

UNIVERSITÉ DE LIMOGES  
Faculté de Médecine et de Pharmacie

Année 1992

THÈSE N° 342

**ACTIVITÉ TRYPANOCIDE ET CINÉTIQUE  
PLASMATIQUE DU PLATINE CHEZ LE MOUTON  
TRAITÉ PAR L'IODURE DE CIS-Pt PENTAMIDINE**

**THÈSE**

pour le

**DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement le 6 mai 1992

par

**Franck LAROCHE**

né le 5 mars 1968 à Châteauroux (Indre)

Examineurs de la thèse

Monsieur le Professeur NICOLAS ..... PRÉSIDENT  
Monsieur le Professeur PÉNICAUT ..... JUGE  
Monsieur BOUTEILLE, Maître de conférence et Praticien hospitalier ..... JUGE  
Monsieur DREYFUSS, Maître de conférence ..... JUGE



# UNIVERSITE DE LIMOGES

## FACULTE DE PHARMACIE

- DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur **RABY**
- ASSESSEURS : Monsieur le Professeur **GHESTEM** (1er Assesseur)  
Monsieur **DREYFUSS**, Maître de Conférences (2ème Assesseur)

### PERSONNEL ENSEIGNANT

#### \* PROFESSEUR DES UNIVERSITES

|                           |  |
|---------------------------|--|
| BENEYTOUT Jean-Louis      | Biochimie                                    |
| BERNARD Michel            | Physique-Biophysique                         |
| BOSGIRAUD Claudine        | Microbiologie                                |
| BROSSARD Claude           | Pharmacotechnie                              |
| BUXERAUD Jacques          | Chimie Organique, Chimie<br>Thérapeutique    |
| CHULIA Albert             | Pharmacognosie                               |
| CHULIA Dominique          | Pharmacotechnie                              |
| DELAGE Christiane         | Chimie Générale et Minérale                  |
| GALEN François Xavier     | Physiologie                                  |
| GHESTEM Axel              | Botanique et Cryptogamie                     |
| GUICHARD Claude           | Toxicologie                                  |
| HABRIOUX Gérard           | Biochimie                                    |
| LEFORT DES YLOUSES Daniel | Pharmacie galénique                          |
| NICOLAS Jean Albert       | Bactériologie et Virologie,<br>Parasitologie |
| LOUDART Nicole            | Pharmacodynamie                              |
| PENICAUT Bernard          | Chimie Analytique et Bromatologie            |
| RABY Claude               | Pharmacie Chimique et Chimie<br>Organique    |
| TIXIER Marie              | Biochimie                                    |

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A Monsieur le Professeur J.A. Nicolas, Directeur du Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de la Haute-Vienne, Professeur de Bactériologie, Virologie et Parasitologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Limoges.

Je suis très touché de l'honneur que vous me faites en présidant mon jury de Thèse.

Je voudrais ici vous remercier de m'avoir permis d'utiliser les locaux et l'appareillage du Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de la Haute-Vienne.

La qualité de votre enseignement et votre sens des rapports humains resteront pour moi un exemple.

Veillez accepter ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

A monsieur le Professeur B. Pénicaud, Professeur de Chimie Analytique à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Limoges.

Veillez trouver ici l'expression de mes remerciements pour avoir accepté de participer à mon jury de Thèse.

Votre compétence professionnelle m'a été d'un grand secours dans la réalisation de ce travail.

Je tiens également à vous remercier de la grande disponibilité que vous avez toujours manifestée à mon égard.

Soyez assuré de mon plus profond respect.

A Monsieur B. Bouteille, Maître de Conférence à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Limoges, Praticien Hospitalier au Centre Hospitalier Régional Universitaire de Limoges (Laboratoire de Parasitologie).

C'est pour moi un grand honneur que de vous voir participer à mon jury de Thèse.

Votre avis éclairé sur mon travail et la chaleur que vous avez manifestée à mon égard m'ont été d'un grand soutien.

Veillez trouver ici l'expression de ma gratitude la plus vive.

A Monsieur G. Dreyfuss, Maître de Conférence à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Limoges (Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Parasitologie).

La qualité de votre enseignement et votre grande disponibilité font de vous un enseignant apprécié de tous.

Qu'il me soit permis de vous remercier pour la confiance et l'aide que vous m'avez accordées pour la réalisation de ce travail qui n'aurait pu aboutir sans votre soutien de tous les instants.

Je vous prie d'accepter ici l'expression de ma reconnaissance.

Je tiens également à exprimer toute ma gratitude envers le personnel de Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de la Haute-Vienne, notamment Monsieur Carassus P. et Madame Bourgneuf C., pour leur aide précieuse et leur patience à mon égard.

Je remercie également le personnel du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Limoges pour sa gentillesse et sa disponibilité.

C'est également à Monsieur Vignoles P. que va toute ma reconnaissance pour l'aide déterminante qu'il a apportée à la réalisation de ce travail.

**A mes parents**

**A Viviane**

**A ses parents**

**A toute ma famille**

**A mes amis**

**Avec toute ma tendresse**



## **PLAN**

**Introduction**

**Chapitre I : Les trypanosomoses humaines africaines :  
rappel et thérapeutiques actuelles**

**Chapitre II : Les trypanosomoses animales africaines :  
rappel et méthodes de lutte actuelles**

**Chapitre III : Problèmes thérapeutiques et orientations de la recherche**

**Chapitre IV : L'iodure de cis-Pt(II) pentamidine :  
effet trypanocide et cinétique sérique du platine chez le mouton**

**Conclusion**

**Bibliographie**

## INTRODUCTION

La trypanosomose africaine est une parasitose actuellement en recrudescence. Cette affection constitue une des endémies majeures dans de nombreux pays africains et fait l'objet d'une grande attention de la part de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Les trypanosomoses humaines, à l'instar des autres maladies tropicales constituent un réel problème de Santé publique en touchant des milliers de personnes chaque année. Il convient pourtant de ne pas sous-estimer l'importance des trypanosomoses animales qui contribuent grandement à accentuer le déséquilibre socio-économique de l'Afrique.

Les trypanosomoses humaines africaines sont des maladies essentiellement rurales. Leur maîtrise, au-delà de la mise au point d'un traitement efficace, dépend de l'existence d'infrastructures sanitaires à même d'appliquer des programmes de surveillance et de traitement sur des populations souvent nomades. Ces structures manquent cruellement dans de nombreux pays africains. On rejoint ici le problème plus large de la maîtrise des grandes endémies dans des pays en voie de développement.

Le premier pas dans la voie d'un meilleur contrôle de cette affection en Afrique est pourtant constitué par l'élaboration d'un médicament trypanocide satisfaisant. Le choix actuel en la matière est en effet très limité. Il nous a paru intéressant dans cette étude, d'apporter une modeste contribution dans la mise au point d'un traitement futur.

Dans un premier temps nous établirons un bref état de la question des trypanosomoses humaines et animales en Afrique. La deuxième partie du mémoire sera constituée par l'évaluation sur le mouton de l'activité trypanocide d'un nouveau produit, l'iodure de cis-Pt pentamidine de la pharmacocinétique du platine (Pt) lors d'un traitement par ce médicament.

## **CHAPITRE I**

# **LES TRYPANOSOMOSES HUMAINES AFRICAINES : rappels et thérapeutiques actuelles.**

## I.1 Rappels.

Les trypanosomoses sont déterminées par des protozoaires flagellés : les trypanosomes. La trypanosomose humaine africaine est provoquée par *Trypanosoma brucei gambiense* et par *Trypanosoma brucei rhodesiense*, deux parasites qui se différencient plus par leurs aires de répartition géographique, leurs épidémiologies et la symptomatologie des affections qu'ils provoquent, que par leurs différences morphologiques (Gentilini et Duflo 1986). Cette affection en lente décline jusque vers 1960 marque en divers pays une recrudescence assez nette pour que l'OMS ait fait de son contrôle une de ses priorités (WHO 1986).

La trypanosomose humaine africaine concerne les régions comprises entre 15° de longitude nord et 15° de latitude sud (Dumas *et al.* 1985 ; Euzeby 1986 ; Gentilini et Duflo 1986 ; Golvan 1990). A l'intérieur de ce périmètre, il est possible d'individualiser assez nettement les zones à *T. b. gambiense* (Afrique de l'ouest et Afrique centrale) et les régions à *T. b. rhodesiense* (Afrique de l'est).

Selon l'OMS (WHO 1986), 35 millions de personnes sont exposées dans 36 pays africains, 20 000 nouveaux cas sont dénombrés chaque année. Seules 5 à 10 millions de personnes sont maintenues sous une surveillance régulière (Gentilini et Duflo 1986).

Endémique dans la plupart de ces pays, l'affection est en particulière recrudescence au Nigeria, en Angola, en Ouganda et au Zaïre (Gentilini et Duflo 1986). L'existence de réservoirs animaux est aujourd'hui prouvée pour les deux parasites mais dans une moindre proportion pour *T. b. gambiense*.

Le vecteur du trypanosome est la glossine, plus connue du grand public sous le nom de mouche "Tsé-tsé". Les mouches vectrices de *T. b. gambiense* vivent dans les galeries forestières (*Glossina tachinoides*, *G. palpalis*) et les forêts (*G. fuscipes*) ; celles vectrices de *T. b. rhodesiense* vivent dans les savanes boisées (*G. morsitans*, *G. pallipides* et *G. swynnertoni*) (Euzeby 1986).

Les glossines des deux sexes injectent lors d'un repas sanguin la forme métacyclique infectante, résultat d'un cycle complexe que subit le trypanosome chez elles. Il faut souligner que les vecteurs ne transmettent pas le parasite à leur descendance. Chez l'homme, les formes congénitales de la maladie existent mais elles sont rares (Triolo *et al.* 1985). Il en est de même pour les contaminations transfusionnelles (Gentilini et Duflo 1986). La transmission

purement mécanique par d'autres insectes hématophages est possible mais reste purement anecdotique (Vachon *et al.* 1983).

Dès l'inoculation le parasite gagne le système lymphatico-sanguin et présente un tropisme marqué pour le système nerveux central. Deux phases sont couramment décrites et resumées dans la figure 1.

- la phase lymphatico-sanguine avec des signes généraux.
- la phase neuro-meningée avec des signes plus caractéristiques.

Mais l'intrication des symptômes d'une clinique très polymorphe (Figure 1), (Bertrand *et al.* 1973 ; Tizard *et al.* 1978 ; Ginoud *et al.* 1982 ; Triolo *et al.* 1985 ; Boa *et al.* 1988 ; Boersma *et al.* 1990) et l'existence de phénomènes immunopathologiques complexes (Figure 2) (Tizard *et al.* 1978 ; Greenwood et Wittle 1980 ; Wéry *et al.* 1982 ; Taylor 1984 ; Oudart *et al.* 1985 ; Asonganyi *et al.* 1989), conduisent à considérer une grande unité dans l'affection du début jusqu'à son terme.

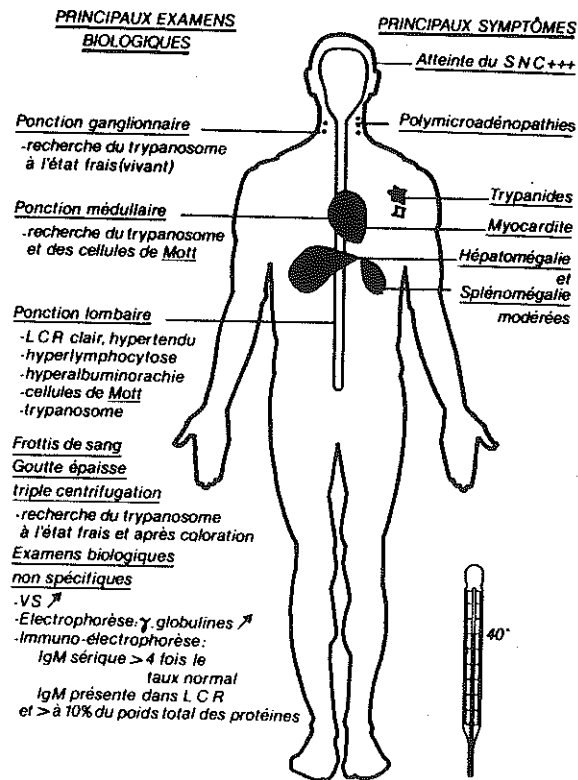
Sans traitement, la maladie est toujours mortelle, en évoluant soit sur un mode chronique (*T. b. gambiense*), soit sur un mode subaigu (*T. b. rhodesiense*). L'affection n'a aucune tendance spontanément résolutive du fait de la variation antigénique constante du parasite qui échappe ainsi aux défenses de l'organisme (Dumas *et al.* 1985 ; Barry 1986 ; Barry et Turner 1991).

## I.2 Méthodes de lutte.

### I.2.1 Prévention et dépistage.

Le contrôle exclusif du vecteur par des épandages massifs d'insecticides est aujourd'hui considéré comme illusoire (WHO 1986 ; Stanghellini 1988). Il semble plus efficace de lutter contre la pullulation des glossines aux environs des habitations (pièges à glossines, épandages d'insecticides au sol, suppression des gîtes de repos) (WHO 1983 ; Stanghellini 1988). La suppression des réservoirs animaux, qu'ils soient sauvages ou domestiques, est tout aussi utopique (Gentilini et Duflo 1986).

En fait la surveillance régulière des populations exposées, facilitée par l'utilisation de méthodes diagnostiques courantes (Elisa, Test trypan CATT de Smith Kline RITT,



**Figure 1.** Examens biologiques et principaux symptômes de la trypanosomose humaine africaine (Gentilini et Duflo, 1986)

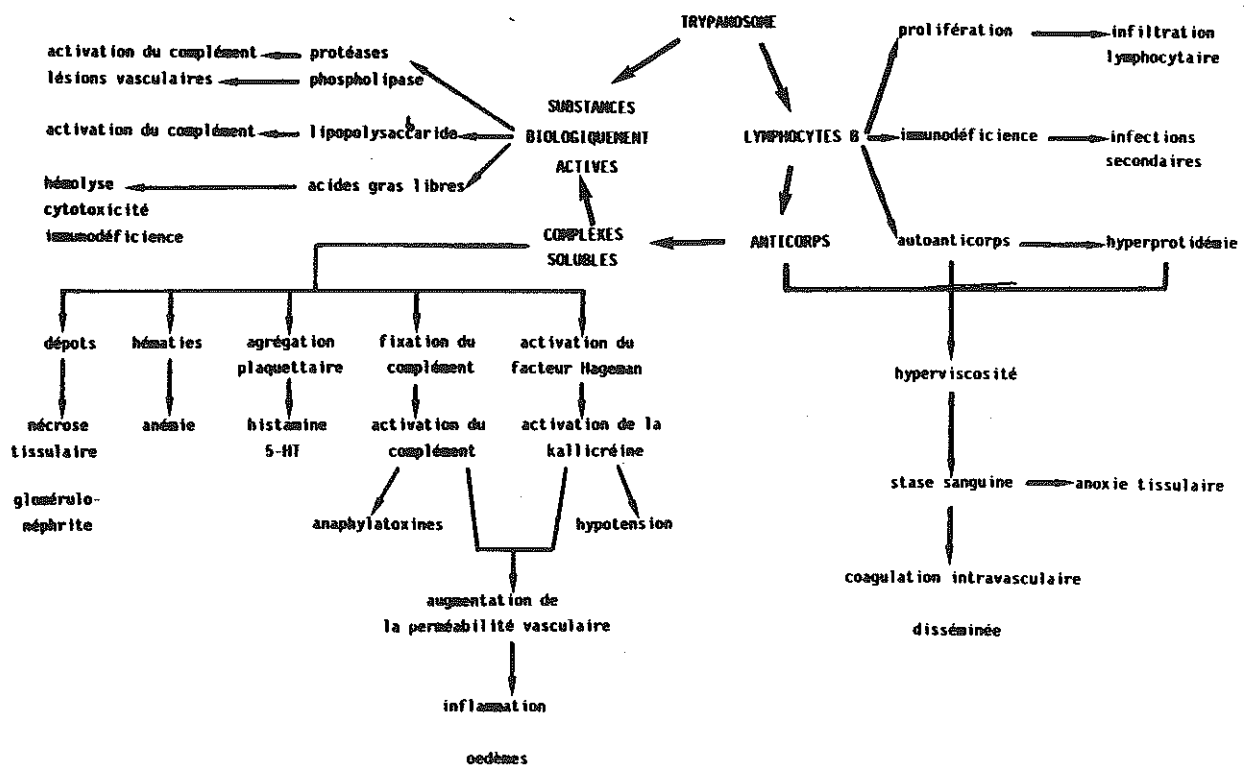


Figure 2. Physiopathologie de la trypanosomose humaine africaine (Boreham, 1985)

Immunofluorescence indirecte) (tableau 1) semble le moyen de contrôle de l'endémie le plus fiable (Mangenot *et al.* 1979 ; Roffi *et al.* 1979 ; Croft 1985 ; Gentilini et Duflo 1986 ; WHO 1986).

Le diagnostic précoce de l'affection permet un meilleur traitement de celle-ci, et une guérison sans séquelles.

| Techniques immunologiques                                 | Utilisation sur le terrain | Fiabilité | coût |
|---|----------------------------|-----------|------|
| Immunofluorescence indirecte (IFI)                        | +                          | +++       | ++   |
| Test d'agglutination directe sur carte (Test trypan CATT) | +++                        | ++        |      |
| Hémagglutination passive en tube capillaire (HPTC)        | -                          | +         | +    |
| Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)                 | -                          | +         | ++   |

Tableau 1 : Techniques immunologiques de dépistage de la trypanosomose humaine africaine (Gentilini et Duflo 1986).

## I.2.2 Traitement.

### I.2.2.1 Les médicaments d'usage courant en thérapeutique humaine (Figure 3).

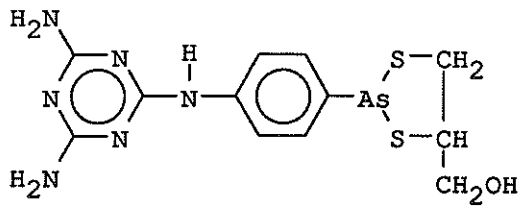
#### a. Mélarsoprol (Arsobal®)

Cette molécule résulte de la combinaison d'un composé arsenical trivalent, le mélarsen oxyde, avec du british anti lewisite (BAL).

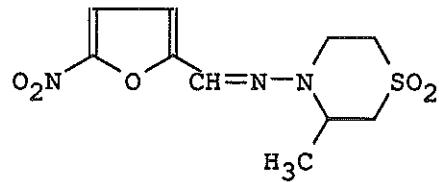
Il s'agit d'un des rares médicaments actifs à tous les stades de la maladie (Gentilini et Duflo 1986 ; Goodman and Gilman's 1991).

Son mode d'action mal élucidé, semble lié à l'inhibition d'une grande variété d'enzymes, en particulier la pyruvate kinase (Gentilini et Duflo 1986 ; Goodman and Gillman's 1991) et la glycéro-phosphate deshydrogénase (Dumas *et al.* 1985). D'après

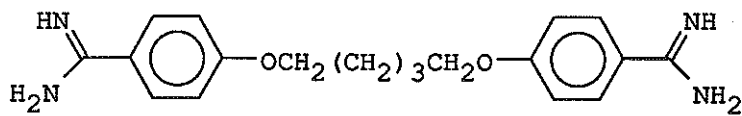




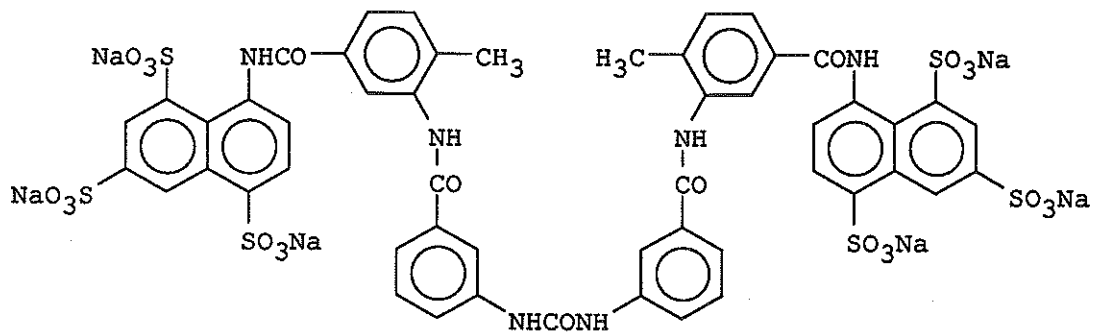
Mélarsoprol



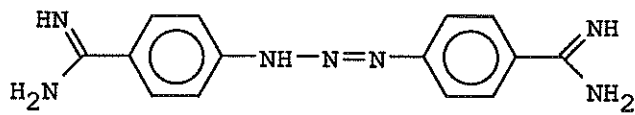
Nifurtimox



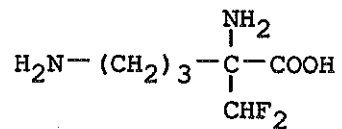
Pentamidine



Suramine



Acéturate de diminazène



Alpha-difluoromethyl ornithine

Figure 3. Structures développées des médicaments de la trypanosomose humaine africaine

Henderson et Fairlamb (1987) le mélarsozol inhiberait les enzymes à thiols-SH et formerait un complexe irréversible avec le trypanothion. Ce même auteur évoque une diminution du cytochrome P<sub>450</sub> trypanosomien sous l'action du mélarsozol.

La pharmacocinétique de ce produit est mal connue mais il semble qu'une petite mais significative part de la dose injectée soit retrouvée dans le système nerveux central (Goodman and Gillman's 1991).

Le mélarsozol s'administre à la dose de 3,6 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> en intraveineuse en cures de 3 jours séparées par 10 à 21 jours. On respecte un plafond de 200 mg par injection. Certains auteurs préconisent l'étalement de ces doses (Dumas *et al.* 1976 ; Dumas *et al.* 1986), alors que certains travaux montrent l'efficacité du produit à doses plus faibles chez l'animal (Bouteille *et al.* 1988).

Le problème majeur de ce traitement réside dans sa grande toxicité. Une encéphalopathie arsenicale, très souvent mortelle même en milieu hospitalier (Dumas *et al.* 1976), résulte fréquemment de l'emploi de ce médicament. La fréquence de l'accident varie selon les auteurs entre 1% et 18,6% des traitements (Sina *et al.* 1982). Une prémédication suivie d'un traitement par corticoïdes permettrait de juguler quelque peu cet accident. Après son déclenchement l'administration précoce d'adrénaline semble réduire la mortalité (Sina *et al.* 1982 ; Ginoud *et al.* 1984), mais ne dispense pas des techniques classiques de réanimation (Robertson 1963 ; Dumas *et al.* 1976 ; Gentilini et Duflo 1986).

Le mélarsozol, bien que très efficace est donc un médicament d'emploi particulièrement délicat.

#### b. Pentamidine (Lomidine®).

Il s'agit d'une diamidine aromatique très efficace en phase lymphatico-sanguine de la maladie, mais inactif sur les parasites localisés dans le système nerveux central (Ginoud *et al.* 1984 a. et b. ; Sands *et al.* 1985 ; Gentilini et Duflo. 1986 ; Goodman and Gillman's 1991). Ce médicament, en effet, ne franchit pas la barrière hémoméningée.

Son mode d'action semble résulter d'interactions avec l'acide désoxyribonucléique ou les nucléotides trypanosomiens, après un transport actif du médicament dans le parasite (Sands *et al.* 1985 ; Goodman and Gillman 1991).

Rapidement absorbée, la pentamidine est excrétée dans l'urine pendant 6 à 8 semaines après le traitement. Cette persistance est liée à un stockage viscéral important, en particulier rénal.

La pentamidine peut être employée à 3 ou 4 mg.kg<sup>-1</sup> (maximum 300 mg) :

- à titre curatif en séries de 5 à 10 injections séparées de 24-48 heures
- à titre prophylactique tous les 6 mois.

Assez bien toléré, ce médicament voit son emploi limité par son inefficacité en phase de polarisation neuro-méningée de la maladie.

### c. Suramine (Moranyl®)

Il s'agit d'une urée substituée.

Comme la pentamidine, la suramine n'atteint pas les trypomastigotes localisés dans le système nerveux central.

Son mode d'action, mal connu semble lié à l'inhibition de certaines enzymes du trypanosome, en particulier la glycérol-phosphate-oxydase (Goodman and Gillman's, 1991). Administré par voie intra-veineuse, ce médicament persiste pendant plusieurs jours dans le sérum. L'élimination est urinaire. La molécule n'est pas métabolisée.

La posologie usuelle est de 20 mg.kg<sup>-1</sup>. On administre cinq doses à raison d'une dose par semaine.

Malgré quelques accidents d'intolérance et une importante néphrotoxicité, la suramine est généralement bien tolérée (Goodman and Gillman's 1991).

Efficace à un stade précoce de l'affection, la suramine souffre de la même inefficacité que la pentamidine dans les stades avancés de la maladie.

## **I.2.2.2 Les alternatives thérapeutiques chez l'homme. (Figure 3).**

### a. Alphadifluoromethylornithine (DFMO ou Eflornithine) (Ornidine®).

D'usage récent, ce médicament constitue un des plus grands progrès en thérapeutique trypanocide (Gentilini et Duflo 1986).

Initialement élaboré en vue du traitement anticancéreux, la DFMO s'avère être un des seuls médicament, avec le méléarsoprol, actif à tous les stades de la maladie (Van Nieuwenhove 1985 ; Mc Cann *et al.* 1986 ; Furet *et al.* 1987 ; Pepin *et al.* 1987 ; Taelman

*et al.* 1987 ; Doua *et al.* 1987 ; Breton *et al.* 1988 ; Petru 1988 ; Sjoerdsma et Schechter 1988).

Son mode d'action est lié à l'inhibition de la synthèse des polyamines dont il est un antimétabolite : putrécine, spermine et spermidine qui jouent un rôle important dans le métabolisme du trypanosome (Figure 4) (Van Nieuwenhove *et al.* 1985 ; Euzéby 1986 ; Taelman *et al.* 1987).

Selon Henderson et Fairlamb (1987), la DFMO se comporterait comme un faux substrat de l'ornithine decarboxylase du trypanosome. La déplétion du stock d'Ornithine decarboxylase serait alors directement responsable de l'absence de synthèse des polyamines donc du trypanothion.

L'intérêt principal du produit réside dans sa diffusion dans le système nerveux central. Ainsi, d'après Doua *et al.* (1987), 51% de la concentration sérique se retrouvent dans le liquide céphalo-rachidien. Malheureusement les caractéristiques pharmacocinétiques de la DFMO obligent à répartir les doses sur tout le nyctémère (Breton *et al.*, 1988).

La DFMO s'administre selon le protocole suivant : perfusion intraveineuse lente de 300 à 400 mg.kg<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> pendant 2 semaines (Taelman *et al.* 1987 ; Breton *et al.* 1988 ; Kazyumba *et al.* 1988).

L'efficacité semble bonne même dans des cas réfractaires au mélarsoprol (Figure 5), mais seulement sur les affections à *T. b. gambiense* (Doua *et al.* 1987 ; Kazyumba *et al.* 1988 ; Bales *et al.* 1989). Quelques échecs sont pourtant dénombrés (Chandenier *et al.* 1988 ; Chevrier *et al.* 1990), qui conduisent à l'augmentation des doses. De plus la DFMO n'est pas efficace sur les formes à *T. b. Rhodesiense*.

La toxicité du produit paraît supportable malgré quelques troubles hématologiques, des diarrhées, des chutes de cheveux, des douleurs abdominales. Ces troubles sont spontanément résolutifs à l'arrêt du traitement (Figure 6), (Kazyumba *et al.* 1988).

La DFMO représente actuellement le seul traitement efficace en cas d'échec du mélarsoprol, mais l'importance des doses nécessaires, la lourdeur du protocole, donc le coût du traitement, ne sont pas en faveur d'un emploi courant du produit (Ormerod et Raseroka 1987).

#### b. Acéturate de diminazène (Bérénil®).

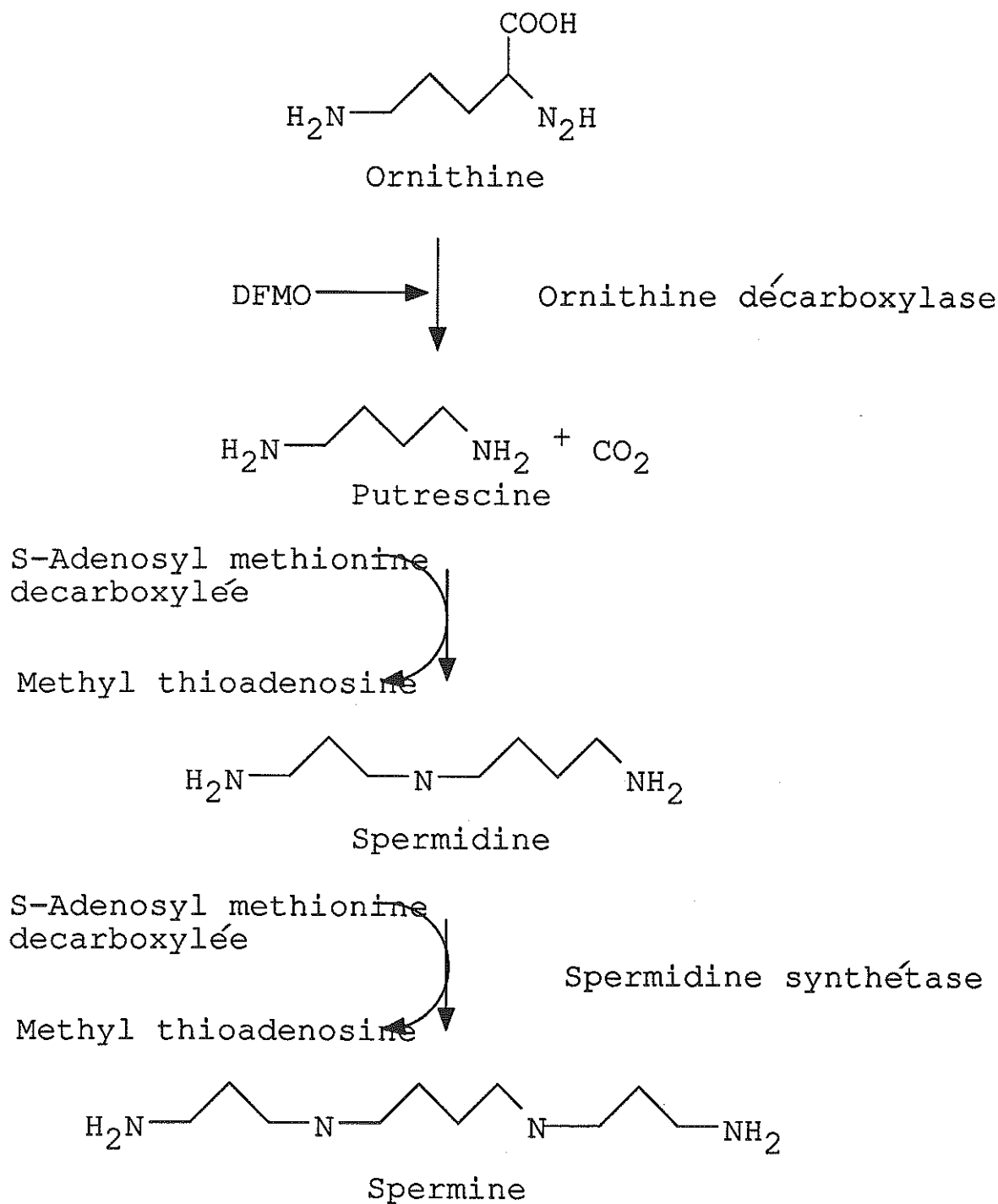
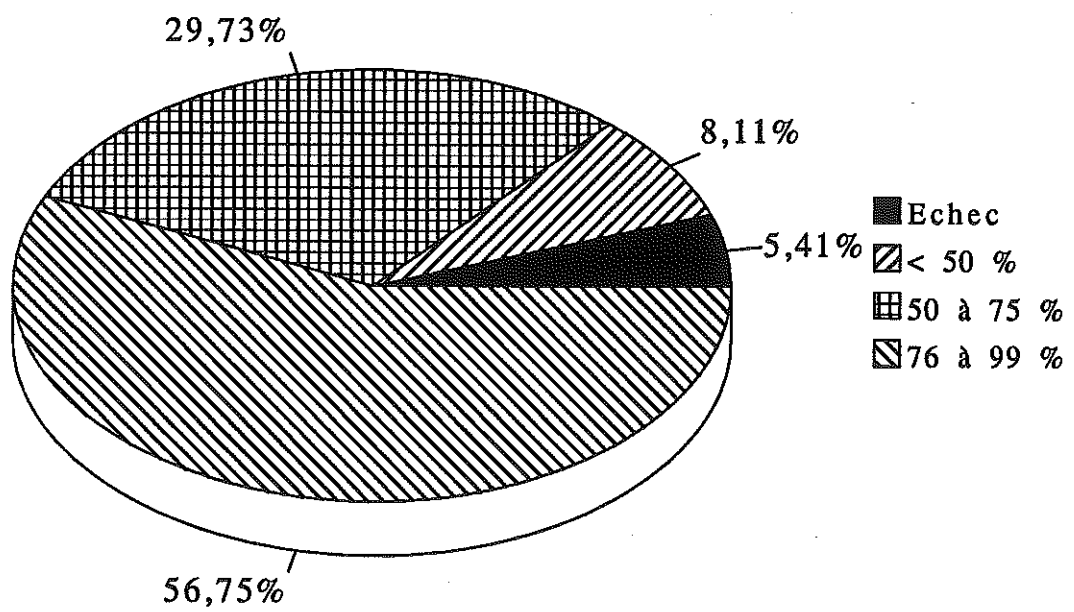
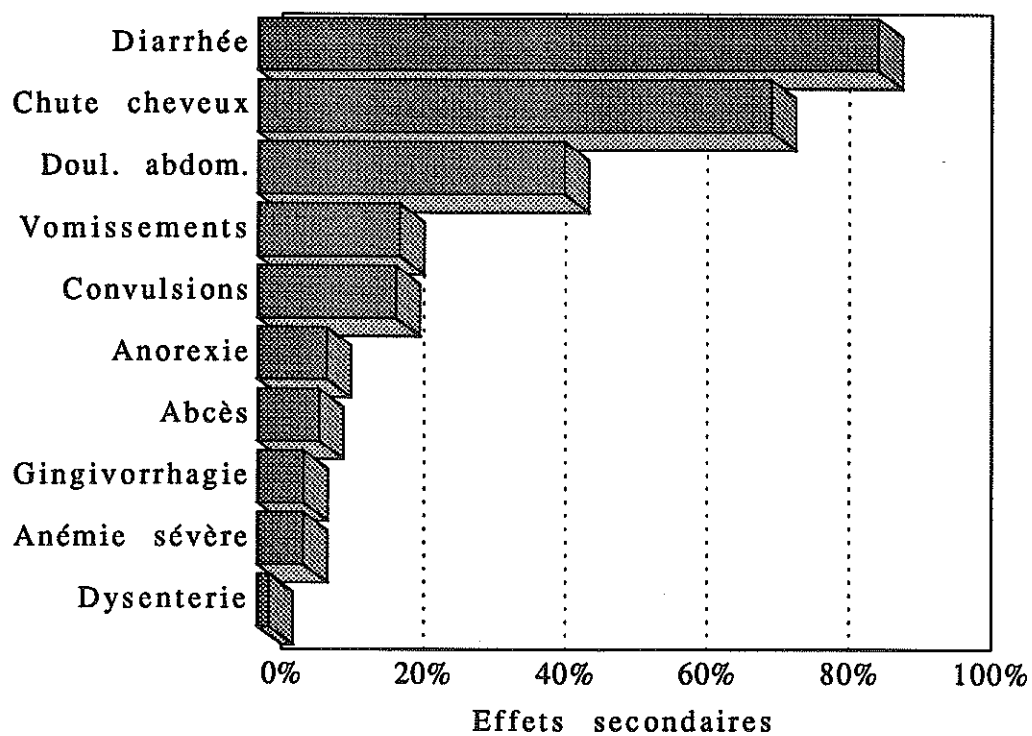


Figure 4. Action de la DFMO (Taelman *et al.* 1987)



**Figure 5.** Réduction des éléments dans le liquide céphalo-rachidien à la fin du traitement par la DFMO (Kazyumba *et al.*, 1988).



**Figure 6.** Manifestations indésirables en cours de traitement par la DFMO (Kazyumba *et al.* 1988).

Produit vétérinaire, cette diamidine aromatique peut être utilisée chez l'homme (Hutchinson et Watson 1962 ; Bayley 1968). Hormis son utilisation par voie orale, il ne présente guère d'avantages par rapport à la pentamidine et à la suramine car il est inactif en phase de polarisation neuroméningée de la maladie.

c. Nifurtimox (Lampit®).

Utilisé dans les atteintes aiguës de la trypanosomose humaine américaine (maladie de Chagas), le nifurtimox peut être administré lors des résistances au mélarsoprol, à la dose orale de 15 à 20 mg.kg<sup>-1</sup> (Moens 1984 ; Van Nieuwenhove 1988 ; Pepin et al. 1989).



## **CHAPITRE II**

# **LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES AFRICAINES : Rappels et méthodes de lutte actuelles.**

## II.1 Rappels.

L'animal peut intervenir, nous l'avons vu, en tant que réservoir des trypanosomoses humaines, qu'il soit sauvage ou domestique. Il est également la proie d'affections vétérinaires spécifiques. Nous n'aborderons ici que les maladies touchant les animaux de rapport, mais il faut savoir que la faune sauvage est également touchée et constitue un gros réservoir de parasites (Soulsby 1982 ; Euzeby 1986).

Pour la clarté de l'exposé, il paraît utile de faire un bref rappel de la classification des trypanosomes en indiquant les espèces pathogènes. La taxonomie décrite ici est la plus couramment admise (Euzeby 1986).

Les trypanosomes ne sont représentés que par un seul genre, *Trypanosoma*, qui est scindé en deux sections :

- La section *Stercoraria*, contenant l'espèce *T. cruzi*, n'est pas responsable des maladies africaines.
- La section *Salivaria*, dont les représentants sont les agents des trypanosomoses africaines. Cette section est représentée par quatre sous-genres :
  - Le sous-genre *Dutonela* qui contient *T. vivax*.
  - Le sous-genre *Nannomonas* qui contient *T. simiae* et *T. congolense*.
  - Le sous-genre *Trypanozoon* qui est le plus important par son groupe *brucei* pathogène pour l'homme par les deux espèces *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense*. Le groupe *brucei* est également représenté par *T. b. brucei*.  
Le groupe *evansi* qui fait également partie du sous-genre *Trypanozoon* contient *T. evansi* et *T. equiperdum*.
  - Le sous-genre *Pycnomonas* est représenté par *T. suis*.

La plupart de ces parasites ont en général pour vecteurs les mêmes espèces de glossines que celles impliquées dans les trypanosomoses humaines et leurs aires de répartition se superposent aux zones renfermant ces diptères. Les exceptions sont *T. vivax* et *T. evansi* transmis mécaniquement par les tabanidés et les stomoxes, ainsi que *T. equiperdum* agent de la "Dourine" des équidés qui est transmis par contact vénérien.

Quelle est la répartition géographique des trypanosomes pathogènes pour l'animal ? (Euzeby 1986).

*T. congolense* est l'espèce la plus répandue, on la trouve dans toute la partie tropicale de l'Afrique. Il en est de même pour *T. simiae*.

*T. suis* est connu en Afrique orientale, dans l'est du Zaïre, la Tanzanie, le Burundi.

*T. b. brucei* est répandu en Afrique orientale et occidentale depuis le sud du Mali jusqu'au Zouloulouland.

*T. vivax* est présent en Afrique occidentale et centrale mais grâce à sa faculté d'adaptation à la transmission mécanique par les tabanidés et les stomoxes on rencontre cette espèce en régions exemptes de glossines : Mauritanie, nord du Sénégal, nord du Tchad, Niger, Mali.

*T. evansi*, totalement adapté à la transmission mécanique est inféodé à l'Afrique du Nord et à l'Afrique occidentale (au nord de l'aire de répartition des glossines). L'Egypte et le Soudan sont particulièrement touchés.

*T. equiperdum* est potentiellement cosmopolite de par son mode de transmission. En Afrique, la " Dourine " est endémique dans l'Ouest est le Sud du continent.

Les trypanosomoses animales suivent en général un processus pathologique comparable à celui des affections humaines. Pourtant, le tableau peut différer suivant l'espèce du parasite en cause et suivant l'espèce animale impliquée (Soulsby 1982 ; Euzeby 1986).

Chez les bovins, le trypanosome le plus pathogène est *T. congolense* responsable d'une maladie d'évolution rapide. *T. vivax* et *T. brucei* sont impliqués dans des affections plus chroniques.

Les trypanosomoses ovines et caprines sont généralement chroniques et peu fréquentes car les races guinéennes sont peu sensibles à la maladie alors que les races sahéliennes évitent les zones à glossines.

Les équidés domestiques, peu répandus en Afrique, sont très sensibles à *T. equiperdum* qui les tue en deux à trois mois et dans une moindre mesure à *T. b. brucei*. Ils sont moins affectés par *T. vivax* et *T. congolense*.

Les camélidés sont touchés par *T. evansi*, *T. congolense* et *T. b. brucei*.

Enfin, les porcs sont victimes d'affections suraiguës à *T. simiae* qui les tuent en quelques jours. *T. suis* est mieux supporté sauf par les jeunes.

L'élevage africain est donc touché de plein fouet par ces trypanosomoses vétérinaires qui contribuent ainsi à accentuer le déséquilibre socio-économique de ce continent. On estime

que la maîtrise de ces endémies permettrait la production de 1.500.000 tonnes de protéines bovines par an (Euzéby 1986).

Mais les conséquences à court terme ne sont pas les seules. Le surpâturage en régions non affectées peut amener à la désertification de certains territoires. Si l'on ajoute le tribut payé à ces maladies par l'agriculture vivrière (épuisement et mort des animaux de trait), on saisit mieux l'amplitude du problème.

Les trypanosomoses animales constituent donc l'un des aspects du problème par ailleurs multifactoriel de l'insuffisance des productions agro-alimentaires africaines.

## **II.2 Méthodes de lutte.**

### **II.2.1 Méthodes non médicamenteuses**

Les méthodes de maîtrise des populations de glossine déjà évoquées dans le chapitre précédent peuvent être appliquées, mais elles paraissent peu adaptées à l'élevage extensif et au nomadisme. Un défrichement réfléchi peut pourtant rendre certains territoires moins favorables à la vie des glossines. Il est ainsi très indiqué de défricher les abords des points d'eau.

La pulvérisation d'insecticides sur les animaux est peu efficace.

Les méthodes de lutte biologique contre les glossines par stérilisation des mâles sont certes prometteuses mais pour l'instant peu applicables sur le terrain.

Ces méthodes de lutte sont globalement insuffisantes. Il apparaît donc clairement que si l'on ne peut éviter l'infection du bétail en zone d'endémie, une des solutions éventuelles consisterait en l'élevage d'animaux plus résistants à la trypanosomose.

Des races dites trypanotolérantes existent déjà : celles-ci manifestent une aptitude raciale à se maintenir en bon état et à se reproduire tout en hébergeant des trypanosomes, sans pour autant présenter des signes cliniques de l'affection (Pagot 1974).

Il s'agit pour les ovins des chèvres guinéennes de la région de casamance et des moutons et chèvres Djallonké (Euzéby 1986).

Quelques bovins sont également trypanotolérants. On distingue les taurins à longues cornes d'Afrique occidentale (Ndama) et les taurins à longues cornes d'Afrique Occidentale

(race des lagunes, race Somba, boeuf nain du Nigéria ; race Muturu et race Baoulé) (Pagot 1974).

Cette tolérance probablement issue de la sélection naturelle n'est pas égale pour tous les individus d'une même race. Elle pourrait résulter de deux phénomènes concomittants :

- une meilleure défense vis à vis du trypanosome,
- une plus grande résistance à l'anémie par une érythropoïèse plus active.

Plusieurs facteurs limitent pourtant l'extension de ces races :

- les bovins trypanotolérants sont généralement petits et mauvais laitiers,
- l'introduction de ces animaux dans des régions climatiquement différentes de leur territoire d'origine est difficile,
- enfin les bovins trypanotolérants sont très sensibles à la peste bovine (Euzeby, 1986).

A partir de ces souches, en employant les méthodes classiques de sélection du bétail (croisements, sélection des "familles trypanotolérantes"), il semble possible de créer des races adaptées aux besoins de l'élevage africain (Euzeby 1986 ; Roelants *et al.* 1987). Cette voie de recherche, très prometteuse est hélas coûteuse et lente (Dolan 1987).

## II.2.2 Méthodes de lutte médicamenteuses.

Nous ne distinguerons par les mesures thérapeutiques des mesures prophylactiques car cette distinction est purement artificielle en zone d'endémie.

Outre la suramine et le diminazène on utilise des produits spécifiquement vétérinaires tels que l'isomémidium et ses dérivés, ainsi que le méthylsulfate de quinapyramine et la phénanthridine.

On utilise chez les bovins et les ovins : contre *T. brucei* et *T. congolense* de préférence le diminazène ; contre *T. brucei* le diminazène et les dérivés de la phénanthridine.

La suramine est le médicament de choix pour le traitement des trypanosomoses des camélidés. Chez les équidés on utilise les dérivés de la phénanthridine, la suramine ou le méthylsulfate de quinapyramine.

Enfin les porcs sont traités par l'isomémidium à doses élevées ou par le diminazène. Aucun des médicaments utilisés n'est actif en phase de polarisation neuroméningée de la maladie. Le traitement d'animaux déjà gravement tarés par ce stade du processus pathologique ne présente pas d'intérêt économique.

## **CHAPITRE III**

# **PROBLEMES THERAPEUTIQUES ET ORIENTATIONS DE LA RECHERCHE.**

Le traitement de la trypanosomose humaine africaine repose essentiellement sur le mélarsoprol et ceci à tous les stades de la maladie (Tableau 2). En effet de nombreux thérapeutes l'emploient d'emblée devant la difficulté de détermination du niveau d'extension de l'affection (Euzéby 1986 ; Gentilini et Duflo 1986). Malheureusement, outre sa toxicité non négligeable, ce médicament semble induire des résistances (Ginoud *et al.* 1984 b. ; Kazyumba *et al.* 1988 ; Yarlett *et al.* 1990 ; Brun *et al.* 1990).

| Situation<br>épidémiologique | Résultats des épreuves diagnostiques |           |         | Traitement                          |
|------------------------------|--------------------------------------|-----------|---------|-------------------------------------|
|                              | parasitologie                        | sérologie | LCR     |                                     |
| 1. Indifférente              | (a) positive                         | négative  | normal  | pentamidine                         |
|                              | (b) positive                         | négative  | anormal | mélarsoprol                         |
| 2. Endémique                 | (a) négative                         | positive  | normal  | abstention thérapeutique avec suivi |
|                              | (b) négative                         | positive  | anormal | mélarsoprol                         |
| 3. Epidémique                | (a) négative                         | positive  | normal  | pentamidine                         |
|                              | (b) négative                         | positive  | anormal | mélarsoprol                         |

Tableau 2 : Divers traitements possibles en présence de cas confirmés ou soupçonnés de trypanosomose à *T. b. gambiense* dans différentes situations épidémiologiques (OMS 1986).

L'alphadifluorométhylornithine constitue une avancée intéressante mais son schéma thérapeutique est peu compatible avec une large utilisation dans le contexte socio-économique actuel de l'Afrique.

Les traitements vétérinaires souffrent des mêmes carences, l'un des problèmes cruciaux résidant dans la chimiorésistance des parasites à tous les produits y compris le diminazène (Clansen *et al.* 1990 ; Ross *et al.* 1990).

L'élaboration d'un vaccin à l'image des autres affections parasitaires, paraît problématique. L'espoir principal réside dans la découverte d'une nouvelle molécule trypanocide qui devrait être atoxique, devrait inhiber le trypanosome quelles que soient sa forme et sa localisation (Dumas *et al.* 1985), tout en étant d'un emploi simple et le moins onéreux possible.

Quelques voies de recherche paraissent prometteuses (WHO 1990), parmi celles-ci :

- Les spiroarsoranes, classe d'organoarséniés peu toxiques semblent présenter une bonne efficacité à tous les stades de la maladie (Loiseau *et al.* 1988 ; Dreyfuss *et al.* 1988 et 1990).

- L'étude du métabolisme du trypanothion, agent biochimique spécifique du trypanosome pourrait déboucher sur des progrès thérapeutiques (Henderson et Fairlamb 1987 ; Yarlett *et al.* 1990 ; WHO 1990). De nombreux trypanocides connus tels que le mélarsoprol et la DFMO pourrait en effet agir sur celui-ci.

Mais devant le coût prohibitif de la recherche de médicaments originaux, de nombreuses équipes étudient l'impact sur le trypanosome de médicaments connus, destinés au traitement d'autres affections (Seebeck et Gehr 1983 ; Dumas *et al.* 1985)

Dans cette optique les médicaments anticancéreux paraissent susceptibles, par leur action sur le métabolisme des acides nucléiques, d'inhiber de façon non spécifique la multiplication des trypanosomes.

Dès 1979, Kinnamon *et al.* démontrent l'activité trypanocide *in vivo* du cis-Pt sur des souris infectées par *T. b. rhodesiense*. La toxicité du cis-Pt constitue pourtant un obstacle majeur dans une utilisation trypanocide.

Ainsi Wisor *et al.* (1982), constatent la possibilité de traiter des souris infectées par ce même parasite en réduisant la toxicité du cis-Pt par la coadministration d'un chélateur, le diéthylthiocarbamate.

Meshnick *et al.* (1984) constatent l'activité trypanocide d'un complexe cis-Pt-acide polyglutamique, ainsi qu'une moins grande toxicité que celle du cis-Pt seul.

A partir de ces travaux et devant certaines similitudes entre le mécanisme d'action des trypanocides et des sels de métaux lourds sur la division cellulaire, certaines équipes travaillent à l'élaboration de complexes les associant. Le but est d'obtenir une potentialisation de l'effet thérapeutique associée à une moindre toxicité.

Ainsi dès 1982, Farrel *et al.* évaluent l'action de complexes platinés et rhodiés du diminazène sur la souris infectée par *T. b. rhodesiense* et observent une potentialisation de l'effet thérapeutique.

Depuis lors, de nombreux complexes organo-métalliques associant platine mais aussi Rhodium, Iridium, Osmium, Ruténium, à des médicaments antiparasitaires connus ont fait l'objet d'études.



Ruiz-Perez *et al.* en 1986 montrent in vitro l'intérêt d'un de ces produits, le chlorure de cis-Pt(II) pentamidine. Des expérimentations in vivo de cette molécule ont été effectuées sur divers trypanosomes africains (Rivera *et al.* 1987 ; Dreyfuss *et al.* 1988 ; Dreyfuss *et al.* 1990). L'efficacité de ce produit a conduit à élaborer des molécules voisines sont élaborées. L'iodure de cis-Pt(II) pentamidine est l'une d'elles, et fait l'objet de cette étude.

## **CHAPITRE IV**

### **L'IODURE DE CIS-Pt(II)**

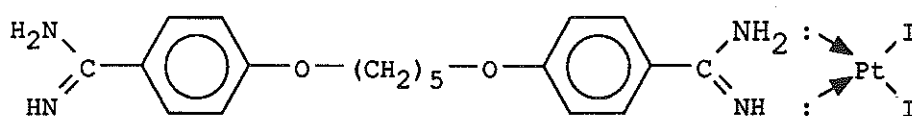
**PENTAMIDINE : effet trypanocide et  
cinétique sérique du platine chez le  
mouton.**

## IV.1 Préambule.

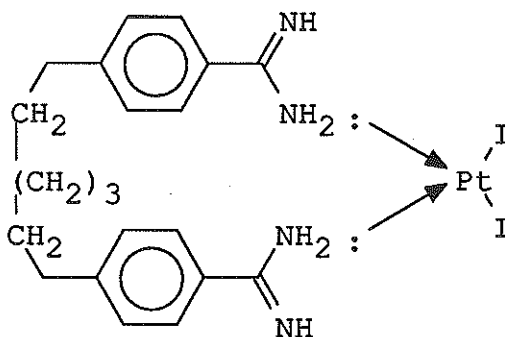
L'iodure de cis-Pt(II) pentamidine est très proche d'un produit ayant fait l'objet de plusieurs études précédentes, le chlorure de cis-Pt pentamidine (Dreyfuss *et al.* 1988 et 1990) et d'un mémoire de thèse (Ballout 1987).

La formule brute de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine est la suivante :  $C_{19}H_{24}O_2N_4I_2Pt$ .

La formule développée d'après Mr le professeur Craciunescu qui l'a synthétisé est la suivante.



Mais compte tenu de l'encombrement stérique du Pt, la formule développée pourrait être la suivante.



Le poids moléculaire est égal à 809,6.

Les caractères organoleptiques marquants de cette poudre sont sa couleur verdâtre et son caractère légèrement hygroscopique.

Insoluble dans la plupart des solvants, dont l'eau, l'iodure de cis-Pt Pentamidine est soluble dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à 5 % dans l'eau (Craciunescu 1991, com. pers.).

En ce qui concerne l'activité trypanocide, ce produit est considéré comme efficace à 5 mg/kg en injection intrapéritonéale chez la souris à dose unique (Loiseau 1992, com. pers.).

Les doses létales 50 (DL<sub>50</sub>) de ce médicament chez la souris sont :

- en injection intra-péritonéale : 950 à 975 mg.kg<sup>-1</sup>.
- en injection sous-cutanée : 1000 à 1050 mg.kg<sup>-1</sup>.

## IV.2 Méthodologie.

### IV.2.1 Matériel.

#### IV.2.1.1 Matériel biologique.

##### a. Animaux modèles.

L'animal modèle est le mouton (*Ovis aries*). Cette espèce infectée par *T. b. brucei* reproduit la trypanosomose humaine africaine (Bouteille *et al.* 1986, 1988 a et b ; Bouteille 1990) a en effet prouvé la représentativité de ce modèle dans les affections à trypanosomes africains.

Nous utilisons des moutons mâles âgés de 3 à 6 mois en début d'expérimentation, d'un poids corporel moyen de 26,5 kg. Ceux-ci sont numérotés de 1 à 4.

Le contrôle de leur état sanitaire se fait par examen clinique et nécessite une surveillance préalable en stabulation.

Ces animaux sont élevés en stabulation pendant toute l'expérimentation.

Il convient de signaler que ces animaux font l'objet de l'étude d'un médicament à usage externe contre la gâle ovine et souffrent donc de cette affection. Leur état général n'est visiblement pas affecté par cette maladie. Le médicament à usage externe utilisé n'interfère pas avec le dosage ultérieur du Pt après injection de l'iodure de cis-Pt pentamidine.

L'étude porte sur des moutons mâles afin de faciliter la surveillance clinique ; une orchite volumineuse constitue en effet un des signes de la trypanosomose à *T. b. brucei* chez le mouton.

##### b. Agent pathogène.

Il s'agit de *T. b. brucei*, ANTAT 1-9 aimablement fournie par le Laboratoire de Parasitologie du Centre Hospitalier Régional Universitaire de Limoges (Professeur Pestre-Alexandre). *T. b. brucei* présente différents avantages ; il est très voisin des

trypanosomes pathogènes de l'homme et il est facile à manipuler car non pathogène pour celui-ci.

La souche est entretenue sur souris Swiss avant l'inoculation aux moutons. Il est procédé à 3 repiquages successifs sur des lots de 2 à 3 souris, le dernier lot est sacrifié afin de constituer l'inoculum.

Les repiquages sont effectués par inoculation intrapéritonéale d'une suspension de sang murin infecté dans de l'eau physiologique. La quantité de suspension injectée à chaque souris du lot n'est pas constante pour éviter la perte de la souche par la mort simultanée des 2 ou 3 rongeurs avant le prochain repiquage.

L'entretien de la souche nous confirme sa pathogénicité. Les trypanosomes sanguicoles apparaissent, pour chaque lot, très mobiles au microscope optique. De plus les souris meurent rapidement en 3 à 4 jours (tableau 3).

|                 |   |   |   |   |   |   |
|-----------------|---|---|---|---|---|---|
| Souris n°       | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Jours de survie | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 |

Tableau 3 : Temps de survie des souris infectées par  $10^5$  trypomastigotes de *T. b. brucei* par voie intrapéritonéale.

#### IV.2.1.2 Matériel analytique.

Le matériel analytique utilisé est déterminé à partir des travaux préliminaires de Ballout (1987). Il est semblable à celui utilisé par Dreyfuss *et al.* (1990).

##### a. Matériel chimique d'extraction.

- Acide nitrique.
- 1-pyrrolidine dithiocarbamate d'ammonium en solution à 1% dans l'eau désionisée.
- Isopropylacétone saturée en eau.

##### b. Etalonnage.

- Sérums bovins à 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  de chlorure de Pt ( $\text{PtCl}_2$ ).

### c. Appareillage d'absorption atomique.

- Spectrophotomètre Perkin-Elmer 1100.
- Four graphite Perkin-Elmer HGA-400.
- Lampe à cathode creuse Pt Perkin-Elmer.

Le passeur automatique d'échantillons Perkin-Elmer fait l'objet de quelques modifications. Il est nécessaire de remplacer le capillaire d'origine en polychlorure de vinyle par un capillaire en téflon. L'utilisation du tube capillaire d'origine en polychlorure de vinyle est en effet impossible car celui-ci est dissout par le DMSO.

Le plateau tournant du passeur d'échantillons est également modifié de manière à recevoir des cupules en verre.

## **IV.2.2 Protocole.**

### **IV.2.2.1 Pharmacocinétique.**

#### a. Inoculation.

L'inoculum est obtenu par ponction cardiaque d'une souris 4 jours après l'infection. Il est constitué par  $10^5$  trypomastigotes dans 100  $\mu$ l de suspension de sang murin dans de l'eau physiologique (Bouteille 1990).

Les moutons sont inoculés comme suit :

- L'animal 1 n'est pas inoculé et constitue le mouton pharmacologique sain. Il nous servira de référence pour la surveillance clinique des moutons parasités.
- Les animaux 2 et 3 sont inoculés à  $J_0$  et constituent les moutons pharmacologiques parasités. L'étude de la cinétique sérique du Pt est effectuée à partir de ces 3 animaux.
- Le mouton 4 est également inoculé à  $J_0$  et constitue le mouton témoin d'infection ; il ne sera pas traité.

#### b. Traitement.

Le traitement consiste en l'injection sous-cutanée de l'iodure de cisPt pentamidine. Celui-ci s'effectue à  $J_8$ , période où le mouton est en phase lymphaticosanguine de l'affection expérimentale à *T. b. brucei* (Bouteille 1990).

L'injection se fait dans l'ars, zone nue chez le mouton.

Les doses injectées sont les suivantes :

- Mouton 1 : 15 mg.kg<sup>-1</sup>.
- Mouton 2 : 30 mg.kg<sup>-1</sup>.
- Mouton 3 : 5 mg.kg<sup>-1</sup> (voir p. 53).

La forme injectable du médicament est obtenu par solubilisation de celui-ci dans le DMSO à 70% dans l'eau pour préparation injectable. La solution obtenu titre 0,1 g.l<sup>-1</sup> en iodure de cis-Pt pentamidine.

Les quantités injectées sont les suivantes :

- Mouton 1 : 4 ml en sous-cutanée
- Mouton 2 : 8 ml en sous-cutanée
- Mouton 3 : 1,3 ml en sous-cutanée.

#### c. Contrôle de la parasitémie.

Le contrôle de la parasitémie s'effectue à J<sub>8</sub> sur des prélèvements sanguins en tubes héparinés. Le prélèvement s'effectue à la veine jugulaire de l'animal.

Ces échantillons sont examinés ensuite :

- à l'état frais entre lame et lamelle
- après concentration sur DEAE-cellulose selon la technique de Lanham et Godfrey (1970).

#### d. Recueil des sérums et conservation.

Les échantillons sanguins sont recueillis à la veine jugulaire du mouton selon les horaires indiqués dans le tableau 4 (le mouton 3 ne fait l'objet que de deux prélèvement à 24 et 48 heures car la dose injectée est trop faible pour suivre correctement la cinétique sérique du platine dans les premières heures). Le recueil s'effectue sur tubes secs. Une décantation de 12 heures à +4°C est ensuite réalisée. Le sérum est séparé du caillot à la pipette Pasteur. Les échantillons sont ensuite répartis en tubes hermétiques et conservés à -18°C plusieurs semaines jusqu'au dosage.

|                      | MOUTONS |      |    |
|----------------------|---------|------|----|
| HORAIRE<br>en heures | 1       | 2    | 3  |
| T <sub>0</sub>       | 0       | 0    | 0  |
| T <sub>1</sub>       | -       | 0,75 | 24 |
| T <sub>2</sub>       | 1,5     | 1,5  | 48 |
| T <sub>3</sub>       | 3,25    | 3,33 |    |
| T <sub>4</sub>       | 5       | 5    |    |
| T <sub>5</sub>       | 7,33    | 7,33 |    |
| T <sub>6</sub>       | 9,4     | 9,5  |    |
| T <sub>7</sub>       | 11,33   | 11,5 |    |
| T <sub>8</sub>       | 24      | 24   |    |
| T <sub>9</sub>       | 48      | 48   |    |

Tableau 4 : Chronologie des prélèvements sériques chez les moutons traités par l'iodure de cis-Pt pentamidine.

Mouton 1 : non parasité, traité à 15 mg.kg<sup>-1</sup>.

Mouton 2 : parasité, traité à J<sub>8</sub> à 30 mg.kg<sup>-1</sup>.

Mouton 3 : parasité, traité à J<sub>8</sub> à 5 mg.kg<sup>-1</sup>.

#### e. Surveillance des moutons.

Il convient de distinguer deux périodes dans la surveillance des animaux :

- Pendant la semaine qui suit l'inoculation et la semaine qui suit le traitement est exercée une surveillance quotidienne.

- Pendant les autres périodes, nous procédons à une surveillance hebdomadaire.



Celle-ci consiste en la recherche des signes cliniques objectifs de la trypanosomose expérimentale du mouton à *T. b. brucei* qui sont une anémie marquée précoce et l'apparition plus tardives d'orchites et d'anomalies comportementales (Bouteille 1990).

Une pesée est effectuée à J<sub>50</sub> ; un amaigrissement important étant un des symptômes de l'affection.

La durée totale de l'observation est de 9 mois.

#### IV.2.2.2 Protocole analytique.

##### a. Extraction.

L'extraction est effectuée selon le protocole de Hull *et al.* (1981) modifié (Figure 7).

En ce qui concerne les solutions étalons, il est procédé à une mise en contact de dilutions aqueuses de PtCl<sub>2</sub> avec du sérum bovin. Le contact dure 24 heures ; cette manipulation ayant pour but de réaliser la fixation protéique du médicament. Il est ensuite procédé à une extraction identique à celle pratiquée sur les échantillons. Après décongélation de ceux-ci à +4° C pendant 24 heures, on leur ajoute 0,5 ml d'acide nitrique pur. Après agitation à l'agitateur mécanique, un chauffage de 5 minutes au bain-marie bouillant est effectué. Après refroidissement, sont ajoutées 4 ml d'eau désionisée. L'addition de 5 ml de 1-pyrrolidine dithiocarbamate d'ammonium est effectué après une nouvelle agitation de 1 minute. Le complexe de platine avec le 1-pyrrolidine dithiocarbamate d'ammonium est ensuite extrait dans 1 ml d'isopropylacétone. On agite 1 minute et on procède à une centrifugation de 12 minutes à 2500 G. Le surnageant d'isopropylacétone est ensuite recueilli à la pipette Pasteur.

Le protocole d'extraction dans son ensemble est présenté dans la figure 7.

##### b. Dosage.

Le dosage a lieu immédiatement après l'extraction pour éviter l'adsorption du platine sur le verre des tubes à hémolyse ayant servis au recueil des extractums.

Celui-ci s'effectue par spectrophotométrie d'absorption atomique. Cette méthode a été appliquée à ce type de molécule par Hull *et al.* (1981), en raison de sa grande précision. Celle-ci a été adaptée Dreyfuss *et al.* (1988).

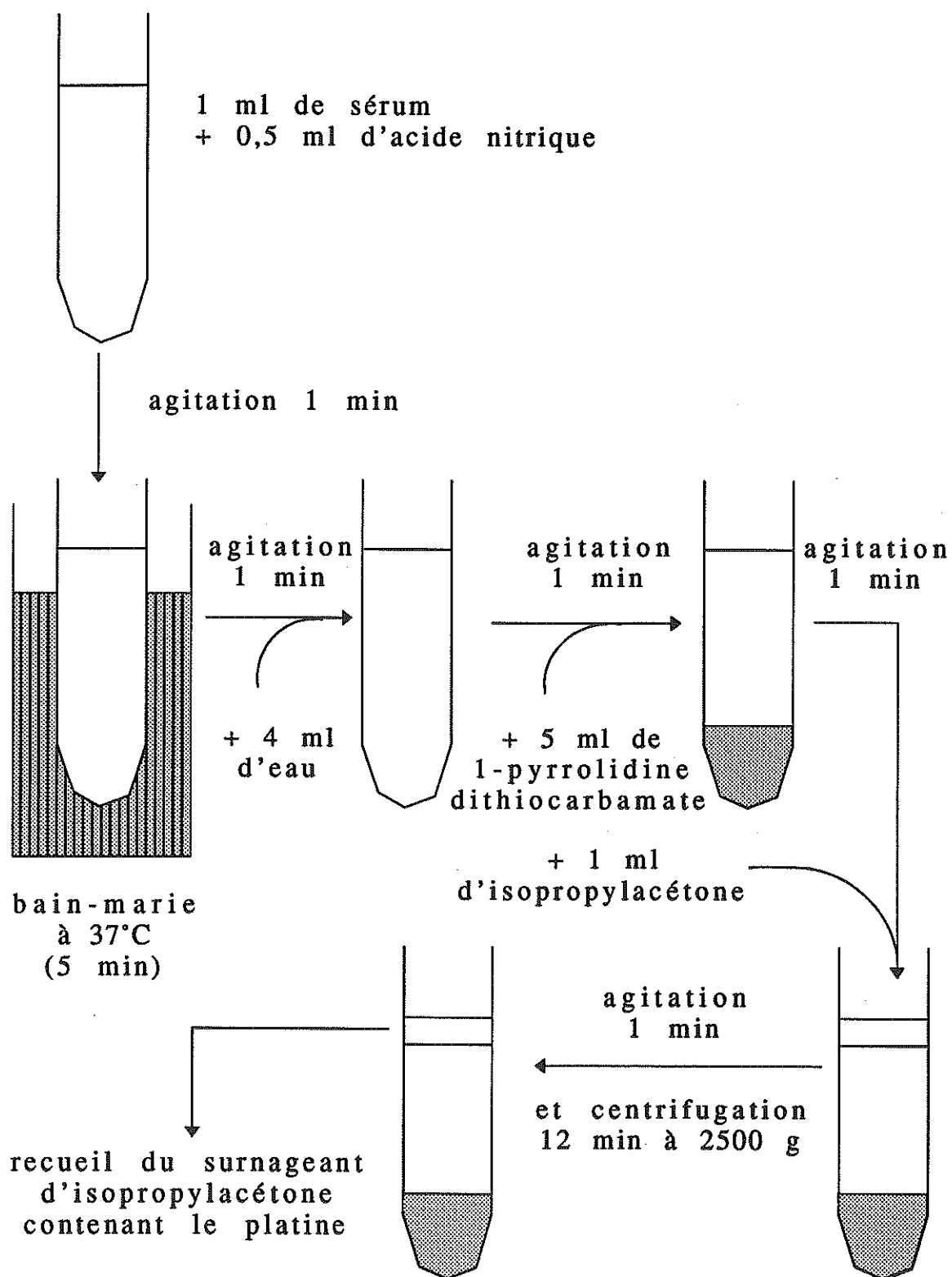


Figure 7. Schéma d'extraction du platine selon le protocole de Hull *et al.* (1981) modifié.

Sur chaque prélèvement sont effectués trois dosages. La moyenne des résultats de ces trois dosages est utilisée pour déterminer la cinétique sérique du platine.

La programmation du four est précisée dans le tableau 5.

| Phase                                | 1           | 2    | 3    | 4    | 5  | 6    |
|--------------------------------------|-------------|------|------|------|----|------|
| Température (°C)                     | 100         | 1500 | 1500 | 2700 | 20 | 2700 |
| Montée en T° (s)                     | 10          | 10   | 0    | 0    | 10 | 4    |
| Temps de maintien en température (s) | 60          | 20   | 2    | 5    | 5  | 4    |
| Lecture (s)                          |             |      | (1)  |      |    |      |
| Mini-flow                            |             |      |      |      |    |      |
| Stop-flow                            |             | +    | +    |      |    |      |
| Temps d'intégration.                 | 6 secondes. |      |      |      |    |      |

Tableau 5 : Programmation du four graphite en Spectrophotométrie d'absorption atomique de l'iodure de cis-Pt pentamidine.

(Volume d'échantillon prélevé : 20 µl).

La vaporisation s'effectue dans des tubes sans plateau.

Le spectrophotomètre d'absorption atomique est étalonné initialement par des solutions aqueuses de PtCl<sub>2</sub> titrant respectivement :

- 0,05 µg.ml<sup>-1</sup>
- 0,1 µg.ml<sup>-1</sup>
- 1 µg.ml<sup>-1</sup>
- 5 µg.ml<sup>-1</sup>
- 10 µg.ml<sup>-1</sup>.

La courbe étalon est déterminée en début de dosage à l'aide de sérums bovins extraits dans les mêmes conditions que les échantillons. Ceux-ci correspondent à des concentrations en  $\text{PtCl}_2$  de :

- 0,1  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 0,25  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 0,5  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 0,75  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 1  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 1,25  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 1,5  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 2  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 2,5  $\mu\text{g.ml}^{-1}$
- 3  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ .

Les échantillons sont dosés ensuite, un étalon est intercalé tous les 4 à 5 échantillons. Trois dosages de chaque échantillon et de chaque étalon sont effectués. Une moyenne des résultats de ces dosages constitue la donnée exploitée ultérieurement.

L'appareil fournit 2 paramètres : la hauteur et la surface du pic d'absorbance. Seul le premier sera retenu.

#### **IV.2.3 Traitement des données expérimentales.**

Outre l'étude de l'activité trypanocide de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine en phase lymphaticosanguine de la trypanosomose expérimentale du mouton, l'objet de cette recherche est de déterminer la cinétique sérique expérimentale du Pt après injection du médicament chez le mouton sain et le mouton trypanosomé.

Les courbes sériques expérimentales sont ensuite comparées à un modèle informatisé défini par J. Debord, tenant compte du métabolisme connu du cis-Pt et de la Pentamidine. Une fois la courbe de cinétique théorique déterminée, la comparaison de celle-ci avec la courbe expérimentale conduit à modéliser le métabolisme du médicament sous forme d'un ensemble d'équations différentielles.

## IV.3 Résultats.

### IV.3.1 Activité antiparasitaire.

L'examen de prélèvements sanguins à  $J_8$ , avant injection de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine a permis de noter une faible parasitémie pour les moutons 2 et 3, constatée après concentration sur DEAE-cellulose des trypomastigotes sanguicoles selon la technique de Lanham et Godfrey (1970). L'infection de ces animaux est ainsi confirmée, et compte tenu des signes cliniques évident à court terme de la trypanosomose chez le modèle ovin (Bouteille 1990), nous nous contentons ensuite d'une surveillance clinique régulière.

Il n'est pas retrouvé de trypomastigotes sanguicoles chez le mouton 4 ou mouton témoin. Aucun des animaux n'a montré, lors des 8 mois de surveillance, de signes de trypanosomose. Ils sont à ce jour tous vivants. Une pesée effectuée à  $J_{50}$ , stade habituellement cliniquement perceptible de l'affection, n'a montré aucun amaigrissement notable chez les animaux modèles (voir p. 53).

| MOUTONS | $J_0$ | $J_{50}$ |
|---------|-------|----------|
| 1       | 27,5  | 30       |
| 2       | 27    | 28,5     |
| 3       | 25    | 25       |
| 4       | 26,5  | 26,5     |

Tableau 6 : Evolution du poids corporel des moutons de  $J_0$  à  $J_{50}$ .

### IV.3.2 Résultats de la pharmacocinétique expérimentale.

#### IV.3.2.1 Valeurs expérimentales.

Les valeurs expérimentales sont regroupées dans les tableaux n° 6 à 9.

|   |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                          |                         |
|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Concentration en Pt ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) | 0,10                    | 0,25                    | 0,5                     | 0,75                    | 1,00                    | 1,25                    | 1,50                    | 2,00                    | 2,50                     | 3,00                    |
| Densité optique                               | $0,047 \pm 4,5.10^{-3}$ | $0,117 \pm 5,0.10^{-3}$ | $0,242 \pm 4,0.10^{-3}$ | $0,296 \pm 1,5.10^{-3}$ | $0,425 \pm 7,0.10^{-3}$ | $0,501 \pm 9,0.10^{-3}$ | $0,582 \pm 7,0.10^{-3}$ | $0,682 \pm 7,0.10^{-3}$ | $0,857 \pm 14,5.10^{-3}$ | $1,005 \pm 9,0.10^{-3}$ |

Tableau 7 : Densité optique des solutions étalons de Pt après extraction de sérums bovins.

Ces valeurs permettent d'obtenir un tracé rectiligne jusque vers la valeur  $1,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$  puis qui s'infléchit ensuite avec les plus hautes concentrations (Figure 8).

|   |   |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                         |
|---|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Horaire des prélèvements                      | 0 | 1,5                     | 3,25                    | 5                       | 7,33                    | 9,4                     | 11,33                   | 24                      | 48                      |
| Concentration en Pt ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) | 0 | $0,112 \pm 0,9.10^{-2}$ | $0,202 \pm 1,6.10^{-2}$ | $0,382 \pm 3,2.10^{-2}$ | $0,617 \pm 3,3.10^{-2}$ | $0,666 \pm 5,2.10^{-2}$ | $0,831 \pm 6,3.10^{-2}$ | $0,718 \pm 5,9.10^{-2}$ | $0,732 \pm 5,0.10^{-2}$ |

Tableau 8 : Résultat du dosage du Pt sérique chez le mouton 1 (animal non parasité traité à  $15 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

|   |   |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                         |                          |
|---|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Horaire des prélèvements                      | 0 | 0,75                    | 1,5                     | 3,33                    | 5,25                    | 7,33                    | 9,5                     | 11,5                    | 24                      | 48                       |
| Concentration en Pt ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) | 0 | $0,177 \pm 0,7.10^{-2}$ | $0,352 \pm 2,1.10^{-2}$ | $0,635 \pm 3,9.10^{-2}$ | $0,765 \pm 6,4.10^{-2}$ | $1,035 \pm 4,2.10^{-2}$ | $1,106 \pm 8,6.10^{-2}$ | $1,235 \pm 2,9.10^{-2}$ | $1,858 \pm 7,3.10^{-2}$ | $2,001 \pm 10,8.10^{-2}$ |

Tableau 9 : Résultats du dosage du Pt sérique chez le mouton 2 (animal parasité traité à  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

## Courbe étalon

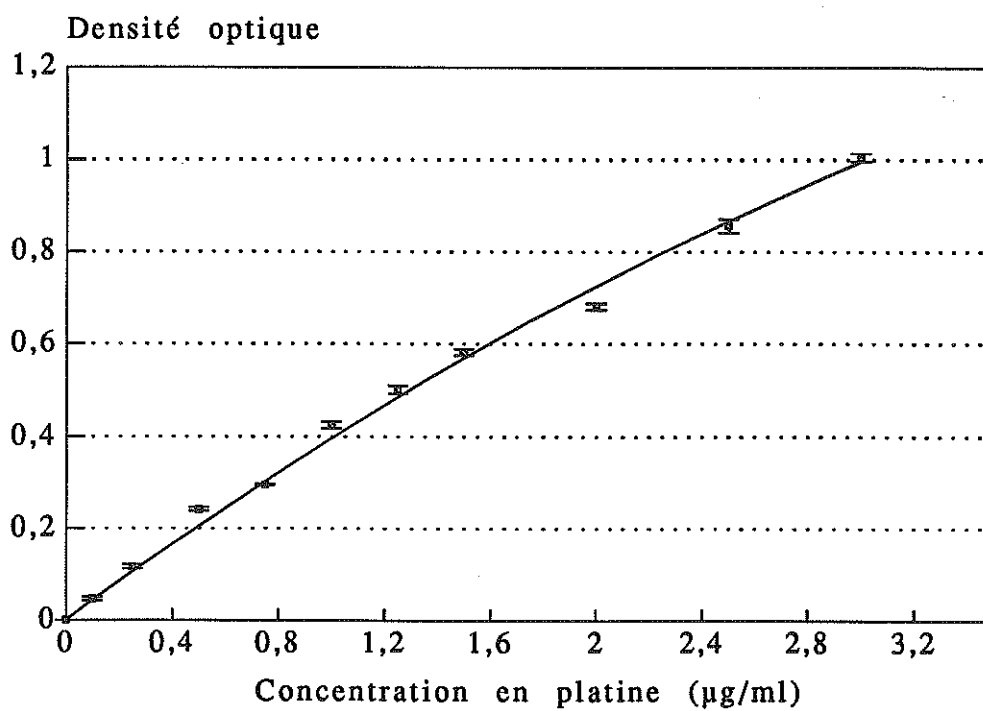


Figure 8. Courbe étalon du dosage du platine.

| Horaire des prélèvements | Concentration en Pt ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) |
|--------------------------|---|
| 0                        | 0   |
| 24                       | $0,330 \pm 2,5.10^{-2}$                       |
| 48                       | $0,263 \pm 1,8.10^{-2}$                       |

Tableau 10 : Résultats du dosage du platine chez le mouton 3 (animal parasité traité à  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ).

#### IV.3.2.2 Courbes expérimentales de cinétique sérique.

Un traitement informatique des résultats des tableaux 6 à 8, permet de tracer les courbes de cinétique sérique du platine chez les moutons 1 et 2, après étalonnage par  $\text{PtCl}_2$  (Figure 9).

##### a. Aspect de la courbe de concentration sérique en Pt chez le mouton 1 ( $15 \text{ mg.kg}^{-1}$ ; non parasité).

La courbe croît rapidement pour atteindre un maximum de concentration sérique en platine vers la 12<sup>ème</sup> heure après le traitement. On observe ensuite une lente décroissance jusqu'à la 24<sup>ème</sup> heure, suivie d'un plateau entre la 24<sup>ème</sup> et la 48<sup>ème</sup> heure. La concentration sérique demeure proche de la concentration maximale jusqu'à la 48<sup>ème</sup> heure.

##### b. Aspect de la courbe de concentration sérique en Pt chez le mouton 2 ( $30 \text{ mg.kg}^{-1}$ ; animal parasité).

On constate une augmentation de la concentration sérique en platine, mais la pente de la courbe diminue régulièrement et tend vers 0 au-delà de la 48<sup>ème</sup> heure. La valeur maximale de concentration sérique semble située à plus de 48 heures après l'injection du médicament.



Iodure de cis-Pt(II) pentamidine  
Cinétique sérique expérimentale

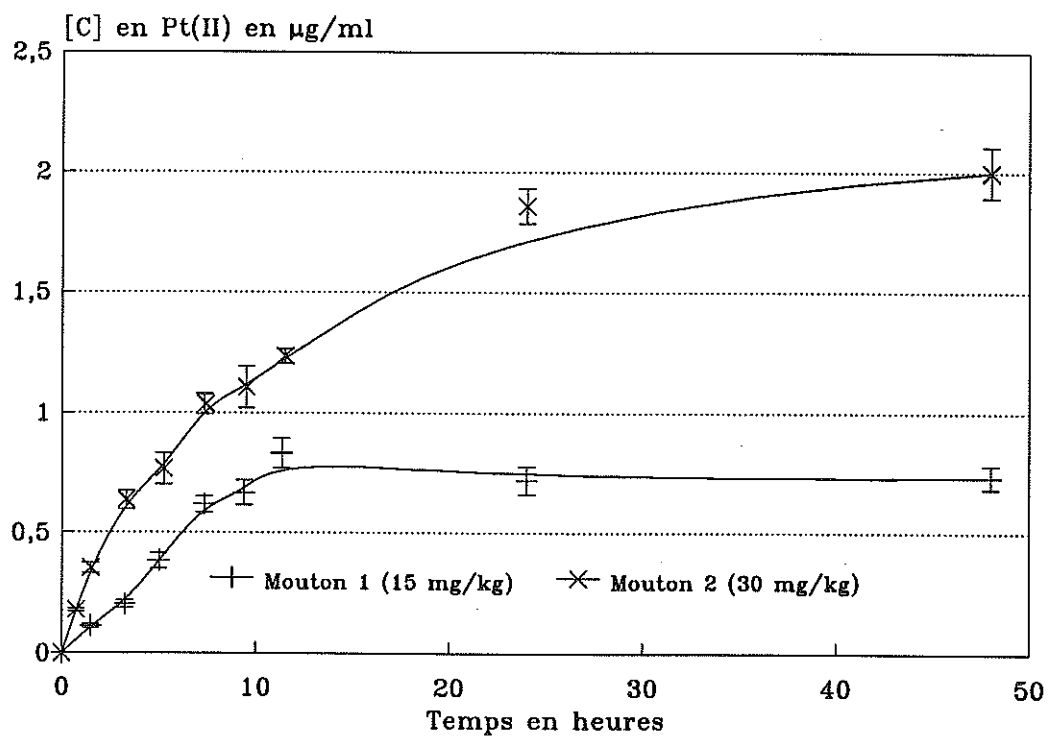


Figure 9. Variation de la concentration sérique en platine après injection sous-cutanée d'iodure de cis-Pt(II) pentamidine aux moutons.

### IV.3.2.3 Modélisation de la pharmacocinétique

le principe de cette modélisation est exposé dans le chapitre II.2.3.

Le métabolisme du Pt est ainsi défini par un ensemble d'équations différentielles correspondant à un système ouvert à 2 compartiments.

Le schéma du métabolisme est présenté dans la figure 10.

$C_1$  = Variation de la concentration cutanée ( $C_1 = dC_1/dt$ ).

$C_2$  = Variation de la concentration sérique ( $C_2 = dC_2/dt$ ).

$C_3$  = Variation de la concentration au niveau des organes profonds ( $C_3 = dC_3/dt$ ).

$C_4$  = Cinétique d'élimination ( $C_4 = dC_4/dt$ ).

Les équations sont du type :

$$C_1 = -K_1 \cdot x_1$$

$$C_2 = K_1 \cdot x_1 + K_{22} \cdot x_2 - K_2 \cdot x_2 - K_3 \cdot x_3$$

$$C_3 = K_2 \cdot x_2 - K_{22} \cdot x_2$$

$$C_4 = K_3 \cdot x_2$$

Les  $x_i$  représentent les valeurs des concentrations du platine dans les tissus par approximation successives et intégration numérique.

Les valeurs de  $K_i$  sont les mêmes pour le mouton 1 (15 mg.kg<sup>-1</sup> ; non parasité) et le mouton 2 (30 mg.kg<sup>-1</sup> ; parasité), sauf en ce qui concerne  $K_1$ , caractérisant la cinétique d'élimination.

Pour le mouton 1 :

$$K_1 = 0,1t^{0,5}$$

$$K_2 = 0,65$$

$$K_{22} = 0,24$$

$$K_3 = 0,005$$

Pour le mouton 2 :

$$K_1 = 0,15$$

$$K_2 = 0,65$$

$$K_3 = 0,24$$

$$K_4 = 0,005$$

La cinétique modélisée du produit est représentée dans les figures 11 et 12.

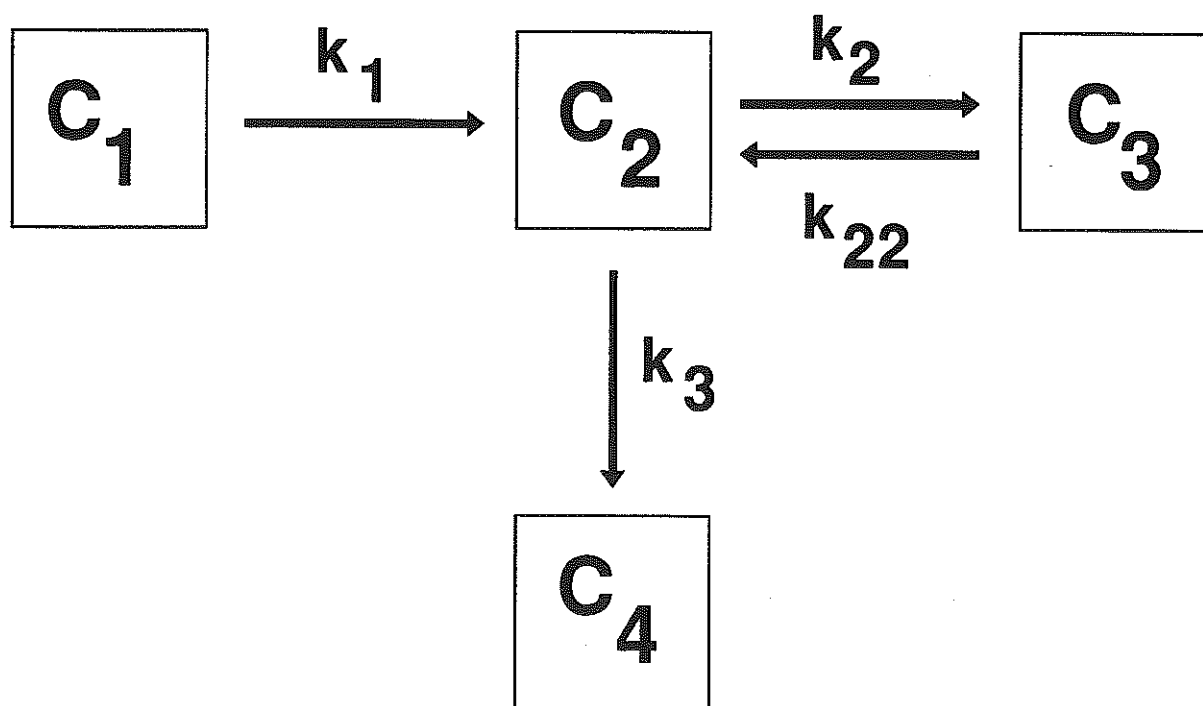


Figure 10. Représentation schématique de la distribution de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine.

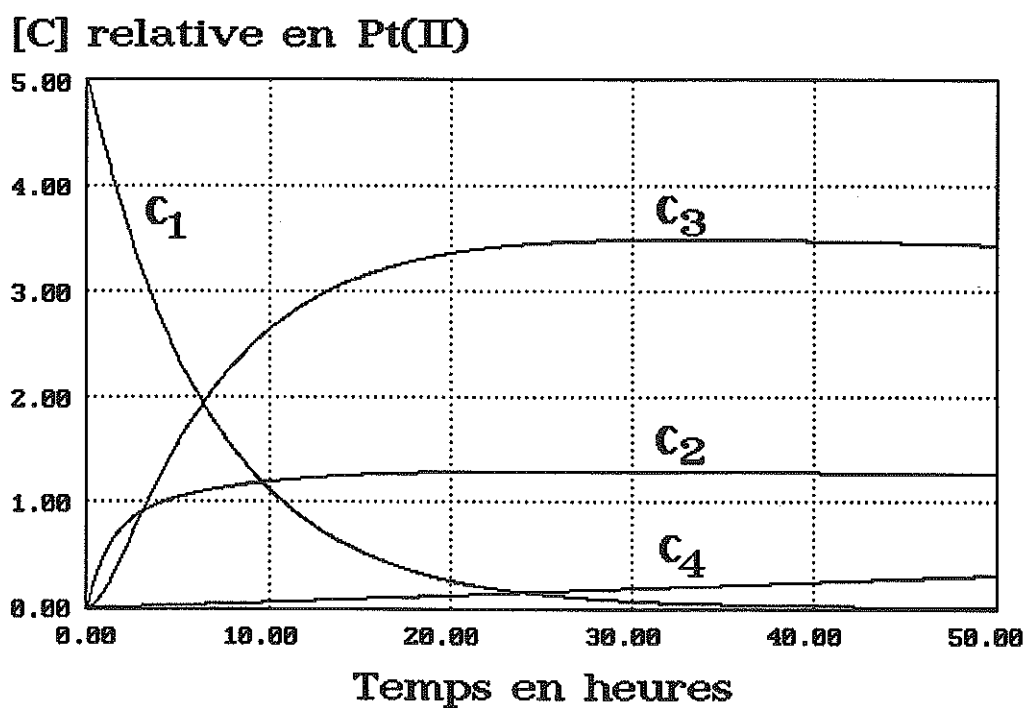


Figure 11. Evolution dans le temps des concentrations compartimentales en platine.

Courbes calculées pour le mouton traité à  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$  en injection sous-cutanée de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine par intégration numérique d'équations différentielles. La courbe  $C_2$  représentent les taux sériques correspondant à la figure du mouton 2 de la figure 9.

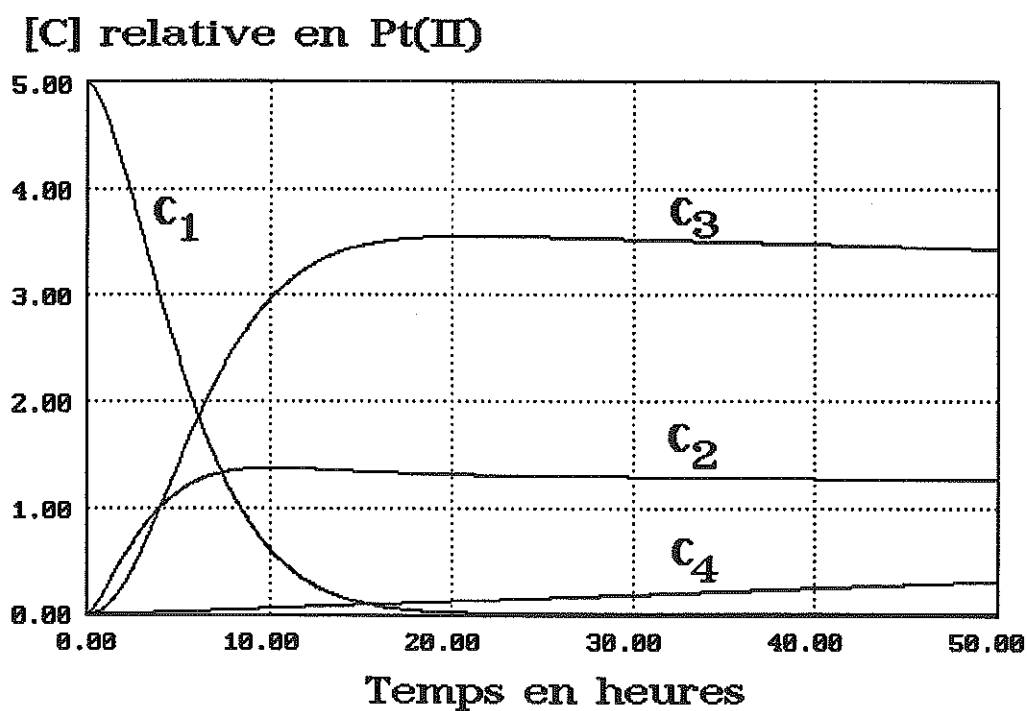


Figure 12. Evolution dans le temps des concentrations compartimentales en platine.

Courbes calculées pour le mouton traité à  $15 \text{ mg.kg}^{-1}$  en injection sous-cutanée de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine par intégration numérique d'équations différentielles. La courbe  $C_2$  représentent les taux sériques correspondant à la figure du mouton 1 de la figure 9.

## IV.4 Discussion.

### IV.4.1 Protocole et méthodes.

Cette étude reprend certaines des caractéristiques d'une publication récente (Dreyfuss *et al.*, 1990).

Le protocole opératoire n'a pas fait apparaître de difficultés particulières, hormis l'inoculation du mouton 4 (mouton témoin). En effet alors que les animaux 2 et 3 ont été parasités par l'injection de  $10^5$  trypomastigotes de *T. b. brucei*, le mouton 4 n'a présenté aucun des signes objectifs d'infection. La survie de l'inoculum dans de l'eau physiologique paraît donc limitée, et il est préférable d'utiliser des milieux de survie plus adaptés (PBS). Il est en effet possible qu'un délai supplémentaire d'attente de l'inoculum (environ 10 minutes) ait été préjudiciable, le mouton 4 ayant été inoculé le dernier.

Malgré l'échec du témoin l'expérimentation garde toute sa valeur ; une étude récente parallèle avec la même souche a montré sa haute pathogénicité pour le mouton.

En ce qui concerne le traitement proprement dit, il a été nécessaire de procéder à une dissolution du médicament dans du DMSO à 70 %. En effet selon Craciunescu (1991, com. pers.), le médicament est utilisable en solution dans le DMSO à 5 % dans de l'eau distillée chez la souris, mais la transposition de ce protocole du modèle murin au modèle ovin où l'on doit injecter une quantité importante de produit sous un volume proportionnellement plus faible, n'a pas été possible. La quantité de DMSO à 5 % nécessaire pour dissoudre le produit est trop importante pour un traitement sous-cutané.

Malheureusement l'injection de DMSO à 70 % crée une importante douleur au point d'injection et une impotence temporaire du membre chez le mouton. Il sera préférable dans l'avenir d'injecter une suspension aqueuse du produit réalisée par sonication, sans pour autant perdre de vue que l'injection d'une suspension modifiera sa pharmacocinétique.

Nous avons choisi d'effectuer les études de pharmacocinétique sur deux moutons à des doses supérieures à la dose thérapeutique ( $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) (Craciunescu Com. Pers. 1991), pour des raisons de faisabilité de dosage. L'étude précédente a en effet démontré la difficulté de doser le produit après un traitement à une posologie de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Dreyfuss *et al.*, 1990). Une posologie de  $15 \text{ mg.kg}^{-1}$  (mouton 1) et  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$  (mouton 2) offre une plus grande précision de dosage sans risque toxique chez la souris.

Le protocole de dosage du platine est voisin de celui pratiqué lors de l'étude précédente (Dreyfuss *et al.*, 1990). Quelques modifications ont été apportées :

- Lors de l'extraction il nous a paru utile de procéder à une centrifugation à la fois plus longue (12 minutes au lieu de 1 minute) et plus rapide (2500 g au lieu de 1500 g). En effet de cette phase dépend la quantité d'extrait finale donc le nombre de dosages analytiques possibles.

- La programmation du four en spectrophotométrie d'absorption atomique est également légèrement modifiée : la lecture s'effectue en phase 3 (tableau 5). De plus le volume d'échantillon prélevé est ici de 20  $\mu\text{l}$  et non de 200  $\mu\text{l}$ .

#### **IV.4.2 Effet trypanocide.**

L'effet trypanocide est connu pour le chlorure de cis-Pt(II) pentamidine à  $12,5\text{mg.kg}^{-1}$  en injection sous-cutanée unique (Dreyfuss *et al.* 1988 et 1990). De plus l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine traite la souris à la dose unique de  $5\text{ mg.kg}^{-1}$ .

Dans cette étude tous les moutons ont survécu plus de 8 mois, ce qui est supérieur à la durée moyenne de survie du modèle qui est de 75 jours (Bouteille 1990). Néanmoins les animaux n'ont présenté aucun des symptômes classiques de la maladie : orchites, oedèmes, perte de poids, troubles comportementaux (Bouteille 1990).

Le traitement à  $J_8$  des moutons 2 et 3 est donc probablement responsable de leur survie et de l'absence d'expression clinique de la maladie.

L'effet antiparasitaire du produit en phase de polarisation neuro-méningée n'a pas été évaluée mais il paraît vraisemblable que l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine ne franchit pas la barrière hémoméningée, compte tenu que le chlorure de cis-Pt(II) pentamidine n'a jamais été détectée dans le liquide céphalo-rachidien lors d'une étude précédente (Dreyfuss *et al.*, 1990).

L'iodure de cis-Pt(II) pentamidine apparaît donc comme un produit efficace à dose unique de  $5\text{ mg.kg}^{-1}$  sur le mouton en phase lymphaticosanguine de la trypanosomose expérimentale . Le complexe iodé est trypanocide à  $5\text{ mg.kg}^{-1}$  ce qui correspond à  $3,4\text{ mg.kg}^{-1}$  de cis-Pt pentamidine. Le chlorure s'était avéré actif sur la souris et le mouton à  $12,5\text{ mg.kg}^{-1}$  (Dreyfuss *et al.* 1990), soit  $11\text{ mg.kg}^{-1}$  de cis-Pt pentamidine. L'iodure est donc trypanocide à une concentration en cation cis-Pt pentamidine environ trois fois plus faible que le chlorure, compte tenu de la différence de poids moléculaire entre les deux sels.

Cette plus grande efficacité pourrait être due à une meilleure liposolubilité (voir p.63), donc à un meilleur franchissement de la membrane cytoplasmique du trypanosome.

De plus l'efficacité de ce type de médicament ne semble pas limitée à *T. b. brucei*. Une étude préliminaire *in vitro* et *in vivo* démontre en effet l'action de la cis-Pt pentamidine sur d'autres trypanosomes africains : *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense* (Zingsstag *et al.* 1991). Dans cette étude les complexes de la pentamidine (dont le chlorure de cis-Pt(II) pentamidine) ne semblent pas avoir une activité supérieure à celle de la pentamidine, mais confirme leur moins grande toxicité (20 fois moindre).

Les trypanosomes américains, malgré leur cycle différent sont également sensibles à la cis-Pt pentamidine. Une étude sur le rat (Rivéra *et al.* 1988) indique une activité sur *T. venezuelense* pour une DE<sub>50</sub> de 31,8 mg.kg<sup>-1</sup> et sur *T. cruzi* à 344 mg.kg<sup>-1</sup> ce qui confirme les résultats *in vitro* de Ruiz Perez *et al.* sur ce dernier parasite (1986).

Le mode d'action de la cis-Pt pentamidine sur les Trypanosomatidae est mal connu, mais il est probable que celui-ci résulte de l'action cumulée des composants du chélate sur l'ADN trypanosomien. La pentamidine semble en effet avoir une influence sur la biosynthèse de l'ADN de ce parasite (Sands *et al.* 1985 ; Goodman and Gilman's 1991), alors que le Cis-Pt est un intercalant bien connu de l'ADN. Osuna *et al.* (1987) ont d'ailleurs démontré l'inhibition de l'incorporation des bases dans l'ADN de *T. cruzi* par des analogues du Cis-Pt.

Les complexes de métaux rares étudiés sous l'angle de leur effet trypanocide ne se limitent aux seuls complexes du platine. Ainsi divers travaux de Craciunescu ont permis d'étudier de nombreuses molécules organométalliques tant du point de vue antitumoral qu'antiparasitaire. Outre le platinet(II) et le platine(IV), les métaux rares ainsi étudiés sont :

- le rhodium(I) (Craciunescu *et al.* 1988, 1990),
- le rhodium(III) (Craciunescu *et al.* 1987, 1988, 1989, 1990 ; Ruiz-Perz *et al.* 1986, 1988),
- l'iridium(I) (Craciunescu *et al.* 1991),
- L'iridium(II) (Craciunescu *et al.* 1991),
- L'iridium(III) (Craciunescu *et al.* 1990),
- Le ruténium(III) (Craciunescu *et al.* 1988 ; 1991),
- L'osmium(III) (Craciunescu *et al.* 1988),
- Et enfin l'osmium(IV) (Craciunescu *et al.* 1991).



### **IV.4.3 Cinétique sérique.**

Le platine dosé dans notre étude peut avoir diverses origines :

- La cis-Pt(II) pentamidine circulante dont le Pt est extrait selon le protocole indiqué précédemment.

- Une autre forme de platine sérique résultant de la métabolisation possible du chélate de départ

La répartition du platine entre ces deux origines n'est pas connue, nous nous limiterons donc à la détermination de la cinétique plasmatique du platine total, après injection de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine.

Les cinétiques expérimentales du Pt sont décrites dans le chapitre IV.3.2.

Les cinétiques plasmatiques modélisées font apparaître pour les deux moutons plusieurs observations :

- une résorption lente à partir du site d'injection
- une fixation importante et lentement réversible au niveau des organes profonds ( $C_3$ ).
- une élimination également très lente ( $C_4$ )
- une remarquable persistance sérique ( $C_5$ ).

On constate donc globalement une faible vitesse dans les transferts entre les différents compartiments biologiques ce qui maintient la stabilité de la concentration plasmatique.

#### **IV.4.3.1 Comparaison des cinétiques expérimentales et modélisées des deux moutons traités.**

Si l'on considère la cinétique expérimentale, on constate chez le mouton 1 l'atteinte plus rapide du plateau après une ascension plus lente de la concentration sérique.

Si l'on considère les cinétiques modélisées, on observe une moins grande vitesse de résorption chez le mouton 2.

Il est probable que ces variations puissent être pour une part imputées aux différences de posologie. L'hypothèse d'une cinétique non linéaire du produit peut être avancée. On doit pourtant relativiser cette remarque car d'après Houin (1990), on ne peut conclure que si un minimum de 4 doses croissantes sont administrées.

Il convient également de ne pas négliger l'influence éventuelle de l'état sanitaire des deux animaux sur la cinétique du médicament. En effet chez le chien par exemple, la fièvre modifie la cinétique sérique du cis-Pt (Rivière *et al.* 1990). Cet état physiologique est fréquent

chez le mouton trypanosomé (comme le mouton 2) et pourrait donc influencer sur la cinétique sérique du Pt dans notre étude.

Il paraît intéressant de comparer la cinétique de ce produit à celle des 2 composants du chélate et à celle du chlorure de cis-Pt pentamidine.

#### IV.4.3.2 Comparaison avec la cinétique du cis-Pt.

Il est intéressant de comparer la cinétique du platine après injection de l'iodure de cis-Pt pentamidine, avec la cinétique du cis-Pt injecté en l'état.

Le Cis-Pt a une demi-vie plasmatique initiale ( $T_{1/2}$  de 25 à 50 minutes suivie d'un deuxième pic correspondant à une demi-vie de 58 à 73 heures (Goodman and Gilman's 1991). Il est peu métabolisé, hormis par l'intermédiaire de nucléophiles endogènes (Léonard *et al.* 1971 ; Riley et Sternson 1985).

La fixation protéique est importante et stable. Le cis-Pt se fixe chez l'homme dans les tissus, surtout dans le rein, le foie, le poumon et les organes génitaux (Figure 13).

Les cinétiques plasmatiques du cis-Pt et du platine après injection du complexe étudié sont peu comparables malgré une persistance sérique importante dans les deux cas. Mais dans notre étude, l'élimination du Pt semble beaucoup plus lente et surtout sa cinétique n'est pas biphasique contrairement à celle du Cis-Pt injecté en l'état. La chélation du cis-Pt avec la pentamidine et les deux iodures influe donc grandement sur sa cinétique plasmatique.

Il convient de nuancer ces observations par le fait que les posologies ne sont pas équivalentes. De plus, notre étude porte sur le mouton qui n'offre pas les mêmes caractéristiques métaboliques que l'homme ou les autres modèles expérimentaux.

#### IV.4.3.3 Comparaison avec la cinétique de la pentamidine.

D'après Ballout (1987), la cinétique de la pentamidine est caractérisée par un passage très rapide dans le sang, une fixation très forte sur les tissus hépatiques et rénaux et une élimination lente avec absence de métabolisation.

Chez l'homme, Waalkes *et al.* (1970 et 1976) observent aux doses usuelles un pic sérique une heure après l'injection avec des valeurs de l'ordre de 0,3 à 0,4 mg.ml<sup>-1</sup>. L'élimination essentiellement urinaire mais aussi fécale est lente ( $T_{1/2}$  supérieure à 60 jours) chez le rat (Launoy *et al.* 1960) (Figure 14).

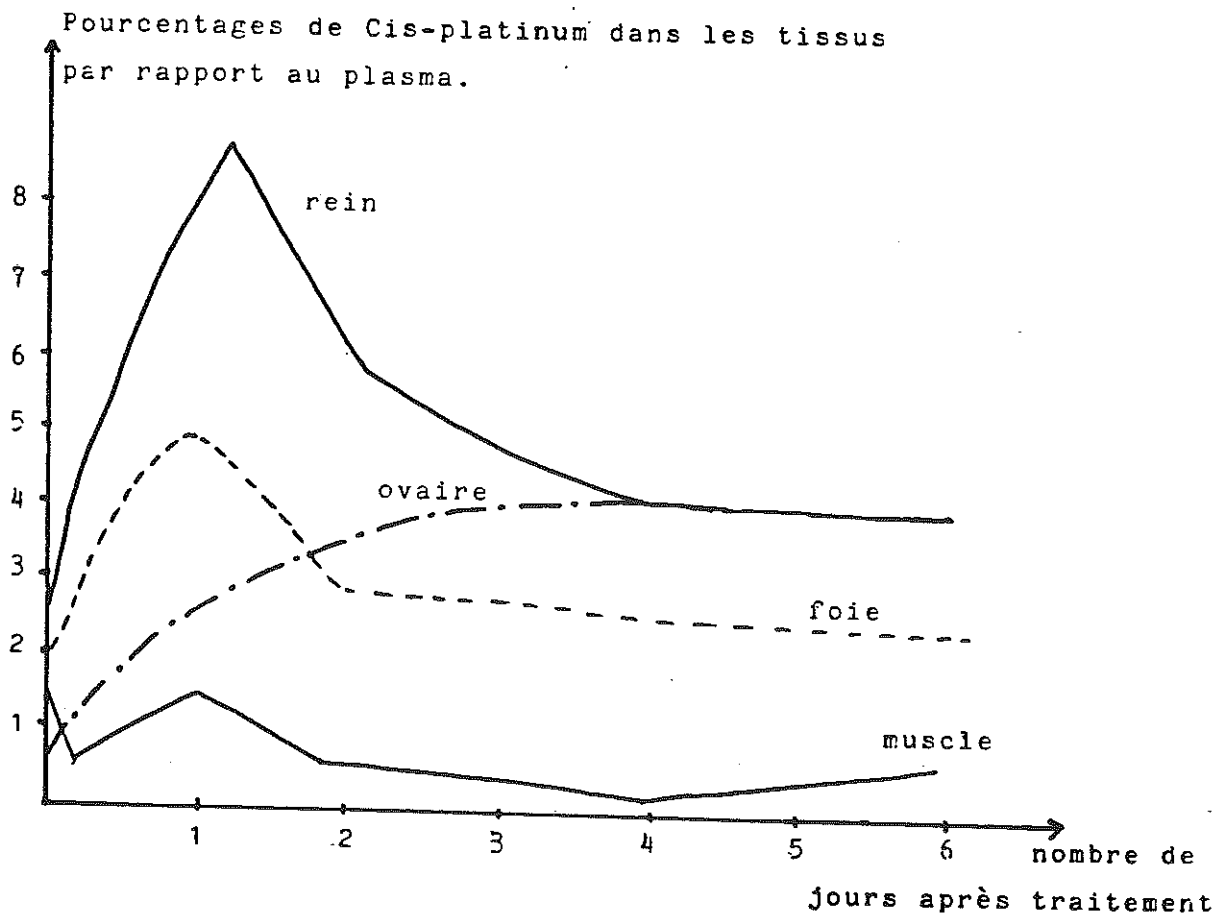


Figure 13. Pourcentage de cis-Pt(II) dans les tissus par rapport au plasma (Litterst, 1976).

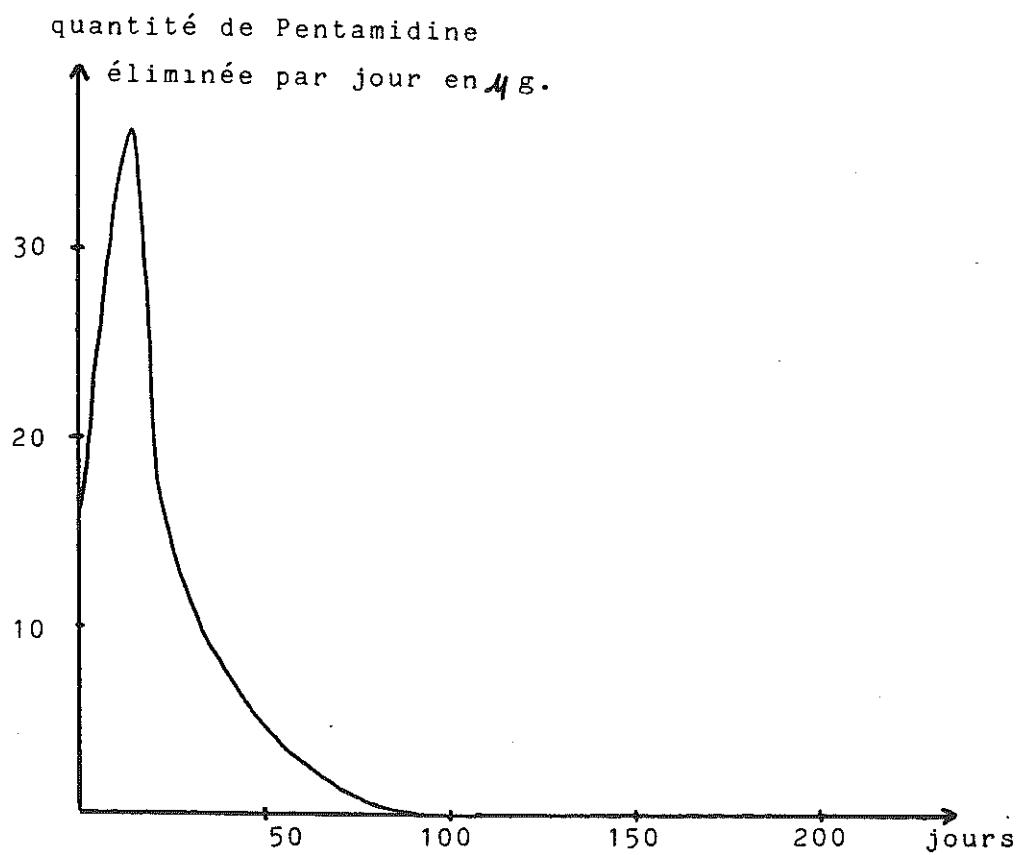


Figure 14. Vitesse d'élimination de la pentamidine chez le rat (Launoy *et al.*, 1960).

En raison d'un relargage à partir des points de fixation tissulaire, on note une rémanence sérique importante. Ainsi Waalkes *et al.*(1970), trouvent de la pentamidine dans les urines pendant 6 à 8 semaines chez l'homme.

La lenteur d'élimination et le phénomène de concentration dans les organes profonds sont les points communs des cinétiques des deux produits. La résorption de la Pentamidine à partir du point d'injection semble plus rapide. Cependant malgré quelques similitudes, la cinétique plasmatique de la pentamidine n'est pas caractérisée par une lente ascension sur plusieurs heures comme c'est le cas pour le platine dans notre étude.

#### IV.4.3.4 Comparaison avec la cinétique du platine après injection de chlorure de cis-Pt pentamidine (Dreyfuss *et al.* 1990).

Il est utile de préciser que l'étude de Dreyfuss *et al.* (1990) a porté sur des prélèvements sanguins effectués sur des animaux traités à 2,2 et 5 mg.kg<sup>-1</sup> de chlorure de cis-Pt pentamidine, ce qui correspond à des posologies de 1,7 et 3,4 mg.kg<sup>-1</sup> de cation cis-Pt pentamidine. Nos résultats expérimentaux concernent des traitements à 15 et 30 mg.kg<sup>-1</sup> en iodure de Cis-Pt Pentamidine, ce qui correspond à 10,2 et 20,4 mg.kg<sup>-1</sup> de cation cis-Pt pentamidine.

Après injection chlorure de cis-Pt(II) pentamidine, la cinétique expérimentale du platine est très proche de celle du cis-Pt injecté en l'état : on constate un pic sérique entre 45 et 60 minutes suivie d'une décroissance jusqu'à un minimum entre la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> heure. Une nouvelle augmentation de la concentration plasmatique apparaît ensuite. Celle-ci est maximale à 24 heures avant de décroître ensuite lentement vers 0 en plusieurs jours.

La pharmacocinétique modélisée fait apparaître une résorption en 6 heures environ, et un stockage important dans les organes profonds. Un autre compartiment apparaît, celui des espaces extravasculaires où le platine est retenu. L'élimination du platine après injection du complexe iodé relativement rapide. La chélation du platine avec la pentamidine et les deux chlorures n'influence donc que très peu sa cinétique sérique (Figure 15).

Des différences notables de cinétique apparaissent donc entre la cinétique du Pt après injection de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine et la cinétique du Pt après injection du chlorure de cis-Pt(II) pentamidine.

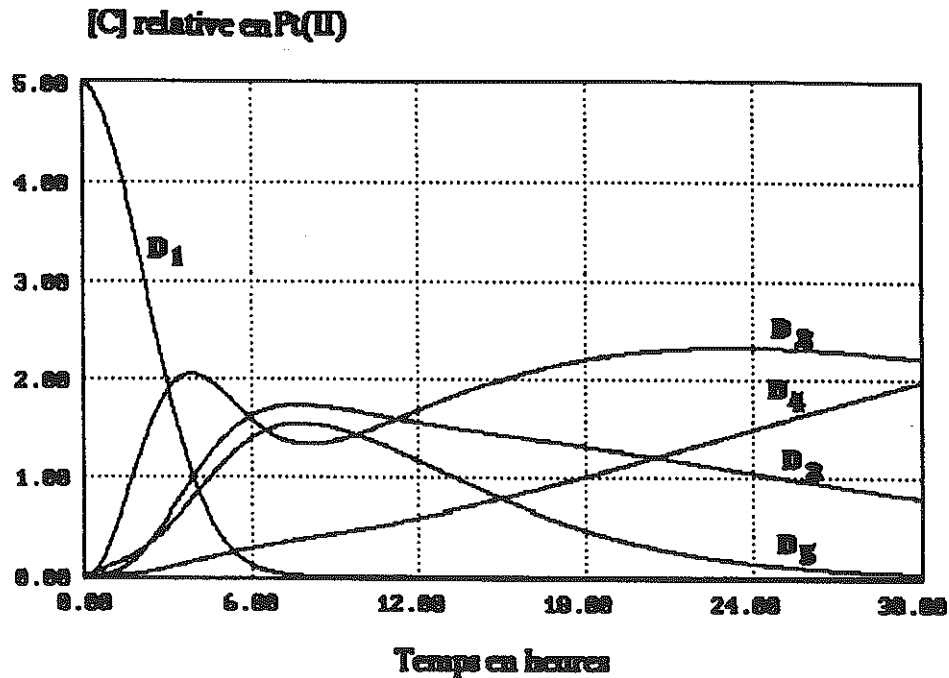


Figure 15. Courbes calculées pour les concentrations compartimentales en platine après injection de chlorure de cis-Pt(II) pentamidine (Dreyfuss *et al.*, 1990).

$D_1$  = variation de la concentration cutanée ;  $D_2$  = variation de la concentration sérique ;  
 $D_3$  = variation de la concentration dans les organes profonds ;  $D_4$  = cinétique  
d'élimination ;  $D_5$  = variation de la concentration dans les espaces extravasculaires.

Dans notre étude sur l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine, le compartiment extravasculaire n'est pas individualisé. On note une résorption beaucoup plus lente (plus de 12 heures), un stockage dans les organes profonds plus stable ainsi qu'une élimination moins rapide du platine.

Si pour le chlorure l'effet de libération prolongée du platine peut être attribué au seul stockage dans les organes profonds, dans le cas de l'iodure l'effet semble résulter non seulement du stockage viscéral mais encore de la lenteur de résorption et d'élimination. On ne peut attribuer de telles discordances aux seules différences de posologie. Il est probable que les deux iodures de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine influencent grandement la pharmacocinétique du platine et ceci par trois paramètres :

- La vitesse de résorption des médicaments dépend pour l'essentiel des mouvements browniens de leur molécule. Or ces mouvements sont d'autant plus faibles que la molécule est grosse (Labaune 1988). Le poids moléculaire de l'iodure est de 809,6 alors qu'il n'est que de 626,6 pour le chlorure, ce qui peut expliquer la plus grande lenteur de résorption du platine dans le cas de l'iodure.

- L'insolubilité en milieux aqueux de ces deux produits retarde également la résorption. Les iodures de cations organiques sont d'ailleurs généralement beaucoup plus solubles dans les solvants hydrophobes que les chlorures. On peut donc émettre l'hypothèse que l'iodure de cis-Pt pentamidine est plus liposoluble que le chlorure, ce qu'une étude des coefficients de partage devrait permettre de vérifier. Ceci pourrait également expliquer la grande lenteur de résorption du platine après injection de l'iodure.

- La stabilité de la liaison entre les deux iodures et du platine est beaucoup plus forte que celle existant entre le platine et les chlorures, et ceci dans un rapport de 1 à 10 000 (The Chemical Society, 1964). Il est donc probable que les iodures restent inclus dans la molécule platinée plus longtemps que les chlorures. Leur masse atomique importante expliquerait :

- la lenteur des transferts entre les organes profonds et le sérum.

- la grande inertie caractérisant le passage du sérum au compartiment d'élimination d'autre part.

Ces deux facteurs conditionnent en grande partie la persistance sérique notable du platine.

## CONCLUSION

L'intérêt de l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine réside dans deux points :

- La dose efficace trypanocide est très faible.
- Le traitement s'effectue à dose unique par voie sous-cutanée, son efficacité dépend en particulier du stockage important dans les organes profonds.

Cependant ce médicament possède quelques inconvénients :

- Comme le chlorure de cis-Pt(II) pentamidine, l'iodure de cis-Pt(II) pentamidine est très probablement inactif en phase neuroméningée, à l'instar de la cis-Pt pentamidine chlorure, car ne franchit pas la barrière hémato-méningée.
- L'emploi de ce produit est limité par son insolubilité en milieu aqueux.
- La non spécificité de son mode d'action est potentiellement génératrice d'une certaine toxicité.

L'iodure de cis-Pt(II) pentamidine , ainsi que les autres complexes organométalliques peuvent représenter une alternative dans le traitement des trypanosomoses africaines, même si ce produit a peu de chances de modifier profondément le traitement de cette affection.

Dans le traitement des trypanosomoses animales, l'inactivité du médicament dans la phase de polarisation neuro-méningée ne revêt pas la même importance.

Le développement ultérieur de ce produit et de ses dérivés apparaît donc souhaitable, en particulier en étudiant son activité sur les autres trypanosomes africains et sur les leishmanies.

Une application prophylactique chez l'animal pourrait être envisagée.



## BIBLIOGRAPHIE

ASONGANYI T., LAUDO G., NGU J.L., (1989).

Serums antibodies against human brain myelin proteins in Gambian trypanosomiasis. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.* **69** 213-221.

BALES J. D., HARRISON S.M., MBWABI D.I., SCHECHTER P.J. (1989).

Treatment of arsenical refractory Rhodesian sleeping sickness in Kenya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **83** 111-114.

BALLOUT A. (1987).

Cis-platinum pentamidine : Méthodes d'études analytiques et application pharmacologique actuelle. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges.* 114 pages.

BARRY J.D. (1986).

The molecular biology of African trypanosomes. *Trop. Dis. Bull.* **83** 1-25.

BAYLEY M.M. (1968).

Oral berenil in the treatment and prophylaxis of human trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **62** 122.

BERTRAND E., SERIE F., KONE I., RIVE J., COMPAORE E., SENTHILES L., PHILIPPE J., 1973.

Symptomatologie générale de la trypanosomiase humaine africaine au moment du dépistage. *Méd. Afr. Noire* **20** 303-314.

BOA F., TRAORE M.A., DOUA F., KOUASI-TRAORE M.T., KOUASSI B.E., GIORDANO C. (1988).

Les différents tableaux cliniques actuels de la trypanosomiase humaine africaine à *T. b. gambiense*. Analyse de 300 dossiers du foyer de Douala, Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 427-444.

- BOERSMA A., NOIREAU F., HUBLART M., BOUTIGNON F., LEMESSE J.C.,  
DEGOND P. (1990).  
Axe gonadotrope et infection par *T. b. gambiense*. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* 8 (suppl.2)  
1131.
- BOREHAM P.F.L. (1985).  
Autocoïds : their release and possible role in the pathogenesis of African  
trypanosomiasis. In : *Immunology and pathogenesis of trypanosomiasis*. I. TIZARD  
ed., CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 45-66.
- BOUTEILLE B. (1990).  
Le traitement de la trypanosomose humaine africaine. Etude dun modèle  
expérimental : le mouton (*Ovis aries*). *Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences  
Pharmaceutiques, Université de Limoges*. 354 pages.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M., CATANZANO  
G., BRETON J.C., NICOLAS J.A., N'DO D.C. (1986)  
Le mouton : modèle expérimental pour l'étude de la trypanosomiase africaine. *Bull.  
Soc. Path. Ex.* 79 730-738.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., DUMAS M., CATANZANO G., PESTRE-  
ALEXANDRE M., BRETON J.C., NICOLAS J.A., N'DO D.C. (1988).  
The sheep (*Ovis aries*) as an experimental model for African trypanosomiasis. I.  
Clinical study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 82 141-148.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M.,  
CATANZANO G., BRETON J.C., NICOLAS J.A., MUNOZ M. (1988).  
The sheep (*Ovis aries*) as an experimental model for African trypanosomiasis. II.  
Biological study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 82 149-158.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M., BRETON J.C.,  
NICOLAS J.A., CATANZANO G., MUNOZ M. (1988).  
Traitement de la trypanosomiase expérimentale du mouton à *T. b. brucei* : recherche  
d'une dose minimale active de mélarsozol. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 548-554.

BRETON J.C, BOUTEILLE B., SONAN T. (1988).

Le DFMO : alternative thérapeutique de la trypanosomose humaine africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 571-577.

BRUN R., KUNZ C., BAENSWYL S. (1990).

In vitro drug sensitivity of *Trypanosoma brucei gambiense* and *Trypanosoma brucei rhodesiense*. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* **8** (suppl.2) 1108.

CHANDENIER J., BENHAMOU P.H., SCHECHTER P.J., EPELBAUM S., HAEGELE K. (1988).

A propos d'un cas de trypanosomiase africaine traité en France par l'eflornithine. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* **6** 7-10.

CHEVRIER S., ROUSSEY M., GUIGUEN C., DABADIE A., FAUGERE B., PLAT-PELLE A.M., TELL G. (1990).

Trypanosomiase africaine de l'enfant diagnostiquée en France et traitée par DFMO. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* **8** (suppl.1) 381.

CLANSEN P.H, SIDIBE I., KABORE I., BAUER B. (1990).

Multiple drug-resistance of *T. congolense* in cattle under natural Tse-Tse challenge. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* **8** (suppl.1) 1111.

CRACIUNESCU D.G., MOLINA A., DOADRIO-LOPEZ E., PARRONDO-IGLESIAS E.(1987).

Síntesis, caracterización estructural, estudio de las propiedades duales (actividades antitumorales y actividades antitripanosómicas), y evaluación de la nefrotoxicidad de algunos nuevos complejos  $(\text{Rh}^3(\text{L})_3)$  donde L = derivado de alquil o aril ditiocarbamato y/o xantato. *An. Real Acad. Farm.* **53** 205-232.

CRACIUNESCU D.G., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P., MOLINA C., DOADRIO-LOPEZ A. (1988).

Síntesis, caracterización estructural, estudio de las propiedades duales (actividades antitumorales y actividades antitripanosómicas), y evaluación de la nefrotoxicidad de algunos nuevos complejos  $(\text{Os}^3(\text{L})_3)$  y  $(\text{Ru}^3(\text{L})_3)$  donde L = derivado de alquil o arilditiocarbamato y/o xantato. *An. Real Acad. Farm. (Madrid)* **54** 46-69.

CRACIUNESCU D.G., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P., MOLINA C., DOADRIO-LOPEZ A. (1988).

Rh(I) organometallic complexes with dual pharmacological effects (antitumoral and antitrypanocidal activities). *An. Real Acad. Farm. (Madrid)* 54 442-466.

CRACIUNESCU D.G., PARRONDO-IGLESIAS E., DOADRIO-LOPEZ A., RUIZ-PEREZ L.M., OSUNA A., ERCOLI N., GASTON DE IRIARTE E. (1989).

Complejos del Rh(III) de acción antitripanosómica. *An. Real Acad. Farm.* 55 213-236.

CRACIUNESCU D.G., MOLINA C., ALONSO M.P., PARRONDO-IGLESIAS E., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GASTON DE IRIARTE E., GHIRVU C.I., ERCOLI N. (1990).

Relaciones estructura-actividades farmacológicas (antitumorales y antitripanosómicas) para los nuevos complejos ( $M^1(NBR)(L)$ ), donde  $M^1 = Rh(I)$  o  $Ir(I)$ , NBR = norbornadieno y L = aniones xantatos. *An. Real Acad. Farm.* 56 469-486.

CRACIUNESCU D.G., MOLINA C., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GUTTIEREZ-RIOS M.T., GASTON DE IRIARTE E., GHIRVU C.I., CERTAD FOMBANA G. (1990).

Complejos catiónicos del Rh(III) y del Ir(III) con los medicamentos antimaláricos : actividades farmacológicas duales "in vivo" (antitumorales y antitripanosómicas). *An. Real Acad. Farm. (Madrid)* 56 453-468.

CRACIUNESCU D.G., MOLINA C., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P., LORENZO MOLINA C., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GUTTIEREZ-RIOS M.T., DE FRUTOS M.I., GASTON DE IRIARTE E., CERTAD FOMBANA G., ERCOLI N. (1991).

Estudio de las actividades farmacológicas duales (antitumorales y antitripanosómicas) "in vivo" desplegadas por los nuevos complejos dimeros y neutros del Ir(II) y del Rh(II) con los medicamentos antimaláricos clásicos. *An. Real Acad. Farm. (Madrid)* 57 15-36.

CRACIUNESCU D.G., MOLINA C., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GUTTIEREZ-RIOS M.T., CERTAD FOMBONA G., GASTON DE IRIARTE E. (1991).

Estudio de las actividades farmacológicas (antitripanosómicas, antitumorales y anti-SIDA) de algunos nuevos complejos iónicos del Rutenio(III) y del Osmio(IV). *An. Real Acad. Farm. (Madrid)* 57 221-240.

CROFT S.L. (1985).

Serodiagnostic test for West African Trypanosomiasis. *Parasitol. Today* 1 4 115.

DOLAN R.B. (1987).

Genetics and trypanotolerance. *Parasitol. Today* 3 137-143.

DOUA F., BOUA F.Y., SCHECHTER P.J., MIEZAN T.W., DIAI D., SANON S.R., DE RAADT P., HAEGELE K.D., SJOERDSMA A., KONIA K. (1987).

Treatment of human late stage gambiense trypanosomiasis with alpha-difluoromethylornithine (Eflornithine) : efficacy and tolerance in 14 cases in Côte d'Ivoire. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 37 525-533.

DREYFUSS G., GAYRAL P., DUBOST G., NICOLAS J.A., CRACIUNESCU D.G. (1988).

Activité antiparasitaire du Cis-Pt(II) pentamidine dans la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei brucei*. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 626-631.

DREYFUSS G., PENICAUT B., PARRONDO-IGLESIAS E., CRACIUNESCU D., DUBOST G., NICOLAS J.A. (1990).

Activé trypanocide et cinétique plasmatique de la Cis-Pt(II) pentamidine chez le mouton parasité. *Bull. Soc. Path. Ex.* 83 367-375.

DREYFUSS G., PENICAUT B., WOLF J.G., DUBOST G., NICOLAS J.A. (1990)

Cinétique plasmatique d'un spiroarsorane trypanocide chez le mouton parasité. *Bull. Soc. Path. Ex.* 83 360-366.

DUMAS M., BRETON J.C., PESTRE-ALEXANDRE M., GIRARD P.I., GIORDANO C. (1985).

Etat actuel de la thérapeutique de la trypanosomiase humaine africaine. *Presse Méd.* 14 253-256.

DUMAS M., GIRARD P.I., NDIAYE I.P. (1976).

Traitement de la trypanosomiase humaine africaine en milieu hospitalier. *Méd. Afr. Noire* 23 39-410.

EUZEBY Y.J. (1986).

*Protozoologie médicale comparée*, Vol. 1. Fondation Marcel Merieux Ed. Lyon. 465 p.

FARREL N.P., WILLIANSO J., Mc LAREN D.J. (1984).

Trypanocidal and antitumour activity of platinum-metal and platinum metal-drug dual function complexes. *Biochem. Pharmacol.* 33 961-971.

FURET Y., DUONG T.H., COMBESCOT C., BRETEAU M. (1987).

Une molécule nouvelle en thérapeutique antiparasitaire : l'alpha-difluorométhylornithine. *Path. Biol.* 35 398-404.

GENTILINI M., DUFLO B. (1986).

*Médecine tropicale*, Flammarion ed., Paris, 840 p.

GINOUD P.Y., BISSADIDI N., FREZIL J.I. (1984).

Accidents observés lors du traitement de la trypanosomiase au Congo. *Méd. Trop.* 44 351-355.

GINOUD P.Y., LANCIEN P., FREZIL J.S., BISSADIDI N. (1984)

Les échecs du traitement de la trypanosomiase au Congo. *Méd. Trop.* 44 149-154.

GOODMAN-GILMAN A., RALL T.W., NIES A.S., TAYLOR P. (1991).

*The pharmacological basis of therapeutics*, 8<sup>th</sup> ed., Pergamon Press ed., New York., 1811 p.

GREENWOOD B.M., WITTLE H.C. (1980).

The pathogenesis of sleeping sickness. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 74 716-725.

HENDERSON G.B., FAIRLAMB A.H. (1987).

Trypanothione metabolism : a chemotherapeutics target in Trypanosomatids. *Parasitol. Today* 3 312-315.

HOUIN G. (1990).

Pharmacocinétique, Marketing ed., Paris, 352 p.

HULL D.A., MUHAMMAD N., LANESE J.G., REICH S.D., FINKELSTEIN T.T.,  
FANDRICH S. (1981).

Determination of platinum in serum and ultrafiltrate by flameless atomic absorption spectrophotometry. *J. Pharm. Sci.* 70 500-502.

HUTCHINSON M.P, WATSON H.J.C. (1962).

Berenil in the treatment of *Trypanosoma gambiense* infection in man. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 56 227-229.

KAZYUMBA G.L., RUPPOL J.F., TSHEFRI A.K., NKANGA N. (1988).

Arsénorésistance et difluorométhylornithine dans le traitement de la trypanosomiase humaine africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 591-594.

KINNAMON K.E., STECK E.A., ROUE D.S. (1979).

Activity of antitumour drugs against african trypanosomes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 15 157-160.

LABAUNE J.P. (1991).

*Propriétés pharmacocinétiques des médicaments*, Masson ed., Paris, 454 p.

LANHAM S., GODFREY D.G. (1970).

Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose. *Exp. Parasitol.* 28 521-531.

LEONARD B.J., ECCLESTON E., JONES D., TODD P., WALPOLE A. (1971).

Antileukemia and nephrotoxic properties of platinum compounds. *Nature* 234 43-45.

LITTERST C.L., GRAM T.E., DEDRICK R.L., LEROY A.F., GUARINO A.M. (1976).

Distribution and disposition of platinum following intravenous administration of cis-diamminodichloroplatinum(II). *Cancer Res.* 36 2340-2344.

LOISEAU P., BORIES C., GAYRAL P., WOLF J.G. (1988).

Trypanocidal activity of a new serie of arsenical compounds : the spiroarsorans. *Farmaco. Ed. Sci.* 43 657-663.

- Mc CANN P.P., BACCHI C.J., CLARKSON A.B., BEY P., SJOERDSMA A., SCHECHTER P.J., WALZEN P.D., BARLOW J.L.R. (1986).  
Inhibition of polyamines biosynthesis by alpha-DFMO in african trypanosomes and *Pneumocystis carinii* as a basis of chemotherapy : biochemical and chemical aspect.  
*Am. J. Trop. Med. Hyg.* **35** 1153-1156.
- MANGENOT M., CHAIZE J., HAASE M., DESFONTAINE M., DUVALLET G., MOREAU J.P. (1979).  
Apport du dosage des immunoglobulines pour le diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine chez les suspects immunologiques (immunoflorescence et Elisa).  
*Méd. Trop.* **39** 531-535.
- MESA-VALLE C.M., CRACIUNESCU D., PARRONDO-IGLESIAS E., OSUNA A. (1989).  
*In vitro* action of Platinum(II) and Platinum(IV) complexes on *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani*. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **39** 838-842.
- MESHNICK S.R., BROWN D., GAYLORD S. (1984).  
Capacity of a Cis-diamine platinum(II)-polyglutamic acid complexe to cure *Trypanosoma congolense* infections in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* **3** 286-288.
- MOENS F., DE WILDE M., NGATO K. (1984).  
Essai de traitement au nifurtimox de la trypanosomiase humaine africaine. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.* **64** 37-43.
- LOUDART L., DIALLO B., ROLEZ S. (1976).  
Contribution du laboratoire au diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine.  
*Méd. Afr. Noire* **23** 31-37.
- ORMEROD W.E., RASEROKA B.H. (1988).  
Screening compounds for sleeping sickness therapy without relapse. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 543-547.
- ORMEROD W.E., RASEROKA B.H. (1987).  
Use of difluoromethylornithine (DFMO, Eflornithine) for late stage African trypanosomiasis : a reply. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **81** 701.



- OSUNA A., RUIZ-PEREZ L.M., LOPEZ M.C, CASTANYS S., GAMARRO F., CRACIUNESCU D.G., CARLOS A. (1987). Antitrypanosomal action of Cis-diaminodichloro platinum(II) analogs. *J. Parasitol.* 73 272-277.
- PAGOT J. (1974).  
Les races trypanotolérantes. IEMVT : Les moyens de lutte contre les Trypanosomes et leurs vecteurs. *C.R. Colloque de Paris (France)*, 12-15 Mars, 235-248.
- PEPIN J., MILORD F., GUERN C., SCHECHTER P.J. (1987).  
Difluoromethylornithine for arsenoresistant *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness. *Lancet* II 1431-1432.
- PEPIN J., MILORD F., MPIA B., MEURICE F., ETHIER L., DE GROOF D., BRUNEEL H. (1989).  
An open clinical trial of nifurtimox for arsenoresistant *Trypanosoma brucei gambiense* sickness in central Zaïre. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 83 514-517.
- PETRU M., PARVIN H., ASIMI P.H., CUMMINS S.K., SJOERDSMA A. (1988).  
African sleeping sickness in the United States successful treatment with eflornithine. *Am. J. Dis. Child.* 142 224-228.
- RILEY C.M., STERNSON L.A. (1985).  
Cis-Platin. *An. Prof. Drug Sub.* 14 77-105.
- RIVERA P., SCORZA J.V., CRACIUNESCU D.G., DOADRIO L. (1988).  
Quimoterapia experimental antitripanosoma con un nuevo derivado de la pentamidina. *Arch. Sanidad Ambiental Malariol.* 28 13-17.
- RIVIERE J.E., PAGE P.L., ROGERS R.A., CHANG S.K., DEWIRST T., THRALL D.E. (1990).  
Non uniform alteration of Cis-diaminodichloroplatinum(II) tissue distribution in dogs with whole body hyperthermia. *Cancer Res.* 50 2075-2080.
- ROBERTSON D.H.H. (1963).  
The treatment of sleeping sickness (mainly due to *Trypanosoma rhodesiense*) with melarsoprol. Reaction observed during treatment. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 57 122-123.

ROELANTS G.E., FUMOUX F., PINDER M., QUEVAL R., BASSINGA A., AUTHIER E. (1987).

Identification and selection of cattle naturally resistant to african naturally resistant to african trypanosomiasis. *Acta Trop.* 44 55-66.

ROFFI J., DIALLO P.B., DEDET J.P., GAIRE M.T., PRADEAU F. (1979).

Diagnostic immunoenzymatique (Elisa) de la trypanosomiase humaine africaine. Etude comparée de plusieurs antigènes. *Méd. Trop.* 39 637-641.

RUIZ-PEREZ L.M., OSUNA A., LOPEZ M.C., CASTANYS S., GAMMARO F., CRACIUNESCU D.G., ALONSO C. (1988).

Mode of action of intercalating drug, Cis-Pt(II)(DDH)Cl<sub>2</sub>, Cis-Pt(II)(metafluorobenzoïc)<sub>2</sub> and Cis-Pt(II)(DDH)(mucubromic)<sub>2</sub>, on *Trypanosoma cruzi*. *Trop. Med. Parasitol.* 38 45-48.

RUIZ-PEREZ L.M., OSUNA A., LOPEZ M.C., CASTANYS S., GAMARRO F., CRACIUNESCU D.G., ALONSO C. (1986).

Evaluation of the toxicity of Rh(III) and Pt(II) complexes against *Trypanosoma cruzi* cultures forms. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 36 13-16.

RUIZ-PEREZ L.M., OSUNA A., LOPEZ M.C., GAMMARO F., CASTANYS S., CRACIUNESCU S., ALONSO C. (1988).

Activity of Rh(III) complexes against *Trypanosoma cruzi*. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 38 312-314.

SANDS M. (1985).

Pentamidine : a review. *Rev. Infec. Dis.* 7 625-634.

SEEBECK T., GEHR P. (1983)

Trypanocidal action of neuroleptic phenothiazines on *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 9 197-208.

SJOERDSMA A., SCHECHTER J. (1984).

Chemotherapeutic implication of polyamine biosynthesis inhibition. *Clin. Pharmacol. Therapeutics* 35 287-299.

SINA G.C., TRIOLO N., CRAMET B., SUH-BANDY M. (1982).

L'adrénaline dans la prévention et le traitement des accidents de l'arsobalothérapie. A propos de 776 cas de T.H.A. dans les formations sanitaires du foyer de Fontem (R.U. du Cameroun). *Méd. Trop.* 42 531-536.

SOULSBY E.J.L. (1982).

*Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated animals.* 7<sup>th</sup> edition. Baillière Tindall ed. London, 810 p.

STANGELLINI A. (1988).

La trypanosomiase à *T. b. gambiense* : méthodes de lutte. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 637-644.

TAELMAN H., MARCELIS L., SONNET J., KAZYUMBA G., VAN DEN ENDEN E., WERY M., SCHECHTER P.J. (1988).

Traitement de la trypanosomiase humaine à *Trypanosoma brucei gambiense* par l'alpha-difluorométhylornithine. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 578-588.

TAYLOR A.E.R. (1984).

Reviews of recent abstraction on trypanosomiasis. *Trop. Dis. Bull.* 1 31-35.

THE CHEMICAL SOCIETY. (1964).

Stability constants of metal-ions complexes. *Special Pub. (Londres)* 17 284-314, 338-348.

TIZARD I.R., NIELSEN K.H., SEED J.R., HALL J.E. (1978).

Biological active products from African trypanosomes. *Microb. Rev.* 42 661-681.

TRIOLO N., TROVA P., FUSCO C., LE BRAS J. (1985).

Bilan de 17 années d'études de la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma gambiense* chez les enfants de 0 à 6 ans. *Méd. Trop.* 45 251-256.

VACHON F., RENAUT G., MARCHETT J.P. (1983).

Trypanosomiase africaine transmise par une tique. *Presse Méd.* 12 901.

VAN NIEUWENHOVE S. (1988).

Nifurtimox in late-stage arsenical refractory gambiense sleeping sickness. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 650.

WAALKES T.P., DE VITA V.T. (1970).

The determination of Pentamidine in plasma, urine, and tissues. *J. Lab. Clin. Med.* 75 871-878.

WAALKES T.P., MABULU D.P. (1976).

Pharmacologic aspects of Pentamidine. *Nat. Cancer Instit.* 43 171-177.

WERY M., MULUMBA P.M., LAMBERT P.N., KAZYUMBA L. (1982)

Hematologic manifestations, diagnosis and immunopathology of african trypanosomiasis. *Sem. Hematol.* 19 82-92.

W.H.O. (1983).

Réunion informelle sur l'anatomopathologie des trypanosomiasés africaines. P.N.U.D./ Banque mondiale/ O.M.S. programme spécial de recherche et de formation concernant les maladies tropicales. 10 pages.

W.H.O. (1986).

La trypanosomiase africaine : épidémiologie et lutte. W.H.O., *Série de Rapport Technique n°739*.

W.H.O. (1990).

Report of a meeting on the developpement of drugs against trypanosomiasis, leishmaniasis and Chagas diseases. U.N.D.P./ World bank/ W.H.O. *Special program for research and training in tropical diseases*. 19 pages.

WYSOR M.S.L., ZWELLING A., SANDERS J.E., GREANAN M.M. (1982).

Cure of mice infected with *Trypanosoma rhodesiense* by cis-diaminedichloroPt(II) and disulfiram rescue. *Science* 217 454-456.

YARLETT N., GOLDBERG B., NATHAN H., GAROFALO J., BACCHI C.J. (1990).

Trypanothione levels in arsenic resistant and susceptible trypanosomes. *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* 8 (suppl.2) 1124.

ZINGSTAG J., BRUN R., CRACIUNESCU D.G., PARRONDO-IGLESIAS E. (1991).

*In vitro* activity of organometallic complexes of Ir, Pt, and Rh on *Trypanosoma brucei gambiense*, *T. b. rhodesiense*, and *T. b. brucei*. *Trop. Med. Parasitol.* 42 41-44.

## TABLE DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| PLAN .....   | 8  |
| INTRODUCTION .....   | 9  |
| <b>CHAPITRE I : LES TRYPANOSOMOSES HUMAINES AFRICAINES : rappels et</b>  |    |
| thérapeutiques actuelles. ....   | 10 |
| I.1 Rappels. ....  | 11 |
| I.2 Méthodes de lutte. ....  | 12 |
| I.2.1 Prévention et dépistage. ....                                      | 12 |
| I.2.2 Traitement. ....   | 15 |
| I.2.2.1 Les médicaments d'usage courant en thérapeutique                 |    |
| humaine (Figure 3). ....   | 15 |
| a. Mélarsoprol (Arsobal®) ....   | 15 |
| b. Pentamidine (Lomidine®). ....   | 17 |
| c. Suramine (Moranyl®) ....  | 18 |
| I.2.2.2 Les alternatives thérapeutiques chez l'homme. ....               | 18 |
| a. Alphadifluoromethylornithine (DFMO ou                                 |    |
| Eflornithine) (Ornidine®). ....  | 18 |
| b. Acéturate de diminazène (Bérénil®). ....                              | 19 |
| c. Nifurtimox (Lampit®). ....  | 23 |
| <b>CHAPITRE II : LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES AFRICAINES : Rappels et</b> |    |
| méthodes de lutte actuelles. ....  | 24 |
| II.1 Rappels. ....   | 25 |
| II.2 Méthodes de lutte. ....   | 27 |
| II.2.1 Méthodes non médicamenteuses ....                                 | 27 |
| II.2.2 Méthodes de lutte médicamenteuses. ....                           | 28 |

|  |    |
|--|----|
| CHAPITRE III : PROBLEMES THERAPEUTIQUES ET ORIENTATIONS DE LA<br>RECHERCHE. ....   | 29 |
|  |    |
| CHAPITRE IV : L'IODURE DE CIS-Pt(II) PENTAMIDINE : effet trypanocide et<br>cinétique sérique du platine chez le mouton. .... | 33 |
| IV.1 Préambule. ....   | 34 |
| IV.2 Méthodologie. ....  | 35 |
| IV.2.1 Matériel. ....  | 35 |
| IV.2.1.1 Matériel biologique. ....   | 35 |
| a. Animaux modèles. ....   | 35 |
| b. Agent pathogène. ....   | 35 |
| IV.2.1.2 Matériel analytique. ....   | 36 |
| a. Matériel chimique d'extraction. ....  | 36 |
| b. Etalonnage. ....  | 36 |
| c. Appareillage d'absorption atomique. ....  | 37 |
| IV.2.2 Protocole. ....   | 37 |
| IV.2.2.1 Pharmacocinétique. ....   | 37 |
| a. Inoculation. ....   | 37 |
| b. Traitement. ....  | 37 |
| c. Contrôle de la parasitémie. ....  | 38 |
| d. Recueil des sérums et conservation. ....  | 38 |
| e. Surveillance des moutons. ....  | 39 |
| IV.2.2.2 Protocole analytique. ....  | 40 |
| a. Extraction. ....  | 40 |
| b. Dosage. ....  | 40 |
| IV.2.3 Traitement des données expérimentales. ....   | 43 |
| IV.3 Résultats. ....   | 44 |
| IV.3.1 Activité antiparasitaire. ....  | 44 |
| IV.3.2 Résultats de la pharmacocinétique expérimentale. ....   | 44 |
| IV.3.2.1 Valeurs expérimentales. ....  | 44 |
| IV.3.2.2 Courbes expérimentales de cinétique sérique. ....   | 47 |

|   |    |
|---|----|
| a. Aspect de la courbe de concentration sérique en Pt<br>chez le mouton 1 (15 mg.kg <sup>-1</sup> ; non parasité). . . .                                | 47 |
| b. Aspect de la courbe de concentration sérique en Pt<br>chez le mouton 2 (30 mg.kg <sup>-1</sup> ; animal<br>parasité). . . . .                        | 47 |
| IV.3.2.3 Modélisation de la pharmacocinétique . . . . .   | 49 |
| IV.4 Discussion. . . . .  | 53 |
| IV.4.1 Protocole et méthodes. . . . .   | 53 |
| IV.4.2 Effet trypanocide. . . . .   | 54 |
| IV.4.3 Cinétique sérique. . . . .   | 56 |
| IV.4.3.1 Comparaison des cinétiques expérimentales et<br>modélisées des deux moutons traités. . . . .   | 56 |
| IV.4.3.2 Comparaison avec la cinétique du cis-Pt. . . . .   | 57 |
| IV.4.3.3 Comparaison avec la cinétique de la pentamidine. . . . .   | 57 |
| IV.4.3.4 Comparaison avec la cinétique du platine après<br>injection de chlorure de cis-Pt pentamidine (Dreyfuss <i>et</i><br><i>al.</i> 1990). . . . . | 60 |
| CONCLUSION . . . . .  | 63 |
| BIBLIOGRAPHIE . . . . .   | 64 |

## Résumé

Le choix de médicaments actifs dans la trypanosomose africaine est très limité, aussi bien en médecine humaine que vétérinaire.

Ainsi la thérapeutique humaine repose, malgré quelques progrès récents sur trois médicaments dont un seul, le mélarsoprol est actif à tous les stades de l'affection. Il est malheureusement très toxique.

Les traitements vétérinaires bien que plus nombreux, sont dans l'ensemble assez peu efficaces.

L'iodure de cis-Pt pentamidine est un complexe organométallique associant un trypanocide connu, la pentamidine et un intercalant de l'acide desoxyribonucléique, le cis-Pt.

Ce médicament administré en injection cutanée unique est actif dans la phase lymphaticosanguine de la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei* *brucei*, à la dose de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Il déparasite également la souris à cette posologie.

La longue persistance sérique du platine après injection de ce produit augure bien de son intérêt dans le traitement curatif et prophylactique des trypanosomoses africaines, notamment vétérinaires.

## Mots clés

cinétique sérique, cis-Pt pentamidine, complexe organométallique,  
prophylaxie, trypanocide, trypanosomose