilité statistiquement plus importante pour le FTC sans pouvoir expliquer ce résultat. Ces données d'évaluation de l'hétérogénéité de la diffusion sont à mettre en regard avec les différentes études d'imagerie par spectrométrie de masse. Cette technique permet de réaliser une cartographie de la répartition d'une ou plusieurs molécules à la surface d'une coupe de tissus. Plusieurs études rapportent de telles quantifications chez différents modèles animaux (Thompson *et al.*, 2015, 2019; Ntshangase *et al.*, 2019a, 2019b; Seneviratne *et al.*, 2020; Scholz *et al.*, 2021; Devanathan *et al.*, 2022; Rosen *et al.*, 2022) mais également chez l'Homme (Barry *et al.*, 2014; Seneviratne *et al.*, 2018). Globalement, toutes ces études montrent une forte hétérogénéité de la diffusion, quel que soit le modèle, le tissu ou le médicament antirétroviral étudié. C'est pourquoi, multiplier les techniques complémentaires et donc les données de diffusion, permet d'enrichir la connaissance pour mieux comprendre certains mécanismes physiopathologiques. La

faible hétérogénéité observée dans le cadre des travaux de cette thèse peut s'expliquer par la plus faible résolution spatiale de la technique de quantification par LC-MS/MS. Par exemple, la quantification au sein d'un nœud lymphatique nécessite parfois 2-3 nœuds d'un même site de prélèvement pour obtenir une valeur moyenne quand la technique d'imagerie par spectrométrie de masse permet une observation des différentes structures qui composent un nœud lymphatique (Thompson *et al.*, 2015; Scholz *et al.*, 2021; Rosen *et al.*, 2022). Ainsi, malgré la réalisation du dosage intratissulaire en trois points non contigus, cette hétérogénéité ne ressort pas. Nos résultats indiquent tout de même qu'à une échelle plus importante, de l'ordre du centimètre, une certaine homogénéité existe et est en faveur d'une exposition tissulaire équivalente dans l'ensemble d'un même tissu.

Dans le but d'une extrapolation éventuelle de la diffusion des trois médicaments antirétroviraux étudiés ici, les données obtenues chez ces deux modèles animaux peuvent être comparées. Elles traduisent une certaine équivalence de diffusion de chaque molécule au sein d'un même système (Figure 17).

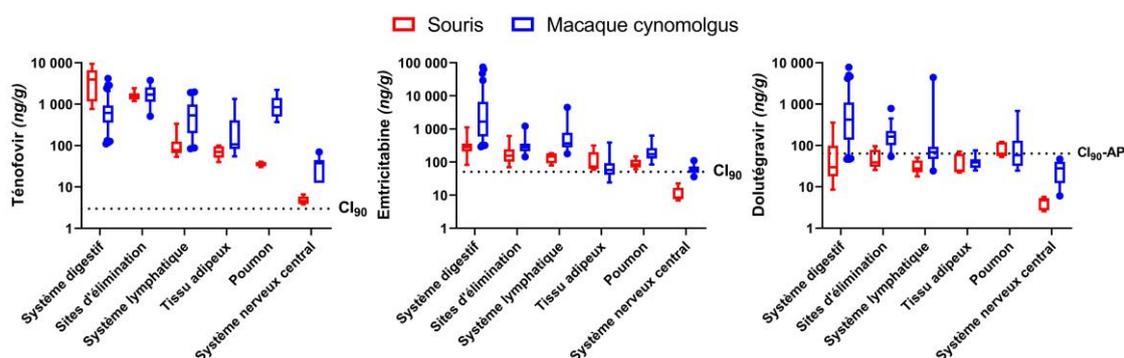


Figure 17. Comparaison des concentrations mesurées des trois médicaments antirétroviraux au sein de chaque système chez les deux modèles animaux étudiés.

Globalement, pour le TNF, on observe des concentrations toutes supérieures à la Cl_{90} et du même ordre de grandeur pour quatre systèmes, les systèmes digestif et lymphatique, les sites d'élimination et le tissu adipeux. Seules les concentrations dans les poumons et le système nerveux central ont tendance à être plus importantes chez le macaque cynomolgus que chez la souris. Pour les deux autres molécules (FTC et DTG), les concentrations observées sont très proches dans les systèmes des deux modèles animaux. Il est à noter toutefois que, dans le cas du DTG, certains systèmes, comme le système digestif et les deux sites d'élimination, présentent des concentrations

supérieures à la CI_{90} -AP chez le macaque cynomolgus et non chez la souris. Ces quelques différences observées peuvent s'expliquer par des différences inter-espèces et par l'utilisation de voies d'administration différentes entre les 2 modèles animaux : voie orale pour la souris et voies intraveineuse et sous-cutanée pour le macaque. Même si les expositions plasmatiques chez la souris étaient du même ordre de grandeur quelle que soit la voie d'administration, l'étude de diffusion n'a concerné que la voie orale. Ainsi, l'impact des transporteurs digestifs sur la diffusion tissulaire lors de l'administration par voie orale n'a pas pu être évaluée. Or ils peuvent jouer un rôle majeur étant donné que ces molécules sont substrats de ces différents transporteurs.

De la même façon, les données issues de ces deux modèles animaux peuvent être comparées aux quelques données issues d'études réalisées chez l'Homme.

Pour le TNF et le FTC, parmi les tissus étudiés chez les deux modèles animaux présentés, certains ont été étudiés chez l'Homme et les données peuvent ainsi être comparées (Tableau 14). Au niveau du colon, une différence de diffusion est observée entre les modèles animaux et l'Homme. Celle-ci pourrait s'expliquer par la composition du tissu prélevé. Ainsi une biopsie, réalisée chez l'Homme, se compose principalement des types cellulaires proches de la lumière intestinale, alors que le dosage chez les modèles animaux a été réalisé par broyage du tissu avec l'ensemble des types cellulaires constituant le côlon. Pour les autres tissus, les facteurs de pénétration tissulaire chez l'Homme sont d'un ordre de grandeur très similaire à ceux observés chez les deux modèles animaux.

Pour le DTG, seuls trois tissus ont été étudiés chez l'Homme (Tableau 14). Les données de ces trois tissus sont très proches entre les 2 espèces. Cependant, les concentrations tissulaires dans le rectum sont supérieures aux concentrations plasmatiques chez le macaque cynomolgus, à l'inverse des observations faites chez l'Homme. Par analogie avec l'hypothèse émise sur les différences observées au niveau du colon, une différence de composition des tissus prélevés peut expliquer ces résultats. Malgré l'absence de données de concentrations intracérébrales chez l'Homme, les données observées au niveau du LCS (Letendre *et al.*, 2014; Gelé *et al.*, 2019; Calcagno *et al.*, 2021; Tiraboschi *et al.*, 2021a) laissent penser que le facteur de pénétration au niveau du cerveau sera très faible, du même ordre de grandeur que ceux observés chez les deux modèles animaux.

Tableau 14. Comparaison des facteurs de pénétration tissulaire, exprimés en pourcentage, entre les deux modèles animaux et les données chez l'Homme.

	Souris	Macaque cynomolgus	Homme	Source des données chez l'Homme
Ténofovir				
Iléum	15403	4400	8700	Thompson <i>et al.</i> , 2019
Côlon	17151	9400	100 10	Louissaint <i>et al.</i> , 2013 Hendrix <i>et al.</i> , 2016
Rectum		4600	3000 4000 40 15000	Karim <i>et al.</i> , 2011 Patterson <i>et al.</i> , 2011 Yang <i>et al.</i> , 2014 Fonsart <i>et al.</i> , 2017
Nœud lymphatique	441	6500	100	Burgunder <i>et al.</i> , 2019
Tractus génital		700	600	Else <i>et al.</i> , 2011a
Cerveau	6	300	4 1	Nicol <i>et al.</i> , 2019 Ferrara <i>et al.</i> , 2020
Emtricitabine				
Iléum	238	1200	700	Thompson <i>et al.</i> , 2019
Côlon	373	7700	30	Hendrix <i>et al.</i> , 2016
Rectum		1700	20 300 5000	Karim <i>et al.</i> , 2011 Patterson <i>et al.</i> , 2011 Fonsart <i>et al.</i> , 2017
Nœud lymphatique	162	600	100	Burgunder <i>et al.</i> , 2019
Tractus génital		800	200	Else <i>et al.</i> , 2011a
Cerveau	6	100	1	Ferrara <i>et al.</i> , 2020
Dolutégravir				
Rectum		180	20	Greener <i>et al.</i> , 2013
Nœud lymphatique	15	50	3	Fletcher <i>et al.</i> , 2018
Tractus génital		30	10	Greener <i>et al.</i> , 2013

Globalement, la comparaison des données de diffusion tissulaire entre les modèles animaux et l'Homme permet d'être confiant quant à l'extrapolation de ces données pour les tissus non encore étudiés chez l'Homme.

Les travaux présentés dans ce manuscrit présentent quelques limites. La première est que le dosage a été réalisé sur un broyat homogénéisé des tissus. Cette technique

implique une potentielle contamination de l'échantillon dosé par du sang circulant au niveau tissulaire. Des précautions ont néanmoins été prises pour minimiser au maximum cette potentielle contamination. Les échantillons de tissus broyés ont, en effet, été choisis parmi les endroits les moins contaminés macroscopiquement. Ainsi, certains résultats montrent des facteurs de pénétration tissulaire inférieures à 1 malgré la forte vascularisation des tissus. C'est le cas, par exemple, des poumons chez la souris. Cette observation permet d'estimer que la contamination par le sang tissulaire circulant peut être négligeable. Un rinçage des tissus pour éliminer ce sang tissulaire circulant permettrait d'éliminer totalement cette contamination. Mais elle aurait pour effet de modifier l'équilibre homéostatique des concentrations entre le milieu tissulaire et le sang circulant associé au liquide de rinçage. Cette modification de l'équilibre pourrait alors conduire à une sous-estimation des concentrations tissulaires. D'autres auteurs recommandent une correction des concentrations observées par un facteur spécifique à chaque tissu tenant compte de la quantité de sang résiduel observé dans ce tissu (Khor *et al.*, 1991; Khor and Mayersohn, 1991; Giudicelli *et al.*, 2004; Fridén *et al.*, 2010) ou par le taux d'hémoglobine circulant (de Boer *et al.*, 2005). Ces corrections, comme discutées par Fridén et coll. ne sont cependant pas dénuées de potentielles erreurs d'estimations. En effet, la correction d'une valeur, estimée avec une certaine incertitude, par une autre valeur, également estimée avec une certaine incertitude, aboutira souvent à des estimations d'une imprécision inacceptable.

Une autre limite des études réalisées est le faible nombre de sujets, principalement des macaques cynomolgus. Huit macaques dans deux groupes différents est un effectif assez restreint. Néanmoins, l'effectif choisi est en rapport avec les exigences de remplacement, de réduction et de raffinement de la directive 2010/63/UE du Parlement européen et du Conseil européen du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Ainsi, l'article 4, alinéa 2 indique clairement que : « les États membres veillent à ce que le nombre d'animaux utilisés dans un projet soit réduit au minimum sans compromettre les objectifs du projet ». Les données observées ont montré la relative faible variabilité chez ce modèle et malgré cet effectif, les données de diffusion tissulaire peuvent être considérés comme robustes et avec un fort niveau de preuve.

La troisième limite des études présentées est que le dosage des deux inhibiteurs nucléosidique ou nucléotidique de la transcriptase inverse a été réalisé sur les formes non phosphorylées. Comme vu précédemment, cette classe pharmaco-thérapeutique a

pour caractéristique de nécessiter deux, pour le TNF, ou trois, pour le FTC, phosphorylations pour que les molécules soient actives. L'évaluation du potentiel d'efficacité, par le calcul du QI, devrait donc être réalisée à partir des concentrations de ces formes phosphorylées. Les études chez le macaque cynomolgus l'avaient planifiée puisque des cellules ont pu être récupérées à partir de certains tissus mais la mesure des concentrations intracellulaires des médicaments antirétroviraux, et donc des formes phosphorylées actives pour le TNF et le FTC ne sera réalisée qu'ultérieurement. Cependant, au vu des concentrations tissulaires observées parfois élevées, il est attendu que le TNF et le FTC soient phosphorylés pour produire les formes actives, à la condition que l'activité des kinases ne soit pas un facteur limitant.

Enfin, la dernière principale limite de ces études est l'absence de corrélation faites avec les charges virales tissulaires. Les données obtenues n'ont ainsi pu être comparées qu'aux seuils théoriques efficaces que sont les CI_{90} ou CI_{90-AP} pour déterminer un potentiel d'efficacité. D'autres études en parallèle menées sur des macaques cynomolgus infectés par le SIV vont permettre d'établir les éventuelles relations entre les concentrations tissulaires mesurées et les charges virales au niveau de ces mêmes tissus. La modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique de ces données est un des objectifs de ces études.

Pour aller plus loin, outre les quelques objectifs futurs déjà présentés comme la mesure des concentrations cellulaires et des formes actives, d'autres études pourraient être menées. Tout d'abord, une étude avec administrations répétées des ARV chez le macaque cynomolgus est déjà prévu. Elle permettra de calculer le facteur d'accumulation des médicaments au niveau tissulaire. Ensuite, une étude sur le rôle des transporteurs dans les différents types cellulaires permettrait de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu au niveau des interfaces sang/tissus. Par ailleurs, évaluer l'impact de l'infection par le SIV sur la diffusion tissulaire mais également sur les transporteurs augmenterait nos connaissances sur ce domaine.

Enfin, il existe une technique : la tomographie par émission de positons (TEP), très peu utilisée en infectiologie et *a fortiori* dans la cadre de la recherche sur le VIH/SIV mais qui serait complémentaire des études déjà réalisées. Elle est en cours de développement dans le cadre du consortium ANRS RHIVIERA (*Remission of HIV Infection Era*). L'objectif est de permettre une évaluation non invasive et surtout un réel raffinement des études avec une réutilisation possible d'un même animal pour plusieurs expériences ou

pour un suivi longitudinal, voire une utilisation chez l'Homme. Son approche est basée sur l'utilisation d'isotopes radioactifs émetteurs de positons (rayonnement β^+) qui s'annihilent avec les électrons du milieu traversé. Les deux photons issus de cette annihilation sont alors détectés en coïncidence par une caméra spécifique. L'imagerie TEP est déjà très largement utilisée pour étudier l'importance des transporteurs dans la distribution tissulaire des molécules (Tournier *et al.*, 2018). Parmi les médicaments antirétroviraux, seules deux études ont rapporté des images de diffusion tissulaire chez l'animal, aucune chez l'Homme actuellement. La première étude a rapporté la diffusion chez le rat d'un analogue radiomarké du TNF, le [^{18}F]-FPMPA (Kiesewetter *et al.*, 2008; Di Mascio *et al.*, 2009). La seconde, très récente, a rapporté la première image corps entier de la diffusion du DTG par l'utilisation du [^{18}F]-DTG chez le macaque cynomolgus (Tisseraud *et al.*, 2022). L'avantage de cette étude est que la molécule radiomarkée correspond exactement au DTG, même formule brute, même structure chimique. Un des atomes de fluor du DTG a été remplacé par un fluor 18. Ainsi, contrairement au [^{18}F]-FPMPA, l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques et pharmacocinétiques est conservé et les données représentent la réelle distribution de la molécule dans les tissus. Les données obtenues par cette technique d'imagerie seront comparées avec celles présentées dans ce manuscrit qui ont été déterminées par la technique de référence actuelle. Cette comparaison des données sera primordiale pour la validation de cette nouvelle technique.

CONCLUSION

Depuis la découverte du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) à l'origine d'une des plus importantes pandémies de notre ère, la recherche a permis d'améliorer la prise en charge et la prévention de l'infection par le VIH. Ainsi, devant la hausse de l'espérance de vie des personnes vivant avec le VIH, d'autres problématiques sont survenues comme l'apparition de résistance, la iatrogénie médicamenteuse, la gestion de l'observance au long terme. Cette pathologie, considérée initialement comme aiguë, est devenue une maladie chronique. Face à cette chronicité liée à l'établissement rapide de réservoirs virologiques où persiste une réplication virale à bas bruit, la recherche s'est portée sur les stratégies d'éradication virale. Parmi les hypothèses explorées, celle pharmacologique s'intéresse au défaut de diffusion des médicaments antirétroviraux au niveau de certains tissus conduisant à la création de sanctuaires pharmacologiques avec des concentrations subthérapeutiques. L'exploration de la diffusion de ces médicaments antirétroviraux paraît ainsi être un point clef pour la compréhension des mécanismes physiopathologiques qui entrent en jeu dans cette persistance virale. L'éthique ne permettant pas cette exploration directement chez l'Homme, l'utilisation de modèles animaux s'est avérée être un élément indispensable.

Ainsi, l'objectif de cette thèse était d'évaluer et de valider différents modèles animaux en vue d'étudier la diffusion de trois des médicaments antirétroviraux les plus utilisés, le TNF, utilisé sous forme de disoproxil fumarate, le FTC et le DTG. A la manière du développement d'un nouveau médicament, différentes espèces animales ont été utilisées, un de l'ordre des rongeurs, la souris (*Mus musculus*) et un de celui des primates, le macaque cynomolgus (*Macaca fascicularis*).

En s'appuyant sur des techniques analytiques robustes, justes, spécifiques et sensibles, les différentes études ont permis de valider ces modèles et d'évaluer la diffusion de ces médicaments antirétroviraux dans de nombreux tissus (12 chez la souris, 45 chez le macaque cynomolgus). Les données obtenues peuvent être considérées avec un fort niveau de preuve.

Globalement, trois principaux messages se dégagent. Le premier est qu'il existe une réelle différence de capacité de diffusion entre les trois médicaments antirétroviraux étudiés et, par extrapolation, entre tous les médicaments antirétroviraux à disposition. Parmi les trois étudiés, le TNF est celui avec le meilleur potentiel de diffusion, suivi par le FTC puis le DTG. Ce premier message implique que de nouvelles études sont à mener pour déterminer les médicaments antirétroviraux possédant la plus forte capacité de

diffusion. L'impact de l'association de médicaments antirétroviraux à fort potentiel de diffusion pourrait alors être évaluée sur la persistance de la réplication virale tissulaire.

Le deuxième message est qu'il existe une grande différence quant à la perméabilité des différents tissus pour un même médicament antirétroviral. Néanmoins, devant cette différence notable se dessine une tendance entre les tissus : ce sont les mêmes pour lesquels on observe une diffusion plus importante des trois médicaments antirétroviraux étudiés, quelque soit ce niveau de diffusion, et les mêmes avec une diffusion moins importante. On observe également que les tissus d'un même système ont une perméabilité analogue. Ceci confirme que l'hypothèse pharmacologique n'est pas la seule à explorer pour comprendre cette persistance virale. En effet, certains tissus connus pour être des réservoirs virologiques importants, comme les tissus du système digestif, sont pourtant parmi ceux pour lesquels la diffusion des trois médicaments antirétroviraux étudiés peut être considérée comme suffisante.

Enfin, le troisième message est qu'il semble y avoir peu de variabilité quant à la diffusion d'un même médicament antirétroviral dans un même tissu. Malgré les effectifs faibles mais suffisants des différentes études, on observe, en effet, une faible variabilité inter-individuelle. Ceci permet d'envisager de nouvelles études sans avoir la nécessité d'avoir des effectifs beaucoup plus importants.

Au total, l'ensemble des travaux de cette thèse a permis de dresser les premières cartographies simultanées de la diffusion de trois médicaments antirétroviraux majeurs. Ces cartographies ont été réalisées dans un grand nombre de tissus chez le rongeur et de façon presque exhaustive au niveau du corps entier chez le primate non-humain. Ces études permettent de répondre partiellement aux questions de l'hypothèse pharmacologique sur la persistance virale. Elles vont ainsi aider à mieux cibler les tissus d'intérêt et à réaliser des études semblables pour d'autres médicaments antirétroviraux sur nos modèles animaux validés. Ces données de diffusion dans les réservoirs virologiques sont ainsi des éléments importants dans l'élaboration des stratégies thérapeutiques en vue d'une éventuelle éradication virale.

BIBLIOGRAPHIE

A

Abdulle, S., Hagberg, L., Svennerholm, B., Fuchs, D., Gisslén, M., 2008. Cerebrospinal fluid viral load and intrathecal immune activation in individuals infected with different HIV-1 genetic subtypes. *PLoS One* 3, e1971. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001971>

Adams, J.L., Patterson, K.B., Prince, H.M.A., Sykes, C., Greener, B.N., Dumond, J.B., Kashuba, A.D.M., 2013. Single and multiple dose pharmacokinetics of dolutegravir in the genital tract of HIV-negative women. *Antivir. Ther.* 18, 1005–1013. <https://doi.org/10.3851/IMP2665>

Alexaki, A., Liu, Y., Wigdahl, B., 2008. Cellular reservoirs of HIV-1 and their role in viral persistence. *Curr. HIV Res.* 6, 388–400. <https://doi.org/10.2174/157016208785861195>

Ananworanich, J., Sacdalan, C.P., Pinyakorn, S., Chomont, N., de Souza, M., Luekasemsuk, T., Schuetz, A., Krebs, S.J., Dewar, R., Jagodzinski, L., Ubolyam, S., Trichavaroj, R., Tovanabutra, S., Spudich, S., Valcour, V., Sereti, I., Michael, N., Robb, M., Phanuphak, P., Kim, J.H., Phanuphak, N., 2016. Virological and immunological characteristics of HIV-infected individuals at the earliest stage of infection. *J. Virus Erad.* 2, 43–48.

Angin, M., Volant, S., Passaes, C., Lecuroux, C., Monceaux, V., Dillies, M.-A., Valle-Casuso, J.C., Pancino, G., Vaslin, B., Le Grand, R., Weiss, L., Goujard, C., Meyer, L., Boufassa, F., Müller-Trutwin, M., Lambotte, O., Sáez-Cirión, A., 2019. Metabolic plasticity of HIV-specific CD8⁺ T cells is associated with enhanced antiviral potential and natural control of HIV-1 infection. *Nat. Metab.* 1, 704–716. <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0081-4>

ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021a. Impact de la pandémie de Covid-19 sur l'épidémie de VIH en France: point d'information par les chercheurs en santé publique.

ANRS, Maladies infectieuses émergentes, 2021b. HIV-1 genotypic drug resistance interpretation's algorithms.

ANSM, 2018. Anomalies de fermeture du tube neural chez les enfants nés de mères traitées par le dolutegravir pendant la grossesse - Point d'information - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

Asmuth, D.M., Thompson, C.G., Chun, T.-W., Ma, Z.-M., Mann, S., Sainz, T., Serrano-Villar, S., Utay, N.S., Garcia, J.C., Troia-Cancio, P., Pollard, R.B., Miller, C.J., Landay, A., Kashuba, A.D., 2017. Tissue Pharmacologic and Virologic Determinants of Duodenal and Rectal Gastrointestinal-Associated Lymphoid Tissue Immune Reconstitution in HIV-Infected Patients Initiating Antiretroviral Therapy. *J. Infect. Dis.* 216, 813–818. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix418>

Assemblée Nationale, 1982. Compte-rendu intégral de la deuxième séance du Mardi 27 Juillet 1982 - Discussion, en quatrième et dernière lecture, d'une proposition de loi sur l'abrogation du deuxième alinéa de l'article 331 du Code Pénal.

B

Banga, R., Munoz, O., Perreau, M., 2021. HIV persistence in lymph nodes. *Curr. Opin. HIV AIDS* 16, 209–214. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000686>

Bansi-Matharu, L., Phillips, A., Oprea, C., Grabmeier-Pfistershammer, K., Günthard, H.F., De Wit, S., Guaraldi, G., Vehreschild, J.J., Wit, F., Law, M., Wasmuth, J.-C., Chkhartishvili, N., d'Arminio Monforte, A., Fontas, E., Vesterbacka, J., Miro, J.M., Castagna, A., Stephan, C., Llibre, J.M., Neesgaard, B., Greenberg, L., Smith, C., Kirk, O., Duvivier, C., Dragovic, G., Lundgren, J., Dedes, N., Knudsen, A., Gallant, J., Vannappagari, V., Peters, L., Elbirt, D., Sarceletti, M., Braun, D.L., Necsoi, C., Mussini, C., Muccini, C., Bolokadze, N., Hoy, J., Mocroft, A., Ryom, L., 2021. Contemporary antiretrovirals and body-mass index: a prospective study of the RESPOND cohort consortium. *Lancet HIV* 8, e711–e722. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(21\)00163-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(21)00163-6)

Barau, C., Furlan, V., Yazdanpanah, Y., Fagard, C., Molina, J.-M., Taburet, A.-M., Barrail-Tran, A., 2013. Characterization of Binding of Raltegravir to Plasma Proteins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57, 5147–5150. <https://doi.org/10.1128/AAC.00625-13>

Barditch-Crovo, P., Deeks, S.G., Collier, A., Safrin, S., Coakley, D.F., Miller, M., Kearney, B.P., Coleman, R.L., Lamy, P.D., Kahn, J.O., McGowan, I., Lietman, P.S., 2001. Phase i/ii trial of the pharmacokinetics, safety, and antiretroviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in human immunodeficiency virus-infected adults. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 2733–2739. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.10.2733-2739.2001>

Barin, F., M'Boup, S., Denis, F., Kanki, P., Allan, J.S., Lee, T.H., Essex, M., 1985. Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of west Africa. *The Lancet* 2, 1387–1389. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(85\)92556-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(85)92556-5)

Barrail-Tran, A., Mentré, F., Cosson, C., Piketty, C., Chazallon, C., Gérard, L., Girard, P.M., Taburet, A.M., 2010. Influence of alpha-1 glycoprotein acid concentrations and variants on atazanavir pharmacokinetics in HIV-infected patients included in the ANRS 107 trial. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54, 614–619. <https://doi.org/10.1128/AAC.00797-09>

Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W., Montagnier, L., 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 220, 868–871. <https://doi.org/10.1126/science.6189183>

Barry, J.A., Robichaud, G., Bokhart, M.T., Thompson, C., Sykes, C., Kashuba, A.D.M., Muddiman, D.C., 2014. Mapping antiretroviral drugs in tissue by IR-MALDESI MSI coupled to the Q Exactive and comparison with LC-MS/MS SRM Assay. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 25, 2038–2047. <https://doi.org/10.1007/s13361-014-0884-1>

Begley, R., Das, M., Zhong, L., Ling, J., Kearney, B.P., Custodio, J.M., 2018. Pharmacokinetics of Tenofovir Alafenamide When Coadministered With Other HIV Antiretrovirals. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 78, 465–472. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001699>

Benet, L.Z., Hoener, B.-A., 2002. Changes in plasma protein binding have little clinical relevance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 71, 115–121. <https://doi.org/10.1067/mcp.2002.121829>

Best, B.M., Letendre, S.L., Koopmans, P., Rossi, S.S., Clifford, D.B., Collier, A.C., Gelman, B.B., Marra, C.M., McArthur, J.C., McCutchan, J.A., Morgello, S., Simpson, D.M., Capparelli, E.V., Ellis, R.J., Grant, I., the CHARTER Study Group, 2012. Low Cerebrospinal Fluid Concentrations of the Nucleotide HIV Reverse Transcriptase Inhibitor, Tenofovir. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 59, 376–381. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e318247ec54>

Bickel, M., Khaykin, P., Stephan, C., Schmidt, K., Buettner, M., Amann, K., Lutz, T., Gute, P., Haberl, A., Geiger, H., Brodt, H.R., Jung, O., 2013. Acute kidney injury caused by tenofovir disoproxil fumarate and diclofenac co-administration. *HIV Med.* 14, 633–638. <https://doi.org/10.1111/hiv.12072>

Blankson, J.N., Persaud, D., Siliciano, R.F., 2002. The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection. *Annu. Rev. Med.* 53, 557–593. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.53.082901.104024>

Blum, M.R., Chittick, G.E., Begley, J.A., Zong, J., 2007. Steady-state pharmacokinetics of emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate administered alone and in combination in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* 47, 751–759. <https://doi.org/10.1177/0091270007300951>

Bonsergent, M., Gelé, T., Taburet, A.-M., Marie, S., Barrail-Tran, A., 2018. Diffusion des anti-infectieux dans le système nerveux central. *Lett. Infect.*

Bourry, O., Mannioui, A., Sellier, P., Roucairol, C., Durand-Gasselin, L., Dereuddre-Bosquet, N., Benech, H., Roques, P., Le Grand, R., 2010. Effect of a short-term HAART on SIV load in macaque tissues is dependent on time of initiation and antiviral diffusion. *Retrovirology* 7, 78.

Briggs, J.A.G., Wilk, T., Welker, R., Kräusslich, H.-G., Fuller, S.D., 2003. Structural organization of authentic, mature HIV-1 virions and cores. *EMBO J.* 22, 1707–1715. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg143>

Brooks, D.G., Kitchen, S.G., Kitchen, C.M., Scripture-Adams, D.D., Zack, J.A., 2001. Generation of HIV latency during thymopoiesis. *Nat. Med.* 7, 459–464. <https://doi.org/10.1038/86531>

Budde, M.L., Wiseman, R.W., Karl, J.A., Hanczaruk, B., Simen, B.B., O'Connor, D.H., 2010. Characterization of Mauritian cynomolgus macaque major histocompatibility complex class I haplotypes by high-resolution pyrosequencing. *Immunogenetics* 62, 773–780. <https://doi.org/10.1007/s00251-010-0481-9>

Burgard, M., Sansonetti, P., Vittecoq, D., Descamps, P., Guetard, D., Herson, S., Rozenbaum, W., Rouzioux, C., 1989. Lack of HPA-23 antiviral activity in HIV-infected patients without AIDS. *AIDS* 3, 665–668. <https://doi.org/10.1097/00002030-198910000-00009>

Burgunder, E., Fallon, J.K., White, N., Schauer, A.P., Sykes, C., Remling-Mulder, L., Kovarova, M., Adamson, L., Luciw, P., Garcia, J.V., Akkina, R., Smith, P.C., Kashuba, A.D.M., 2019. Antiretroviral Drug Concentrations in Lymph Nodes: A Cross-Species Comparison of the Effect of Drug Transporter Expression, Viral Infection, and Sex in Humanized Mice, Nonhuman Primates, and Humans. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 370, 360–368. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.259150>

Buzón, M.J., Massanella, M., Llibre, J.M., Esteve, A., Dahl, V., Puertas, M.C., Gatell, J.M., Domingo, P., Paredes, R., Sharkey, M., Palmer, S., Stevenson, M., Clotet, B., Blanco, J., Martinez-Picado, J., 2010. HIV-1 replication and immune dynamics are affected by raltegravir intensification of HAART-suppressed subjects. *Nat. Med.* 16, 460–465. <https://doi.org/10.1038/nm.2111>

C

Cahn, P., Madero, J.S., Arribas, J.R., Antinori, A., Ortiz, R., Clarke, A.E., Hung, C.-C., Rockstroh, J.K., Girard, P.-M., Sievers, J., Man, C.Y., Urbaityte, R., Brandon, D.J., Underwood, M., Tenorio, A.R., Pappa, K.A., Wynne, B., Gartland, M., Aboud, M., van Wyk, J., Smith, K.Y., 2020. Durable Efficacy of Dolutegravir Plus Lamivudine in Antiretroviral Treatment-Naive Adults With HIV-1 Infection: 96-Week Results From the GEMINI-1 and GEMINI-2 Randomized Clinical Trials. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 83, 310–318. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000002275>

Cahn, P., Pozniak, A.L., Mingrone, H., Shuldyakov, A., Brites, C., Andrade-Villanueva, J.F., Richmond, G., Buendia, C.B., Fourie, J., Ramgopal, M., Hagins, D., Felizarta, F., Madruga, J., Reuter, T., Newman, T., Small, C.B., Lombaard, J., Grinsztejn, B., Dorey, D., Underwood, M., Griffith, S., Min, S., extended SAILING Study Team, 2013. Dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-experienced, integrase-inhibitor-naive adults with HIV: week 48 results from the randomised, double-blind, non-inferiority SAILING study. *The Lancet* 382, 700–708. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61221-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61221-0)

Calcagno, A., Bonora, S., Simiele, M., Rostagno, R., Tettoni, M.C., Bonasso, M., Romito, A., Imperiale, D., D'Avolio, A., Di Perri, G., 2011. Tenofovir and emtricitabine cerebrospinal fluid-to-plasma ratios correlate to the extent of blood-brainbarrier damage. *AIDS* 25, 1435–1437. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283488503>

Calcagno, A., Moltó, J., Borghetti, A., Gervasoni, C., Milesi, M., Valle, M., Avataneo, V., Alcantarini, C., Pla-Junca, F., Trunfio, M., D'Avolio, A., Di Giambenedetto, S., Cattaneo, D., Di Perri, G., Bonora, S., 2021. Older Age is Associated with Higher Dolutegravir Exposure in Plasma and Cerebrospinal Fluid of People Living with HIV. *Clin. Pharmacokinet.* 60, 103–109. <https://doi.org/10.1007/s40262-020-00916-9>

Calcagno, A., Simiele, M., Motta, I., Mornese Pinna, S., Bertucci, R., D'Avolio, A., Di Perri, G., Bonora, S., 2016. Elvitegravir/Cobicistat/Tenofovir/Emtricitabine Penetration in the Cerebrospinal Fluid of Three HIV-Positive Patients. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 32, 409–411. <https://doi.org/10.1089/aid.2015.0337>

Calzia, E., Iványi, Z., Radermacher, P., 2005. Determinants of Blood Flow and Organ Perfusion, in: Pinsky, M.R., Payen, D. (Eds.), *Functional Hemodynamic Monitoring, Update in Intensive Care and Emergency Medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 19–32.

Campbell, S.M., Crowe, S.M., Mak, J., 2001. Lipid rafts and HIV-1: from viral entry to assembly of progeny virions. *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.* 22, 217–227. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(01\)00193-7](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(01)00193-7)

Canestri, A., Lescure, F.-X., Jaureguiberry, S., Moulignier, A., Amiel, C., Marcelin, A.G., Peytavin, G., Tubiana, R., Pialoux, G., Katlama, C., 2010. Discordance between cerebral spinal fluid and plasma HIV replication in patients with neurological symptoms who are receiving suppressive antiretroviral therapy. *Clin. Infect. Dis.* 50, 773–778. <https://doi.org/10.1086/650538>

Casado, J.L., 2016. Renal and Bone Toxicity with the Use of Tenofovir: Understanding at the End. *AIDS Rev.* 18, 59–68.

Cassan, E., Arigon-Chifolleau, A.-M., Mesnard, J.-M., Gross, A., Gascuel, O., 2016. Concomitant emergence of the antisense protein gene of HIV-1 and of the pandemic. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, 11537–11542. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605739113>

Castagna, A., Maggiolo, F., Penco, G., Wright, D., Mills, A., Grossberg, R., Molina, J.-M., Chas, J., Durant, J., Moreno, S., Doroana, M., Ait-Khaled, M., Huang, J., Min, S., Song, I., Vavro, C., Nichols, G., Yeo, J.M., VIKING-3 Study Group, 2014. Dolutegravir in antiretroviral-experienced patients with raltegravir- and/or elvitegravir-resistant HIV-1: 24-week results of the phase III VIKING-3 study. *J. Infect. Dis.* 210, 354–362. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu051>

Castellino, S., Moss, L., Wagner, D., Borland, J., Song, I., Chen, S., Lou, Y., Min, S.S., Goljer, I., Culp, A., Piscitelli, S.C., Savina, P.M., 2013. Metabolism, Excretion, and Mass Balance of the HIV-1 Integrase Inhibitor Dolutegravir in Humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57, 3536–3546. <https://doi.org/10.1128/AAC.00292-13>

Cavarelli, M., Scarlatti, G., 2011. Human immunodeficiency virus type 1 mother-to-child transmission and prevention: successes and controversies: Symposium: Mother-to-child transmission of HIV-1. *J. Intern. Med.* 270, 561–579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2011.02458.x>

Centers for Disease Control (CDC), 1982a. Persistent, generalized lymphadenopathy among homosexual males. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 31, 249–251.

Centers for Disease Control (CDC), 1982b. Update on acquired immune deficiency syndrome (AIDS)--United States. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 31, 507–508, 513–514.

Centers for Disease Control (CDC), 1982c. *Pneumocystis carinii* pneumonia among persons with hemophilia A. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 31, 365–367.

Centers for Disease Control (CDC), 1981. *Pneumocystis pneumonia*--Los Angeles. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 30, 250–252.

Cheng, L., Ma, J., Li, G., Su, L., 2018. Humanized Mice Engrafted With Human HSC Only or HSC and Thymus Support Comparable HIV-1 Replication, Immunopathology, and Responses to ART and Immune Therapy. *Front. Immunol.* 9, 817. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00817>

Chéret, A., Nembot, G., Mélard, A., Lascoux, C., Slama, L., Mialhes, P., Yeni, P., Abel, S., Avettand-Fenoel, V., Venet, A., Chaix, M.-L., Molina, J.-M., Katlama, C., Goujard, C., Tamalet, C., Raffi, F., Lefeullade, A., Reynes, J., Ravaux, I., Hoën, B., Delfraissy, J.-F., Meyer, L., Rouzioux, C., OPTIPRIM ANRS Study Group, 2015. Intensive five-drug antiretroviral therapy regimen versus standard triple-drug therapy during primary HIV-1 infection (OPTIPRIM-ANRS 147): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Infect. Dis.* 15, 387–396. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70021-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70021-6)

Chermann, J.-C., Sinoussi, F.C., Jasmin, C., 1975. Inhibition of RNA-dependent DNA polymerase of murine oncornaviruses by ammonium-5-tungsto-2-antimoniate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 65, 1229–1236. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(75\)80361-5](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(75)80361-5)

Chomont, N., El-Far, M., Ancuta, P., Trautmann, L., Procopio, F.A., Yassine-Diab, B., Boucher, G., Boulassel, M.-R., Ghattas, G., Brenchley, J.M., Schacker, T.W., Hill, B.J., Douek, D.C., Routy, J.-P., Haddad, E.K., Sékaly, R.-P., 2009. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat. Med.* 15, 893–900. <https://doi.org/10.1038/nm.1972>

Chun, T.W., Engel, D., Berrey, M.M., Shea, T., Corey, L., Fauci, A.S., 1998. Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4(+) T cells during primary HIV-1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 8869–8873. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.15.8869>

Ciaffi, L., Koulla-Shiro, S., Sawadogo, A.B., Ndour, C.T., Eymard-Duvernay, S., Mbouyap, P.R., Ayangma, L., Zoungrana, J., Gueye, N.F.N., Diallo, M., Izard, S., Bado, G., Kane, C.T., Aghokeng, A.F., Peeters, M., Girard, P.M., Le Moing, V., Reynes, J., Delaporte, E., MOBIDIP study group, 2017. Boosted protease inhibitor monotherapy versus boosted protease inhibitor plus lamivudine dual therapy as second-line maintenance treatment for HIV-1-infected patients in sub-Saharan Africa (ANRS12 286/MOBIDIP): a multicentre, randomised, parallel, open-label, superiority trial. *Lancet HIV* 4, e384–e392. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(17\)30069-3](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(17)30069-3)

Clavel, F., Guétard, D., Brun-Vézinet, F., Chamaret, S., Rey, M.A., Santos-Ferreira, M.O., Laurent, A.G., Dauguet, C., Katlama, C., Rouzioux, C., 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 233, 343–346. <https://doi.org/10.1126/science.2425430>

Clotet, B., Feinberg, J., van Lunzen, J., Khuong-Josses, M.-A., Antinori, A., Dumitru, I., Pokrovskiy, V., Fehr, J., Ortiz, R., Saag, M., Harris, J., Brennan, C., Fujiwara, T., Min, S., ING114915 Study Team, 2014. Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir in antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 48 week results from the randomised open-label phase 3b study. *Lancet* 383, 2222–2231. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60084-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60084-2)

Costiniuk, C.T., Salahuddin, S., Farnos, O., Olivenstein, R., Pagliuzza, A., Orlova, M., Schurr, E., De Castro, C., Bourbeau, J., Routy, J.-P., Ancuta, P., Chomont, N., Jenabian, M.-A., 2018. HIV persistence in mucosal CD4+ T cells within the lungs of adults receiving long-term suppressive antiretroviral therapy. *AIDS* 32, 2279–2289. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001962>

Curtin, F., Vidal, V., Bernard, C., Kromminga, A., Lang, A.B., Porchet, H., 2016. Serum pharmacokinetics and cerebrospinal fluid concentration analysis of the new IgG4 monoclonal antibody GNBAC1 to treat multiple sclerosis: A Phase 1 study. *mAbs* 8, 854–860. <https://doi.org/10.1080/19420862.2016.1168956>

D

Damouche, A., Lazure, T., Avettand-Fènoël, V., Huot, N., Dejuq-Rainsford, N., Satie, A.-P., Mélard, A., David, L., Gommet, C., Ghosn, J., Noel, N., Pourcher, G., Martinez, V., Benoist, S., Béréziat, V., Cosma, A., Favier, B., Vaslin, B., Rouzioux, C., Capeau, J., Müller-Trutwin, M., Dereuddre-Bosquet, N., Le Grand, R., Lambotte, O., Bourgeois, C., 2015. Adipose Tissue Is a Neglected Viral Reservoir and an Inflammatory Site during Chronic HIV and SIV Infection. *PLoS Pathog.* 11, e1005153. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005153>

Danner, S.A., Carr, A., Leonard, J.M., Lehman, L.M., Gudiol, F., Gonzales, J., Raventos, A., Rubio, R., Bouza, E., Pintado, V., 1995. A short-term study of the safety, pharmacokinetics, and efficacy of zidovudine, an inhibitor of HIV-1 protease. European-Australian Collaborative Zidovudine Study Group. *N. Engl. J. Med.* 333, 1528–1533. <https://doi.org/10.1056/NEJM199512073332303>

Davey, R.T., Bhat, N., Yoder, C., Chun, T.W., Metcalf, J.A., Dewar, R., Natarajan, V., Lempicki, R.A., Adelsberger, J.W., Miller, K.D., Kovacs, J.A., Polis, M.A., Walker, R.E., Falloon, J., Masur, H., Gee, D., Baseler, M., Dimitrov, D.S., Fauci, A.S., Lane, H.C., 1999. HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 15109–15114. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.26.15109>

de Boer, V.C.J., Dihal, A.A., van der Woude, H., Arts, I.C.W., Wolfram, S., Alink, G.M., Rietjens, I.M.C.M., Keijer, J., Hollman, P.C.H., 2005. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. *J. Nutr.* 135, 1718–1725. <https://doi.org/10.1093/jn/135.7.1718>

Decloedt, E.H., Sinxadi, P.Z., Wiesner, L., Joska, J.A., Haas, D.W., Maartens, G., 2021. Pharmacogenetics of tenofovir and emtricitabine penetration into cerebrospinal fluid. *South. Afr. J. HIV Med.* 22, 24. <https://doi.org/10.4102/sajhivmed.v22i1.1206>

Deeks, S.G., Archin, N., Cannon, P., Collins, S., Jones, R.B., de Jong, M.A.W.P., Lambotte, O., Lamplough, R., Ndung'u, T., Sugarman, J., Tiemessen, C.T., Vandekerckhove, L., Lewin, S.R., International AIDS Society (IAS) Global Scientific Strategy working group, 2021. Research priorities for an HIV cure: International AIDS Society Global Scientific Strategy 2021. *Nat. Med.* 27, 2085–2098. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01590-5>

Deeks, S.G., Barditch-Crovo, P., Lietman, P.S., Hwang, F., Cundy, K.C., Rooney, J.F., Hellmann, N.S., Safrin, S., Kahn, J.O., 1998. Safety, Pharmacokinetics, and Antiretroviral Activity of Intravenous 9-[2-(R)-(Phosphonomethoxy)propyl]adenine, a Novel Anti-Human Immunodeficiency Virus (HIV) Therapy, in HIV-Infected Adults. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42, 2380–2384. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.9.2380>

Deeks, S.G., Lewin, S.R., Ross, A.L., Ananworanich, J., Benkirane, M., Cannon, P., Chomont, N., Douek, D., Lifson, J.D., Lo, Y.-R., Kuritzkes, D., Margolis, D., Mellors, J., Persaud, D., Tucker, J.D., Barre-Sinoussi, F., International AIDS Society Towards a Cure Working Group, Alter, G., Auerbach, J., Autran, B., Barouch, D.H., Behrens, G., Cavazzana, M., Chen, Z., Cohen, É.A., Corbelli, G.M., Eholié, S., Eyal, N., Fidler, S., Garcia, L., Grossman, C., Henderson, G., Henrich, T.J., Jefferys, R., Kiem, H.-P., McCune, J., Moodley, K., Newman, P.A., Nijhuis, M., Nsubuga, M.S., Ott, M., Palmer, S., Richman, D., Sáez-Cirión, A., Sharp, M., Siliciano, J., Silvestri, G., Singh, J., Spire, B., Taylor, J., Tolstrup, M., Valente, S., van Lunzen, J., Walensky, R., Wilson, I., Zack, J., 2016. International AIDS Society global scientific strategy: towards an HIV cure 2016. *Nat. Med.* 22, 839–850. <https://doi.org/10.1038/nm.4108>

Deeks, S.G., Overbaugh, J., Phillips, A., Buchbinder, S., 2015. HIV infection. *Nat. Rev. Dis. Primer* 1, 1–22. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.35>

Denton, P.W., Estes, J.D., Sun, Z., Othieno, F.A., Wei, B.L., Wege, A.K., Powell, D.A., Payne, D., Haase, A.T., Garcia, J.V., 2008. Antiretroviral Pre-exposure Prophylaxis Prevents Vaginal Transmission of HIV-1 in Humanized BLT Mice. *PLoS Med.* 5, e16. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050016>

Denton, P.W., Olesen, R., Choudhary, S.K., Archin, N.M., Wahl, A., Swanson, M.D., Chateau, M., Nochi, T., Krisko, J.F., Spagnuolo, R.A., Margolis, D.M., Garcia, J.V., 2012. Generation of HIV latency in humanized BLT mice. *J. Virol.* 86, 630–634. <https://doi.org/10.1128/JVI.06120-11>

Desjardins, D., Barrail-Tran, A., Gelé, T., Taburet, A.-M., Dereuddre-Bosquet, N., Le Grand, R., 2016. SIVART: an ANRS common resource of cynomolgus macaques chronically infected with SIVmac251 and with long term ART for the scientific community. From the Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. New Orleans, LA, USA.

Destache, C.J., Mandal, S., Yuan, Z., Kang, G., Date, A.A., Lu, W., Shibata, A., Pham, R., Bruck, P., Rezich, M., Zhou, Y., Vivekanandan, R., Fletcher, C.V., Li, Q., 2016. Topical Tenofovir Disoproxil Fumarate Nanoparticles Prevent HIV-1 Vaginal Transmission in a Humanized Mouse Model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60, 3633–3639. <https://doi.org/10.1128/AAC.00450-16>

Deutsch, C., Taylor, J.S., Price, M., 1984. pH homeostasis in human lymphocytes: modulation by ions and mitogen. *J. Cell Biol.* 98, 885–893. <https://doi.org/10.1083/jcb.98.3.885>

Devanathan, A.S., Fallon, J.K., White, N.R., Schauer, A.P., Van Horne, B., Blake, K., Sykes, C., Kovarova, M., Adamson, L., Remling-Mulder, L., Luciw, P., Garcia, J.V., Akkina, R., Pirone, J.R., Smith, P.C., Kashuba, A.D.M., 2020. Antiretroviral Penetration and Drug Transporter Concentrations in the Spleens of Three Preclinical Animal Models and Humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 64, e01384-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.01384-20>

Devanathan, A.S., Pirone, J.R., Akkina, R., Remling-Mulder, L., Luciw, P., Adamson, L., Garcia, J.V., Kovarova, M., White, N.R., Schauer, A.P., Blake, K., Sykes, C., Burgunder, E.M., Srinivas, N., Rosen, E.P., Kashuba, A.D.M., 2019. Antiretroviral Penetration across Three Preclinical Animal Models and Humans in Eight Putative HIV Viral Reservoirs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 64, e01639-19, [/aac/64/1/AAC.01639-19.atom](https://doi.org/10.1128/AAC.01639-19). <https://doi.org/10.1128/AAC.01639-19>

Devanathan, A.S., White, N.R., Desyaterik, Y., De la Cruz, G., Nekorchuk, M., Terry, M., Busman-Sahay, K., Adamson, L., Luciw, P., Fedoriw, Y., Estes, J.D., Rosen, E.P., Kashuba, A.D.M., 2022. Quantitative Imaging Analysis of the Spatial Relationship between Antiretrovirals, Reverse Transcriptase Simian-Human Immunodeficiency Virus RNA, and Fibrosis in the Spleens of Nonhuman Primates. *Antimicrob. Agents Chemother.* e0060922. <https://doi.org/10.1128/aac.00609-22>

Di Mascio, M., Srinivasula, S., Bhattacharjee, A., Cheng, L., Martiniova, L., Herscovitch, P., Lertora, J., Kiesewetter, D., 2009. Antiretroviral tissue kinetics: in vivo imaging using positron emission tomography. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 4086–4095. <https://doi.org/10.1128/AAC.00419-09>

Doll, D.C., 1988. Tattooing in Prison and HIV Infection. *The Lancet* 331, 66–67. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(88\)91054-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(88)91054-9)

Dormont, D., Spire, B., Barré-Sinoussi, F., Montagnier, L., Chermann, J.C., 1985. Inhibition of RNA-dependent DNA polymerases of AIDS and SAIDS retroviruses by HPA-23 (ammonium-21-tungsto-9-antimoniate). *Ann. Inst. Pasteur Virol.* 136, 75–83. [https://doi.org/10.1016/S0769-2617\(85\)80114-3](https://doi.org/10.1016/S0769-2617(85)80114-3)

Dumond, J.B., Yeh, R.F., Patterson, K.B., Corbett, A.H., Jung, B.H., Rezk, N.L., Bridges, A.S., Stewart, P.W., Cohen, M.S., Kashuba, A.D., 2007. Antiretroviral drug exposure in the female genital tract: implications for oral pre- and post-exposure prophylaxis. *AIDS* 21, 1899–1907. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328270385a>

Dyavar, S.R., Kumar, S., Gautam, N., Podany, A.T., Winchester, L.C., Weinhold, J.A., Mykris, T.M., Nallasamy, P., Alnouti, Y., Fletcher, C.V., 2021. Intramuscular and subcutaneous administration of antiretroviral drugs, compared with oral, enhances delivery to lymphoid tissues in BALB/c mice. *J. Antimicrob. Chemother.* <https://doi.org/10.1093/jac/dkab228>

E

Ehrlich, P., 1885. Sauerstoff-Bedürfniss des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Hirschwald.

Elliot, E.R., Wang, X., Singh, S., Simmons, B., Vera, J.H., Miller, R.F., Fitzpatrick, C., Moyle, G., McClure, M., Boffito, M., 2019. Increased Dolutegravir Peak Concentrations in People Living With Human Immunodeficiency Virus Aged 60 and Over, and Analysis of Sleep Quality and Cognition. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 68, 87–95. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy426>

Else, L.J., Taylor, S., Back, D.J., Khoo, S.H., 2011a. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: the male and female genital tract. *Antivir. Ther.* 16, 1149–1167. <https://doi.org/10.3851/IMP1919>

Else, L.J., Taylor, S., Back, D.J., Khoo, S.H., 2011b. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: the fetal compartment (placenta and amniotic fluid). *Antivir. Ther.* 16, 1139–1147. <https://doi.org/10.3851/IMP1918>

El-Sheikh, A.A.K., van den Heuvel, J.J.M.W., Koenderink, J.B., Russel, F.G.M., 2007. Interaction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with multidrug resistance protein (MRP) 2/ABCC2- and MRP4/ABCC4-mediated methotrexate transport. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 320, 229–235. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.110379>

Eriksson, S., Graf, E.H., Dahl, V., Strain, M.C., Yukl, S.A., Lysenko, E.S., Bosch, R.J., Lai, J., Chioma, S., Emad, F., Abdel-Mohsen, M., Hoh, R., Hecht, F., Hunt, P., Somsouk, M., Wong, J., Johnston, R., Siliciano, R.F., Richman, D.D., O'Doherty, U., Palmer, S., Deeks, S.G., Siliciano, J.D., 2013. Comparative analysis of measures of viral reservoirs in HIV-1 eradication studies. *PLoS Pathog.* 9, e1003174. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003174>

European AIDS Clinical Society, 2021. European AIDS Clinical Society Guidelines v11.

European Medicines Agency, 2021. Rukobia®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2019. Dovato®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2018a. Biktarvy®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2018b. Delstrigo®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2018c. Juluca®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2018d. Guideline on bioanalytical method validation.

European Medicines Agency, 2016a. Odefsey®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2016b. Descovy®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2015. Genvoya®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2014a. Tivicay®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2014b. Triumeq®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2013. Stribild®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2011. Eviplera®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2009. Guideline on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals.

European Medicines Agency, 2007a. Celsentri®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2007b. Atripla®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2005. Truvada®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2003a. Emtriva®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2003b. Fuzeon®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

European Medicines Agency, 2002. Viread®, Résumé des Caractéristiques du Produit.

F

Ferrara, M., Bumpus, N.N., Ma, Q., Ellis, R.J., Soontornniyomkij, V., Fields, J.A., Bharti, A., Achim, C.L., Moore, D.J., Letendre, S.L., 2020. Antiretroviral drug concentrations in brain tissue of adult decedents. *AIDS* 34, 1907–1914. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002628>

Fiandra, L., Capetti, A., Sorrentino, L., Corsi, F., 2016. Nanoformulated Antiretrovirals for Penetration of the Central Nervous System: State of the Art. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 1, 17–30. <https://doi.org/10.1007/s11481-016-9716-3>

Fiebig, E.W., Wright, D.J., Rawal, B.D., Garrett, P.E., Schumacher, R.T., Peddada, L., Heldebrant, C., Smith, R., Conrad, A., Kleinman, S.H., Busch, M.P., 2003. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 17, 1871–1879. <https://doi.org/10.1097/00002030-200309050-00005>

Fletcher, C.V., Staskus, K., Wietgreffe, S.W., Rothenberger, M., Reilly, C., Chipman, J.G., Beilman, G.J., Khoruts, A., Thorkelson, A., Schmidt, T.E., Anderson, J., Perkey, K., Stevenson, M., Perelson, A.S., Douek, D.C., Haase, A.T., Schacker, T.W., 2014. Persistent HIV-1 replication is associated with lower antiretroviral drug concentrations in lymphatic tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 2307–2312. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318249111>

Fletcher, C.V., Thorkelson, A., Winchester, L.C., Mykris, T.M., Weinhold, J.A., Campbell, K.M., Anderson, J., Zulk, J., Moshele, P., Schacker, T.W., 2018. Comparative lymphoid tissue pharmacokinetics (PK) of integrase inhibitors (INSTI). [Abstract 27]. From the 25th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. March 4-7, 2018. Boston, Massachusetts.

Flynn, P.M., Mirochnick, M., Shapiro, D.E., Bardeguet, A., Rodman, J., Robbins, B., Huang, S., Fiscus, S.A., Van Rompay, K.K.A., Rooney, J.F., Kearney, B., Mofenson, L.M., Watts, D.H., Jean-Philippe, P., Heckman, B., Thorpe, E., Cotter, A., Purswani, M., 2011. Pharmacokinetics and Safety of Single-Dose Tenofovir Disoproxil Fumarate and Emtricitabine in HIV-1-Infected Pregnant Women and Their Infants ν . *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 5914–5922. <https://doi.org/10.1128/AAC.00544-11>

Fonsart, J., Saragosti, S., Taouk, M., Peytavin, G., Bushman, L., Charreau, I., Hance, A., Goldwirt, L., Morel, S., Mammano, F., Loze, B., Capitant, C., Clavel, F., Mahjoub, N., Meyer, L., Anderson, P.L., Delaugerre, C., Molina, J.-M., 2017. Single-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral tenofovir and emtricitabine in blood, saliva and rectal tissue: a sub-study of the ANRS IPERGAY trial. *J. Antimicrob. Chemother.* 72, 478–485. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw412>

Francis, D.P., Jaffe, H.W., Fultz, P.N., Getchell, J.P., McDougal, J.S., Feorino, P.M., 1985. The natural history of infection with the lymphadenopathy-associated virus/human T-lymphotropic virus type III. *Ann. Intern. Med.* 103, 719–722. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-103-5-719>

Franco, N.H., 2013. Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective. *Anim. Open Access J. MDPI* 3, 238–273. <https://doi.org/10.3390/ani3010238>

Frange, P., Meyer, L., Deveau, C., Tran, L., Goujard, C., Ghosn, J., Girard, P.-M., Morlat, P., Rouzioux, C., Chaix, M.-L., French ANRS CO6 PRIMO Cohort Study Group, 2012. Recent HIV-1 infection contributes to the viral diffusion over the French territory with a recent increasing frequency. *PLoS One* 7, e31695. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031695>

Frankel, A.D., Young, J.A., 1998. HIV-1: fifteen proteins and an RNA. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 1–25. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.1>

Frick, L.W., Lambe, C.U., St John, L., Taylor, L.C., Nelson, D.J., 1994. Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolism in mice and cynomolgus monkeys of (2'R,5'S)-cis-5-fluoro-1-[2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl] cytosine, an agent active against human immunodeficiency virus and human hepatitis B virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 2722–2729. <https://doi.org/10.1128/AAC.38.12.2722>

Fridén, M., Ljungqvist, H., Middleton, B., Bredberg, U., Hammarlund-Udenaes, M., 2010. Improved Measurement of Drug Exposure in the Brain Using Drug-Specific Correction for Residual Blood. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 30, 150–161. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.200>

G

Gallant, J.E., Staszewski, S., Pozniak, A.L., DeJesus, E., Suleiman, J.M.A.H., Miller, M.D., Coakley, D.F., Lu, B., Toole, J.J., Cheng, A.K., 903 Study Group, 2004. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 292, 191–201. <https://doi.org/10.1001/jama.292.2.191>

Gao, X., Rosales, A., Karttunen, H., Bommana, G.M., Tandoh, B., Yi, Z., Habib, Z., D'Agati, V., Zhang, W., Ross, M.J., 2019. The HIV protease inhibitor darunavir prevents kidney injury via HIV-independent mechanisms. *Sci. Rep.* 9, 15857. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52278-3>

Gelé, T., Chéret, A., Castro Gordon, A., Nkam, L., Furlan, V., Pallier, C., Becker, P.-H., Catalan, P., Goujard, C., Taburet, A.-M., Gasnault, J., Gouget, H., Barrail-Tran, A., 2021. Cerebrospinal fluid exposure to bicittegravir/emtricitabine/tenofovir in HIV-1-infected patients with CNS impairment. *J. Antimicrob. Chemother.* 76, 3280–3285. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab334>

Gelé, T., Furlan, V., Taburet, A.-M., Pallier, C., Becker, P.-H., Goujard, C., Gasnault, J., Barrail-Tran, A., Chéret, A., 2019. Dolutegravir Cerebrospinal Fluid Diffusion in HIV-1-Infected Patients with Central Nervous System Impairment. *Open Forum Infect. Dis.* 6, ofz174. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz174>

Gelé, T., Gouget, H., Furlan, V., Becker, P.-H., Taburet, A.-M., Lambotte, O., Barrail-Tran, A., 2020. Characteristics of Dolutegravir and Bicittegravir Plasma Protein Binding: a First Approach for the Study of Pharmacologic Sanctuaries. *Antimicrob. Agents Chemother.* 64, e00895-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00895-20>

German Advisory Committee Blood, 2016. Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Transfus. Med. Hemotherapy* 43, 203–222. <https://doi.org/10.1159/000445852>

Gholizadeh, Z., Iqbal, M.S., Li, R., Romerio, F., 2021. The HIV-1 Antisense Gene ASP: The New Kid on the Block. *Vaccines* 9, 513. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050513>

Ghosn, J., Chaix, M.-L., Peytavin, G., Rey, E., Bresson, J.-L., Goujard, C., Katlama, C., Viard, J.-P., Tréluyer, J.-M., Rouzioux, C., 2004. Penetration of enfuvirtide, tenofovir, efavirenz, and protease inhibitors in the genital tract of HIV-1-infected men. *AIDS* 18, 1958–1961. <https://doi.org/10.1097/00002030-200409240-00014>

Gillgrass, A., Wessels, J.M., Yang, J.X., Kaushic, C., 2021. Advances in Humanized Mouse Models to Improve Understanding of HIV-1 Pathogenesis and Immune Responses. *Front. Immunol.* 11, 3924. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.617516>

Gish, R.G., Leung, N.W.Y., Wright, T.L., Trinh, H., Lang, W., Kessler, H.A., Fang, L., Wang, L.H., Delehanty, J., Rigney, A., Mondou, E., Snow, A., Rousseau, F., 2002. Dose Range Study of Pharmacokinetics, Safety, and Preliminary Antiviral Activity of Emtricitabine in Adults with Hepatitis B Virus Infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 1734–1740. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1734-1740.2002>

Giudicelli, C., Dricot, E., Moati, F., Strolin-Benedetti, M., Giudicelli, J.-F., 2004. Is it important to correct apparent drug tissue concentrations for blood contamination in the dog? *Fundam. Clin. Pharmacol.* 18, 281–286. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2004.00246.x>

Gottlieb, M.S., Schroff, R., Schanker, H.M., Weisman, J.D., Fan, P.T., Wolf, R.A., Saxon, A., 1981. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N. Engl. J. Med.* 305, 1425–1431. <https://doi.org/10.1056/NEJM198112103052401>

Gouget, H., Noé, G., Barrail-Tran, A., Furlan, V., 2020. UPLC–MS/MS method for the simultaneous quantification of bictegravir and 13 others antiretroviral drugs plus cobicistat and ritonavir boosters in human plasma. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 181, 113057. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113057>

Goujard, C., Chaix, M.-L., Lambotte, O., Deveau, C., Sinet, M., Guergnon, J., Courgnaud, V., Rouzioux, C., Delfraissy, J.-F., Venet, A., Meyer, L., Agence Nationale de Recherche sur le Sida PRIMO Study Group, 2009. Spontaneous control of viral replication during primary HIV infection: when is “HIV controller” status established? *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 49, 982–986. <https://doi.org/10.1086/605504>

Greenblatt, M.B., Vrbanac, V., Vbranac, V., Tivey, T., Tsang, K., Tager, A.M., Aliprantis, A.O., 2012. Graft versus host disease in the bone marrow, liver and thymus humanized mouse model. *PLoS One* 7, e44664. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044664>

Greener, B.N., Patterson, K.B., Prince, H.M.A., Sykes, C.S., Adams, J.L., Dumond, J.B., Shaheen, N.J., Madanick, R.D., Dellon, E.S., Cohen, M.S., Kashuba, A.D.M., 2013. Dolutegravir pharmacokinetics in the genital tract and colorectum of HIV-negative men after single and multiple dosing. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 64, 39–44. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31829ed7a4>

Gualdesi, M.S., Briñón, M.C., Quevedo, M.A., 2012. Intestinal permeability of lamivudine (3TC) and two novel 3TC prodrugs. Experimental and theoretical analyses. *Eur. J. Pharm. Sci.* 47, 965–978. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.10.002>

Gupta, S.K., Post, F.A., Arribas, J.R., Eron, J.J.J., Wohl, D.A., Clarke, A.E., Sax, P.E., Stellbrink, H.-J., Esser, S., Pozniak, A.L., Podzamczar, D., Waters, L., Orkin, C., Rockstroh, J.K., Mudrikova, T., Negredo, E., Elion, R.A., Guo, S., Zhong, L., Carter, C., Martin, H., Brainard, D., SenGupta, D., Das, M., 2019. Renal safety of tenofovir alafenamide vs. tenofovir disoproxil fumarate: a pooled analysis of 26 clinical trials. *AIDS* 33, 1455–1465. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002223>

Gutmann, H., Fricker, G., Drewe, J., Toeroek, M., Miller, D.S., 1999. Interactions of HIV protease inhibitors with ATP-dependent drug export proteins. *Mol. Pharmacol.* 56, 383–389. <https://doi.org/10.1124/mol.56.2.383>

H

Haraguchi, S., Ho, S.K., Morrow, M., Goodenow, M.M., Sleasman, J.W., 2011. Developmental regulation of P-glycoprotein activity within thymocytes results in increased anti-HIV protease inhibitor activity. *J. Leukoc. Biol.* 90, 653–660. <https://doi.org/10.1189/jlb.0111-009>

Hasgall, P., Di Gennaro, F., Baumgartner, C., Neufeld, E., Lloyd, B., Gosselin, M., Payne, D., Klingensböck, A., Kustner, A., 2018. IT'IS Database for thermal and electromagnetic parameters of biological tissues. Version 4.0. <https://doi.org/10.13099/VIP21000-04-0>

Hatzioannou, T., Evans, D.T., 2012. Animal models for HIV/AIDS research. *Nat. Rev. Microbiol.* 10, 852–867. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2911>

Hayakawa, J., Hsieh, M.M., Uchida, N., Phang, O., Tisdale, J.F., 2009. Busulfan produces efficient human cell engraftment in NOD/LtSz-Scid IL2Rgamma(null) mice. *Stem Cells* 27, 175–182. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2008-0583>

Henderson, L.J., Reoma, L.B., Kovacs, J.A., Nath, A., 2020. Advances toward Curing HIV-1 Infection in Tissue Reservoirs. *J. Virol.* 94, e00375-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-19>

Hendrix, C.W., Andrade, A., Bumpus, N.N., Kashuba, A.D., Marzinke, M.A., Moore, A., Anderson, P.L., Bushman, L.R., Fuchs, E.J., Wiggins, I., Radebaugh, C., Prince, H.A., Bakshi, R.P., Wang, R., Richardson, P., Shieh, E., McKinstry, L., Li, X., Donnell, D., Elharrar, V., Mayer, K.H., Patterson, K.B., 2016. Dose Frequency Ranging Pharmacokinetic Study of Tenofovir-Emtricitabine After Directly Observed Dosing in Healthy Volunteers to Establish Adherence Benchmarks (HPTN 066). *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 32, 32–43. <https://doi.org/10.1089/AID.2015.0182>

Hendrix, C.W., Chen, B.A., Guddera, V., Hoesley, C., Justman, J., Nakabiito, C., Salata, R., Soto-Torres, L., Patterson, K., Minnis, A.M., Gandham, S., Gomez, K., Richardson, B.A., Bumpus, N.N., 2013. MTN-001: Randomized Pharmacokinetic Cross-Over Study Comparing Tenofovir Vaginal Gel and Oral Tablets in Vaginal Tissue and Other Compartments. *PLoS One* 8, e55013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055013>

Hijazi, K., Iannelli, F., Cuppone, A.M., Desjardins, D., Caldwell, A., Dereuddre-Bosquet, N., Scala, C., Smith, K.A., Mukhopadhyaya, I., Frank, B., Gwozdz, G., Santoro, F., Le Grand, R., Pozzi, G., Kelly, C., 2020. In vivo modulation of cervicovaginal drug transporters and tissue distribution by film-released tenofovir and darunavir for topical prevention of HIV-1. *Mol. Pharm.* [acs.molpharmaceut.9b01121](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01121). <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01121>

Hinderling, P.H., Hartmann, D., 2005. The pH dependency of the binding of drugs to plasma proteins in man. *Ther. Drug Monit.* 27, 71–85. <https://doi.org/10.1097/00007691-200502000-00014>

Hirsch, M.S., Kaplan, J.C., 1985. Prospects of therapy for infections with human T-lymphotropic virus type III. *Ann. Intern. Med.* 103, 750–755. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-103-5-750>

Ho Tsong Fang, R., Colantonio, A.D., Uittenbogaart, C.H., 2008. The role of the thymus in HIV infection: a 10 year perspective. *AIDS* 22, 171–184. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3282f2589b>

Hocqueloux, L., Avettand-Fènoël, V., Jacquot, S., Prazuck, T., Legac, E., Mélard, A., Niang, M., Mille, C., Le Moal, G., Viard, J.-P., Rouzioux, C., on behalf of the AC32 (Coordinated Action on HIV Reservoirs) of the Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les Hépatites Virales (ANRS), 2013. Long-term antiretroviral therapy initiated during primary HIV-1 infection is key to achieving both low HIV reservoirs and normal T cell counts. *J. Antimicrob. Chemother.* 68, 1169–1178. <https://doi.org/10.1093/jac/dks533>

Hollingsworth, T.D., Anderson, R.M., Fraser, C., 2008. HIV-1 Transmission, by Stage of Infection. *J. Infect. Dis.* 198, 687–693. <https://doi.org/10.1086/590501>

Hsu, A., Granneman, G.R., Cao, G., Carothers, L., El-Shourbagy, T., Baroldi, P., Erdman, K., Brown, F., Sun, E., Leonard, J.M., 1998a. Pharmacokinetic interactions between two human immunodeficiency virus protease inhibitors, ritonavir and saquinavir*. *Clin. Pharmacol. Ther.* 63, 453–464. [https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(98\)90041-8](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(98)90041-8)

Hsu, A., Granneman, G.R., Cao, G., Carothers, L., Japour, A., El-Shourbagy, T., Dennis, S., Berg, J., Erdman, K., Leonard, J.M., Sun, E., 1998b. Pharmacokinetic Interaction between Ritonavir and Indinavir in Healthy Volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42, 2784–2791. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.11.2784>

Huang, Y., Hoque, M.T., Jenabian, M.-A., Vyboh, K., Whyte, S.-K., Sheehan, N.L., Brassard, P., Bélanger, M., Chomont, N., Fletcher, C.V., Routy, J.-P., Bendayan, R., 2016. Antiretroviral drug transporters and metabolic enzymes in human testicular tissue: potential contribution to HIV-1 sanctuary site. *J. Antimicrob. Chemother.* 71, 1954–1965. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw046>

Huot, N., Rasclé, P., Müller-Trutwin, M., 2019. [Contribution of animal models to HIV research]. *Virologie* 23, 229–240. <https://doi.org/10.1684/vir.2019.0783>

Hymes, Kenneth B., Greene, Jeffrey B., Marcus, A., William, Daniel C., Cheung, T., Prose, Neil S., Ballard, H., Laubenstein, Linda J., 1981. Kaposi's Sarcoma in Homosexual Men—A Report of Eight Cases. *The Lancet*, Originally published as Volume 2, Issue 8247 318, 598–600. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(81\)92740-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(81)92740-9)

I
Ikumi, N.M., Anumba, D., Matjila, M., 2021. Pharmacokinetics and placental transfer of dolutegravir in pregnancy. *J. Antimicrob. Chemother.* dkab365. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab365>

Imaoka, T., Kusuhara, H., Adachi, M., Schuetz, J.D., Takeuchi, K., Sugiyama, Y., 2007. Functional involvement of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the renal elimination of the antiviral drugs adefovir and tenofovir. *Mol. Pharmacol.* 71, 619–627. <https://doi.org/10.1124/mol.106.028233>

Imaz, A., Martinez-Picado, J., Niubó, J., Kashuba, A.D.M., Ferrer, E., Ouchi, D., Sykes, C., Rozas, N., Acerete, L., Curto, J., Vila, A., Podzamczar, D., 2016. HIV-1-RNA Decay and Dolutegravir Concentrations in Semen of Patients Starting a First Antiretroviral Regimen. *J. Infect. Dis.* 214, 1512–1519. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw406>

Imaz, A., Tiraboschi, J.M., Niubó, J., Martinez-Picado, J., Cottrell, M.L., Domingo, P., Chivite, I., Negrodo, E., Schauer, A., Van Horne, B., Morenilla, S., Urrea, V., Silva-Klug, A., Scévola, S., Garcia, B., Kashuba, A.D.M., Podzamczar, D., 2021. Dynamics of the Decay of Human Immunodeficiency Virus (HIV) RNA and Distribution of Bictegravir in the Genital Tract and Rectum in Antiretroviral-naive Adults Living With HIV-1 Treated With Bictegravir/Emtricitabine/Tenofovir Alafenamide (Spanish HIV/AIDS Research Network, PreEC/RIS 58). *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 73, e1991–e1999. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1416>

Iversen, A.K.N., Attermann, J., Gerstoft, J., Fugger, L., Mullins, J.I., Skinhøj, P., 2004. Longitudinal and cross-sectional studies of HIV-1 RNA and DNA loads in blood and the female genital tract. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 117, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2004.05.016>

Iwasaki, K., Kitsugi, Y., Ikeda, K., Yoshikawa, T., Hosaka, S., Uehara, S., Uno, Y., Utoh, M., Yamazaki, H., 2016. In vivo individual variations in pharmacokinetics of efavirenz in cynomolgus monkeys genotyped for cytochrome P450 2C9. *Biopharm. Drug Dispos.* 37, 379–383. <https://doi.org/10.1002/bdd.2021>

J

Janneh, O., Anwar, T., Jungbauer, C., Kopp, S., Khoo, S.H., Back, D.J., Chiba, P., 2009. P-glycoprotein, multidrug resistance-associated proteins and human organic anion transporting polypeptide influence the intracellular accumulation of atazanavir. *Antivir. Ther.* 14, 965–974. <https://doi.org/10.3851/IMP1399>

Jasmin, C., Chermann, J.-C., Herve, G., Teze, A., Souchay, P., Boy-Loustau, C., Raybaud, N., Sinoussi, F., Raynaud, M., 1974. In Vivo Inhibition of Murine Leukemia and Sarcoma Viruses by the Heteropolyanion 5-Tungsto-2-antimoniate²⁻. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 53, 469–474. <https://doi.org/10.1093/jnci/53.2.469>

Johnson, M., 2022. Laboratory Mice and Rats. *Mater. Methods.* <https://doi.org/10.13070/mm.en.2.113>

Jones, K., Bray, P.G., Khoo, S.H., Davey, R.A., Meaden, E.R., Ward, S.A., Back, D.J., 2001a. P-Glycoprotein and transporter MRP1 reduce HIV protease inhibitor uptake in CD4 cells: potential for accelerated viral drug resistance? *AIDS* 15, 1353–1358. <https://doi.org/10.1097/00002030-200107270-00004>

Jones, K., Hoggard, P.G., Sales, S.D., Khoo, S., Davey, R., Back, D.J., 2001b. Differences in the intracellular accumulation of HIV protease inhibitors in vitro and the effect of active transport. *AIDS* 15, 675–681. <https://doi.org/10.1097/00002030-200104130-00002>

Josefsson, L., King, M.S., Makitalo, B., Brännström, J., Shao, W., Maldarelli, F., Kearney, M.F., Hu, W.-S., Chen, J., Gaines, H., Mellors, J.W., Albert, J., Coffin, J.M., Palmer, S.E., 2011. Majority of CD4⁺ T cells from peripheral blood of HIV-1-infected individuals contain only one HIV DNA molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 11199–11204. <https://doi.org/10.1073/pnas.1107729108>

Josefsson, L., Palmer, S., Faria, N.R., Lemey, P., Casazza, J., Ambrozak, D., Kearney, M., Shao, W., Kottlilil, S., Sneller, M., Mellors, J., Coffin, J.M., Maldarelli, F., 2013. Single cell analysis of lymph node tissue from HIV-1 infected patients reveals that the majority of CD4⁺ T-cells contain one HIV-1 DNA molecule. *PLoS Pathog.* 9, e1003432. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003432>

Juliano, R.L., Ling, V., 1976. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* 455, 152–162. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(76\)90160-7](https://doi.org/10.1016/0005-2736(76)90160-7)

K

Kaddoumi, A., Choi, S.-U., Kinman, L., Whittington, D., Tsai, C.-C., Ho, R.J.Y., Anderson, B.D., Unadkat, J.D., 2007. Inhibition of P-glycoprotein activity at the primate blood-brain barrier increases the distribution of nelfinavir into the brain but not into the cerebrospinal fluid. *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.* 35, 1459–1462. <https://doi.org/10.1124/dmd.107.016220>

Kahn, J.O., Walker, B.D., 1998. Acute Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *N. Engl. J. Med.* 339, 33–39. <https://doi.org/10.1056/NEJM199807023390107>

Kalada, W., Cory, T.J., 2021. The Importance of Tissue Sanctuaries and Cellular Reservoirs of HIV-1. *Curr. HIV Res.* <https://doi.org/10.2174/1570162X20666211227161237>

Kalter, D.C., Greenhouse, J.J., Orenstein, J.M., Schnittman, S.M., Gendelman, H.E., Meltzer, M.S., 1991. Epidermal Langerhans cells are not principal reservoirs of virus in HIV disease. *J. Immunol.* 146, 3396–3404.

Karampoor, S., Zahednasab, H., Amini, R., Esghaei, M., Sholeh, M., Keyvani, H., 2020. Maraviroc attenuates the pathogenesis of experimental autoimmune encephalitis. *Int. Immunopharmacol.* 80, 106138. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.106138>

Karim, S.S.A., Kashuba, A.D., Werner, L., Karim, Q.A., 2011. Drug concentrations after topical and oral antiretroviral pre-exposure prophylaxis: implications for HIV prevention in women. *The Lancet* 378, 279–281. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60878-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60878-7)

Kearney, B.P., Mathias, A., Mittan, A., Sayre, J., Ebrahimi, R., Cheng, A.K., 2006a. Pharmacokinetics and safety of tenofovir disoproxil fumarate on coadministration with lopinavir/ritonavir. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 43, 278–283. <https://doi.org/10.1097/01.qai.0000243103.03265.2b>

Kearney, B.P., Yale, K., Shah, J., Zhong, L., Flaherty, J.F., 2006b. Pharmacokinetics and dosing recommendations of tenofovir disoproxil fumarate in hepatic or renal impairment. *Clin. Pharmacokinet.* 45, 1115–1124. <https://doi.org/10.2165/00003088-200645110-00005>

Khor, S.P., Bozigian, H., Mayersohn, M., 1991. Potential error in the measurement of tissue to blood distribution coefficients in physiological pharmacokinetic modeling. Residual tissue blood. II. Distribution of phencyclidine in the rat. *Drug Metab. Dispos.* 19, 486–490.

Khor, S.P., Mayersohn, M., 1991. Potential error in the measurement of tissue to blood distribution coefficients in physiological pharmacokinetic modeling. Residual tissue blood. I. Theoretical considerations. *Drug Metab. Dispos.* 19, 478–485.

Kiesewetter, D.O., Knudson, K., Collins, M., Srinivasula, S., Lim, E., Di Mascio, M., 2008. Enantiomeric radiochemical synthesis of R and S (1-(6-amino-9H-purin-9-yl)-3-fluoropropan-2-yloxy)methylphosphonic acid (FPMPA). *J. Label. Compd. Radiopharm.* 51, 187–194. <https://doi.org/10.1002/jlcr.1505>

Kiser, J.J., Carten, M.L., Aquilante, C.L., Anderson, P.L., Wolfe, P., King, T.M., Delahunty, T., Bushman, L.R., Fletcher, C.V., 2008. The effect of lopinavir/ritonavir on the renal clearance of tenofovir in HIV-infected patients. *Clin. Pharmacol. Ther.* 83, 265–272. <https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100269>

Klatzmann, D., Champagne, E., Chamaret, S., Gruest, J., Guetard, D., Hercend, T., Gluckman, J.-C., Montagnier, L., 1984. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 312, 767–768. <https://doi.org/10.1038/312767a0>

Kobayashi, M., Yoshinaga, T., Seki, T., Wakasa-Morimoto, C., Brown, K.W., Ferris, R., Foster, S.A., Hazen, R.J., Miki, S., Suyama-Kagitani, A., Kawauchi-Miki, S., Taishi, T., Kawasuji, T., Johns, B.A., Underwood, M.R., Garvey, E.P., Sato, A., Fujiwara, T., 2011. In Vitro antiretroviral properties of S/GSK1349572, a next-generation HIV integrase inhibitor. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 813–821. <https://doi.org/10.1128/AAC.01209-10>

Kohler, J.J., Hosseini, S.H., Green, E., Abuin, A., Ludaway, T., Russ, R., Santoianni, R., Lewis, W., 2011. Tenofovir renal proximal tubular toxicity is regulated by OAT1 and MRP4 transporters. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 91, 852–858. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2011.48>

Kong, L., Cardona Maya, W., Moreno-Fernandez, M.E., Ma, G., Shata, M.T., Sherman, K.E., Chougnat, C., Blackard, J.T., 2012. Low-level HIV infection of hepatocytes. *Virol. J.* 9, 157. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-157>

Kordy, K., Tobin, N.H., Aldrovandi, G.M., 2019. HIV and SIV in Body Fluids: From Breast Milk to the Genitourinary Tract. *Curr. Immunol. Rev.* 15, 139–152. <https://doi.org/10.2174/1573395514666180605085313>

Koup, R.A., 2001. A new latent HIV reservoir. *Nat. Med.* 7, 404–405. <https://doi.org/10.1038/86455>

Kovarova, M., Benhabbour, S.R., Massud, I., Spagnuolo, R.A., Skinner, B., Baker, C.E., Sykes, C., Mollan, K.R., Kashuba, A.D.M., García-Lerma, J.G., Mumper, R.J., Garcia, J.V., 2018. Ultra-long-acting removable drug delivery system for HIV treatment and prevention. *Nat. Commun.* 9, 4156. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06490-w>

L

Labarthe, L., 2020. Immunothérapie et infection VIH-1 : étude préclinique dans un modèle de souris humanisée pour le système immunitaire (Thèse de doctorat en Immunologie). Université Paris-Saclay.

Labarthe, L., Henriquez, S., Lambotte, O., Di Santo, J.P., Le Grand, R., Pflumio, F., Arcangeli, M.-L., Legrand, N., Bourgeois, C., 2020. Frontline Science: Exhaustion and senescence marker profiles on human T cells in BRGSF-A2 humanized mice resemble those in human samples. *J. Leukoc. Biol.* 107, 27–42. <https://doi.org/10.1002/JLB.5HI1018-410RR>

Lahiri, C.D., Reed-Walker, K., Sheth, A.N., Acosta, E.P., Vunnava, A., Ofotokun, I., 2016. Cerebrospinal fluid concentrations of tenofovir and emtricitabine in the setting of HIV-1 protease inhibitor-based regimens. *J. Clin. Pharmacol.* 56, 492–496. <https://doi.org/10.1002/jcph.612>

Lampejo, T., Pillay, D., 2013. HIV virology, testing and monitoring. *Medicine (Baltimore)*, HIV and AIDS 41, 420–424. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2013.05.010>

Lan, P., Tonomura, N., Shimizu, A., Wang, S., Yang, Y.-G., 2006. Reconstitution of a functional human immune system in immunodeficient mice through combined human fetal thymus/liver and CD34+ cell transplantation. *Blood* 108, 487–492. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-11-4388>

Lane, H.C., Fauci, A.S., 1985. Immunologic reconstitution in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.* 103, 714–718. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-103-5-714>

Le Parlement européen et le Conseil de l'Union européenne, 2010. Directive 2010/63/UE relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques.

Lemey, P., Pybus, O.G., Rambaut, A., Drummond, A.J., Robertson, D.L., Roques, P., Worobey, M., Vandamme, A.-M., 2004. The molecular population genetics of HIV-1 group O. *Genetics* 167, 1059–1068. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.026666>

Lemp, G.F., Payne, S.F., Neal, D., Temelso, T., Rutherford, G.W., 1990. Survival Trends for Patients With AIDS. *JAMA* 263, 402–406. <https://doi.org/10.1001/jama.1990.03440030089027>

Lepist, E.-I., Phan, T.K., Roy, A., Tong, L., MacLennan, K., Murray, B., Ray, A.S., 2012. Cobicistat Boosts the Intestinal Absorption of Transport Substrates, Including HIV Protease Inhibitors and GS-7340, *In Vitro. Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 5409–5413. <https://doi.org/10.1128/AAC.01089-12>

Letendre, S.L., Marquie-Beck, J., Capparelli, E., Best, B., Clifford, D., Collier, A.C., Gelman, B.B., McArthur, J.C., McCutchan, J.A., Morgello, S., Simpson, D., Grant, I., Ellis, R.J., CHARTER Group, 2008. Validation of the CNS Penetration-Effectiveness rank for quantifying antiretroviral penetration into the central nervous system. *Arch. Neurol.* 65, 65–70. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2007.31>

Letendre, S.L., Mills, A., Hagins, D., Swindells, S., Felizarta, F., Devente, J., Bettacchi, C., Lou, Y., Ford, S., Sutton, K., Shaik, J.S., Crauwels, H., D'Amico, R., Patel, P., 2020. Pharmacokinetics and antiviral activity of cabotegravir and rilpivirine in cerebrospinal fluid following long-acting injectable administration in HIV-infected adults. *J. Antimicrob. Chemother.* 75, 648–655. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz504>

Letendre, S.L., Mills, A.M., Tashima, K.T., Thomas, D.A., Min, S.S., Chen, S., Song, I.H., Piscitelli, S.C., 2014. ING116070: A Study of the Pharmacokinetics and Antiviral Activity of Dolutegravir in Cerebrospinal Fluid in HIV-1–Infected, Antiretroviral Therapy–Naive Subjects. *Clin. Infect. Dis.* 59, 1032–1037. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu477>

Levy, J.A., Shimabukuro, J., McHugh, T., Casavant, C., Stites, D., Oshiro, L., 1985. AIDS-associated retroviruses (ARV) can productively infect other cells besides human T helper cells. *Virology* 147, 441–448. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(85\)90146-1](https://doi.org/10.1016/0042-6822(85)90146-1)

Lewis, M.G., Norelli, S., Collins, M., Barreca, M.L., Iraci, N., Chirullo, B., Yalley-Ogunro, J., Greenhouse, J., Titti, F., Garaci, E., Savarino, A., 2010. Response of a simian immunodeficiency virus (SIVmac251) to raltegravir: a basis for a new treatment for simian AIDS and an animal model for studying lentiviral persistence during antiretroviral therapy. *Retrovirology* 7, 21. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-7-21>

Lorenzo-Redondo, R., Fryer, H.R., Bedford, T., Kim, E.-Y., Archer, J., Kosakovsky Pond, S.L., Chung, Y.-S., Penugonda, S., Chipman, J.G., Fletcher, C.V., Schacker, T.W., Malim, M.H., Rambaut, A., Haase, A.T., McLean, A.R., Wolinsky, S.M., 2016. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. *Nature* 530, 51–56. <https://doi.org/10.1038/nature16933>

Louissaint, N.A., Cao, Y.-J., Skipper, P.L., Liberman, R.G., Tannenbaum, S.R., Nimmagadda, S., Anderson, J.R., Everts, S., Bakshi, R., Fuchs, E.J., Hendrix, C.W., 2013. Single Dose Pharmacokinetics of Oral Tenofovir in Plasma, Peripheral Blood Mononuclear Cells, Colonic Tissue, and Vaginal Tissue. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 29, 1443–1450. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0044>

Low, A., Gavriilidis, G., Larke, N., B-Lajoie, M.-R., Drouin, O., Stover, J., Muhe, L., Easterbrook, P., 2016. Incidence of Opportunistic Infections and the Impact of Antiretroviral Therapy Among HIV-Infected Adults in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 62, 1595–1603. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw125>

M

Ma, Q., Ocque, A.J., Morse, G.D., Sanders, C., Burgi, A., Little, S.J., Letendre, S.L., 2020. Switching to Tenofovir Alafenamide in Elvitegravir-Based Regimens: Pharmacokinetics and Antiviral Activity in Cerebrospinal Fluid. *Clin. Infect. Dis.* 71, 982–988. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz926>

Mandal, S., Kang, G., Prathipati, P.K., Fan, W., Li, Q., Destache, C.J., 2018. Long-acting parenteral combination antiretroviral loaded nano-drug delivery system to treat chronic HIV-1 infection: A humanized mouse model study. *Antiviral Res.* 156, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.06.005>

Mandal, S., Kang, G., Prathipati, P.K., Zhou, Y., Fan, W., Li, Q., Destache, C.J., 2019. Nanoencapsulation introduces long-acting phenomenon to tenofovir alafenamide and emtricitabine drug combination: A comparative pre-exposure prophylaxis efficacy study against HIV-1 vaginal transmission. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* 294, 216–225. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.027>

Mandal, S., Prathipati, P.K., Kang, G., Zhou, Y., Yuan, Z., Fan, W., Li, Q., Destache, C.J., 2017. Tenofovir alafenamide and elvitegravir loaded nanoparticles for long-acting prevention of HIV-1 vaginal transmission. *AIDS* 31, 469–476. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001349>

Markowitz, M., Saag, M., Powderly, W.G., Hurley, A.M., Hsu, A., Valdes, J.M., Henry, D., Sattler, F., La Marca, A., Leonard, J.M., Ho, D.D., 1995. A preliminary study of ritonavir, an inhibitor of HIV-1 protease, to treat HIV-1 infection. *N. Engl. J. Med.* 333, 1534–1539. <https://doi.org/10.1056/NEJM199512073332204>

Marras, D., Bruggeman, L.A., Gao, F., Tanji, N., Mansukhani, M.M., Cara, A., Ross, M.D., Gusella, G.L., Benson, G., D'Agati, V.D., Hahn, B.H., Klotman, M.E., Klotman, P.E., 2002. Replication and compartmentalization of HIV-1 in kidney epithelium of patients with HIV-associated nephropathy. *Nat. Med.* 8, 522–526. <https://doi.org/10.1038/nm0502-522>

Marshall, A.H., White, R.G., 1961. The immunological reactivity of the thymus. *Br. J. Exp. Pathol.* 42, 379–385.

Mast, N., El-Darzi, N., Petrov, A.M., Li, Y., Pikuleva, I.A., 2020. CYP46A1-dependent and independent effects of efavirenz treatment. *Brain Commun.* 2, fcaa180. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa180>

Meaden, E.R., Hoggard, P.G., Newton, P., Tjia, J.F., Aldam, D., Cornforth, D., Lloyd, J., Williams, I., Back, D.J., Khoo, S.H., 2002. P-glycoprotein and MRP1 expression and reduced ritonavir and saquinavir accumulation in HIV-infected individuals. *J. Antimicrob. Chemother.* 50, 583–588. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf161>

Medland, N.A., Chow, E.P., Walker, R.G., Chen, M., Read, T.R., Fairley, C.K., 2018. Incidence of renal Fanconi syndrome in patients taking antiretroviral therapy including tenofovir disoproxil fumarate. *Int. J. STD AIDS* 29, 227–236. <https://doi.org/10.1177/0956462417722133>

Michaud, V., Bar-Magen, T., Turgeon, J., Flockhart, D., Desta, Z., Wainberg, M.A., 2012. The Dual Role of Pharmacogenetics in HIV Treatment: Mutations and Polymorphisms Regulating Antiretroviral Drug Resistance and Disposition. *Pharmacol. Rev.* 64, 803–833. <https://doi.org/10.1124/pr.111.005553>

Miller, R.H., 1988. Human immunodeficiency virus may encode a novel protein on the genomic DNA plus strand. *Science* 239, 1420–1422. <https://doi.org/10.1126/science.3347840>

Min, S., Sloan, L., DeJesus, E., Hawkins, T., McCurdy, L., Song, I., Stroder, R., Chen, S., Underwood, M., Fujiwara, T., Piscitelli, S., Lalezari, J., 2011. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of dolutegravir as 10-day monotherapy in HIV-1-infected adults. *AIDS* 25, 1737–1745. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32834a1dd9>

Min, S., Song, I., Borland, J., Chen, S., Lou, Y., Fujiwara, T., Piscitelli, S.C., 2010. Pharmacokinetics and Safety of S/GSK1349572, a Next-Generation HIV Integrase Inhibitor, in Healthy Volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54, 254–258. <https://doi.org/10.1128/AAC.00842-09>

Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation, 2019. Enquête statistique 2019 sur l'utilisation des animaux à des fins scientifiques dans les établissements français.

Molina, J.-M., Capitant, C., Spire, B., Pialoux, G., Cotte, L., Charreau, I., Tremblay, C., Le Gall, J.-M., Cua, E., Pasquet, A., Raffi, F., Pintado, C., Chidiac, C., Chas, J., Charbonneau, P., Delaugerre, C., Suzan-Monti, M., Loze, B., Fonsart, J., Peytavin, G., Cheret, A., Timsit, J., Girard, G., Lorente, N., Préau, M., Rooney, J.F., Wainberg, M.A., Thompson, D., Rozenbaum, W., Doré, V., Marchand, L., Simon, M.-C., Etien, N., Aboulker, J.-P., Meyer, L., Delfraissy, J.-F., ANRS IPERGAY Study Group, 2015a. On-Demand Preexposure Prophylaxis in Men at High Risk for HIV-1 Infection. *N. Engl. J. Med.* 373, 2237–2246. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1506273>

Molina, J.-M., Clotet, B., van Lunzen, J., Lazzarin, A., Cavassini, M., Henry, K., Kulagin, V., Givens, N., de Oliveira, C.F., Brennan, C., FLAMINGO study team, 2015b. Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir for treatment-naïve adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 96 week results from a randomised, open-label, phase 3b study. *Lancet HIV* 2, e127-136. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(15\)00027-2](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(15)00027-2)

Molina, J.-M., Ferchal, F., Rancinan, C., Raffi, F., Rozenbaum, W., Sereni, D., Morlat, P., Journot, V., Decazes, J.M., Chêne, G., 2000. Once-daily combination therapy with emtricitabine, didanosine, and efavirenz in human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Infect. Dis.* 182, 599–602. <https://doi.org/10.1086/315711>

Molina, J.-M., Journot, V., Furco, A., Palmer, P., De Castro, N., Raffi, F., Morlat, P., May, T., Rancinan, C., Chêne, G., Montana (ANRS 091) Study Group, 2007. Five-year follow up of once-daily therapy with emtricitabine, didanosine and efavirenz (Montana ANRS 091 trial). *Antivir. Ther.* 12, 417–422.

Molina, J.-M., Peytavin, G., Perusat, S., Lascoux-Combes, C., Sereni, D., Rozenbaum, W., Chene, G., 2004. Pharmacokinetics of emtricitabine, didanosine and efavirenz administered once-daily for the treatment of HIV-infected adults (pharmacokinetic substudy of the ANRS 091 trial). *HIV Med.* 5, 99–104. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2004.00194.x>

Morelle, J., Labriola, L., Lambert, M., Cosyns, J.-P., Jouret, F., Jadoul, M., 2009. Tenofovir-related acute kidney injury and proximal tubule dysfunction precipitated by diclofenac: a case of drug-drug interaction. *Clin. Nephrol.* 71, 567–570. <https://doi.org/10.5414/cnp71567>

Morlat, P., Blanc, A., Bonnet, F., Brun-Vezinet, F., Costagliola, D., Dabis, F., Delobel, P., Faye, A., Fischer, H., Goujard, C., Guillon, M., Hoen, B., L'Henaff, M., Lortholary, O., Mandelbrot, L., Matherson, S., Piroth, L., Poizot-Martin, I., Rey, D., Rouzioux, C., Simon, A., Taburet, A.-M., Tattevin, P., Et le groupe d'experts, 2018. Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH 27.

Morón-López, S., Puertas, M.C., Gálvez, C., Navarro, J., Carrasco, A., Esteve, M., Manyé, J., Crespo, M., Salgado, M., Martínez-Picado, J., 2017. Sensitive quantification of the HIV-1 reservoir in gut-associated lymphoid tissue. *PLoS One* 12, e0175899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175899>

Moss, D.M., Neary, M., Owen, A., 2014. The role of drug transporters in the kidney: lessons from tenofovir. *Front. Pharmacol.* 5, 248. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00248>

Mukerji, S.S., 2017. HIV in the brain: Managing Comorbidities and co-infections in patients with HIV. From the IDWeek Symposium. San Diego, CA, USA.

Mulligan, N., Best, B.M., Wang, J., Capparelli, E.V., Stek, A., Barr, E., Buschur, S.L., Acosta, E.P., Smith, E., Chakhtoura, N., Burchett, S., Mirochnick, M., IMPAACT P1026s Protocol Team, 2018. Dolutegravir pharmacokinetics in pregnant and postpartum women living with HIV. *AIDS* 32, 729–737. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001755>

Mzingwane, M.L., Tiemessen, C.T., 2017. Mechanisms of HIV persistence in HIV reservoirs. *Rev. Med. Virol.* 27, e1924. <https://doi.org/10.1002/rmv.1924>

N

National Center for Biotechnology Information, 2022a. PubChem Compound Summary for CID 6398764, Tenofovir disoproxil fumarate.

National Center for Biotechnology Information, 2022b. PubChem Compound Summary for CID 464205, Tenofovir.

National Center for Biotechnology Information, 2022c. PubChem Compound Summary for CID 60877, Emtricitabine.

National Center for Biotechnology Information, 2022d. PubChem Compound Summary for CID 54726191, Dolutegravir.

Nicol, M.R., Pastick, K.A., Taylor, J., Namuju, O.C., Rhein, J., Williams, D.A., Meya, D.B., Boulware, D.R., Lukande, R., 2019. Cerebrospinal Fluid and Brain Tissue Penetration of Tenofovir, Lamivudine, and Efavirenz in Postmortem Tissues with Cryptococcal Meningitis. *Clin. Transl. Sci.* 12, 445–449. <https://doi.org/10.1111/cts.12661>

Nolan, D.J., Rose, R., Rodriguez, P.H., Salemi, M., Singer, E.J., Lamers, S.L., McGrath, M.S., 2018. The Spleen Is an HIV-1 Sanctuary During Combined Antiretroviral Therapy. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 34, 123–125. <https://doi.org/10.1089/AID.2017.0254>

Ntshangase, S., Mdanda, S., Naicker, T., Kruger, H.G., Baijnath, S., Govender, T., 2019a. Spatial distribution of elvitegravir and tenofovir in rat brain tissue: Application of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 33, 1643–1651. <https://doi.org/10.1002/rcm.8510>

Ntshangase, S., Mdanda, S., Singh, S.D., Naicker, T., Kruger, H.G., Baijnath, S., Govender, T., 2019b. Mass Spectrometry Imaging Demonstrates the Regional Brain Distribution Patterns of Three First-Line Antiretroviral Drugs. *ACS Omega* 4, 21169–21177. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02582>



O'Connor, S.L., Lhost, J.J., Becker, E.A., Detmer, A.M., Johnson, R.C., Macnair, C.E., Wiseman, R.W., Karl, J.A., Greene, J.M., Burwitz, B.J., Bimber, B.N., Lank, S.M., Tuscher, J.J., Mee, E.T., Rose, N.J., Desrosiers, R.C., Hughes, A.L., Friedrich, T.C., Carrington, M., O'Connor, D.H., 2010. MHC heterozygote advantage in simian immunodeficiency virus-infected Mauritian cynomolgus macaques. *Sci. Transl. Med.* 2, 22ra18. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000524>

Oleske, J., Minnefor, A., Cooper, R., Jr, Thomas, K., De la Cruz, A., Ahdieh, H., Guerrero, I., Joshi, V.V., Desposito, F., 1983. Immune Deficiency Syndrome in Children. *JAMA* 249, 2345–2349. <https://doi.org/10.1001/jama.1983.03330410031024>

ONUSIDA, 2022b. AIDSinfo [WWW Document]. URL <https://aidsinfo.unaids.org/> (accessed 10.1.22).

ONUSIDA, 2022a. Fiche d'information - Estimations épidémiologiques préliminaires de l'ONUSIDA 2021.

ONUSIDA, 2020. 90–90–90 : de solides avancées, mais le monde est en retard pour atteindre les objectifs 2020. ONUSIDA.

ONUSIDA, 2014. 90-90-90 : Une cible ambitieuse de traitement pour aider à mettre fin à l'épidémie du SIDA. ONUSIDA.

Organisation mondiale de la Santé, 2021. Consolidated guidelines on HIV prevention, testing, treatment, service delivery and monitoring: recommendations for a public health approach.

Organisation mondiale de la Santé, 2019. WHO recommends dolutegravir as preferred HIV treatment option in all populations [WWW Document]. URL <https://www.who.int/news-room/detail/22-07-2019-who-recommends-dolutegravir-as-preferred-hiv-treatment-option-in-all-populations> (accessed 9.20.19).

Organisation mondiale de la Santé, 2018. Statement on Dolutegravir: Potential Safety Issue Affecting Women Living With HIV Using Dolutegravir at the Time of Conception.

Organisation mondiale de la Santé, 2016. Activité OMS de lutte contre le syndrome d'immunodéficience acquise.

P

Palmer, S., Maldarelli, F., Wiegand, A., Bernstein, B., Hanna, G.J., Brun, S.C., Kempf, D.J., Mellors, J.W., Coffin, J.M., King, M.S., 2008. Low-level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 3879–3884. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800050105>

Palmer, S., Wiegand, A.P., Maldarelli, F., Bazmi, H., Mican, J.M., Polis, M., Dewar, R.L., Planta, A., Liu, S., Metcalf, J.A., Mellors, J.W., Coffin, J.M., 2003. New real-time reverse transcriptase-initiated PCR assay with single-copy sensitivity for human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma. *J. Clin. Microbiol.* 41, 4531–4536. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.10.4531-4536.2003>

Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2021. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services.

Pang, S., Koyanagi, Y., Miles, S., Wiley, C., Vinters, H.V., Chen, I.S.Y., 1990. High levels of unintegrated HIV-1 DNA in brain tissue of AIDS dementia patients. *Nature* 343, 85–89. <https://doi.org/10.1038/343085a0>

Pantaleo, G., Graziosi, C., Fauci, A.S., 1993. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* 328, 327–335. <https://doi.org/10.1056/NEJM199302043280508>

Pathanapitoon, K., Riemens, A., Kongyai, N., Sirirungsi, W., Leechanachai, P., Ausayakhun, S., Kalinina Ayuso, V., Kunavisarut, P., de Groot-Mijnes, J.D.F., Rothova, A., 2011. Intraocular and plasma HIV-1 RNA loads and HIV uveitis. *AIDS* 25, 81–86. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328340fe91>

Patterson, K.B., Prince, H.A., Kraft, E., Jenkins, A.J., Shaheen, N.J., Rooney, J.F., Cohen, M.S., Kashuba, A.D.M., 2011. Penetration of tenofovir and emtricitabine in mucosal tissues: implications for prevention of HIV-1 transmission. *Sci. Transl. Med.* 3, 112re4. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003174>

Pearson, T., Greiner, D.L., Shultz, L.D., 2008. Creation of “humanized” mice to study human immunity. *Curr. Protoc. Immunol.* Chapter 15, Unit 15.21. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1521s81>

Persaud, D., Zhou, Y., Siliciano, J.M., Siliciano, R.F., 2003. Latency in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection: No Easy Answers. *J. Virol.* 77, 1659–1665. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.3.1659-1665.2003>

Pilcher, C.D., Shugars, D.C., Fiscus, S.A., Miller, W.C., Menezes, P., Giner, J., Dean, B., Robertson, K., Hart, C.E., Lennox, J.L., Eron, J.J., Hicks, C.B., 2001. HIV in body fluids during primary HIV infection: implications for pathogenesis, treatment and public health: *AIDS* 837–845. <https://doi.org/10.1097/00002030-200105040-00004>

Podany, A.T., Scarsi, K.K., Pham, M.M., Fletcher, C.V., 2020. Comparative Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of HIV-1 Integrase Strand Transfer Inhibitors: An Updated Review. *Clin. Pharmacokinet.* <https://doi.org/10.1007/s40262-020-00898-8>

Powers, K.A., Ghani, A.C., Miller, W.C., Hoffman, I.F., Pettifor, A.E., Kamanga, G., Martinson, F.E., Cohen, M.S., 2011. The role of acute and early HIV infection in the spread of HIV and implications for transmission prevention strategies in Lilongwe, Malawi: a modelling study. *The Lancet* 378, 256–268. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60842-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60842-8)

Prathipati, P.K., Mandal, S., Destache, C.J., 2016. Simultaneous quantification of tenofovir, emtricitabine, rilpivirine, elvitegravir and dolutegravir in mouse biological matrices by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 129, 473–481. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.07.040>

Prathipati, P.K., Mandal, S., Pon, G., Vivekanandan, R., Destache, C.J., 2017. Pharmacokinetic and Tissue Distribution Profile of Long Acting Tenofovir Alafenamide and Elvitegravir Loaded Nanoparticles in Humanized Mice Model. *Pharm. Res.* 34, 2749–2755. <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2255-7>

Q

Qian, M.X., Swagler, A.R., Mehta, M., Vishwanathan, C.T., Gallo, J.M., 1992. Pharmacokinetic evaluation of drug interactions with anti-human immunotrophic virus (HIV) Drugs. III. 2',3'-Dideoxycytidine (ddC) and zidovudine in monkeys. *Pharm. Res.* 9, 224–227. <https://doi.org/10.1023/a:1018941507979>

R

Raesima, M.M., Ogbuabo, C.M., Thomas, V., Forhan, S.E., Gokatweng, G., Dintwa, E., Petlo, C., Motswere-Chirwa, C., Rabold, E.M., Tinker, S.C., Odunsi, S., Malima, S., Mmunyane, O., Modise, T., Kefithile, K., Dare, K., Letebele, M., Roland, M.E., Moore, C.A., Modi, S., Williamson, D.M., 2019. Dolutegravir Use at Conception - Additional Surveillance Data from Botswana. *N. Engl. J. Med.* 381, 885–887. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1908155>

Raffi, F., Jaeger, H., Quiros-Roldan, E., Albrecht, H., Belonosova, E., Gatell, J.M., Baril, J.-G., Domingo, P., Brennan, C., Almond, S., Min, S., extended SPRING-2 Study Group, 2013a. Once-daily dolutegravir versus twice-daily raltegravir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 infection (SPRING-2 study): 96 week results from a randomised, double-blind, non-inferiority trial. *Lancet Infect. Dis.* 13, 927–935. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70257-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70257-3)

Raffi, F., Rachlis, A., Stellbrink, H.-J., Hardy, W.D., Torti, C., Orkin, C., Bloch, M., Podzamczar, D., Pokrovsky, V., Pulido, F., Almond, S., Margolis, D., Brennan, C., Min, S., SPRING-2 Study Group, 2013b. Once-daily dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 infection: 48 week results from the randomised, double-blind, non-inferiority SPRING-2 study. *Lancet* 381, 735–743. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61853-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61853-4)

Ray, A.S., Cihlar, T., Robinson, K.L., Tong, L., Vela, J.E., Fuller, M.D., Wieman, L.M., Eisenberg, E.J., Rhodes, G.R., 2006. Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 3297–3304. <https://doi.org/10.1128/AAC.00251-06>

Reese, M.J., Bowers, G.D., Humphreys, J.E., Gould, E.P., Ford, S.L., Webster, L.O., Polli, J.W., 2016. Drug interaction profile of the HIV integrase inhibitor cabotegravir: assessment from in vitro studies and a clinical investigation with midazolam. *Xenobiotica Fate Foreign Compd. Biol. Syst.* 46, 445–456. <https://doi.org/10.3109/00498254.2015.1081993>

Reese, M.J., Savina, P.M., Generaux, G.T., Tracey, H., Humphreys, J.E., Kanaoka, E., Webster, L.O., Harmon, K.A., Clarke, J.D., Polli, J.W., 2013. In Vitro Investigations into the Roles of Drug Transporters and Metabolizing Enzymes in the Disposition and Drug Interactions of Dolutegravir, a HIV Integrase Inhibitor. *Drug Metab. Dispos.* 41, 353–361. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.048918>

Reeves, D.B., Duke, E.R., Wagner, T.A., Palmer, S.E., Spivak, A.M., Schiffer, J.T., 2018. A majority of HIV persistence during antiretroviral therapy is due to infected cell proliferation. *Nat. Commun.* 9, 4811. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06843-5>

Rimawi, B.H., Johnson, E., Rajakumar, A., Tao, S., Jiang, Y., Gillespie, S., Schinazi, R.F., Mirochnick, M., Badell, M.L., Chakraborty, R., 2017. Pharmacokinetics and Placental Transfer of Elvitegravir, Dolutegravir, and Other Antiretrovirals during Pregnancy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 61. <https://doi.org/10.1128/AAC.02213-16>

Rizzardo, S., Lanzafame, M., Lattuada, E., Luise, D., Vincenzi, M., Tacconelli, E., Vento, S., 2019. Dolutegravir monotherapy and body weight gain in antiretroviral naïve patients. *AIDS* 33, 1673–1674. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002245>

Robb, M.L., Eller, L.A., Kibuuka, H., Rono, K., Maganga, L., Nitayaphan, S., Kroon, E., Sawe, F.K., Sinei, S., Sriplienchan, S., Jagodzinski, L.L., Malia, J., Manak, M., de Souza, M.S., Tovanabutra, S., Sanders-Buell, E., Rolland, M., Dorsey-Spitz, J., Eller, M.A., Milazzo, M., Li, Q., Lewandowski, A., Wu, H., Swann, E., O’Connell, R.J., Peel, S., Dawson, P., Kim, J.H., Michael, N.L., RV 217 Study Team, 2016. Prospective Study of Acute HIV-1 Infection in Adults in East Africa and Thailand. *N. Engl. J. Med.* 374, 2120–2130. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1508952>

Robillard, K.R., Hoque, M.T., Bendayan, R., 2012. Expression of ATP-Binding Cassette Membrane Transporters in Rodent and Human Sertoli Cells: Relevance to the Permeability of Antiretroviral Therapy at the Blood-Testis Barrier. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 340, 96–108. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.186916>

Rosen, E.P., Deleage, C., White, N., Sykes, C., Brands, C., Adamson, L., Luciw, P., Estes, J.D., Kashuba, A.D.M., 2022. Antiretroviral drug exposure in lymph nodes is heterogeneous and drug dependent. *J. Int. AIDS Soc.* 25, e25895. <https://doi.org/10.1002/jia2.25895>

Rosenberg, A.Z., Naicker, S., Winkler, C.A., Kopp, J.B., 2015. HIV-associated nephropathies: epidemiology, pathology, mechanisms and treatment. *Nat. Rev. Nephrol.* 11, 150–160. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.9>

Røsok, B., Brinchmann, J.E., Voltersvik, P., Olofsson, J., Bostad, L., Åsjö, B., 1997. Correlates of latent and productive HIV type-1 infection in tonsillar CD4+ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 9332–9336. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.17.9332>

Rousseau, F.S., Wakeford, C., Mommeja-Marin, H., Sanne, I., Moxham, C., Harris, J., Hulett, L., Wang, L.H., Quinn, J.B., Barry, D.W., FTC-102 Clinical Trial Group, 2003. Prospective randomized trial of emtricitabine versus lamivudine short-term monotherapy in human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Infect. Dis.* 188, 1652–1658. <https://doi.org/10.1086/379667>

Rozenbaum, W., Dormont, D., Spire, B., Vilmer, E., Gentilini, M., Griscelli, C., Montagnier, L., Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., 1985. Antimoniotungstate (HPA 23) Treatment of Three Patients with AIDS and One with Prodrome. *The Lancet*, Originally published as Volume 1, Issue 8426 325, 450–451. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(85\)91162-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(85)91162-6)

Rozenbaum, W., Gharakhanian, S., Cardon, B., Duval, E., Coulaud, J.P., 1988. HIV transmission by oral sex. *The Lancet* 1, 1395. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(88\)92205-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(88)92205-2)

Ruane, P.J., DeJesus, E., Berger, D., Markowitz, M., Bredeek, U.F., Callebaut, C., Zhong, L., Ramanathan, S., S. Rhee, M., Fordyce, M.W., Yale, K., 2013. Antiviral Activity, Safety, and Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Tenofovir Alafenamide as 10-Day Monotherapy in HIV-1–Positive Adults. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 63, 449–455. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3182965d45>

Rungtivasuwan, K., Avihingsanon, A., Thammajaruk, N., Mitruk, S., Burger, D.M., Ruxrungtham, K., Punyawudho, B., Pengsuparp, T., 2015. Influence of ABCC2 and ABCC4 polymorphisms on tenofovir plasma concentrations in Thai HIV-infected patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 59, 3240–3245. <https://doi.org/10.1128/AAC.04930-14>

S

Saag, M.S., Gandhi, R.T., Hoy, J.F., Landovitz, R.J., Thompson, M.A., Sax, P.E., Smith, D.M., Benson, C.A., Buchbinder, S.P., del Rio, C., Eron, J.J., Fätkenheuer, G., Günthard, H.F., Molina, J.-M., Jacobsen, D.M., Volberding, P.A., 2020. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2020 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. *JAMA* 324, 1651. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17025>

Sáez-Ciri3n, A., Lacabaratz, C., Lambotte, O., Versmisse, P., Urrutia, A., Boufassa, F., Barré-Sinoussi, F., Delfraissy, J.-F., Sinet, M., Pancino, G., Venet, A., Agence Nationale de Recherches sur le Sida EP36 HIV Controllers Study Group, 2007. HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 6776–6781. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611244104>

Sáez-Ciri3n, A., Pancino, G., 2013. HIV controllers: a genetically determined or inducible phenotype? *Immunol. Rev.* 254, 281–294. <https://doi.org/10.1111/imr.12076>

Sanchez, R.I., Fillgrove, K.L., Yee, K.L., Liang, Y., Lu, B., Tatavarti, A., Liu, R., Anderson, M.S., Behm, M.O., Fan, L., Li, Y., Butterson, J.R., Iwamoto, M., Khalilieh, S.G., 2019. Characterisation of the absorption, distribution, metabolism, excretion and mass balance of doravirine, a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor in humans. *Xenobiotica Fate Foreign Compd. Biol. Syst.* 49, 422–432. <https://doi.org/10.1080/00498254.2018.1451667>

Santé publique France, 2020. Bulletin de santé publique VIH-IST. Décembre 2020.

Schacker, T., Little, S., Connick, E., Gebhard, K., Zhang, Z.-Q., Krieger, J., Pryor, J., Havlir, D., Wong, J.K., Schooley, R.T., Richman, D., Corey, L., Haase, A.T., 2001. Productive Infection of T Cells in Lymphoid Tissues during Primary and Early Human Immunodeficiency Virus Infection. *J. Infect. Dis.* 183, 555–562. <https://doi.org/10.1086/318524>

Schnaudigel, O., 1913. Die Vitalfärbung mit Trypanblau am Auge. *Albrecht Von Graefes Arch. Für Ophthalmol.* 86, 93–97.

Schnittman, S.M., Psallidopoulos, M.C., Lane, H.C., Thompson, L., Baseler, M., Massari, F., Fox, C.H., Salzman, N.P., Fauci, A.S., 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* 245, 305–308. <https://doi.org/10.1126/science.2665081>

Scholz, E.M.B., Kashuba, A.D.M., 2021. The Lymph Node Reservoir: Physiology, HIV Infection, and Antiretroviral Therapy. *Clin. Pharmacol. Ther.* n/a. <https://doi.org/10.1002/cpt.2186>

Scholz, E.M.B., Mwangi, J.N., De la Cruz, G., Nekorchuk, M., Chan, C.N., Busman-Sahay, K., Adamson, L., Luciw, P., Fedoriw, Y., Estes, J.D., Rosen, E.P., Kashuba, A.D.M., 2021. Quantitative Imaging Analysis of the Spatial Relationship between Antiretrovirals, Reverse Transcriptase Simian-Human Immunodeficiency Virus RNA, and Collagen in the Mesenteric Lymph Nodes of Nonhuman Primates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 65, e00019-21. <https://doi.org/10.1128/AAC.00019-21>

Sebastián-Martín, A., Barrioluengo, V., Menéndez-Arias, L., 2018. Transcriptional inaccuracy threshold attenuates differences in RNA-dependent DNA synthesis fidelity between retroviral reverse transcriptases. *Sci. Rep.* 8, 627. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18974-8>

Seneviratne, H.K., Hamlin, A.N., Heck, C.J.S., Bumpus, N.N., 2020. Spatial Distribution Profiles of Emtricitabine, Tenofovir, Efavirenz, and Rilpivirine in Murine Tissues Following *In Vivo* Dosing Correlate with Their Safety Profiles in Humans. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 3, 655–665. <https://doi.org/10.1021/acspsci.0c00015>

Seneviratne, H.K., Hendrix, C.W., Fuchs, E.J., Bumpus, N.N., 2018. MALDI Mass Spectrometry Imaging Reveals Heterogeneous Distribution of Tenofovir and Tenofovir Diphosphate in Colorectal Tissue of Subjects Receiving a Tenofovir-Containing Enema. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 367, 40–48. <https://doi.org/10.1124/jpet.118.250357>

Sertoli, E., 1865. Dell'esistenza di particolari cellule ramificate nei canalicoli seminiferi del testicolo umano. *Morgagni* 7, 31–40.

Sharp, P.M., Hahn, B.H., 2011. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 1, a006841–a006841. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006841>

Shaw, G.M., Hahn, B.H., Arya, S.K., Groopman, J.E., Gallo, R.C., Wong-Staal, F., 1984. Molecular characterization of human T-cell leukemia (lymphotropic) virus type III in the acquired immune deficiency syndrome. *Science* 226, 1165–1171. <https://doi.org/10.1126/science.6095449>

Shiels, M.S., Engels, E.A., 2017. Evolving epidemiology of HIV-associated malignancies. *Curr. Opin. HIV AIDS* 12, 6–11. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000327>

Siliciano, J.D., Kajdas, J., Finzi, D., Quinn, T.C., Chadwick, K., Margolick, J.B., Kovacs, C., Gange, S.J., Siliciano, R.F., 2003. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. *Nat. Med.* 9, 727–728. <https://doi.org/10.1038/nm880>

Sillman, B., Bade, A.N., Dash, P.K., Bhargavan, B., Kocher, T., Mathews, S., Su, H., Kanmogne, G.D., Poluektova, L.Y., Gorantla, S., McMillan, J., Gautam, N., Alnouti, Y., Edagwa, B., Gendelman, H.E., 2018. Creation of a long-acting nanoformulated dolutegravir. *Nat. Commun.* 9, 443. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02885-x>

Skolnik, P.R., Kosloff, B.R., Bechtel, L.J., Huskins, K.R., Flynn, T., Karthas, N., McIntosh, K., Hirsch, M.S., 1989. Absence of infectious HIV-1 in the urine of seropositive viremic subjects. *J. Infect. Dis.* 160, 1056–1060. <https://doi.org/10.1093/infdis/160.6.1056>

Song, I., Borland, J., Arya, N., Wynne, B., Piscitelli, S., 2015. Pharmacokinetics of dolutegravir when administered with mineral supplements in healthy adult subjects. *J. Clin. Pharmacol.* 55, 490–496. <https://doi.org/10.1002/jcph.439>

Song, I., Borland, J., Chen, S., Patel, P., Wajima, T., Peppercorn, A., Piscitelli, S.C., 2012. Effect of food on the pharmacokinetics of the integrase inhibitor dolutegravir. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 1627–1629. <https://doi.org/10.1128/AAC.05739-11>

Soulie, C., Descamps, D., Grudé, M., Schneider, V., Trabaud, M.-A., Morand-Joubert, L., Delaugerre, C., Montes, B., Barin, F., Ferre, V., Raymond, S., Jeulin, H., Alloui, C., Yerly, S., Pallier, C., Reigadas, S., Signori-Schmuck, A., Guigon, A., Fafi-Kremer, S., Haïm-Boukobza, S., Mirand, A., Maillard, A., Vallet, S., Roussel, C., Assoumou, L., Calvez, V., Flandre, P., Marcelin, A.-G., ANRS Resistance AC11 Group, 2015. Antiretroviral-naïve and -treated HIV-1 patients can harbour more resistant viruses in CSF than in plasma. *J. Antimicrob. Chemother.* 70, 566–572. <https://doi.org/10.1093/jac/dku419>

Spitzer, P.G., Weiner, N.J., 1989. Transmission of HIV infection from a woman to a man by oral sex. *N. Engl. J. Med.* 320, 251. <https://doi.org/10.1056/nejm198901263200414>

Steingrover, R., Pogány, K., Fernandez Garcia, E., Jurriaans, S., Brinkman, K., Schuitemaker, H., Miedema, F., Lange, J.M., Prins, J.M., 2008. HIV-1 viral rebound dynamics after a single treatment interruption depends on time of initiation of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 22, 1583–1588. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328305bd77>

Stellbrink, H.-J., Reynes, J., Lazzarin, A., Voronin, E., Pulido, F., Felizarta, F., Almond, S., St Clair, M., Flack, N., Min, S., SPRING-1 Team, 2013. Dolutegravir in antiretroviral-naïve adults with HIV-1: 96-week results from a randomized dose-ranging study. *AIDS* 27, 1771–1778. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283612419>

T

Thompson, C.G., Bokhart, M.T., Sykes, C., Adamson, L., Fedoriw, Y., Luciw, P.A., Muddiman, D.C., Kashuba, A.D.M., Rosen, E.P., 2015. Mass Spectrometry Imaging Reveals Heterogeneous Efavirenz Distribution within Putative HIV Reservoirs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 59, 2944–2948. <https://doi.org/10.1128/AAC.04952-14>

Thompson, C.G., Gay, C.L., Kashuba, A.D.M., 2017. HIV Persistence in Gut-Associated Lymphoid Tissues: Pharmacological Challenges and Opportunities. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 33, 513–523. <https://doi.org/10.1089/aid.2016.0253>

Thompson, C.G., Rosen, E.P., Prince, H.M.A., White, N., Sykes, C., de la Cruz, G., Mathews, M., Deleage, C., Estes, J.D., Charlins, P., Mulder, L.R., Kovarova, M., Adamson, L., Arora, S., Dellon, E.S., Peery, A.F., Shaheen, N.J., Gay, C., Muddiman, D.C., Akkina, R., Victor Garcia, J., Luciw, P., Kashuba, A.D.M., 2019. Heterogeneous antiretroviral drug distribution and HIV/SHIV detection in the gut of three species. *Sci. Transl. Med.* 11, eaap8758. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aap8758>

Thurman, A.R., Schwartz, J.L., Cottrell, M.L., Brache, V., Chen, B.A., Cochón, L., Ju, S., McGowan, I., Rooney, J.F., McCallister, S., Doncel, G.F., 2021. Safety and Pharmacokinetics of a Tenofovir Alafenamide Fumarate-Emtricitabine based Oral Antiretroviral Regimen for Prevention of HIV Acquisition in Women: A Randomized Controlled Trial. *EClinicalMedicine* 36, 100893. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100893>

Tiraboschi, J., Rojas, J., Zetterberg, H., Blennow, K., Niubo, J., Gostner, J., Navarro-Alcaraz, A., Piatti, C., Fuchs, D., Gisslén, M., Rigo-Bonnin, R., Martinez, E., Podzamczar, D., 2021a. No Changes in Human Immunodeficiency Virus (HIV) Suppression and Inflammatory Markers in Cerebrospinal Fluid in Patients Randomly Switched to Dolutegravir Plus Lamivudine (Spanish HIV/AIDS Research Network, PreEC/RIS 62). *J. Infect. Dis.* 223, 1928–1933. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa645>

Tiraboschi, J., Scévola, S., Dilly Penchala, S., Challenger, E., Else, L., Prieto, P., Saumoy, M., Imaz, A., Silva-Klug, A., Niubó, J., Soriano, I., Khoo, S., Rigo-Bonin, R., Podzamczar, D., Spanish HIV/AIDS Research Network, PreEC/RIS65, 2021b. Doravirine Achieves Adequate CSF Exposure and is Mostly Unbound to Proteins. *Clin. Infect. Dis.* ciab835. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab835>

Tisseraud, M., Goutal, S., Bonasera, T., Goislard, M., Desjardins, D., Le Grand, R., Parry, C.M., Tournier, N., Kuhnast, B., Caillé, F., 2022. Isotopic Radiolabeling of the Antiretroviral Drug [¹⁸F]Dolutegravir for Pharmacokinetic PET Imaging. *Pharmaceuticals* 15, 587. <https://doi.org/10.3390/ph15050587>

Torresilla, C., Mesnard, J.-M., Barbeau, B., 2015. Reviving an old HIV-1 gene: the HIV-1 antisense protein. *Curr. HIV Res.* 13, 117–124. <https://doi.org/10.2174/1570162x12666141202125943>

Tournier, N., Stieger, B., Langer, O., 2018. Imaging techniques to study drug transporter function in vivo. *Pharmacol. Ther.* 189, 104–122. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.04.006>

U

Underwood, M.R., Johns, B.A., Sato, A., Martin, J.N., Deeks, S.G., Fujiwara, T., 2012. The activity of the integrase inhibitor dolutegravir against HIV-1 variants isolated from raltegravir-treated adults. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 61, 297–301. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31826bfd02>

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2006. Guidance for Industry | Antiviral Product Development — Conducting and Submitting Virology Studies to the Agency.

U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), 2010. Guidance for Industry | M3(R2) Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals.

V

Valade, E., Tréluyer, J.-M., Illamola, S.M., Bouazza, N., Foissac, F., De Sousa Mendes, M., Lui, G., Chenevier-Gobeaux, C., Suzan-Monti, M., Rouzioux, C., Assoumou, L., Viard, J.-P., Hirt, D., Urien, S., Ghosn, J., Evarist ANRS-EP 49 Study Group, 2015. Emtricitabine seminal plasma and blood plasma population pharmacokinetics in HIV-infected men in the EVARIST ANRS-EP 49 study. *Antimicrob. Agents Chemother.* 59, 6800–6806. <https://doi.org/10.1128/AAC.01517-15>

Van Damme, L., Corneli, A., Ahmed, K., Agot, K., Lombaard, J., Kapiga, S., Malahleha, M., Owino, F., Manongi, R., Onyango, J., Temu, L., Monedi, M.C., Mak'Oketch, P., Makanda, M., Reblin, I., Makatu, S.E., Saylor, L., Kiernan, H., Kirkendale, S., Wong, C., Grant, R., Kashuba, A., Nanda, K., Mandala, J., Fransen, K., Deese, J., Crucitti, T., Mastro, T.D., Taylor, D., FEM-PrEP Study Group, 2012. Preexposure prophylaxis for HIV infection among African women. *N. Engl. J. Med.* 367, 411–422. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1202614>

van Lunzen, J., Maggiolo, F., Arribas, J.R., Rakhmanova, A., Yeni, P., Young, B., Rockstroh, J.K., Almond, S., Song, I., Brothers, C., Min, S., 2012. Once daily dolutegravir (S/GSK1349572) in combination therapy in antiretroviral-naive adults with HIV: planned interim 48 week results from SPRING-1, a dose-ranging, randomised, phase 2b trial. *Lancet Infect. Dis.* 12, 111–118. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70290-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70290-0)

van Marle, G., Gill, M.J., Kolodka, D., McManus, L., Grant, T., Church, D.L., 2007. Compartmentalization of the gut viral reservoir in HIV-1 infected patients. *Retrovirology* 4, 87. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-4-87>

Veenstra, M., León-Rivera, R., Li, M., Gama, L., Clements, J.E., Berman, J.W., 2017. Mechanisms of CNS Viral Seeding by HIV+ CD14+ CD16+ Monocytes: Establishment and Reseeding of Viral Reservoirs Contributing to HIV-Associated Neurocognitive Disorders. *mBio*. <https://doi.org/10.1128/mBio.01280-17>

Venter, W.D.F., Moorhouse, M., Sokhela, S., Fairlie, L., Mashabane, N., Masenya, M., Serenata, C., Akpomiemie, G., Qavi, A., Chandiwana, N., Norris, S., Chersich, M., Clayden, P., Abrams, E., Arulappan, N., Vos, A., McCann, K., Simmons, B., Hill, A., 2019. Dolutegravir plus Two Different Prodrugs of Tenofovir to Treat HIV. *N. Engl. J. Med.* 381, 803–815. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1902824>

Veselinovic, M., Yang, K.-H., LeCureux, J., Sykes, C., Remling-Mulder, L., Kashuba, A.D.M., Akkina, R., 2014. HIV pre-exposure prophylaxis: mucosal tissue drug distribution of RT inhibitor Tenofovir and entry inhibitor Maraviroc in a humanized mouse model. *Virology* 464–465, 253–263. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.07.008>

Vilmer, E., Fischer, A., Griscelli, C., Barré-Sinoussi, F., Vie, V., Chermann, J.C., Montagnier, L., Rouzioux, C., Brun-Vezinet, F., Rosenbaum, W., 1984. Possible Transmission of a Human Lymphotropic Retrovirus (LAV) from Mother to Infant with AIDS. *The Lancet*, Originally published as Volume 2, Issue 8396 324, 229–230. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(84\)90519-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(84)90519-1)

W

Wagemans, M.F., Bakker, E.N., Zuurmond, W.W., Spoelder, E.M., Van Loenen, A.C., De Lange, J.J., 1995. Intrathecal administration of high-dose morphine solutions decreases the pH of cerebrospinal fluid. *Pain* 61, 55–59. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00149-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00149-9)

Wagner, T.A., McLaughlin, S., Garg, K., Cheung, C.Y.K., Larsen, B.B., Styrchak, S., Huang, H.C., Edlefsen, P.T., Mullins, J.I., Frenkel, L.M., 2014. HIV latency. Proliferation of cells with HIV integrated into cancer genes contributes to persistent infection. *Science* 345, 570–573. <https://doi.org/10.1126/science.1256304>

Weichseldorfer, M., Affram, Y., Heredia, A., Rikhtegaran-Tehrani, Z., Sajadi, M.M., Williams, S.P., Tagaya, Y., Benedetti, F., Ramadhani, H.O., Denaro, F., Munawwar, A., Bryant, J., Zella, D., Reitz, M., Romerio, F., Latinovic, O.S., 2021. Combined cART including Tenofovir Disoproxil, Emtricitabine, and Dolutegravir has potent therapeutic effects in HIV-1 infected humanized mice. *J. Transl. Med.* 19, 453. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03120-w>

Wertheim, J.O., Worobey, M., 2009. Dating the age of the SIV lineages that gave rise to HIV-1 and HIV-2. *PLoS Comput. Biol.* 5, e1000377. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000377>

Whitney, J.B., Hill, A.L., Sanisetty, S., Penaloza-MacMaster, P., Liu, J., Shetty, M., Parenteau, L., Cabral, C., Shields, J., Blackmore, S., Smith, J.Y., Brinkman, A.L., Peter, L.E., Mathew, S.I., Smith, K.M., Borducchi, E.N., Rosenbloom, D.I.S., Lewis, M.G., Hattersley, J., Li, B., Hesselgesser, J., Geleziunas, R., Robb, M.L., Kim, J.H., Michael, N.L., Barouch, D.H., 2014. Rapid seeding of the viral reservoir prior to SIV viraemia in rhesus monkeys. *Nature advance online publication*. <https://doi.org/10.1038/nature13594>

Williams-Wietzikoski, C.A., So, I.D., Bull, M.E., Samleerat, T., Pathanapitton, K., Kunavisarut, P., Kongyai, N., Ngo-Giang-Huong, N., Frenkel, L.M., Sirirungsi, W., 2017. Genetic analyses of HIV env associated with uveitis in antiretroviral-naive individuals. *AIDS* 31, 1825–1830. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001550>

Worobey, M., Gemmel, M., Teuwen, D.E., Haselkorn, T., Kunstman, K., Bunce, M., Muyembe, J.-J., Kabongo, J.-M.M., Kalengayi, R.M., Van Marck, E., Gilbert, M.T.P., Wolinsky, S.M., 2008. Direct Evidence of Extensive Diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960. *Nature* 455, 661–664. <https://doi.org/10.1038/nature07390>

Wright, J.D., Boudinot, F.D., Ujhelyi, M.R., 1996. Measurement and analysis of unbound drug concentrations. *Clin. Pharmacokinet.* 30, 445–462. <https://doi.org/10.2165/00003088-199630060-00003>

Y

Yang, K.-H., Hendrix, C., Bumpus, N., Elliott, J., Tanner, K., Mauck, C., Cranston, R., McGowan, I., Richardson-Harman, N., Anton, P.A., Kashuba, A.D.M., 2014. A Multi-Compartment Single and Multiple Dose Pharmacokinetic Comparison of Rectally Applied Tenofovir 1% Gel and Oral Tenofovir Disoproxil Fumarate. *PLoS One* 9, e106196. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106196>

Yukl, S.A., Shergill, A.K., McQuaid, K., Gianella, S., Lampiris, H., Hare, C.B., Pandori, M., Sinclair, E., Günthard, H.F., Fischer, M., Wong, J.K., Havlir, D.V., 2010. Effect of raltegravir-containing intensification on HIV burden and T-cell activation in multiple gut sites of HIV-positive adults on suppressive antiretroviral therapy. *AIDS* 24, 2451–2460. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833ef7bb>

Z

Zash, R., Holmes, L., Diseko, M., Jacobson, D.L., Brummel, S., Mayondi, G., Isaacson, A., Davey, S., Mabuta, J., Mmalane, M., Gaolathe, T., Essex, M., Lockman, S., Makhema, J., Shapiro, R.L., 2019. Neural-Tube Defects and Antiretroviral Treatment Regimens in Botswana. *N. Engl. J. Med.* 381, 827–840. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1905230>

Zhang, D., Hop, C.E.C.A., Patilea-Vrana, G., Gampa, G., Seneviratne, H.K., Unadkat, J.D., Kenny, J.R., Nagapudi, K., Di, L., Zhou, L., Zak, M., Wright, M.R., Bumpus, N.N., Zang, R., Liu, X., Lai, Y., Khojasteh, S.C., 2019. Drug Concentration Asymmetry in Tissues and Plasma for Small Molecule–Related Therapeutic Modalities. *Drug Metab. Dispos.* 47, 1122–1135. <https://doi.org/10.1124/dmd.119.086744>

Zhang, J., Hayes, S., Sadler, B.M., Minto, I., Brandt, J., Piscitelli, S., Min, S., Song, I.H., 2015. Population pharmacokinetics of dolutegravir in HIV-infected treatment-naive patients. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 80, 502–514. <https://doi.org/10.1111/bcp.12639>

Zhang, Z., Schuler, T., Zupancic, M., Wietgreffe, S., Staskus, K.A., Reimann, K.A., Reinhart, T.A., Rogan, M., Cavert, W., Miller, C.J., Veazey, R.S., Notermans, D., Little, S., Danner, S.A., Richman, D.D., Havlir, D., Wong, J., Jordan, H.L., Schacker, T.W., Racz, P., Tenner-Racz, K., Letvin, N.L., Wolinsky, S., Haase, A.T., 1999. Sexual transmission and propagation of SIV and HIV in resting and activated CD4+ T cells. *Science* 286, 1353–1357. <https://doi.org/10.1126/science.286.5443.1353>

Zhu, J., Tian, X., Shehu, A.I., McMahon, D.K., Ma, X., 2020. ABCG2 Deficiency Does Not Alter Dolutegravir Metabolism and Pharmacokinetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 374, 38–43. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.264424>

Zhu, T., Korber, B.T., Nahmias, A.J., Hooper, E., Sharp, P.M., Ho, D.D., 1998. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. *Nature* 391, 594–597. <https://doi.org/10.1038/35400>

Zimmerman, C., Klein, K.C., Kiser, P.K., Singh, A.R., Firestein, B.L., Riba, S.C., Lingappa, J.R., 2002. Identification of a host protein essential for assembly of immature HIV-1 capsids. *Nature* 415, 88–92. <https://doi.org/10.1038/415088a>

Zulu, S.S., Abboussi, O., Simola, N., Mabandla, M.V., Daniels, W.M.U., 2021. Effects of combination antiretroviral drugs (cART) on hippocampal neuroplasticity in female mice. *J. Neurovirol.* 27, 325–333. <https://doi.org/10.1007/s13365-021-00967-z>