

## Génomique, biologie moléculaire et paludisme : quelles avancées médicales ?

**P. Ambroise-Thomas**

Parasitologie-mycologie médicale, Faculté de médecine, Université Joseph Fourier, Grenoble, France.

Manuscrit n° 2599, "Editorial".

**Summary:** Genomic, molecular biology and malaria: new medical perspectives?

The knowledge of genomic structure of man, of *Plasmodium falciparum* and of its main vector *Anopheles gambiae* has led to great progress in the understanding of malaria pathophysiology. It may also offer new perspectives for malaria therapy, vaccines or control of mosquito-borne transmission. In pathophysiology, genes encoding adhesion plasmodial proteins of their receptors were identified, as well as other genes controlling the patient immune response or the antigenic parasite variability. From a therapeutic point of view, new targets for future antimalarial drugs were identified, mainly in apicoplast (a vestige of vegetal structure incorporated by the parasite during its phylogenetic evolution) and several enzymes, particularly proteases. It will be now necessary, among these "promising new molecules", to select a few ones (probably no more than 5 or 6) for a pre clinical and clinical pharmaceutical development. Indeed, the industrial possibilities for developing new antimalarial drugs are evidently limited and several other antimalarial drugs are already under development. For future malaria vaccines, several new targets and antigenic proteins were also identified. As for new drugs, a complete evaluation of these antigens is absolutely necessary to select few of them for clinical development. Particularly for malaria, ADN vaccines may offer very promising perspectives with the possibility to obtain both humoral and cellular immunity and to use at the same time a panel of plasmodial antigens. It could be thus possible to obtain a simultaneous immunization against different stages of *Plasmodium falciparum* (sporozoites, merozoites, gametocytes) and to use, as an adjuvant, a gene encoding a viral protein or a cytokine (GM-CSF). In *Anopheles gambiae* genome, several genes encoding for key-proteins, particularly odorant receptors necessary for blood meals, were identified. Non biting-non transmitting mosquitoes were obtained by genetic manipulation and, from an academic viewpoint, offer a very attractive new perspective for the interruption of malaria transmission. Unfortunately, several practical problems remain unsolved and genetically modified mosquitoes do not survive long enough among "wild" strains. On the whole genomic and proteomic gave very exciting scientific results in malaria and, very probably, the post-genomic phase will even give more new data. From a practical, medical viewpoint, it is still too early and speculative to imagine their possible applications for malaria control.

**Résumé :**

Avec le décryptage des génomes de l'homme, de *Plasmodium falciparum* et d'*Anopheles gambiae*, la génomique et la biologie moléculaire ont permis des progrès considérables dans nos connaissances de la physiopathologie du paludisme. Elles ouvrent également de nouvelles perspectives en matière thérapeutique, vaccinale ou d'interruption de la transmission. En physiopathologie, des gènes codant des protéines plasmodiales d'adhérence ou leurs récepteurs spécifiques ont été identifiés, ainsi que des gènes modifiant la réponse immune de l'hôte ou conditionnant la variabilité antigénique des *Plasmodium*. Sur le plan thérapeutique, de nouvelles cibles ont été identifiées, notamment au niveau de l'apicoplaste plasmodial ou de l'équipement protéasique de *Plasmodium falciparum*. De même, ont été reconnues de nouvelles cibles vaccinales avec la perspective de vaccins à ADN actifs contre les divers stades évolutifs du parasite. Enfin, chez l'anophèle vecteur, la découverte de gènes conditionnant la prise de repas sanguins et/ou la multiplication sexuée du parasite rend envisageable l'utilisation d'insectes génétiquement modifiés pour interrompre la transmission du paludisme. Il est maintenant urgent de choisir entre ces voies nouvelles, sachant que le développement industriel ne sera envisageable que pour un nombre limité de nouveaux produits ou de nouveaux procédés.

### Introduction

Le décryptage du génome humain, après le décryptage des génomes de *Plasmodium falciparum* et d'*Anopheles gambiae*, apporte des avancées scientifiques majeures dans notre connaissance du paludisme (2, 6, 29, 54). S'agit-il aussi de

grandes victoires pour la médecine? Dans plusieurs années, très probablement, même s'il est encore impossible d'imaginer dans quelle mesure et surtout dans quels délais. Mais, dans un avenir prévisible, que peut-on en espérer comme améliorations de nos moyens de lutte contre le paludisme, qu'il s'agisse de traitements, de vaccins ou d'interruption de la transmission vectorielle (24, 28)? Ce sont ces perspectives

*Plasmodium falciparum*  
*Anopheles gambiae*  
genomic  
molecular biology  
malaria  
pathophysiology  
antimalarial drug  
apicoplast  
vaccine  
DNA vaccine

paludisme  
génomique  
biologie moléculaire  
*Plasmodium falciparum*  
*Anopheles gambiae*  
physiopathologie  
antipaludique  
apicoplaste  
vaccin  
vaccin ADN

que nous essayerons de dégager, en partant des principaux résultats de la génomique et de la biologie moléculaire dans ces différents domaines et, d'abord, dans la physiopathologie du paludisme.

## Physiopathologie

### Paludisme-infection

Le premier facteur de résistance au paludisme est évidemment l'impossibilité pour le *Plasmodium* de pénétrer dans une hématie. Cette pénétration est précédée de l'adhérence d'une protéine parasitaire de surface (ligand) à un récepteur de la membrane érythrocytaire. Des anomalies génétiques du globule rouge modifient ces récepteurs. C'est le cas de l'ovalocytose (39), répandue en Mélanésie, où une délétion du gène codant une sialoglycoprotéine membranaire, la glycophorine C, bloque la fixation de la protéine plasmodiale de surface *EBA-140*. Un autre exemple, plus connu, est celui du groupe sanguin Duffy, qui confère une résistance à *Plasmodium vivax* mais qui ne semble pas intervenir pour *P. falciparum*. Plusieurs gènes codant d'autres récepteurs érythrocytaires ont été identifiés ou sont en cours d'identification. Le problème est cependant compliqué par la multiplicité des ligands parasitaires et par le fait que l'invasion de l'érythrocyte semble exiger la dégradation préalable de protéines membranaires du globule rouge par une enzyme (sérine protéase) produite par le *Plasmodium* (35).

D'autres mécanismes peuvent bloquer plus ou moins complètement le développement endo-érythrocytaire du parasite. C'est ainsi que, depuis près de 50 ans (c'est-à-dire bien avant nos connaissances actuelles du génome humain), on sait que les sujets hétérozygotes pour certaines hémoglobinopathies et en particulier la drépanocytose (hémoglobine S) bénéficient d'une forte protection face à *Plasmodium falciparum* (1). Actuellement, plus de dix autres gènes ont été décrits comme pouvant interférer avec le développement du parasite, en provoquant des anomalies du globule rouge. Des études récentes ont également confirmé le rôle protecteur de l' + thalassémie à l'état homozygote (8), selon des mécanismes encore discutés.

La phagocytose et la destruction des hématies parasitées peuvent être favorisées par certaines enzymopathies, comme le polymorphisme G6PDA - de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), qui est lié au chromosome X. Par ailleurs, des gènes impliqués dans la réponse immunitaire ont été mis en évidence dans le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ou à proximité de ce complexe, en particulier dans la région chromosomique 5 q31-q33. D'autres gènes, proches des précédents, codent certaines cytokines (IL4, IL 12) qui régulent la balance des lymphocytes T auxiliaires Th1 et Th2 et peuvent, par ce phénomène de commutation, favoriser ou inhiber l'évasion immunologique du parasite.

Cette «évasion immunologique» résulte aussi des capacités adaptatives des *Plasmodium*. En jouant sur un vaste clavier génétique, ceux-ci peuvent successivement exprimer différents antigènes de surface. Ils échappent ainsi aux défenses immunitaires de l'hôte, selon un processus connu depuis longtemps pour d'autres parasites (*Typanosoma gambiense*). Cette variabilité antigénique a été particulièrement étudiée pour les protéines PfEMP (*Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Protein) qui sont exprimées à la surface des hématies parasitées (41, 46). Normalement, ces antigènes entraînent une réponse immunitaire dont la conséquence est la destruc-

tion des érythrocytes parasités. Ils sont codés par une famille d'une cinquantaine de gènes (sur un total d'environ 5 300 gènes plasmodiaux), les gènes *var*, très polymorphes, dont un seul au départ est transcrit par le parasite (8). Le taux de renouvellement est ensuite de 2 % environ par génération, avec des variations continues qui permettent aux hématies parasitées et donc aux *Plasmodium* d'amorcer une véritable course-poursuite immunologique et d'éviter leur destruction.

### Paludisme-maladie

On n'a pas identifié de génotype(s) de *Plasmodium falciparum* systématiquement pathogène(s), d'autant que l'infection est généralement provoquée par des inoculats multiples dont il est difficile de préciser la part respective dans l'évolution de la maladie. Cependant, chez des malades atteints de paludisme-maladie, la biodiversité plasmodiale est fréquemment très inférieure à celle qui est observée chez les porteurs asymptomatiques (1,4 allèles *versus* 4 allèles, en moyenne). Ceci suggère que les épisodes cliniques sont préférentiellement déclenchés par un allèle dominant. Effectivement, un allèle du gène codant une protéine plasmodiale, MSP1 (Merozoite Surface Protein), est retrouvé deux fois plus souvent dans les paludismes maladies que dans les formes inapparentes (2).

Il est cependant artificiel de dissocier, dans ces phénomènes physiopathologiques, le rôle du parasite et celui de l'hôte dont certains caractères génétiques modifient la biodiversité des *Plasmodium* (20, 21, 22, 49, 50). C'est ainsi que, chez l'hôte, le trait drépanocytaire ou certains allèles HLA (HLA-DPBA1 ou DPB1) modifient chez le parasite la fréquence respective des différents génotypes des familles de MSP1 et MSP2 (5,13). Parmi les facteurs de pathogénicité, de très nombreux travaux ont été consacrés aux protéines d'adhérence qui jouent un rôle essentiel dans la survenue du neuropaludisme en favorisant l'adhésion des hématies parasitées entre elles (rosetting) et/ou à divers récepteurs de l'endothélium vasculaire (30, 33, 34). Ce phénomène implique des protéines plasmodiales de surface (ligands parasitaires) et leurs récepteurs membranaires spécifiques situés sur les cellules de l'hôte. Parmi ces ligands parasitaires, certains sont hautement polymorphes, comme la protéine PfEMP1 qui possède de nombreux récepteurs (CD36, ICAM-1, E-selectine etc.) qu'elle met en jeu en fonction des modifications successives de son expression. Mais l'expression des récepteurs est aussi complexe et aussi variable que celle des ligands plasmodiaux. Cette variabilité peut directement résulter d'un polymorphisme génétique. C'est le cas, par exemple, de certains allèles du gène codant un des principaux récepteurs, le CD36, et qui constituent des facteurs de gravité clinique (38). Pour d'autres récepteurs, l'expression est modulée par l'intermédiaire de certaines cytokines, TNF, IFN, IL1, IL4, dont l'augmentation est observée dans le paludisme cérébral et dont l'expression peut varier, elle aussi, en fonction de polymorphismes génétiques (32). Ceci a été prouvé pour un promoteur du gène codant le TNF qui est connu comme un des principaux facteurs de gravité du paludisme humain. Les sujets homozygotes pour l'allèle TNF 308A ont un risque accru de paludisme mortel, tandis que le rôle fonctionnel d'autres polymorphismes poly-alléliques est encore imprécis. L'interféron est aussi un élément essentiel de la sensibilité au paludisme et il a été prouvé que certains polymorphismes du gène codant le récepteur de cette cytokine entraînent, chez des sujets hétérozygotes, un effet protecteur (26).

Au total, la physiopathologie du paludisme recouvre un ensemble de phénomènes complexes et interdépendants. Grâce

à la génomique, nos connaissances dans ce domaine vont beaucoup avancer, mais de nouveaux progrès devraient résulter des études de post-génomique, en précisant les fonctionnalités de tous les gènes maintenant identifiés.

## Thérapeutique

Le traitement d'une maladie transmissible peut relever de deux approches : annuler le pouvoir pathogène d'un agent infectieux ou détruire cet agent. La première voie correspond à un traitement symptomatique pour lequel une meilleure connaissance de la physiopathologie du paludisme ouvre de nouvelles voies. C'est en particulier le cas des essais avec les anti-TNF . Les résultats en ont été jusqu'ici décevants mais les produits les plus récents (etanercept, infliximab), bien plus actifs que les précédents, permettront peut-être une avancée thérapeutique significative qui aurait l'intérêt d'être immédiatement utilisable puisque les médicaments existent pour d'autres indications (arthrite rhumatoïde, maladie de Crohn, notamment), malheureusement pour des coûts encore prohibitifs.

Pour le traitement spécifique du paludisme, c'est-à-dire pour la destruction des *Plasmodium*, les antipaludiques se heurtent à une contrainte spéciale. Ils doivent en effet être actifs contre un eucaryote, le *Plasmodium*, sans être toxique pour cet autre eucaryote qu'est l'homme. Tout le problème consiste donc à identifier des cibles thérapeutiques spécifiques du parasite. La génomique et la biologie moléculaire ont permis d'en situer dans cinq domaines différents.

### Apicoplaste

Vestige d'une endosymbiose entre une algue microscopique et les *Plasmodium*, cette formation, analogue du chloroplaste chez les végétaux chlorophylliens, est évidemment absente chez l'homme. Plus de 10 % des gènes de *Plasmodium falciparum* codent les 466 protéines identifiées comme probablement liées à l'apicoplaste (14, 55). Cette activité intervient dans plusieurs domaines :

- synthèse des isoprénoïdes dont l'enzyme-clé (DOXP) est codée par deux gènes différents (25). Absente chez l'homme mais retrouvée chez des bactéries et dans le plastide de différents végétaux, elle est inhibée par un herbicide, la fosmidomycine, qui a été ensuite utilisé comme antibiotique. Comme antipaludique, son activité est cependant incomplète, puisque l'on observe de fréquentes rechutes (31). Son efficacité pourrait être augmentée par la co-prescription de lincosamides synergiques (lincomycine, clindamycine) (51) ;

- synthèse d'acides gras composants essentiels de la membrane plasmodiale qui implique plusieurs enzymes inhibées par la thiolactomycine ou le triclosan (47) ;

- système transcriptionnel de type procaryote bloqué par certaines tétracyclines (clindamycine, doxycycline).

Au total, il faut remarquer que si la découverte de l'apicoplaste est scientifiquement très intéressante, elle n'ouvre jusqu'ici aucune piste thérapeutique réellement nouvelle puisque les cibles identifiées concernent des médicaments déjà existants et même, pour certains, anciens.

### Protéases

Plus de 90 gènes de *Plasmodium falciparum* codent des protéases (53). Plusieurs d'entre elles sont absentes chez l'homme et leurs inhibiteurs pourraient être des cibles thérapeutiques. C'est notamment le cas :

- de protéases (plasmepsine I, et II, falcipaine) permettant la dégradation de l'hémoglobine en petits peptides nécessaires à la synthèse des acides nucléiques du parasite ;
- de métacaspases, impliquées dans l'apoptose plasmodiale et des SERA protéases, équivalentes aux cystéines protéases chez l'homme ;
- du protéasome, complexe de subunités protéasiques intervenant dans la différenciation et la multiplication des protozoaires et dont un inhibiteur, la lactacystine, a une efficacité prouvée *in vitro* (40).

### Métabolisme énergétique

Confiné dans une atmosphère anaérobie, *Plasmodium falciparum* réalise son métabolisme énergétique mitochondrial grâce à deux enzymes, la cytochrome C réductase et la déhydroorotate déshydrogénase. L'atovaquone inhibe la première de ces enzymes et présente une synergie avec le proguanil auquel elle est associée dans une spécialité pharmaceutique. On ne connaît pas encore d'inhibiteur de la déhydroorotate déshydrogénase qui est une cible thérapeutique potentielle.

### Régulation de la synthèse protéique

Chez *Plasmodium falciparum*, la synthèse protéique est très active mais elle n'est que partiellement régulée par des phénomènes transcriptionnels. Elle produit de très nombreuses protéines, souvent variables selon les stades évolutifs (12), alors que les gènes de transcription semblent relativement rares dans le génome du parasite. En outre, la fonctionnalité de certains mRNA peut être modifiée par un mécanisme régulateur encore inconnu (10). C'est ainsi que certaines protéines sont présentes dans un stade évolutif du parasite (gamétocyte) et pas dans un autre stade qui en dérive (zygote), alors que les mRNA correspondants sont abondants dans les deux cas. Il existe donc une modulation fonctionnelle des mRNA plasmodiaux et l'inhibition de ce mode de régulation ouvre de nouvelles pistes thérapeutiques.

### Ligands parasitaires interagissant avec certains récepteurs

Certains ligands jouent un rôle capital dans la biologie du *Plasmodium* en permettant l'adhérence aux récepteurs des cellules-hôtes successives. Les plus connus de ces récepteurs concernent les hématies parasitées. Plus récemment, a été identifié un récepteur (CD81) de la membrane des hépatocytes, qui conditionne le développement intra-hépatique du parasite et offre l'intérêt d'être un co-récepteur avec le virus de l'hépatite C. L'inhibition des gènes codant ces substances et ses éventuelles applications thérapeutiques ou vaccinales sont à l'étude.

Au total, la génomique et la biologie moléculaire apportent plusieurs pistes thérapeutiques réellement innovantes et dont la liste est manifestement loin d'être complète. Grâce aux puces à ADN il sera maintenant possible d'identifier de nouvelles cibles métaboliques et, par les techniques de criblage à haut débit (44), de trouver de nouveaux principes actifs pour le traitement du paludisme. Le principal problème sera de déterminer un ordre de priorité parmi ces « molécules prometteuses », pour consacrer les moyens indispensables au développement pré-clinique et clinique à celles d'entre elles qui auront le plus de chance de devenir, dans des délais acceptables, de véritables médicaments. Il faut en effet souligner que, dans le monde, seuls quelques grands groupes pharmaceutiques sont capables de réaliser ce développement qui exige,

en moyenne, 8 à 10 ans, une technicité particulière et une dépense totale de plusieurs centaines de millions d'euros. Or les possibilités des quelques laboratoires concernés par le paludisme sont déjà engagées pour des médicaments dont le développement est en cours. Pour inclure de nouvelles molécules dans ces programmes de développement, de nouveaux moyens devront être dégagés, en interne ou grâce à l'action de fondations, d'agences internationales ou d'organisations non gouvernementales. A plusieurs reprises, a été avancée l'idée d'une création *de novo*, dans un pays émergent, d'un laboratoire pouvant assurer le développement de nouveaux antipaludiques. Pour diverses raisons, cette idée est évidemment séduisante, mais sera-t-elle réellement efficace ?

## Vaccins

La liste déjà longue des «protéines-candidates» à une utilisation vaccinale s'est sensiblement allongée à la suite des découvertes récentes (45). Pour l'essentiel, il s'agit de protéines d'adhérence avec, notamment, des antigènes des stades intra-hépatiques (comme les *Liver Stage Antigens*: LSA 1, 2 et 3), ou des sporozoïtes: *Sporozoite Threonine and Asparagine Rich Protein* (STARP), *Sporozoite and Liver Stages Antigens* (SALSA) (17, 18). Comme pour les nouvelles cibles thérapeutiques, le problème sera d'opérer une sélection rigoureuse entre ces diverses possibilités, avant de passer à une évaluation préclinique et éventuellement clinique.

D'un point de vue technique, une des difficultés de la vaccination antipalustre est la production d'antigène en quantité suffisante, ce que ne permettent pas les cultures *in vitro* de *Plasmodium falciparum*. A partir d'un protozoaire transfecté et facilement multiplié au laboratoire (*Tetrahymena thermophila*), la production de protéine circum-sporozoïtaire (CSP) a été récemment obtenue.

D'un point de vue plus général, les futurs vaccins antipaludiques devront, pour être efficaces, entraîner une immunité aussi bien cellulaire qu'humorale. Ils devront aussi être « polyvalents », en couvrant le plus possible la gamme des antigènes qui varient pour un stade parasitaire donné (PfEMP, par exemple), ou d'un stade parasitaire à un autre (vaccin anti-sporozoïte, anti-mérozoïte ou anti-gamétocyte). Ces différents objectifs peuvent être atteints grâce aux vaccins à ADN, constitués de plasmides auxquels sont incorporés les gènes codant les protéines vaccinales. Ces plasmides sont injectés dans le derme ou dans les masses musculaires (11). Les gènes qu'ils apportent sont localement incorporés dans le génome des cellules au niveau du point d'injection. Il s'ensuit une endosynthèse des antigènes par le sujet vacciné lui-même, avec induction d'une immunité humorale et cellulaire.

Ces vaccins à ADN ont été très étudiés durant ces dernières années, grâce aux progrès de la génomique et de la biologie moléculaire (3). Ils offrent notamment la possibilité d'associer plusieurs gènes et donc plusieurs sources d'immunisation. C'est ce qui est étudié dans le cadre d'un vaste programme international (*MULTI STAGE Dna-based vaccine Operation* ou MUSTO), avec des essais portant sur des ensembles de 5, 10 et même 15 gènes (MUSTO 5, 10 ou 15) (27). Pour limiter les difficultés liées à l'extrême variabilité des antigènes plasmodiaux et à leur faible immunogénicité, il est possible d'accroître l'efficacité de ces vaccins à ADN grâce à des adjuvants, ce qui est réalisé en incorporant dans le plasmide de transport des gènes codant une protéine virale ou une cytokine (GMCSF).

Au total, ces vaccins à ADN apportent des solutions très originales et apparemment très prometteuses. Leur utilisation

en clinique exigera cependant de nombreux contrôles d'efficacité mais surtout d'innocuité, compte tenu de la crainte que peut entraîner l'idée de voir incorporer des gènes de *Plasmodium* dans le génome de cellules humaines, même si seules des cellules somatiques sont concernées.

## Transmission vectorielle

Le décryptage du génome d'*Anopheles gambiae* (qui comprend environ 14 000 gènes), couplé aux données de la génomique comparative (à partir du génome de *Drosophila melanogaster*), ont permis de reconnaître des cibles pour de nouveaux insecticides ou de préciser certains mécanismes de résistance pour des produits déjà existants (19, 42).

Par ailleurs, ont été identifiés plus de 70 gènes codant des neuropeptides ou des hormones indispensables à la reproduction de l'anophèle (43), à la multiplication sexuée de *Plasmodium falciparum* ou à sa transmission (48). De même, ont été caractérisés près de 80 gènes codant des protéines qui sont des récepteurs gustatifs dont dépend la prise des repas sanguins (15), ou qui sont impliqués dans les défenses immunitaires de l'insecte face au *Plasmodium* (37).

Sur ces bases, il a été possible de produire des souches modifiées de moustiques « non piqueurs et/ou non transmetteurs » (4, 36, 52), mais avec des résultats pratiques encore décevants. En effet, dans des conditions de terrain, les souches modifiées d'*Anopheles stephensi* ne sont pas parvenues à se substituer aux souches « sauvages » qui les ont éliminées rapidement. Au total, cette voie semble prometteuse, mais de nombreuses difficultés doivent être surmontées avant que son application pratique puisse être envisagée (7, 9, 23, 26).

## Conclusion

Ces dernières années, la génomique et la biologie moléculaire ont considérablement accru nos connaissances en matière de paludisme. D'un point de vue académique, ces progrès ne peuvent que soulever l'enthousiasme et justifier non seulement la poursuite mais l'intensification des recherches. Mais si l'on envisage les applications médicales pratiques de ces découvertes, surtout dans un avenir prévisible, c'est la modestie et la prudence qui doivent dominer. La modestie est d'abord justifiée par plusieurs précédents. On ne peut pas, en effet, oublier l'immense espoir qu'ont fait naître, en 1967, les premiers succès vaccinaux par sporozoïtes irradiés puis, en 1977, les premières cultures *in vitro* de *Plasmodium falciparum*. On pouvait enfin « produire » ce parasite au laboratoire et de nouveaux médicaments, des vaccins allaient pouvoir être découverts ! Avec plus d'un quart de siècle de recul, le bilan est plutôt décevant. On ne peut pas non plus oublier les débordements médiatiques qui ont accompagné la découverte de protéines vaccinales annoncées comme miraculeuses et dont la plupart n'ont jamais franchi le cap d'essais hautement confidentiels au laboratoire. Depuis la fin des « campagnes d'éradication » organisées par l'OMS selon une stratégie toute militaire, quels ont été, en 30 ans, les plus importants progrès pour le contrôle du paludisme : les moustiquaires imprégnées d'insecticide et, en thérapeutique, les dérivés de l'artémisinine. Les premières correspondent à une amélioration – d'ailleurs considérable – d'un mode de protection très ancien. L'artémisinine, quant à elle, est fille, sinon du hasard, en tout cas de l'empirisme et de l'apport de la médecine traditionnelle chinoise.

Ces exemples devraient amplement suffire à limiter désormais les bouffées d'enthousiasme débordant, d'autant que des annonces médiatiques prématurées, concernant des perspectives plus ou moins aléatoires, peuvent avoir des conséquences médicales gravissimes. En effet, le paludisme sévit majoritairement dans des pays pauvres, ne disposant que de budgets de santé très limités. L'annonce de la mise au point « prochaine » d'un médicament miracle ou d'un vaccin salvateur peut naturellement conduire à réduire des programmes antipaludiques « traditionnels », pour affecter les finances ainsi libérées à d'autres objectifs (PMI, lutte anti-tuberculeuse, etc.). Cela s'est plusieurs fois produit, avec les conséquences catastrophiques que l'on devine, sur la morbidité et surtout sur la mortalité dues au paludisme.

La plus extrême prudence est également justifiée par l'importance cruciale des choix qui devront être rapidement opérés, en matière de développement industriel préclinique et clinique. Dans ce domaine, les possibilités techniques et financières sont déjà pratiquement saturées pour le paludisme. Arrêter des développements en cours n'est pas concevable. Trouver ou créer de nouveaux moyens est éventuellement possible, mais les ressources ainsi dégagées seront évidemment limitées, ce qui interdit tout droit à l'erreur, la décision de « développer » un médicament ou un vaccin engageant l'avenir pour plusieurs années.

Dans l'immédiat, l'urgence médicale est de continuer à améliorer et à utiliser au mieux les moyens disponibles, pour la protection anti-vectorielle (moustiquaires imprégnées) ou pour le traitement du paludisme simple ou compliqué (bithérapie, nouvelles voies d'administration).

## Références bibliographiques

- ABEL L - Apport de l'épidémiologie génétique pour l'étude de la susceptibilité/résistance au paludisme dans les populations humaines. *Bull Soc Pathol Exot*, 1999, **92**, 256-260.
- AMBROISE-THOMAS P - Paludisme, génétique et biologie moléculaire: mythes, espoirs, réalités. *Ann Pharm Fr*, 2001, **59**, 95-104.
- BHARDWA JD, HORA B, SINGH N *et al.* - Immunogenicity and protective efficacy of three DNA vaccines encoding pre-erythrocytic and erythrocytic stage antigens of *Plasmodium falciparum* in rhesus monkey. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2002, **34**, 33-43.
- BOETE C & KOELLA JC - Evolutionary ideas about genetically manipulated mosquitoes and malaria control. *Trends Parasitol*, 2003, **19**, 32-38.
- BURT RA - Genetics and host response to malaria. *Int J Parasitol*, 1999, **29**, 973-979.
- BUTLER D - What difference does a genome make? *Nature*, 2002, **419**, 426-428.
- CATTERUCIA F, GODFRAY HC & CRISANTI A - Impact of genetic manipulation on the fitness of *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Science*, 2003, **21**, 1225-1227.
- CLEGG JB & WEATHERALL DJ - Thalassemia and malaria: new insights into an old problem. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999, **111**, 278-282.
- COLUZZI M & COSTANTINI C - An alternative focus in strategic research on disease vectors: the potential of genetically modified non biting mosquitoes. *Parasitologia*, 2002, **44**, 131-135.
- DUFFY MF, REEDER JC & BROWN GV - Regulation of antigenic variation in *Plasmodium falciparum*: censoring freedom of expression? *Trends Parasitol*, 2003, **19**, 121-124.
- EPSTEIN JE, GORAK EJ, CHAROENVIT Y, WANG R, FREYBERG N *et al.* - Safety, tolerability and lack of antibody responses after administration of a PfCSP DNA malaria vaccine via needle-free jet injection, and comparison of intramuscular and combination intramuscular/intradermal routes. *Hum Gen Ther*, 2002, **13**, 1551-1560.
- FLORENS L, WASHBURN MP, RAINE JD, ANTHONY RM, GRAINGER M *et al.* - A proteomic view of the *Plasmodium falciparum* life cycle. *Nature*, 2002, **419**, 520-526.
- FORTIN A, STEVENSON MM & GROS P - Susceptibility to malaria as a complex trait: big pressure from a tiny creature. *Hum Mol Genet*, 2002, **11**, 2469-2478.
- FOTH BJ, RALPH SA, TONKIN CJ, STRUCK NS, FRAUNHOLZ M *et al.* - Dissecting apicoplast targeting in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Science*, 2003, **299**, 705-708.
- FOX AN, PITTS RJ & ZWIEBEL LJ - A cluster of candidate odorant receptors from the malaria vector mosquito, *Anopheles gambiae*. *Chem senses*, 2002, **27**, 453-459.
- GRUNER AC, BRAHIMI K, ELING W, KONINGS R, MEIS J *et al.* - The *Plasmodium falciparum* knob-associated PfEMP13 antigen is also expressed at the pre-erythrocytic stages and induces antibodies which inhibit sporozoite invasion. *Mol Biochem Parasitol*, 2001, **112**, 253-261.
- GRUNER AC, BRAHIMI K, LETOURNEUR F, RENIA L, ELING W *et al.* - Expression of the erythrocyte-binding antigen 175 in sporozoites and in liver stages of *Plasmodium falciparum*. *J Infect Dis*, 2001, **184**, 892-897.
- GRUNER AC, SNOUNOU G, BRAHIMI K, LETOURNEUR F, RENIA L *et al.* - Pre-erythrocytic antigens of *Plasmodium falciparum*: from rags to riches? *Trends Parasitol*, 2003, **19**, 74-78.
- HEMINGWAY J, FIELD L & VONTAS J - An overview of insecticide resistance. *Science*, 2002, **298**, 96-97.
- HILL AV - The immunogenetics of resistance to malaria. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999, **111**, 272-277.
- HILL AV - The genomics and genetics of human infectious disease susceptibility. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2001, **2**, 373-400.
- HIRAYAMA K - Genetic factors associated with development of cerebral malaria and fibrotic schistosomiasis. *Korean J Parasitol*, 2002, **40**, 165-172.
- ITO J, GHOSH A, MOREIRA LA, WIMMER EA & JACOBS-LORENA M - Transgenic anopheline mosquitoes impaired in transmission of a malaria parasite. *Nature*, 2002, **417**, 4532-4555.
- JOACHIMIAK MP, CHANG C & ROSENTHAL PJ & COHEN FE - The impact of whole genome sequence data on drug discovery - a malaria case study. *Mol Med*, 2001, **1**, 698-710.
- JOMAA H, WIESNER J, SANDERBRAND S, ALTINCICEK B, WEIDEMEYER C *et al.* - Inhibitors of the non melavonate pathway of isoprenoid biosynthesis as antimalarial drugs. *Science*, 1999, **285**, 1502-1503.
- KOCH O, AWOMOYI A, USEN S, JALLOW M, RICHARDSON A *et al.* - IFNGR1 gene promoter polymorphisms and susceptibility to cerebral malaria. *J Infect Dis*, 2002, **185**, 1684-1687.
- KUMAR S, EPSTEIN JE, RICHIE TL, NKRUMAH FK, SOISSON L *et al.* - A multilateral effort to develop DNA vaccines against *falciparum* malaria. *Trends Parasitol*, 2002, **18**, 129-135.
- LAMBERT G - *La légende des gènes. Anatomie d'un mythe moderne*. Dunod, Univers Sciences Ed. Paris, 2003, 292p.
- LAND KM - The mosquito genome: perspectives and possibilities. *Trends Parasitol*, 2003, **19**, 103-105.
- LEKANA DOUKI JB, STERKERS Y, LEPOLARD C, TRAORE B, COSTA FT *et al.* - Adhesion of normal and *P. falciparum* ring-infected erythrocytes to endothelial cells and the placenta involves the rhoptry-derived Ring Surface Protein-2. *Blood*, 2003, **100**, 1478-1483.
- LELL B, RUANGWEERAYUT R, WIESNER J, MISSINOU MA, SCHINDLER A *et al.* - Fosmidomycin, a novel chemotherapeutic agent for malaria. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, **47**, 735-738.
- Mc GUYIRE W, KNIGHT JC, HILL AV, ALLSOPP CE, GREENWOOD BM *et al.* - Severe malarial anemia and cerebral malaria are associated with different tumor necrosis factor promoter alleles. *J Infect Dis*, 1999, **179**, 287-290.
- MAZIER D & IDRISSE-BOUBOU M - Immunogénétique et paludisme cérébral. *Bull Soc Pathol Exot*, 1999, **92**, 249-255.
- MAZIER D, NITCHEU J & IDRISSE-BOUBOU M - Cerebral malaria and immunogenetics. *Parasite Immunol*, 2000, **22**, 613-623.
- MILLER LH, BARUCH DJ, MARSH K & DOUMBO OK - The pathogenesis basis of malaria. *Nature*, 2002, **415**, 673-679.
- MOREIRA LA, GHOSH AK, ABRAHAM EG & JACOBS-LORENA M - Genetic transformation of mosquitoes: a quest for malaria

- control. *Int J Parasitol*, 2002, **32**, 1599-1605.
37. NIARE O, MARKIANOS K, VOLZ J, ODUOL F, TOURE A *et al.* - Genetic loci affecting resistance to human malaria parasites in a west African mosquito vector population. *Science*, 2002, **298**, 213-216
  38. OMI K, OHASHI J, PATARAPOTIKUL J, HANANANTACHAI H, NAKA I *et al.* - CD36 polymorphism is associated with protection from cerebral malaria. *Am J Hum Genet*, 2003, **72**, 364-374.
  39. PATEL SS, MEHLOTRA RK, KASTENS W, MGONE CS, KAZURA JW *et al.* - The association of the glycophorin C exon deletion with ovalocytosis and malaria susceptibility in the Wosera, Papua New Guinea. *Blood*, 2001, **98**, 3489-3491.
  40. PAUGAM A, BULTEAU AL, DUPOUY-CAMET J, CREUZET C & FRIGUET B - Characterization and role of protozoan parasite proteasomes. *Trends Parasitol*, 2003, **19**, 55-59.
  41. PETERS J, FOWLER E, GATTON M, CHEN N, SAUL A *et al.* - High diversity and rapid change over of expressed var genes during the acute phase of *Plasmodium falciparum* infections in human volunteers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**, 10689-10694.
  42. RANSON H, CLAUDIANOS C, ORTELLI F, ABGRALL C, HEMINGWAY J *et al.* - Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science*, 2002, **298**, 179-181.
  43. RANSON H, NIKOU D, HUTCHINSON M, WANG X, ROTH CW *et al.* - Molecular analysis of multiple cytochrome P450 genes from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Insect Mol Biol*, 2002, **11**, 409-418.
  44. RATHOD PK, GANESAN K, HAYWARD RE, BOZDECH Z & DERISI JL - DNA microarrays for malaria. *Trends Parasitol*, 2002, **18**, 39-45.
  45. RITCHIE TL & SAUL A - Progress and challenges for malaria vaccines. *Nature*, 2002, **415**, 694-701.
  46. ROBINSON BA, WELCH TL & SMITH JD - Widespread functional specialization of *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 family members to bind CD 36 analysed across a parasite genome. *Mol Microbiol*, 2003, **47**, 1265-1278.
  47. SUROLIA N & SUROLIA A - Triclosan offers protection against blood stages of malaria by inhibiting enoyl-ACP reductase of *Plasmodium falciparum*. *Nat Med*, 2001, **7**, 167-173.
  48. THOMASSOVA D, TON LQ, COPLEY RR, ZDOBNOV EM, WANG X *et al.* - Comparative genomic analysis in the region of a major *Plasmodium-refractoriness* locus of *Anopheles gambiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**, 8179-8184.
  49. TROYE-BLOMBERG M - Genetic regulation of malaria infection in humans. *Chem Immunol*, 2002, **80**, 243-252.
  50. WEATHERALL DJ & CLEGG JB - Genetic variability in response to infections: malaria and after. *Genes Immun*, 2002, **3**, 331-337.
  51. WIESNER J, HENSCHKER D, HUTCHINSON DB, BECK E & JOMAA H - *In vitro* and *in vivo* synergy of fosmidomycin, a novel antimalarial drug, with clindamycin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, **46**, 2889-2894.
  52. WIMMER EA - Innovations: applications of insect transgenesis. *Nat Rev Genet*, 2003, **4**, 225-232.
  53. WU Y, WANG X, LIU X & WANG Y - Data-mining approaches reveal hidden families of proteases in the genome of malaria parasite. *Genome Res*, 2003, **13**, 601-616.
  54. WYRTH DF - The parasite genome: biological revelations. *Nature*, 2002, **419**, 495-496.
  55. ZUEGGE J, RALPH S, SCHMUKER M, McFADDEN G.I. & SCHNEIDER G - Deciphering apicoplast targeting signals feature extraction from nuclear-encoded precursors of *Plasmodium falciparum* apicoplast proteins. *Gene*, 2001, **280**, 19-26.