

TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE : IMPLICATION DE LA GÉNÉTIQUE DE L'HÔTE

D. COURTIN, A. GARCIA

- Travail du Medical Parasitology (D.C., PHD) Nijmegen Centre of Molecular Life Science, Radboud University Nijmegen Medical Centre, PO Box 9101 6500 HB Nijmegen Netherlands et de l'IRD, Unité de recherche 010 : Santé de la mère et de l'enfant en milieu tropical (A.C., PHD) Cotonou, Bénin.
- Correspondance : D. Courtin, Nijmegen Centre of Molecular Life Science, Radboud University Nijmegen Medical Centre, PO Box 9101 6500 HB Nijmegen Netherlands • Fax : +31 (0) 243 614 666
- Courriel : D.Courtin@mmb.umcn.nl

Med Trop 2007 ; **67** : 131-133

RÉSUMÉ • Deux études d'épidémiologie génétique menées, respectivement, en Côte d'Ivoire et en République Démocratique du Congo, ont porté sur l'étude du rôle de la diversité génétique humaine dans la susceptibilité à la trypanosomose humaine africaine (THA). Quatre polymorphismes simples de l'ADN, situés sur des gènes codant pour des protéines du système immunitaire, les cytokines, ont été trouvés associés à un risque variable de développer la maladie. Alors que la présence des allèles rares, A et T, des SNPs IL10 592 C/A et IL6 4339 C/T semblent protéger les individus contre la THA, la présence de l'allèle T et du génotype AA des polymorphismes IL1 5417 C/T et du TNF α -308 G/A ont été associées à un risque plus élevé de développer la maladie. Les résultats obtenus permettront de mieux comprendre les relations hôte-parasite et, à terme, faciliteront la mise au point de moyens thérapeutiques et prophylactiques originaux.

MOTS-CLÉS • Trypanosomose humaine africaine - Épidémiologie - Génétique humaine - Cytokines.

HUMAN AFRICAN TRYPANOSOMIASIS: INVOLVEMENT OF HOST GENETICS

ABSTRACT • Two genetic epidemiological studies were carried out in the Ivory Coast and Democratic Republic of Congo to assess the role of human genetic diversity in susceptibility to human African trypanosomiasis (HAT). Findings showed that four single DNA polymorphisms located on genes coding for cytokines were correlated with a variable risk for development of the disease. Whereas presence of the rare A and T alleles for IL10-592 C/A and IL64339 C/T polymorphisms appeared to protect against HAT, presence of the T allele and AA genotype for IL15417 C/T and TNF α -308 G/A polymorphisms were correlated with an increase in HAT risk. These results will improve understanding of the host-parasite interaction and, ultimately, assist the development of new therapeutic and prophylactic tools.

KEY WORDS • Human African trypanosomiasis - Epidemiology - Human genetics - Cytokines.

La trypanosomose humaine africaine est une maladie quelque peu symbolique des pathologies tropicales et endémiques. Durant de très nombreuses années elle fut la première cause de mortalité des populations rurales de ces zones. Puis la mise en place des équipes mobiles conjointement à l'utilisation de molécules efficaces, même si très toxique pour l'une d'entre elle, ont permis un contrôle durable. Durable mais pas tant qu'espéré puisque les dernières décennies ont confirmé la reprise de la transmission et l'arrivée de dizaines de milliers de malades. Parallèlement à la lutte entreprise par les instances internationales et notamment la coopération française, de nouvelles voies de recherche ont été ouvertes. Elles sont indispensables pour mieux comprendre cette maladie et à terme trouver des outils de lutte originaux et efficaces. Le présent article se propose de présenter certaines de ces avancées notamment dans le domaine de la génétique humaine et des interactions entre l'hôte et le parasite

Trypanosomose humaine africaine : implication de la génétique de l'hôte

La trypanosomose humaine africaine (THA), ou maladie du sommeil, est due à un parasite, le trypanosome, transmis à l'homme par la piqûre d'une glossine, la mouche tsé-tsé. Au cours des années 90 et jusqu'à récemment, la maladie a connu une réémergence catastrophique avec environ 500 000 individus estimés infectés et plusieurs dizaines de milliers de morts par an (1). Face à cette situation alarmante, les programmes nationaux de lutte des pays endémiques ont intensifié leurs efforts grâce notamment à un apport financier conséquent de bailleurs de fonds internationaux. Aujourd'hui, la situation semble s'améliorer et l'organisation mondiale de la santé annonce une diminution significative du nombre de malades (2).

Cette pathologie évolue chez l'homme en deux phases ou périodes : la première

période, lymphatico-sanguine, durant laquelle le parasite se multiplie dans la lymphe et dans le sang, et la deuxième période, méningo-encéphalitique qui est déterminée par le passage du parasite dans le liquide céphalo-rachidien. Au cours de la première phase, le malade présente des signes cliniques non spécifiques alors que la seconde phase se caractérise habituellement par des troubles neurologiques et, sans traitement, conduit à la mort du malade. Dans le cas de la forme chronique, causée par *Trypanosoma brucei gambiense* (Tbg) en Afrique occidentale et centrale, la première période peut durer plusieurs années et le passage en deuxième période est progressif. Dans le cas de la forme aiguë, causée par *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Tbr) en Afrique orientale, la phase lymphatico-sanguine ne dure que quelques semaines ou mois, les symptômes sont plus marqués et les manifestations de l'atteinte du système nerveux sont brutales. Cependant, il est de plus en plus

admis que la description classique de la maladie (forme chronique à Tbg *versus* forme aiguë à Tbr) ne correspond pas exactement à ce qui est observé sur le terrain. En effet, concernant la forme gambienne, il existe une diversité de présentations cliniques. Certains auteurs ont rapporté l'existence de formes à caractère chronique prononcé (3) et d'autres, au contraire, ont décrit des tableaux cliniques plutôt caractéristiques d'une forme aiguë de la maladie (évolution rapide vers un état très altéré dès le passage en deuxième période (4)).

Le traitement de la maladie reste complexe et les médicaments disponibles sont anciens et responsables d'effets secondaires sévères (plus de 5% de mortalité dans le cas du mélaroprol utilisé en seconde période depuis 1948). De plus, un problème nouveau est apparu ces dernières années avec une augmentation significative du taux d'échecs thérapeutiques au mélaroprol, rapportée en République Démocratique du Congo, en Ouganda, en Angola et au Soudan (5).

Enfin, l'amélioration annoncée risque paradoxalement de s'accompagner d'une diminution du financement des campagnes de lutte. La situation actuelle reste donc fragile et cela rend absolument indispensable la poursuite de programmes de recherche ayant pour objectifs l'amélioration de la compréhension des phénomènes physiopathologiques et des interactions hôte-parasite intervenant dans la THA (6). De telles recherches devraient permettre le développement de nouveaux outils de contrôle et de lutte comme l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

Hétérogénéité des réponses de l'hôte à l'infection par Tbg

En Afrique de l'Ouest et Centrale, les équipes de dépistage et de traitement travaillant sur la forme gambienne de la maladie sont confrontées à une situation complexe, faisant intervenir plusieurs catégories d'individus :

- des sujets malades présentant des formes chroniques classiques de THA à Tbg ;
- des sujets infectés semblant présenter des formes différentes de THA à Tbg, allant de formes asymptomatiques (3) à des formes apparemment aiguës (4) ;
- des sujets présentant une réponse positive lors des tests sérologiques (diagnostic indirect) chez lesquels des recherches répétées de parasites restent négatives (sujets dits séropositifs (7)) ;
- des sujets sains qui vivent depuis

longtemps dans le même environnement que les malades et sont soumis comme eux aux piqûres répétées des glossines.

Cette diversité de réponse de l'hôte à l'infection par Tbg, peut avoir plusieurs origines et il faut s'interroger sur la part attribuable au parasite (virulence) et sur celle qui reviendrait à l'hôte (sensibilité/résistance) en prenant en compte les facteurs environnementaux et comportementaux (6). Les travaux réalisés par notre équipe et présentés dans la partie suivante ont particulièrement porté sur la sensibilité génétique de l'hôte à la forme gambienne de la THA. En effet, si l'agent infectieux est nécessaire au développement de la pathologie, il n'est pas l'unique facteur responsable de la survenue de la maladie. Un certain nombre d'arguments émanant d'études épidémiologiques (7, 8) et de modèles expérimentaux (9, 10) où les circonstances mêmes de l'infection sont parfaitement contrôlées, suggèrent l'existence d'un contrôle génétique de l'hôte à l'infection par les trypanosomes.

Facteurs génétiques chez l'homme

Chez l'homme, l'expérimentation est inapplicable et l'étude de la sensibilité/résistance génétique aux infections passe par un ensemble de méthodes, épidémiologiques, statistiques et génétiques, qui ont été regroupées sous le terme d'épidémiologie génétique. L'utilisation de ces méthodes a déjà permis de mettre en évidence l'existence d'une sensibilité individuelle et son support génétique, dans plusieurs maladies parasitaires comme le paludisme (11, 12), la schistosomose (13), la leishmaniose (14, 15) ou la maladie du sommeil. Pour cette dernière, notre équipe a été la première à identifier, en utilisant les analyses d'association, des polymorphismes d'intérêt impliqués dans la réponse de l'hôte à l'infection par Tbg.

Analyses d'association génétique

Deux études d'associations (16, 17), basées sur l'approche gène candidat et dont le principe général consiste à comparer la fréquence d'une mutation chez des individus atteints et chez des individus sains, ont été réalisées dans deux foyers distincts de la maladie, respectivement à Sinfra en Côte d'Ivoire et à Bandundu en République Démocratique du Congo (RDC). Quatre mutations situées sur des gènes codant pour des cytokines se sont révélées associées à un risque variable de développer la THA.

La première étude, menée en Côte d'Ivoire, avait pour objectif de déterminer le rôle joué par des polymorphismes

simples de l'ADN (SNPs) situés au sein de gènes codant pour deux cytokines, le tumor necrosis factor alpha (TNF) et l'interleukine 10 (IL10), dans le contrôle de l'infection par Tbg. Les SNPs étudiés dans l'analyse ont été le TNF α -308 G/A, le TNF α -238 G/A, le TNF α -1031 T/C, le TNF α +488 G/A, l'IL10-1082 G/A et l'IL10-592 C/A. Un échantillon cas-témoins familial de 277 individus (102 cas et 175 parents) et un groupe cas-témoins appariés de 225 sujets (88 cas et 137 témoins non apparentés) ont été rassemblés dans cette étude. L'analyse d'association a été réalisée, dans un premier temps sur l'ensemble de la population puis après stratification de la population sur la période d'exposition au risque infectieux, l'âge et le groupe ethnique. Les résultats obtenus ont montré une association, sur l'ensemble de la population ($p=0,02$; OR=0,61) puis après stratification de celle-ci sur la période d'exposition ($p=0,01$; OR=0,51), entre l'allèle A du polymorphisme IL10-592 et un risque diminué de développer la maladie en dépit d'une longue exposition au risque infectieux. Dans l'analyse effectuée après stratification de la population sur la période d'exposition, les individus homozygotes mutés pour le polymorphisme TNF α -308 G/A présentaient un risque accru ($p=0,048$; OR=9,57) de développer la THA rapidement après l'exposition au risque infectieux. En épidémiologie génétique, la validation d'un effet de prédisposition / résistance à une maladie nécessite que cet effet soit retrouvé dans une nouvelle étude effectuée dans une population différente et dans un environnement différent. Nous avons donc entrepris une nouvelle étude d'association en RDC.

Cette seconde étude, menée en 2003 dans la province du Bandundu, a eu pour objectif de tester de nouveaux gènes candidats (IL1 α , IL4, IL6, IL8 et IFN γ) et de confirmer le rôle joué par les 2 SNPs trouvés associés dans l'étude ivoirienne. Une étude d'association de type familiale basée sur le test de déséquilibre de transmission (18), comprenant 353 sujets (86 trios; 1 cas et ses parents ($n=258$) et 23 familles avec plus d'un cas et leurs parents ($n=95$)) a été réalisée. L'allèle T du polymorphisme IL64339 C/T a été significativement associé avec une diminution du risque de développer la maladie ($p=0,0006$), tandis qu'une association a été observée entre l'allèle T du polymorphisme IL1 α 5417 C/T et un risque accru de développer la THA ($p=0,009$). Ces résultats suggèrent que la variabilité génétique de l'IL6 et de l'IL1 α est impliquée dans le développement de la THA. Concernant les

polymorphismes des gènes codant le TNF et l'IL10, les résultats d'association obtenus ont été différents de ceux observés dans la population ivoirienne vivant dans des conditions épidémiologiques différentes. Ces différences dans les résultats soulignent la complexité des interactions existant entre la variabilité génétique de l'hôte, celle du parasite et les facteurs environnementaux et comportementaux.

Nous nous sommes intéressés à l'existence d'un éventuel facteur génétique impliqué dans le passage de la première à la seconde période. La question d'intérêt est en fait de savoir si certains sujets pourraient avoir un risque plus (moins) important de développer une phase secondaire de

THA en rapport avec leur polymorphisme génétique. Aucune association entre les gènes candidats décrits ci-dessus et une phase particulière du développement de la maladie n'a été observée (résultats non publiés). En fait, ces résultats ne sont guères étonnants dans la mesure où la définition d'un phénotype « phase de la maladie » ne peut être spécifique. En effet, chaque patient détecté étant immédiatement traité, il n'est pas possible de définir précisément ceux qui, parmi les malades en première période, auraient ou non déclenché une seconde période et dans quel délai. Le traitement systématique des sujets dépistés étant éthiquement totalement justifié, l'étude de facteurs géné-

tiques impliqués dans le passage en seconde période reste difficile et ne peut être entreprise que de manière expérimentale.

Le risque indéniable de ré-émergence de la maladie rend indispensable une amélioration de nos connaissances sur cette pathologie. Parmi les axes de recherche qui pourraient aider à cette amélioration, l'épidémiologie génétique représente une approche originale et complémentaire d'autres voies (6). D'autres études vont être menées pour confirmer nos résultats et l'étude du rôle fonctionnel des quatre polymorphismes trouvés associés à un risque variable de développer la THA est actuellement en cours ■

RÉFÉRENCES

- 1 - CATTAND P - L'épidémiologie de la trypanosomose humaine africaine: une histoire multifactorielle complexe. *Med Trop* 2001; **61** : 313-22.
- 2 - JANNIN JG - Sleeping sickness-a growing problem? *B M J* 2005; **331** :1242.
- 3 - JAMONNEAU V, GARCIA A, FREZIL JL *et Coll* - Clinical and biological evolution of human trypanosomiasis in Côte d'Ivoire. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; **94** : 831-5.
- 4 - TRUC P, FORMENTY P, DIALLO PB *et Coll* - Confirmation of two distinct classes of zymodemes of *Trypanosoma brucei* infecting man and wild mammals in Côte d'Ivoire: suspected difference in pathogenicity. *Ann Trop Med Parasitol* 1997; **91** : 951-6.
- 5 - BRUN R, SCHUMACHER R, SCHMID C *et Coll* - The phenomenon of treatment failures in Human African Trypanosomiasis. *Trop Med Int Health* 2001; **6** : 906-14.
- 6 - GARCIA A, COURTIN D, SOLANO P *et Coll* - Human African trypanosomiasis: connecting parasite and host genetics. *Trends Parasitol* 2006; **22** : 405-9.
- 7 - GARCIA A, JAMONNEAU V, MAGNUS E *et Coll* - Follow-up of Card Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT) positive but apparently aparasitaemic individuals in Côte d'Ivoire: evidence for a complex and heterogeneous population. *Trop Med Int Health* 2000; **5** : 786-93.
- 8 - GARCIA A, JAMONNEAU V, SANE B *et Coll* - Host age and time of exposure in *Trypanosoma brucei* gambiense Human African Trypanosomiasis. *Trop Med Int Health* 2002; **7** : 429-34.
- 9 - KEMP SJ, IRAQI F, DARVASI A *et Coll* - Localization of genes controlling resistance to trypanosomiasis in mice. *Nat Genet* 1997; **16** : 194-6.
- 10 - HANOTTE O, RONIN Y, AGABA M *et Coll* - Mapping of quantitative trait loci controlling trypanotolerance in a cross of tolerant West African N'Dama and susceptible East African Boran cattle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; **100** : 7443-8.
- 11 - MCGUIRE W, HILL AV, ALLSOPP CE *et Coll* - Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994; **371** : 508-10.
- 12 - GARCIA A, MARQUET S, BUCHETON B *et Coll* - Linkage analysis of blood *Plasmodium falciparum* levels: interest of the 5q31-q33 chromosome region. *Am J Trop Med Hyg* 1998; **58** : 705-9.
- 13 - MARQUET S, ABEL L, HILLAIRE D *et Coll* - Genetic localization of a locus controlling the intensity of infection by *Schistosoma mansoni* on chromosome 5q31-q33. *Nat Genet* 1996; **14** : 181-4.
- 14 - CABRERA M, SHAW MA, SHARPLES C *et Coll* - Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 1995; **182** : 1259-64.
- 15 - BUCHETON B, ABEL L, EL-SAFI S *et Coll* - A major susceptibility locus on chromosome 22q12 plays a critical role in the control of kala-azar. *Am J Hum Genet* 2003; **73** :1052-60.
- 16 - COURTIN D, ARGIRO L, JAMONNEAU V *et Coll* - Interest of tumor necrosis factor-alpha -308 G/A and interleukin-10 -592 C/A polymorphisms in human African trypanosomiasis. *Infect Genet Evol* 2006; **6** : 123-9.
- 17 - COURTIN D, MILET J, JAMONNEAU V *et Coll* - Association between human African trypanosomiasis and IL6 gene in a Congolese population. *Infect Genet Evol* 2006; (in press).
- 18 - SPIELMAN RS, MCGINNIS RE, EWENS WJ -Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet* 1993; **52** : 506-16.