

**UNIVERSITE DE LIMOGES**  
**FACULTE DE PHARMACIE**

ANNEE 1994

THESE N° 354..



**LA PENTAMIDINE :  
DU PASSE AU FUTUR**

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

---

présentée et soutenue publiquement le : 7 Novembre 1994

PAR

Olivier BONNEMAIRE

né le 8 Août 1969 à Rodez (Aveyron)

**EXAMINATEURS DE LA THESE**

**Monsieur J. BUXERAUD, Professeur**  
**Monsieur J.C. BRETON, Professeur**  
**Monsieur M. DUMAS, Professeur**  
**Monsieur J.F. LAGORCE, Maître de conférences**  
**Madame A.M. DUMAS, Pharmacien**

**Président**  
**Juge**  
**Juge**  
**Juge**  
**Membre invité**

**UNIVERSITE DE LIMOGES**

**FACULTE DE PHARMACIE**

---

**DOYEN DE LA FACULTE:**

Monsieur le Professeur RABY Claude

**ASSESEURS:**

Monsieur le Professeur GHESTEM Axel  
Monsieur DREYFUSS Gilles – Maître de Conférences

**PROFESSEURS:**

BENEYTOUT Jean-Louis

BIOCHIMIE

BERNARD Michel

PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE

BOSGIRAUD Claudine

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE  
PARASITOLOGIE

BROSSARD Claude

PHARMACOTECHNIE

BUXERAUD Jacques

CHIMIE ORGANIQUE  
CHIMIE THERAPEUTIQUE

CHULIA Albert

PHARMACOGNOSIE

CHULIA Dominique

PHARMACOTECHNIE

DELAGE Christiane

CHIMIE GENERALE ET MINERALE

GHESTEM Axel

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE

HABRIOUX Gérard

BIOCHIMIE FONDAMENTALE

LACHATRE Gérard

TOXICOLOGIE

LEFORT DES YLOUSES Daniel

PHARMACIE GALENIQUE

MOESCH Christian

HYGIENE

NICOLAS Jean-Albert

BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE  
PARASITOLOGIE

OUDART Nicole

PHARMACODYNAMIE

PENICAUT Bernard

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

RABY Claude

PHARMACIE CHIMIQUE ET CHIMIE ORGANIQUE

**SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE – CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS**

POMMARET Maryse

**Monsieur le Professeur J. BUXERAUD,**  
**Professeur des Universités de Chimie Organique et de Chimie Thérapeutique,**

Votre présidence à cette thèse constitue pour nous un grand honneur.

Nous espérons que ce travail témoigne de la reconnaissance que nous vous devons pour vos conseils et pour le soutien que vous nous avez toujours apporté.  
Qu'il soit un hommage rendu à vos compétences et à votre humanité.

Soyez assuré de notre profond respect.

**Monsieur le Professeur J.C. BRETON,**  
**Professeur de Biochimie à l'Université de Limoges,**  
**Chef de service du laboratoire de Biochimie et Génétique moléculaire - Chimie des**  
**Explorations Fonctionnelles au C.H.R.U. de Limoges,**

Qu'il nous soit permis, ici, de vous exprimer notre profonde gratitude pour nous avoir sans cesse éclairé et guidé par vos connaissances, et pour avoir bien voulu nous consacrer une partie de votre précieux temps lors de la réalisation de ce travail.

Que cette thèse soit une preuve de notre sincère reconnaissance.

**Monsieur le Professeur M. DUMAS,**  
**Professeur de Neurologie à l'Université de Limoges,**  
**Chef de service de Neurologie au C.H.R.U. de Limoges,**  
**Directeur de l'Institut de Neurologie Tropicale et d'Epidémiologie Tropicale de**  
**Limoges,**

Veillez trouver ici le témoignage de notre gratitude pour nous avoir  
judicieusement conseillé le sujet de notre thèse.

Soyez assuré de notre reconnaissance et de notre profond respect.

**Monsieur J.F. LAGORCE,**

**Maître de Conférences de Chimie Organique et de Chimie Thérapeutique,**

Nous sommes très sensibles à l'intérêt que vous avez porté à notre sujet.

Pour avoir accepté de juger ce travail, pour votre entière disponibilité et votre encouragement continu, soyez assuré de notre profonde reconnaissance et de notre très grande estime.

**Madame A.M. DUMAS,**

**Pharmacien à Limoges,**

Nous sommes très sensibles à l'amitié que vous nous avez témoignée en acceptant de faire partie des membres du jury de cette thèse.

Ce jour est l'occasion de vous exprimer toute notre gratitude et notre sincère reconnaissance pour l'accueil que vous nous avez toujours réservé dans votre officine et le bon souvenir que nous garderons de notre stage de sixième année.

*Ma sollicitude va également à tous ceux qui m'ont aidé, de près ou de loin, dans la réalisation de ce travail, et qui m'ont manifesté un soutien constant au cours de mes études.*

*Je pense particulièrement à ma famille et à mes amis qui avec beaucoup de gentillesse, de bienveillance et de discrétion ont toujours été à mes côtés.*

Je dédie cette thèse

à mes parents,

à la mémoire de mes grands-parents,

à ma grand-mère,

à mes oncles et tantes,

à mes cousins et cousines,

à mes amis de l'Aveyron et à mes amis de Limoges,

à tous les pharmaciens avec qui j'ai eu le plaisir de travailler pendant mes études :

- Monsieur Claude CAYLA, à Rodez,
- Madame Marie-Hélène VIGIER, à Entraygues,
- Madame Monique ROUSSEL, à Entraygues,
- Mademoiselle Nicole CAYRON, à Rodez,
- Monsieur Jean-Marie DUMAS, à Limoges,
- Madame Françoise MONESTIER, à Marcillac-Vallon,
- Mademoiselle Isabelle JOULIE, à Bozouls.

# **SOMMAIRE**

<b>INTRODUCTION</b>	1
<b>PREMIERE PARTIE : HISTORIQUE DE LA PENTAMIDINE</b>	4
<b>DEUXIEME PARTIE : PARASITOLOGIE</b>	17
<b>Quelques considérations sur         la trypanosomose humaine africaine,         les leishmanioses,         la pneumonie à <i>Pneumocystis carinii</i></b>	
<b>TROISIEME PARTIE :</b>	40
<b>ETUDE DE LA PENTAMIDINE EN THERAPEUTIQUE</b>	
<b>QUATRIEME PARTIE :</b>	92
<b>METABOLISME ET MODE D'ACTION</b>	
<b>CONCLUSION</b>	110
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	113
<b>TABLE DES MATIERES</b>	125

# **INTRODUCTION**

La trypanosomose africaine et les leishmanioses sont des parasitoses dues à des protozoaires flagellés. Ces deux affections constituent des endémies majeures dans certains pays du globe. Le nombre estimatif de cas de trypanosomoses africaines est de 25 000 par an. En ce qui concerne les leishmanioses, le nombre de nouveaux cas est de 400 000 par an.

La pneumopathie à *Pneumocystis carinii* ou pneumocystose est une parasitose due à un organisme ubiquitaire dont la présence a été signalée sous toutes les latitudes. *Pneumocystis carinii* est un organisme saprophyte faiblement pathogène chez un sujet bien portant. En revanche, c'est une cause fréquente d'infections opportunistes en cas de déficit immunitaire (chez les malades atteints du syndrome immunodéficient acquis), ou de malnutrition. Cette parasitose entre comme critère dans le diagnostic de SIDA confirmé chez des sujets dont seule jusqu'alors la sérologie était positive. Plus de 60 % de ces patients développent une pneumonie à *Pneumocystis carinii* et plus de 20 % rechutent.

La récente augmentation de son incidence est liée à l'épidémie du virus de l'immunodéficiency humaine (VIH). En quelques années, la pneumocystose est devenue un problème de santé publique en raison de sa gravité, de son caractère récidivant et de sa fréquence. En effet, l'estimation du nombre de cas cumulés de pneumocystose en France en 1988 était de 4 500. Pour la fin de 1990, le nombre de cas estimés était de 15 000.

La trypanosomose africaine, les leishmanioses et la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* sont réunies dans cette thèse car la pentamidine est indiquée dans le traitement de ces trois pathologies.

Dans un premier temps nous retracerons l'historique de la pentamidine, en mettant en évidence son utilisation dans différentes pathologies au cours des ans.

Dans la deuxième partie, nous nous proposerons de rappeler les caractères du parasite, la symptomatologie, l'épidémiologie et le traitement de la trypanosomose africaine, des leishmanioses et de la pneumocystose.

Dans la troisième partie, nous aborderons l'étude de la pentamidine en thérapeutique.

Puis, dans la quatrième et dernière partie, nous traiterons le métabolisme de la pentamidine, et nous ferons le point sur les différentes hypothèses en ce qui concerne son mode d'action à l'échelle moléculaire.

**PREMIERE PARTIE**

**HISTORIQUE DE LA PENTAMIDINE**

## **I - 1937 : SYNTHÈSE DE LA PENTAMIDINE**

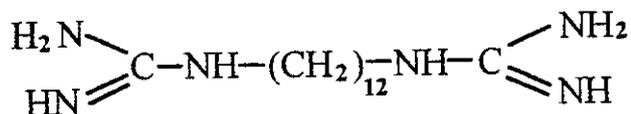
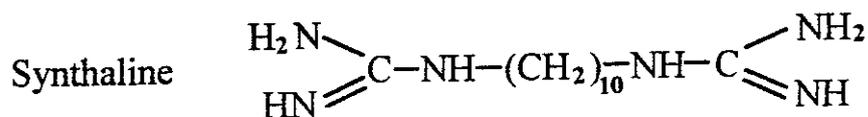
En 1908, K. Schern (129) observe que les mouvements des trypanosomes (*Trypanosoma equiperdum*) se ralentissent rapidement quand les microorganismes sont conservés dans l'eau salée physiologique. En revanche, l'addition de sérum sanguin frais ou de glucose provoque la reprise de la mobilité des parasites. La vie des trypanosomes exige du glucose dans le milieu et leur consommation de ce glucide est considérable.

Les résultats quantitatifs de Adams et Yorke (1), en 1939, permettent de chiffrer l'avidité des trypanosomes pour le glucose. Ainsi, environ 400 millions de trypanosomes, à 37°C, consommeront en 1 heure, de 2 à 2,5 mg de glucose.

### **I-1 - RECHERCHES DE N. JANCZO ET H. JANCZO**

Dans les travaux publiés en 1935, N.Janczo et H. Janczo (79) étudiaient le mécanisme de l'action trypanocide de la germanine ou Bayer 205 (MORANYL\* en France). *In vitro*, pour N. et H. Janczo, l'absence de sucre dans le milieu où se trouvent les trypanosomes produisait des altérations morphologiques identiques à celles déterminées *in vivo* par la germanine.

N. et H. Janczo étudient alors l'action de la synthaline et celle d'autres dérivés de la guanidine sur des souris infectées par différentes souches de *Trypanosoma brucei*. La synthaline avait été mise à l'ordre du jour en 1926 par les recherches de Wagner (144).



Synthaline B: (homologue supérieur de la synthaline)

Les dérivés de la guanidine et notamment la synthaline étaient connus pour abaisser le taux de sucre sanguin chez les animaux (144).

La synthaline était en passe de devenir un médicament antidiabétique spécifique.

Cependant, d'autres auteurs (130) coupent court à la prétention que pouvait avoir la synthaline d'entrer dans la thérapeutique courante du diabète. Ils montrent l'irrégularité de l'action de cette substance, ainsi que sa toxicité.

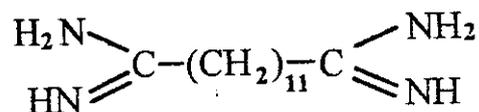
N. et H. Jancso essayèrent donc la synthaline et purent constater qu'elle arrêta l'évolution de la trypanosomose de la souris (à *Trypanosoma brucei*). Ils conclurent que la synthaline agissait bien en provoquant une hypoglycémie continue, privant le trypanosome du glucose nécessaire à son développement.

## I-2 - RECHERCHES DE KURT SCHERN

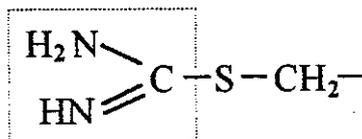
Cependant, en 1935, Schern et ses collaborateurs (130) (tout en se séparant nettement de N. et H. Jancso), reconnaissent à la synthaline une action toxique directe sur le parasite. Donc l'action trypanocide de la guanidine est liée en totalité (selon Jancso) ou



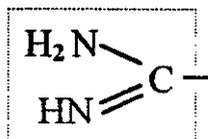
Les diamidino-alcanes ont fait preuve d'une plus grande activité trypanocide que les guanidines correspondantes. Le plus actif est le diamidino-1,11-undécane :



De plus, si la liaison entre le groupement amidine et la chaîne méthylénique n'est pas un groupe imine -NH, mais un atome de soufre, ce composé a aussi une activité trypanocide *in vitro*.

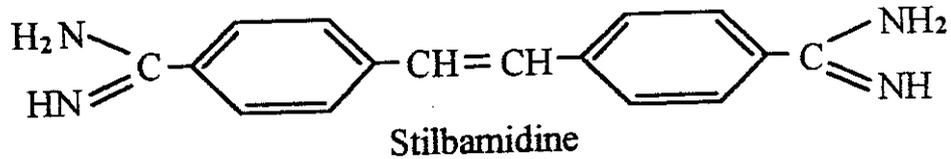


Les seuls facteurs communs aux différents composés synthétisés sont la longue chaîne carbonée et le groupement amidine :

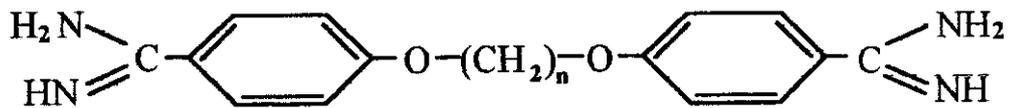




Si, en revanche, on introduit un pont non saturé comme dans le diamidino-4,4'-stilbène, l'action trypanocide est augmentée :



Si le groupe  $\text{CH}_2$ , directement attaché au benzène est remplacé par O, on a une série de produit de la formule générale :

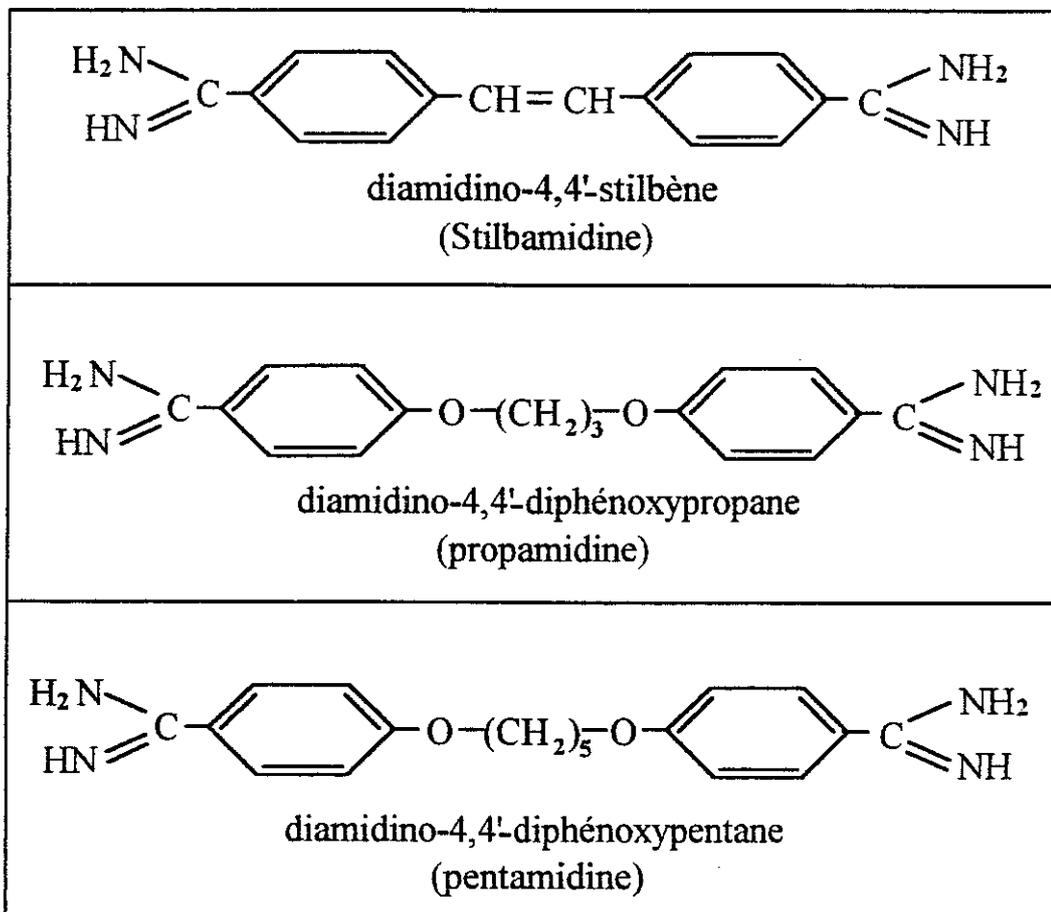


Le maximum d'action est obtenu quand  $n = 5$  ou  $n = 3$ .

Si  $n = 10$ , l'activité du médicament est très faible.

D'autre part, si on supprime 1 ou 2 atomes d'hydrogène du groupe  $\text{NH}_2$  de l'amidine, et si on lui substitue un groupement alkyle ou un autre groupe, on supprime complètement l'activité trypanocide.

Les amidines aromatiques préparées par Ewins sont étudiées par King, Lourie et Yorke en 1938 (85). Les expériences montrent que, parmi les composés d'Ewins, les dérivés diamidino du stilbène, du diphénoxypropane, du diphénoxyptane, ont été retenus. En effet, ces composés furent actifs contre les trypanosomoses expérimentales (à *Trypanosoma rhodesiense* notamment).



L'observation de la structure des composés examinés montre que ceux-ci ont un point commun, une chaîne carbonée centrale, terminée par des groupes polaires de nature fortement basique.

En résumé, l'action trypanocide des amidines serait une propriété de bases libres, puisque tous ces groupes sont des bases formant des sels neutres.

Ces trois diamidines aromatiques, et en particulier le diamidino-4,4'-stilbène ont aussi une action sur le kala-azar indien expérimental (1).

Ensuite, d'autres auteurs ont étudié l'influence des substitutions sur le noyau benzénique des dérivés stilbéniques. Ces derniers composés synthétisés n'ont pas eu d'avenir en thérapeutique.

## **II - 1941 : PREMIERS ARTICLES MONTRANT L'EFFICACITE CLINIQUE SUR LES TRYPANOSOMOSES AFRICAINES ET LA LEISHMANIOSE VISCERALE**

A partir de 1941, d'autres auteurs concluent que la pentamidine a une action brillante et rapide, surtout au premier stade de la maladie du sommeil (70). Chez l'Homme, la pentamidine s'est révélée meilleure par rapport à la stilbamidine et à la propamidine en ce qui concerne l'activité sur la trypanosomose à *Trypanosoma gambiense*. En effet, la stilbamidine agit moins bien que les deux autres, et seulement au tout premier stade de la maladie.

En 1944, L. Van Hoof, C. Henrard et E. Peel (138), ont établi l'action curative des diamidines aromatiques sur *Trypanosoma gambiense*. Ils ont également conclu à leur évidente action prophylactique.

En ce qui concerne la leishmaniose, dès 1939, Adler et Rachmilewitz (2) utilisèrent cette classe médicamenteuse pour le traitement de la leishmaniose viscérale.

En 1952, le laboratoire SPECIA commercialise la pentamidine sous forme de méthane sulfonate de pentamidine : **LOMIDINE\*** (en ampoules injectables). Les indications de cette spécialité sont la maladie du sommeil et les leishmanioses.

### **III - 1958 : TRAVAUX DEMONSTRANT L'ACTIVITE DE LA PENTAMIDINE DANS LA PNEUMOCYSTOSE**

En 1958, Ivady et Paldy (75) furent les premiers à utiliser la pentamidine dans le traitement de la pneumocystose. En effet, l'activité antipneumocystis fut mise en évidence en 1958 chez l'enfant dénutri en bas âge. Elle devient alors le premier traitement reconnu de la pneumonie à *Pneumocystis carinii*, qui était jusque-là constamment mortelle chez l'immunodéprimé (76).

La pentamidine administrée par voie parentérale est devenue un traitement de seconde intention de la pneumonie à *Pneumocystis carinii* lorsque, vers 1970, une efficacité similaire associée à une toxicité moindre de l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole a été démontrée, chez les patients transplantés ou atteints d'hémopathies malignes.

L'apparition du SIDA en 1981, caractérisée par l'augmentation considérable du nombre de pneumonies à *Pneumocystis carinii* survenant sur un terrain immunodéprimé inhabituel, a suscité un regain d'intérêt pour la pentamidine.

Ce regain d'intérêt tient à 2 éléments :

- Premièrement, la fréquence particulièrement élevée des effets secondaires liés à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole chez les adultes infectés par le virus de l'immunodéficiences humaine (VIH) (57).
- Deuxièmement, le développement de l'administration de pentamidine par aérosol qui permet de délivrer de fortes doses de façon précise au seul site de l'infection, les alvéoles pulmonaires, et ceci sans exposer l'ensemble de l'organisme aux effets toxiques de la

pentamidine. Les premiers travaux expérimentaux mettant en avant les avantages pharmacocinétiques de l'administration de la pentamidine en aérosol avaient débuté dès 1973 (145).

Les premières publications sur l'utilisation chez l'Homme de la pentamidine en aérosol dans le traitement de la pneumonie à *Pneumocystis carinii*, datent de 1987. En effet, Montgomery (107) et Conte (34) sont à l'origine d'essais cliniques concernant des patients atteints de SIDA et montrent l'efficacité et la bonne tolérance systémique des aérosols d'iséthionate de pentamidine dans le traitement des formes peu sévères de pneumocystose. Cependant, la place précise des aérosols de pentamidine dans le traitement de la pneumocystose reste à déterminer. En effet, la pentamidine en aérosol est une alternative thérapeutique efficace dans les pneumocystoses non graves des patients atteints de SIDA et ne peuvent pas s'adresser aux formes graves de pneumocystoses (chez des malades en ventilation spontanée). Les meilleures indications d'un traitement par aérosol de pentamidine sont les situations où les risques de toxicité des traitements par voie générale sont élevés, comme par exemple chez les patients présentant une neutropénie sévère ou des antécédents de réaction d'intolérance au cotrimoxazole.

En plus de sa fréquence et de sa gravité, la pneumocystose se différencie par son caractère récidivant. Ainsi, en cas de guérison, de fréquentes rechutes de même pronostic que l'épisode initial sont à craindre dans un délai variable (dans un délai moyen de 10 mois dans 50 % des cas).

Le caractère récidivant et la gravité de la pneumocystose justifient indiscutablement une prophylaxie primaire (prévention du premier épisode) et une prophylaxie secondaire (prévention des rechutes). En effet, dès 1988, on note les premiers résultats sur l'efficacité de l'iséthionate de pentamidine en aérosol dans la prophylaxie de la pneumonie à *Pneumocystis carinii* (54,63).

#### **IV - 1990 : MISE SUR LE MARCHE DU PENTACARINAT\***

En France, la pentamidine est commercialisée depuis 1990 sous forme d'iséthionate de pentamidine : **PENTACARINAT\*** (Laboratoires Roger Bellon).

Avant 1990, la pentamidine était commercialisée sous forme de méthane sulfonate de pentamidine : **LOMIDINE\*** (Laboratoires SPECIA).

Le **PENTACARINAT\*** se distingue de la **LOMIDINE\*** par ses caractéristiques physicochimiques : pH et osmolarité. En effet, la bonne tolérance bronchique d'une solution médicamenteuse inhalée dépend, entre autres, de ces deux facteurs.

L'analyse physicochimique de la solution de **PENTACARINAT\*** (dilution 1/10 dans de l'eau pour préparation injectable) révèle un pH voisin de la neutralité (pH = 6,3) et une osmolarité (288 mOsm/l<sup>-1</sup>) proche des valeurs physiologiques. Pour mémoire, la solution de **LOMIDINE\*** a un pH de 4,9 et une osmolarité de 544 mOsm/l<sup>-1</sup>.

Le **PENTACARINAT\*** se distingue aussi de la **LOMIDINE\*** par l'absence de monoéthylacétamide, solvant organique dont la toxicité chez l'animal ne peut permettre de conclure à son innocuité.

En effet, la **LOMIDINE\*** se présentait sous forme d'ampoules injectables avec du monoéthylacétamide comme excipient, alors que, le **PENTACARINAT\*** est commercialisé sous forme de poudre pour aérosol ou usage parentéral sans cet excipient.

Le traitement prophylactique de la pneumocystose par la pentamidine montre qu'un médicament ancien, mal toléré par voie parentérale peut, par l'optimisation de sa

formulation (remplacement du méthane sulfonate par de l'isethionate et élimination d'un excipient) et la recherche d'une nouvelle voie d'administration mieux adaptée, contribuer à diminuer la morbidité et la mortalité d'une affection opportuniste prépondérante.

**DEUXIEME PARTIE**

**PARASITOLOGIE**

**Quelques considérations sur  
la trypanosomose humaine africaine  
les leishmanioses  
la pneumonie à *Pneumocystis carinii***

## I - LA TRYPANOSOMOSE AFRICAINE ET LES LEISHMANIOSES

Ces deux parasitoses sont dues à des protozoaires flagellés.

### I-1 - TAXONOMIE (59)

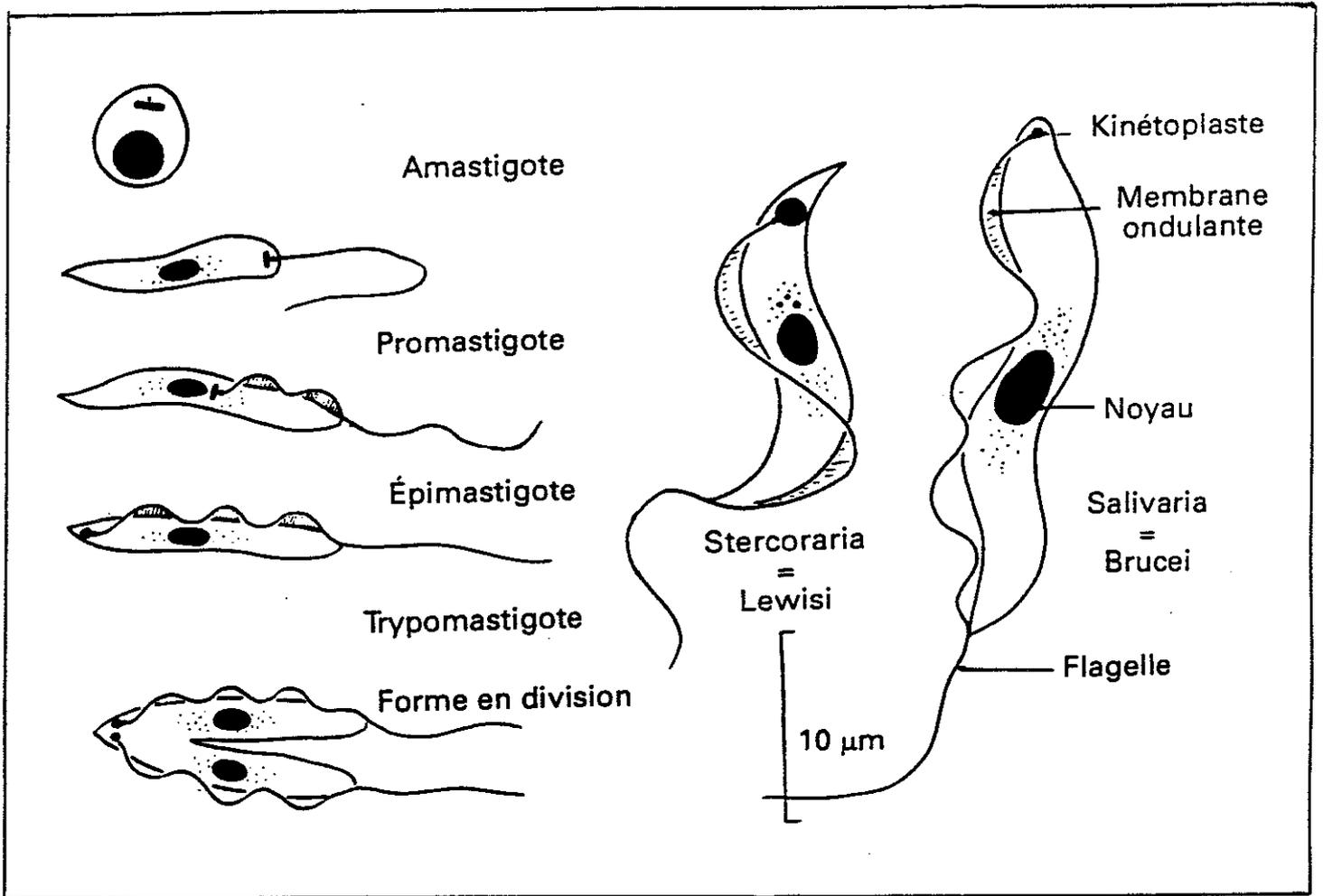
Tous les flagellés sanguicoles ou tissulaires parasites de l'Homme font partie de l'ordre des Kinetoplastida et de la famille des Trypanosomatidae qui regroupe les genres *Leishmania* et *Trypanosoma*.

Le cycle de développement hétéroxène possède deux hôtes : mammifère et arthropode.

Ces parasites ne sont rencontrés chez l'Homme que sous les formes trypomastigote (trypanosome) et amastigote (leishmaniae). Promastigote (leptomonas) et épimastigote (crithidia) se retrouvent chez les arthropodes vecteurs.

Sur le plan morphologique (Figure 1) :

- la forme trypomastigote est un fuseau de 20  $\mu\text{m}$  de long environ, avec un gros noyau central et un long flagelle qui va créer un faux aspect de membrane ondulante. Le kinétoplaste est au pôle postérieur, le flagelle est libre en position antérieure ;
- la forme épimastigote se différencie par une portion libre du flagelle plus courte, une fausse membrane ondulante réduite, et un kinétoplaste situé près du noyau en position antérieure ;
- la forme promastigote a un kinétoplaste très antérieur, un flagelle réduit, et ne possède pas de fausse membrane ondulante ;



- Figure 1 -

**MORPHOLOGIE DES TRYPANOSOMIDES**  
*d'après O'FEL A. (114)*

- la forme amastigote diffère des trois précédentes par sa taille très réduite (2 à 4  $\mu\text{m}$ ), par sa forme arrondie, et l'absence de fouet flagellaire libre. Elle conserve le kinétoplaste et la racine flagellaire interne (rhizoplaste). C'est une forme parasitaire intracellulaire, les autres formes citées sont libres intra- ou extratissulaires.

## I-2 - LA TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE (18,61,86,119,136)

### I-2-a - LES PARASITES

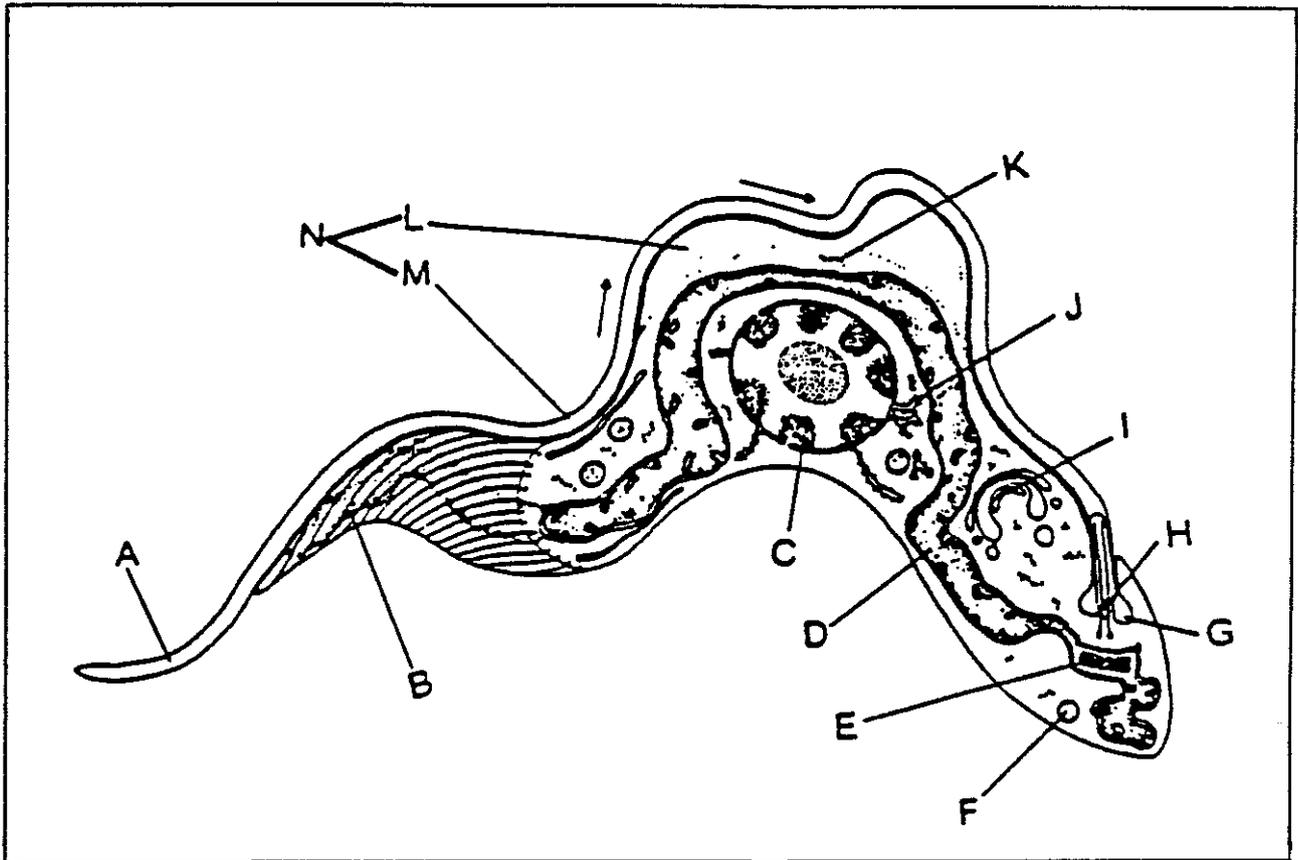
#### 1 - Classification

Le genre *Trypanosoma* est divisé en deux sections selon le lieu de développement du parasite chez le vecteur :

- la section *Stercoraria* (dont *Trypanosoma cruzi* , agent de la Maladie de Chagas),
- la section *Salivaria*, dans laquelle on s'intéresse au sous-genre *Trypanozoon* qui est divisé en trois espèces :
  - *equiperdum*,
  - *evansi*,
  - *brucei* : cette espèce comprend trois sous-espèces :
    - *rhodesiense*,
    - *brucei*,
    - *gambiense*.

#### 2 - Structure (Figure 2)

Les trypanosomes sont des protozoaires flagellés extracellulaires, extra- et intratissulaires. Dans le sang humain (forme trypomastigote), ils sont mobiles entre les globules rouges grâce à leur flagelle. Leur longueur varie de 40  $\mu\text{m}$  (formes longues et minces) à 15  $\mu\text{m}$  (formes courtes et trapues).



- Figure 2 -

**DIAGRAMME DE L'ULTRASTRUCTURE DE *TRYPANOSOMA BRUCEI GAMBIIENSE*  
d'après CUBADDA C. (38)**

A - Flagelle libre ; B - Microtubules membranaires ; C - Noyau ; D - Mitochondrie ;  
E - Kinétoplaste ; F - Granulations cytoplasmiques ; G - Réservoir ; H - Corpuscule basal du  
flagelle ; I - Appareil de Golgi ; J - Réticulum endoplasmique ; K - Ribosomes ; L - Pli  
membranaire ; M - Flagelle attaché ; N - Membrane ondulante.

Les deux espèces pathogènes pour l'Homme sont *Trypanosoma gambiense* et *Trypanosoma rhodesiense*. *Trypanosoma brucei* est un parasite exclusif des animaux sauvages ou domestiques.

*Trypanosoma gambiense* et *Trypanosoma rhodesiense* sont morphologiquement identiques, mais se différencient par leur répartition géographique, leur mode de transmission et la symptomatologie qu'ils déterminent.

### ***I-2-b - EPIDEMIOLOGIE***

#### ***1 - Répartition géographique (Figure 3)***

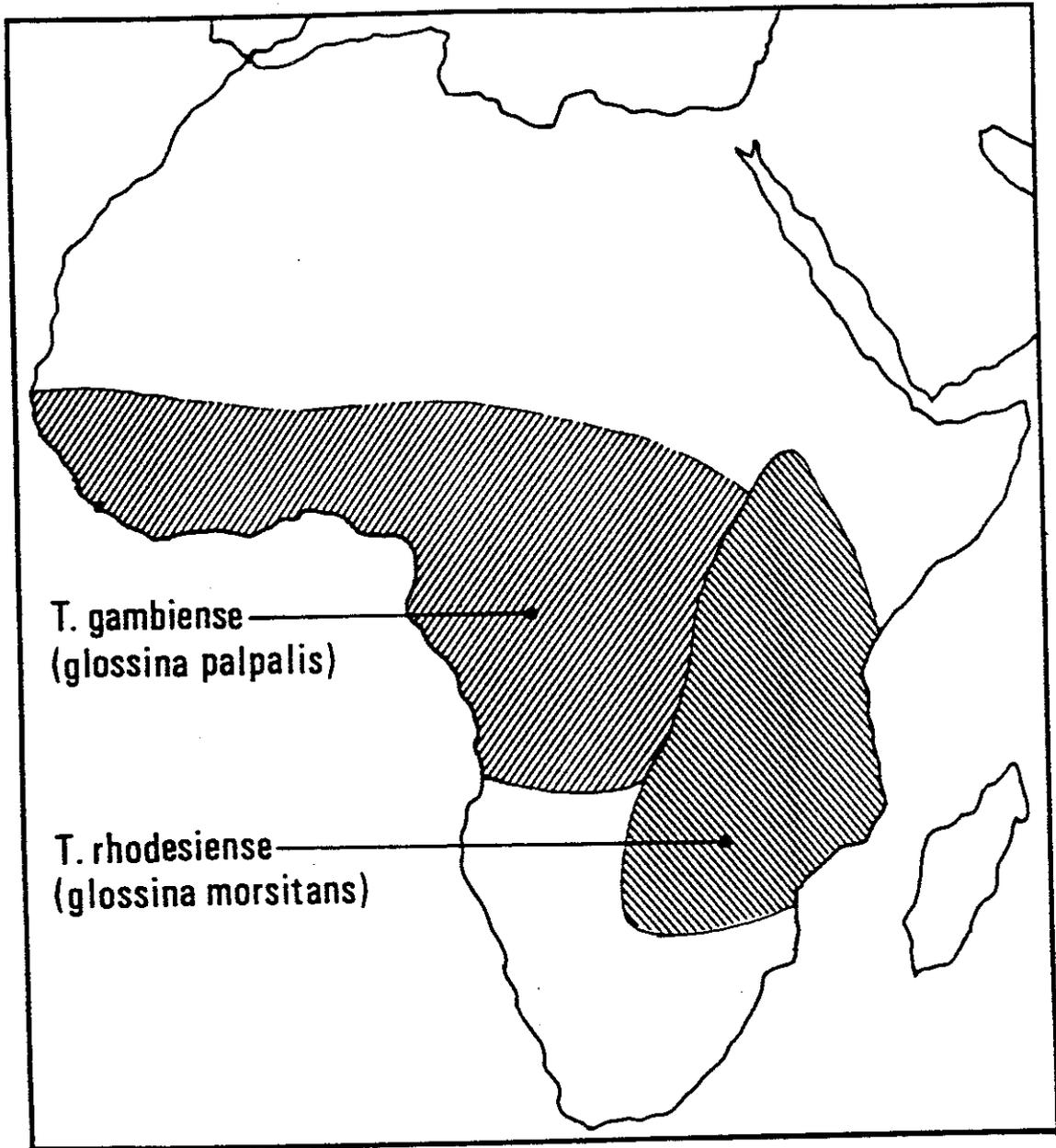
La trypanosomose humaine africaine ne se rencontre qu'en Afrique subsaharienne, du 15<sup>ème</sup> degré de latitude nord au 15<sup>ème</sup> degré de latitude sud.

La trypanosomose à *Trypanosoma gambiense* sévit en Afrique occidentale et centrale intertropicale.

Les foyers de trypanosomose à *Trypanosoma rhodesiense* sont dispersés en Afrique orientale.

#### ***2 - Transmission (Tableau I)***

Les glossines, ou mouches tsé-tsé, sont les vecteurs de ces trypanosomes. Ce sont des diptères hématophages. Il existe plusieurs espèces de glossines (genre *Glossina*). *Trypanosoma gambiense* est un parasite spécifiquement humain, tandis que *Trypanosoma rhodesiense* parasite essentiellement les mammifères sauvages.



- Figure 3 -

**TRYPANOSOMOSE HUMAINE EN AFRIQUE**  
*d'après BOUREE P. (18)*

AGENT PATHOGÈNE	VECTEUR	RÉSERVOIR	DISTRIBUTION
<i>T. gambiense</i>	<i>G. palpalis</i> <i>G. tachinoides</i>	homme porc?	Afrique occidentale et centrale
<i>T. rhodesiense</i>	<i>G. morsitans</i> <i>G. pallidipes</i> <i>G. swynnertoni</i> <i>G. fuscipes</i>	homme antilope  bétail	Afrique orientale   Ouganda

- TABLEAU I -

**VECTEURS ET RESERVOIRS PRINCIPAUX DES TRYPANOSOMOSES AFRICAINES**  
*d'après GENTILINI M. (61)*

### *I-2-c - CYCLE (Figure 4)*

(1-2-3) : La glossine pond des larves qui s'enfoncent dans le sol, qui donneront des nymphes, puis des adultes. L'adulte (A) s'infeste en piquant un malade dont le sang contient des trypanosomes de forme courte métacyclique (B). Ces derniers se multiplient dans l'intestin moyen de la glossine sous forme de "Trypanosome court" (C). Ils gagnent le proventricule où la multiplication se poursuit sous forme épimastigote (D). Les parasites gagnent les glandes salivaires où ils deviendront des trypanosomes métacycliques infestants (E). Ils sont inoculés lors de la piqûre suivante et la multiplication *in situ* donne un chancre d'inoculation (F). Les trypanosomes sont ensuite disséminés dans tout l'organisme par voie lymphatico-sanguine. Après une phase lymphatico-sanguine (G), se produit la phase neurologique de la maladie du sommeil qui, sans traitement, aboutit à la mort.

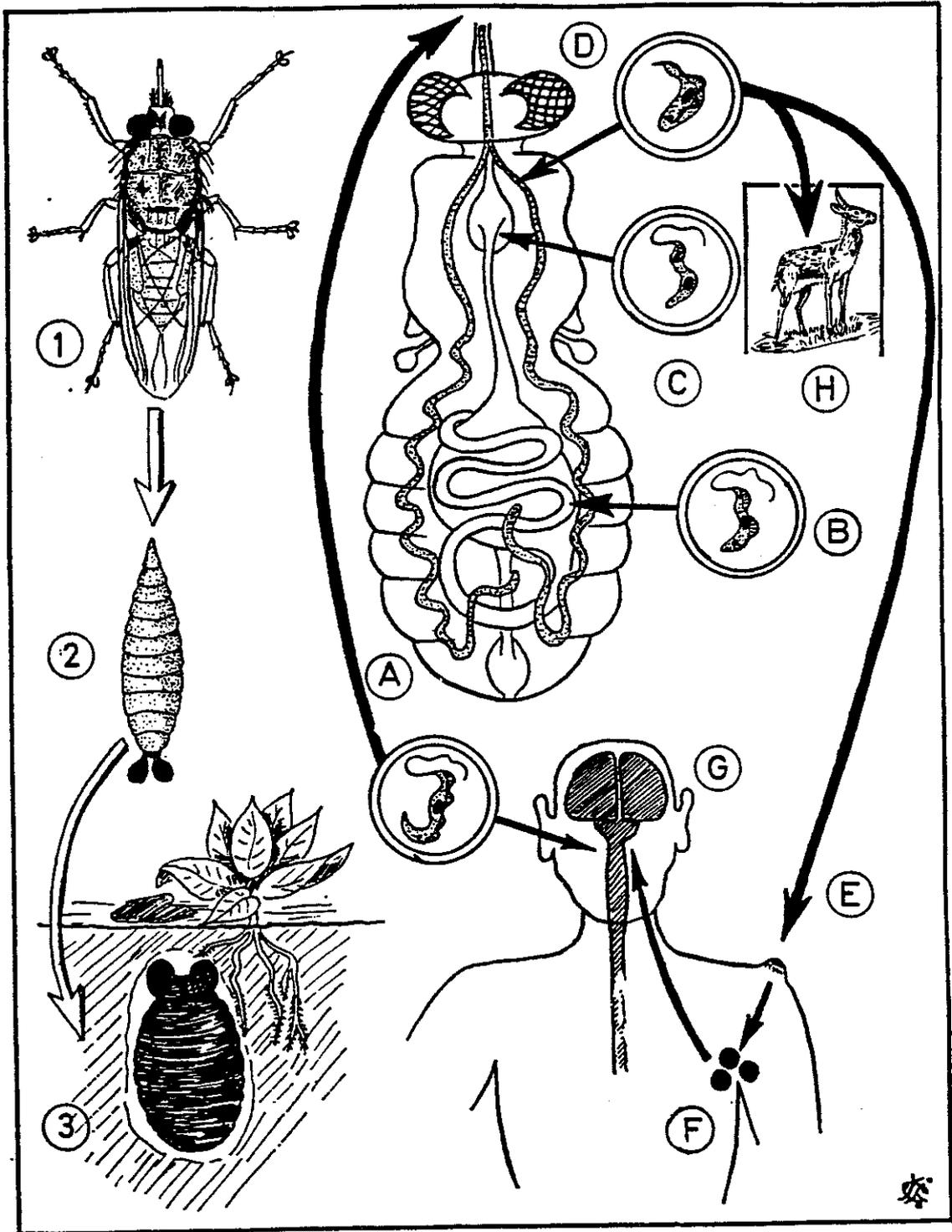
La figure 5 indique les différentes formes prises par *Trypanosoma brucei* au cours de son cycle de développement chez le mammifère et la glossine.

### *I-2-d - SYMPTOMATOLOGIE*

#### *1 - Trypanosomose à T. gambiense*

##### **\* Incubation**

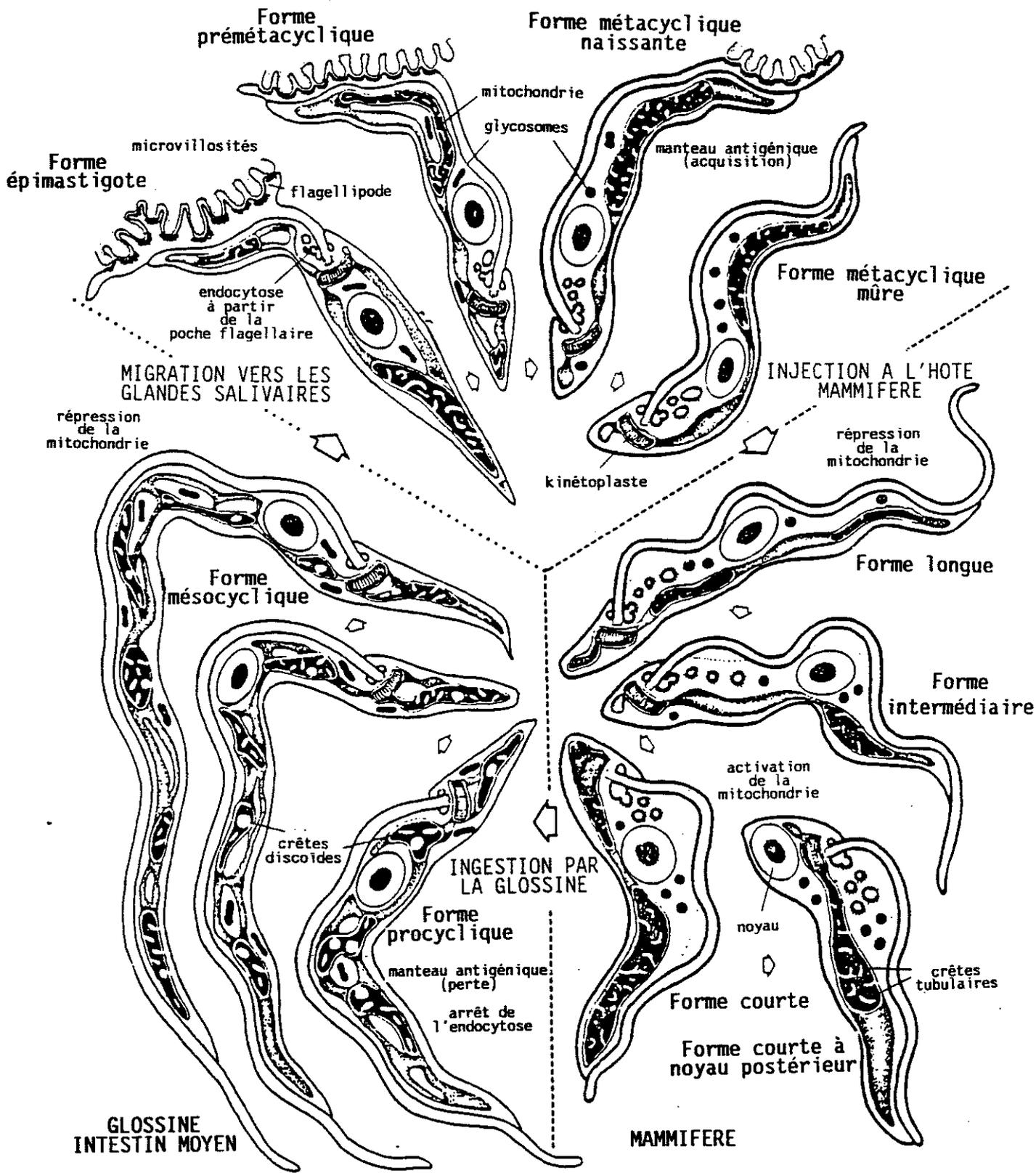
Elle est silencieuse et dure de 5 à 20 jours. L'injection des trypanosomes provoque parfois au point de piqûre un chancre d'inoculation accompagné d'adénopathies. Les trypanosomes se multiplient localement puis diffusent par voies lymphatique et sanguine.



- Figure 4 -

**CYCLE EVOLUTIF DES TRYPANOSOMES AFRICAINS**  
*d'après GOLVAN Y.J. (68)*

GLOSSINE  
GLANDES SALIVAIRES



- Figure 5 -

CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE *TRYPANOSOMA BRUCEI*  
d'après VICKERMAN K. (140)

**\* Phase lymphatico-sanguine**

On note une dissémination des trypanosomes à tout le système histiocytaire. Il apparaît une fièvre, une hépatosplénomégalie, des adénopathies, et des signes cutanés (trypanides ou placards érythémateux).

**\* Phase de polarisation cérébrale**

Elle est caractérisée par une encéphalite mésoenchymateuse périvasculaire et démyélinisante : c'est la phase méningo-encéphalitique. La fièvre persiste et apparaissent des signes neurologiques (troubles du sommeil, troubles neuro-végétatifs, troubles moteurs et sensitifs).

En l'absence de traitement, le malade s'achemine, plus ou moins vite, vers la cachexie sommeilleuse terminale.

L'évolution de la trypanosomose à *T. gambiense* se déroule en deux stades plus ou moins marqués. Elle est lente et peut durer quelques mois et même quelques années.

**2 - Trypanosomose à *T. rhodesiense***

Elle se distingue de la trypanosomose à *T. gambiense* non pas à la phase initiale, analogue, mais à la phase de généralisation où le caractère pathogène est sévère.

Fièvre, altération de l'état général, trypanides et atteinte cardiaque sont au premier plan (les adénopathies sont moins perceptibles).

L'évolution est subaiguë, vers la mort en 3 à 6 mois, sans permettre l'apparition de la phase de polarisation cérébrale.

### *I-2-e - TRAITEMENT*

- Suramine sodique (Germanine, Bayer 205) : **MORANYL\*** (Lab. SPECIA)

On l'utilise dans la phase lymphatico-sanguine de la trypanosomose. Elle est néphrotoxique.

Posologie : 6 injections intraveineuses, à raison de 1 ou 2 par semaine pour une dose de 20 mg/kg de poids (par injection).

- Iséthionate de pentamidine : **PENTACARINAT\*** (Lab. Roger Bellon)

Il est actif dans le traitement de la trypanosomose à *T. gambiense*, dans la phase lymphatico-sanguine. On observe une résistance primaire à la pentamidine dans les trypanosomoses à *T. rhodesiense*.

L'étude de la pentamidine proprement dite et de sa posologie font l'objet de la 3ème partie de la thèse.

On peut l'utiliser entre deux cures de MORANYL\*.

- Méthane sulfonate de pentamidine : **LOMIDINE\*** (Lab. SPECIA)

La **LOMIDINE\*** qui a été aussi utilisée en prophylaxie de la trypanosomose à *T. gambiense*, n'est plus commercialisée à l'heure actuelle.

- Diminazène : **BERENIL\***

C'est une diamidine utilisée en médecine vétérinaire. Il est actif dans la phase lymphatico-sanguine ; il ne présente en fait aucun avantage sur la pentamidine.

Posologie : 7 à 10 injections intramusculaires à raison de 1 par jour à 2 mg/kg/jour.

- Mélarsoprol (Mel B) : **ARSOBAL\*** (Lab. SPECIA)

C'est un arsenical organique trivalent (association de mélarséne oxyde et de BAL [British Anti Lewisite ou dimercaprol]), utilisé pour le traitement de la trypanosomose africaine en cas d'atteinte du système nerveux central dans la deuxième période de la maladie. Sa toxicité en limite l'emploi aux formes graves et avancées. L'encéphalopathie arsenicale constitue la complication la plus grave (environ 5 % des patients traités).

Posologie : 3 injections intraveineuses à 48 h d'intervalle à 3,6 mg/kg de poids par jour.

- DL- $\alpha$ -difluorométhylornithine (=EFLORNITHINE) : **ORNIDYL\*** (Lab. Merrell-Dow)

Elle est efficace dans les formes évoluées de la maladie et chez les malades résistants aux dérivés arsenicaux.

Posologie : en cure de 14 jours à la dose de 300 mg/kg/jour, en injection intraveineuse lente.

Ce médicament n'est plus disponible actuellement dans l'industrie pharmaceutique.

### **I-3 - LES LEISHMANIOSES (20,43,78)**

#### *I-3-a - LES PARASITES*

##### **1 - Classification (Tableau II)**

Les leishmanioses sont des parasitoses communes à l'Homme et à de nombreux mammifères, dues à des protozoaires flagellés intracellulaires du système réticulo-histiocytaire : les leishmanies (transmises par des phlébotomes).

On distingue :

- les leishmanioses viscérales où les parasites envahissent tout le système des phagocytes mononucléés,

	ESPÈCES OU COMPLEXES	CORRESPONDANCES CLINIQUES ET ÉPIDÉMIOLOGIQUES
Leishmanioses de l'Ancien-Monde	<i>L. infantum</i>	L. viscérale infantile du Bassin méditerranéen et de Chine
	<i>L. donovani</i>	L. viscérale d'Inde et d'Afrique de l'Est (Kala-azar)
	<i>L. tropica</i> (syn. <i>L.t. minor</i> )	L. cutanée sèche, urbaine (bouton d'Orient)
	<i>L. major</i> (syn. <i>L.t. major</i> )	L. cutanée humide, rurale
	<i>L. aethiopica</i>	L. cutanée localisée ou diffuse
Leishmanioses du Nouveau-Monde	<i>L. chagasi</i>	Proche de <i>L. infantum</i> : L. viscérale sud-américaine
	Complexe <i>L. mexicana</i> <i>L.m. mexicana</i> <i>L.m. amazonensis</i> <i>L.m. pifanoi</i>	L. cutanée localisée (ulcère du chiclero) ou diffuse
	Complexe <i>L. brasiliensis</i> <i>L.b. brasiliensis</i> <i>L.b. guyanensis</i> <i>L.b. panamensis</i>	L. cutanée pure ou cutanéomuqueuse (Espundia, Uta, ...)
	<i>L. peruviana</i>	L. cutanée (surtout Uta)

- TABLEAU II -

**CLASSIFICATION DES LEISHMANIOSES**  
*d'après GENTILINI M. (61)*

- les leishmanioses cutanées,
- les leishmanioses cutanéomuqueuses.

## **2 - Structure (Figure 6)**

Le genre *Leishmania* se caractérise par l'apparition au cours de son cycle biologique de 2 formes morphologiques différentes :

### **\* La forme amastigote**

C'est un corpuscule ovoïde de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , immobile, apparemment aflagellé. C'est un parasite intracellulaire du système réticulo-histiocytaire. Cette forme se trouve dans les monocytes, les histiocytes chez l'hôte vertébré ainsi que dans les cultures cellulaires.

### **\* La forme promastigote**

Elle est allongée et présente un flagelle de 20  $\mu\text{m}$ . Elle se retrouve chez le vecteur, et dans la phase liquide des milieux de culture : c'est la forme infectante pour l'Homme.

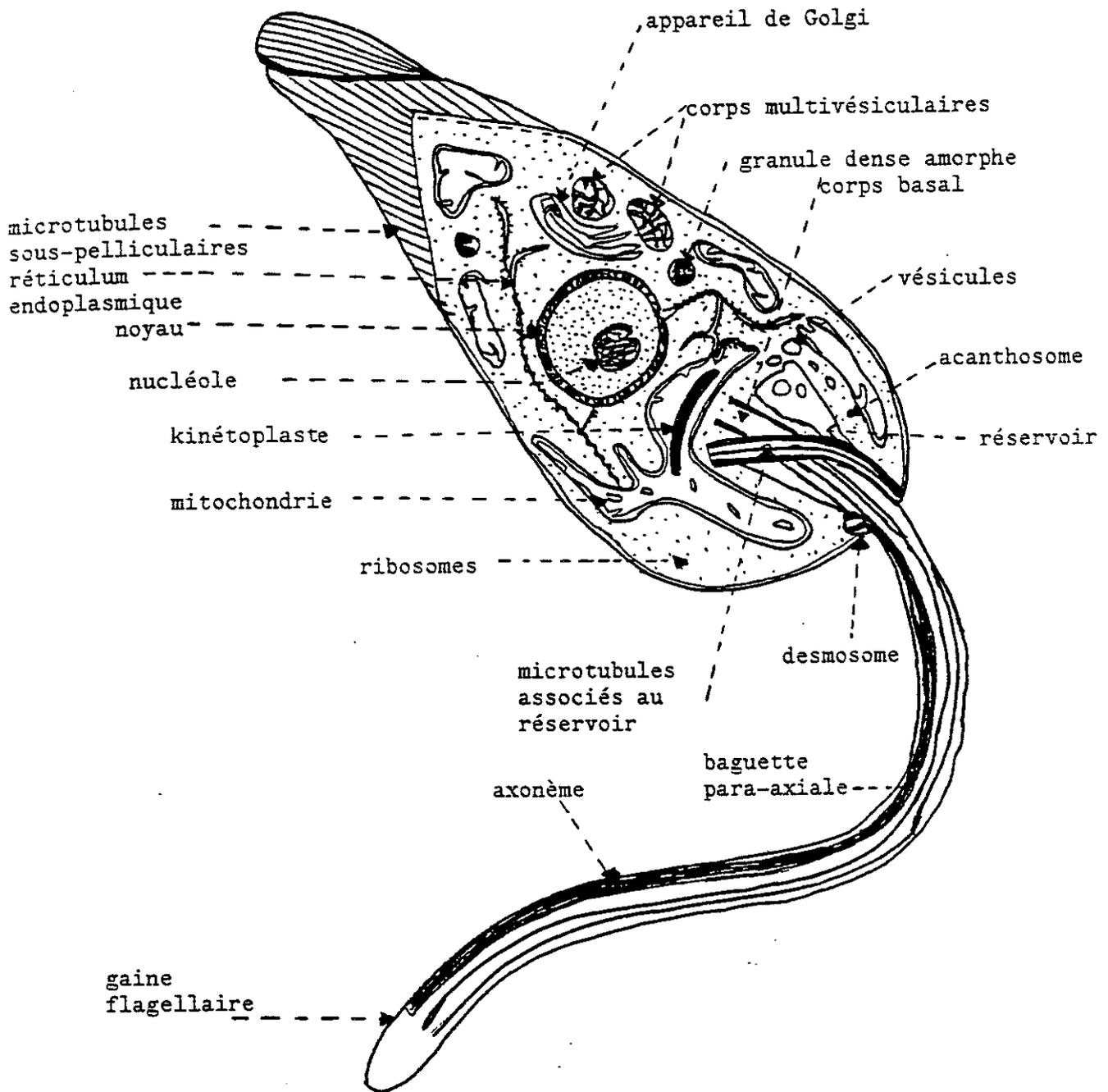
## **I-3-b - EPIDEMIOLOGIE**

### **1 - Répartition géographique**

#### **\* Les leishmanioses viscérales (Figure 7)**

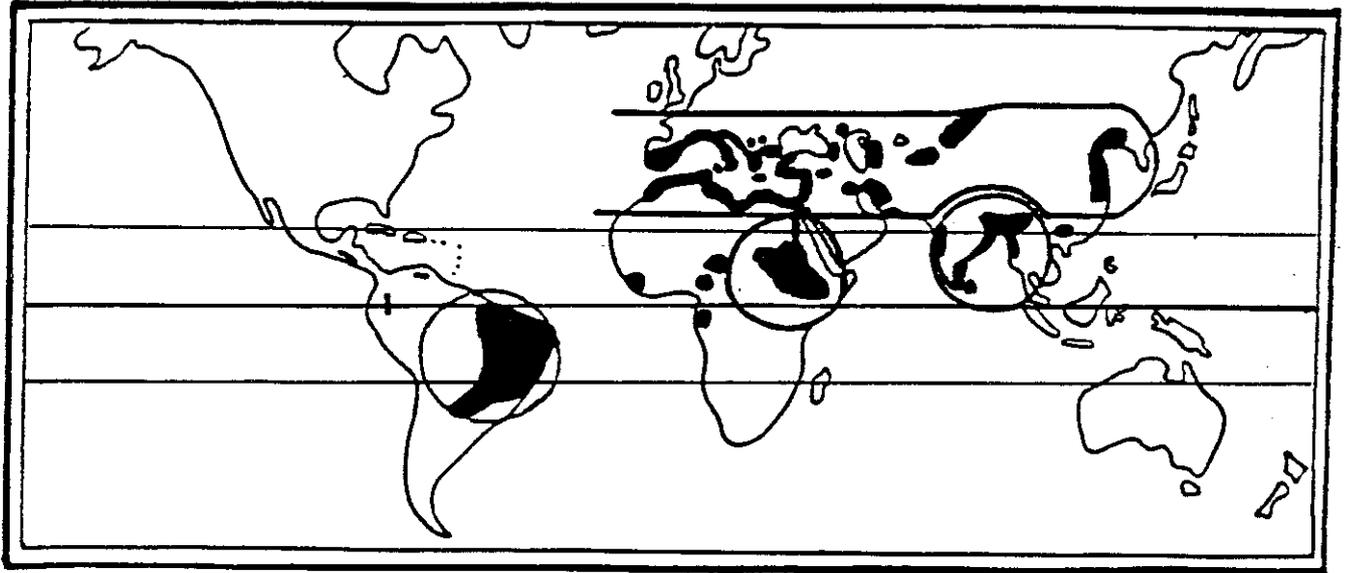
On distingue 6 foyers :

- foyer méditerranéen,



- Figure 6 -

**REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE L'ULTRASTRUCTURE  
 D'UN PROMASTIGOTE (genre *leishmania*)  
 d'après BOUSQUET C. (20)**



- Figure 7 -

**REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE LA LEISHMANIOSE VISCERALE**  
*d'après O'FEL A. (114)*

- foyer chinois,
- foyer d'Asie centrale,
- foyer est-africain,
- foyer indien,
- foyer sud-américain.

\* Les leishmanioses cutanées de l'Ancien Monde (ou Bouton d'Orient)  
(Figure 8)

Elles sévissent dans tout le bassin méditerranéen (rares sur la côte européenne), s'étendant largement au Proche et Moyen Orient, remontant dans le sud de l'URSS en poussant jusqu'en Inde. Elle est également présente en Afrique et en Ethiopie.

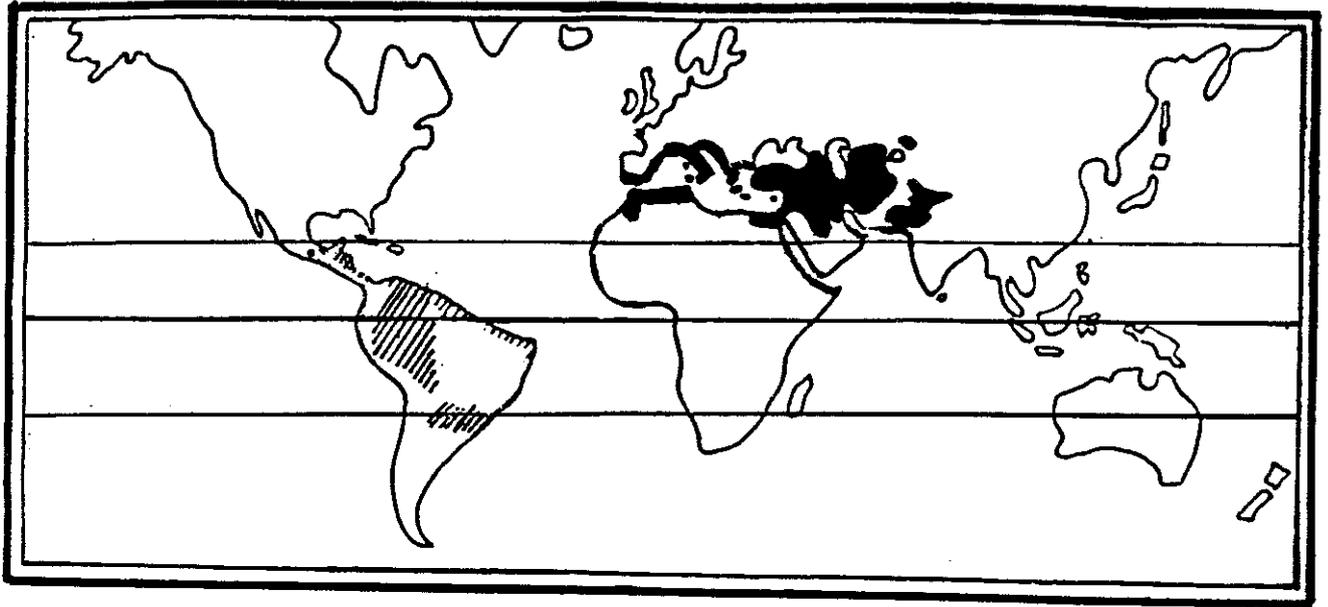
\* Les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses du Nouveau Monde  
(Figure 8)

Elles constituent en fait un vaste ensemble d'affections qui se rencontrent dans toute l'Amérique, du sud des USA (Texas) jusqu'en Argentine.

## ***2 - Transmission***

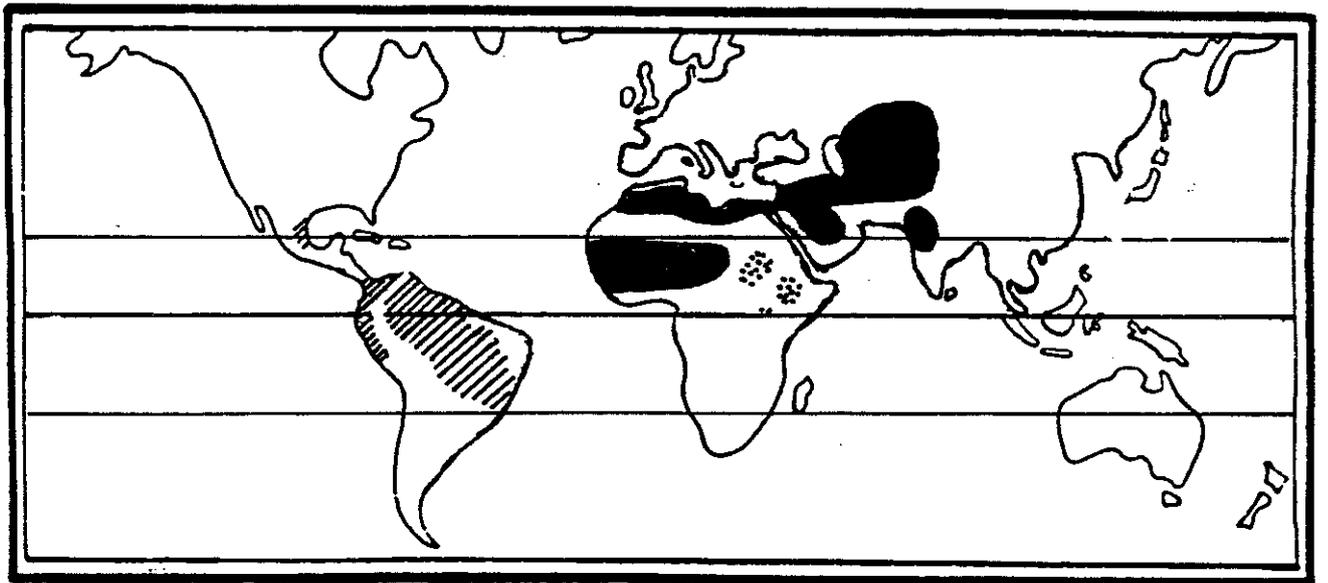
Les agents vecteurs sont des phlébotomes, diptères de petite taille des genres *Phlebotomus* pour les leishmanioses de l'Ancien Monde et *Lutzomyia* pour celles du Nouveau Monde, dont seule la femelle est hématophage. Selon le réservoir des parasites et ses possibilités de transmission à l'Homme, on distingue des foyers primaires (animaux sauvages), secondaires (animaux domestiques), et tertiaires (Homme) (Figure 9).

Les réservoirs de parasites (Tableau III) diffèrent selon les régions. Dans les foyers "primaires", ce sont des animaux sauvages : rongeurs ou canidés (renards). Dans ces



 *L. braziliensis*

 *L. tropica*



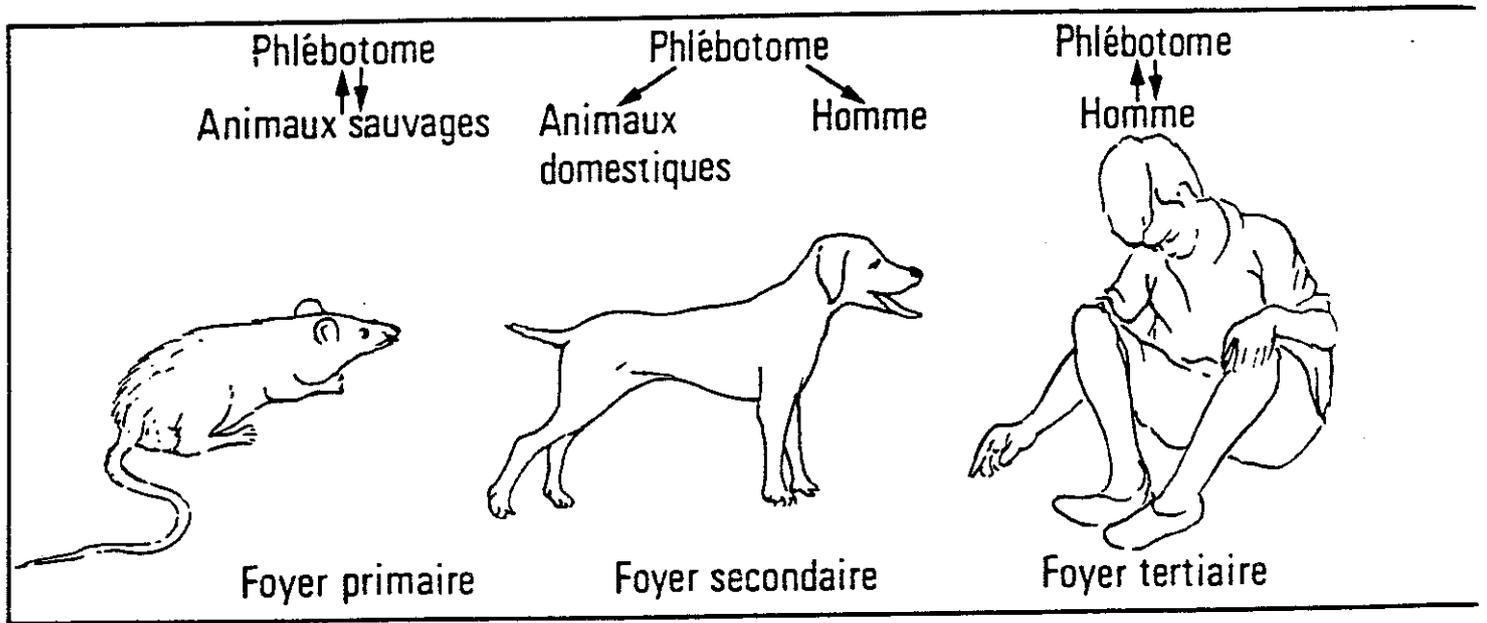
 *L. mexicana*

 *L. major*

 *L. aethiopica*

- Figure 8 -

REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES LEISHMANIOSES CUTANÉES  
 ET CUTANEO-MUQUEUSES  
 d'après O'FEL A. (114)



- Figure 9 -

**LES DIFFERENTS CYCLES DE TRANSMISSION DES LEISHMANIOSES**  
*d'après BOUREE P. (18)*

ASPECT CLINIQUE	PARASITE RESPONSABLE	RÉSERVOIR	RÉGIONS
<b>LEISHMANIOSES VISCÉRALES</b>			
	<i>L. donovani</i>	Homme; chien ?	Inde, Chine, Irak, Syrie, Soudan, Kenya, Éthiopie
	<i>L. infantum</i>	Chien, canidés sauvages	Bassin méditerranéen, Chine, Asie centrale
	<i>L. chagasi</i> *	Chien, canidés sauvages (renard)	Amérique du Sud
<b>LEISHMANIOSES CUTANÉES DE L'ANCIEN-MONDE</b>			
Forme anthroponotique urbaine (sèche)	<i>L. tropica</i> <i>L. killicki</i>	Homme, chiens	Asie centrale, Moyen-Orient, Grèce, Turquie, Tunisie, Maroc
Formes zoonotique rurale (humide)	<i>L. major</i>	Rongeurs	Asie centrale, Inde, Moyen-Orient, Afrique de l'Ouest, du Nord et de l'Est
<b>LEISHMANIOSES CUTANÉES DU NOUVEAU-MONDE</b>			
Ulcère des chicleros	<i>L. mexicana</i>	Rongeurs	Amérique centrale
Pian bois	<i>L. venezuelensis</i> <i>L. guyanensis</i>	? Paresseux, fourmilier	Venezuela (villes) Guyane française, Brésil, Suriname
Uta	<i>L. panamensis</i> <i>L. peruviana</i> <i>L. lainsoni</i>	Paresseux, singes Chien ?	Amérique centrale Pérou Brésil
<b>LEISHMANIOSES CUTANÉES DIFFUSES</b>			
Nouveau Monde	<i>L. pifanoi</i> <i>L. amazonensis</i>	Rongeurs, marsupiaux Rongeurs, marsupiaux	Venezuela Colombie, Brésil
Ancien Monde	<i>L. aethiopica</i>	Damans	Montagnes d'Éthiopie, Kenya, Tanzanie
<b>LEISHMANIOSES CUTANÉO-MUQUEUSES</b>			
Nouveau Monde (Espundia)	<i>L. braziliensis</i>	Souvent inconnus Rongeurs ? Chien	Du Costa Rica au Brésil
Ancien Monde	<i>L. donovani</i>	Homme	Soudan, Tchad

\* Est considéré par certains auteurs comme synonyme de *L. infantum* importé par les chiens des Conquistadores.

- TABLEAU III -

**LES LEISHMANIOSES :**  
**REPARTITION DES DIFFERENTS RESERVOIRS DE PARASITES**  
*d'après GENTILINI M. (61)*

foyers (Asie centrale, Afrique noire, certaines zones d'Amérique latine), l'endémie leishmanienne se maintient chez l'animal et les cas humains sont accidentels. Dans les foyers "secondaires", le chien est le principal réservoir (présence de leishmaniose canine en Chine, Amérique latine, et pays bordant la Méditerranée dont le sud-est de la France). La contamination humaine est plus fréquente mais reste accidentelle. Dans les foyers "tertiaires", l'Homme est le réservoir, ce qui explique la fréquence de l'affection humaine (Soudan, Inde).

### *I-3-c - CYCLE (Figure 10)*

(1-2-3) : De l'oeuf du phlébotome sort une larve qui se transforme en nymphe et qui donnera un adulte. Cet adulte s'infeste en piquant un mammifère parasité lors d'un repas de sang.

(A) : Chez le phlébotome, la leishmanie se multiplie sous forme promastigote.

(B) : Ceux-ci sont inoculés, lors du repas suivant, aux mammifères. Le chien est pour la leishmaniose méditerranéenne le réservoir de parasites le plus fréquent pour l'Homme.

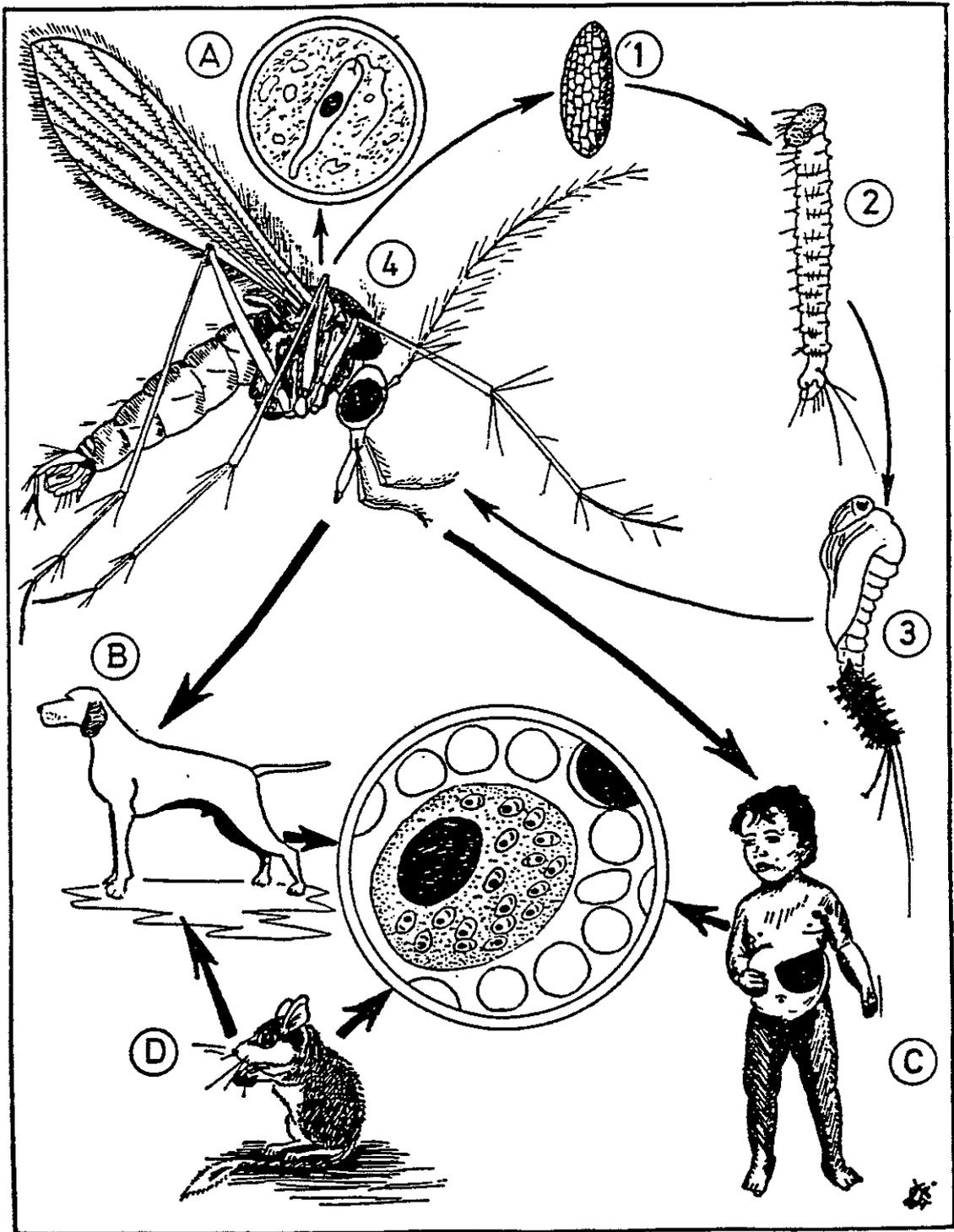
(C) : Pour cette leishmaniose, l'enfant fait des formes graves, mortelles, en l'absence de traitement.

(D) : Les rongeurs sauvages semblent jouer un rôle capital dans la pérennité de la plupart des leishmanioses.

### *I-3-d - SYMPTOMATOLOGIE*

#### *1 - Leishmanioses viscérales ou kala-azar*

La leishmaniose viscérale de l'enfant est rencontrée dans le pourtour du bassin méditerranéen. L'incubation est silencieuse et dure 1 à 2 mois. La phase de début est insidieuse : l'enfant présente progressivement des troubles du caractère, et des accès de



- Figure 10 -

**CYCLE EVOLUTIF DES LEISHMANIES**  
*d'après GOLVAN Y.J. (68)*

fièvre intermittents. Dans la phase d'état, on note une fièvre constante, une pâleur extrême, et un amaigrissement. Ce tableau se complète par un syndrome spléno-hépatoganglionnaire. La maladie est mortelle en l'absence de traitement.

La **leishmaniose viscérale de l'adulte** est la forme habituelle en Inde, en Chine, et dans certains pays d'Afrique noire et d'Amérique du Sud. Le début est très brutal avec des accès fébriles et un syndrome spléno-hépatoganglionnaire moins net que chez l'enfant. Ici les signes cutanés sont plus fréquents : pâleur, macules et taches sur le visage et les membres. L'évolution est mortelle dans la cachexie ou à l'occasion d'infections intercurrentes.

## ***2 - Leishmanioses tégumentaires***

### **\* Leishmanioses cutanées de l'Ancien Monde (Bouton d'Orient)**

Elles revêtent plusieurs aspects symptomatiques :

- **Forme sèche habituelle** : On la rencontre en milieu urbain méditerranéen. La lésion siège au niveau d'une zone découverte (face, membre). Il s'agit d'une ulcération croûteuse. La lésion évolue en plusieurs mois vers le comblement de l'ulcère et l'apparition d'une cicatrice indélébile.
- **Forme humide** : Elle se distingue de la forme sèche par son évolution plus rapide, par sa plus grande taille. On la remarque souvent en zone rurale (Asie centrale, Afrique noire, littoral méditerranéen).

### **\* Leishmanioses cutanéomuqueuses du Nouveau-Monde :**

Elles affectent essentiellement les travailleurs des plantations d'Amérique latine et les forestiers.

- Forme Uta : elle ressemble initialement au bouton d'Orient : nodule ulcéro-croûteux, siégeant en zone découverte. Elle peut guérir en quelques mois, mais prend souvent un aspect humide. La surinfection est fréquente ; la guérison est longue.
- Forme Espundia : elle se caractérise par des métastases cutanées et muqueuses (nez, oropharynx, trachée, oesophage,...). La surinfection est habituelle ; le pronostic vital est en jeu.
- Forme tégumentaire diffuse : elle est rare et son évolution est fatale. On a une atteinte progressive de la totalité des téguments sous forme d'ulcérations.

### *I-3-e - TRAITEMENT*

#### *1 - Leishmanioses viscérales*

- Antimoniote de N-méthylglucamine : **GLUCANTIME\*** (Lab. SPECIA)

Posologie : injection intramusculaire à la dose quotidienne maximale de 60 mg/kg de poids pendant 15 jours. Cette dose est atteinte progressivement (au bout du 4ème jour).

Le GLUCANTIME\* est un dérivé antimonié ; il peut donner lieu à 3 types d'accidents :

- stibio-intolérance : toux, tachycardie, diarrhée ;
- stibio-intoxication : associées à la symptomatologie précédente, des complications polynévritiques, rénales et hépatiques ;
- stibio-résistance : il s'agit d'une séquestration splénique. Le traitement devient efficace après une splénectomie.

La tuberculose pulmonaire est une contre-indication au traitement stibié.

- Iséthionate de pentamidine : **PENTACARINAT\*** (Lab. Roger Bellon)

On l'utilise en cas d'échec des autres thérapeutiques, ou entre deux cures de **GLUCANTIME\***.

L'étude de la pentamidine proprement dite et de sa posologie dans le traitement des leishmanioses, font l'objet de la 3ème partie de la thèse.

- Amphotéricine B : **FUNGIZONE\*** (Lab. Squibb)

Elle sera utilisée en cas d'échec des trois autres thérapeutiques.

Posologie : perfusions lentes de 0,1 mg/kg à 0,6 mg/kg (1 mg/kg est la dose maximale).

Il faudra surveiller la fonction rénale.

## ***2 - Leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses***

- Dérivés de l'antimoine : **GLUCANTIME\*** ;

Les posologies sont identiques aux précédentes.

- Pentamidine : **PENTACARINAT\***.

Les leishmanioses cutanéomuqueuses américaines, rebelles au traitement stibié, nécessitent l'emploi de la **FUNGIZONE\***. L'antibiothérapie est un utile adjuvant du traitement. La chirurgie plastique est indiquée pour réparer les mutilations de la face et les cicatrices.

## **II - LA PNEUMONIE A *PNEUMOCYSTIS CARINII***

La pneumonie à *Pneumocystis carinii* est une maladie d'actualité car elle survient de façon fréquente chez les malades immuno-déprimés. Développée à partir d'un parasite saprophyte opportuniste, la maladie est en constante augmentation en raison surtout de l'utilisation de traitements immunosuppresseurs, mais aussi en raison de l'apparition,

depuis 1981, du syndrome d'immuno-dépression acquise (SIDA) dont elle constitue la manifestation pulmonaire la plus répandue. La gravité de l'affection et sa mortalité conduisent à chercher une thérapeutique efficace et un diagnostic rapide.

## II-1- LE PARASITE (83,128,139)

### II-1-a - TAXONOMIE

Il est très difficile d'étudier un microorganisme qui ne se développe sur aucun des milieux usuels, ni en cultures cellulaires, pas plus qu'il ne peut être inoculé à des animaux de laboratoire.

Depuis la découverte du rôle pathogène de *Pneumocystis carinii*, le problème de la position taxonomique de ce parasite s'est donc posé de façon aiguë et n'est pas encore parfaitement résolu. On est amené à distinguer trois théories : *Pneumocystis carinii* est-il un protozoaire, un virus, ou un champignon ?

#### \* Théorie d'appartenance au phylum des protozoaires :

Jusqu'en 1952, les parasitologues admettaient, sans preuves certaines, que *Pneumocystis carinii* dont ils ne connaissaient que la forme kystique, pouvait être classé parmi les sporozoaires.

Jirovec range en effet ce microorganisme parmi les Haplosporidiés, troisième sous-classe des sporozoaires, et formant un groupe de protistes chez lesquels on ne connaît pas de cycle sexué. Jirovec souligne cependant que les Haplosporidiés seront démembrés au fur et à mesure des acquisitions faites sur leur cycle, pour être reclassés soit parmi les protozoaires, soit parmi les protophytes ou végétaux inférieurs.

Ses arguments sont principalement d'ordre morphologique. Il compare les "enveloppes mucoïdes" des formes végétatives aux sphères mucoïdes qu'il a observées chez un protozoaire. Enfin, il s'appuie aussi sur les premières données de microscopie électronique. Wessel et Ricken concluent en effet que *Pneumocystis carinii* est un protozoaire en raison de l'ultrastructure de la membrane kystique et de l'absence de bourgeonnement cellulaire. Le fait qu'on ne soit jamais arrivé à cultiver *Pneumocystis carinii* a enlevé du poids à l'argumentation des théories virales et fongiques.

De nombreux cliniciens se rangent aussi à cet avis en raison de l'activité sur *Pneumocystis carinii* des diamidines aromatiques qui sont des substances protozoïcides, mais cette argumentation ne tient pas compte de l'action fongicide de ces produits.

\* Nature virale :

F. et W. Stirnimann furent les premiers en 1942 à soulever l'hypothèse d'une étiologie virale. Ils argumentaient en invoquant le fait de l'inefficacité des antibiotiques, de l'absence de réaction à polynucléaires.

C'est Moser qui défendit le plus cette théorie en se basant sur un argument immunologique. Par ultracentrifugation, cet auteur extrait d'un poumon d'enfant mort de pneumonie interstitielle un antigène, qui en fixation du complément, réagit spécifiquement avec les immunosérums correspondants. Cet antigène est composé de "granules" que Moser identifie à des virus. Le développement de "granules" viraux sur embryon de poulet ou en cultures cellulaires ensemencées par un broyat de poumon infesté, apporte à Moser son second argument.

Il paraît difficile de retenir cette preuve d'autant que la vie cellulaire du parasite semble difficilement compatible avec cette nature virale. On serait plutôt porté à penser que

l'existence parallèle d'un virus, et l'on connaît la fréquence de l'association de virus et des microorganismes, est à l'origine des constatations de Moser.

\* Nature fongique (retenue actuellement) :

Certains auteurs pensent que *Pneumocystis carinii* peut être classé parmi les champignons car il y a une similitude entre la formation des corps intrakystiques du *Pneumocystis carinii* et la formation des macrospores des champignons di-morphiques. De plus, il prend la coloration argentique de Grocott, spécifique des champignons dans la forme kystique.

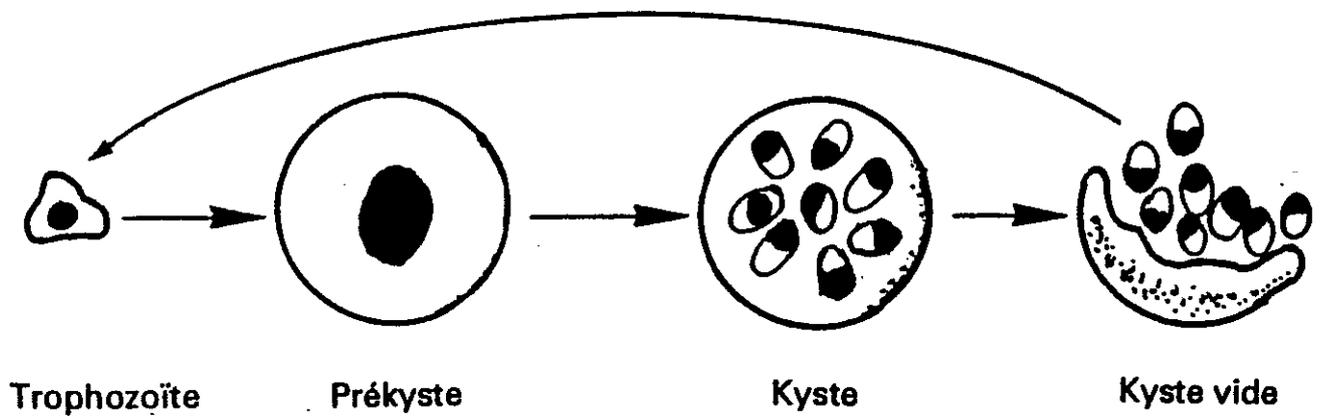
Certains auteurs, dans des études plus récentes, pensent qu'il y a une liaison très étroite avec les levures ; un lien génétique a pu être déduit à partir de la comparaison des séquences macromoléculaires. En effet, l'analyse génétique des séquences de l'ARN<sub>R</sub> de *Pneumocystis carinii* a montré que celui-ci pourrait avoir une nature fongique.

#### *II-1-b - MORPHOLOGIE (23,110) (Figure 11)*

Par convention, on distingue 5 entités morphologiques qui représentent les différents aspects aux stades de développement du parasite.

On distingue, grâce à la microscopie optique ou électronique :

- stades trophiques ou trophozoïtes (formes végétatives),
- prékystes,
- kystes comprenant à maturité 8 corps intrakystiques,
- kystes vides.



- Figure 11 -

**EVALUATION ET MATURATION DU *PNEUMOCYSTIS CARINII***  
**d'après O'FEL A. (114)**

**\* Stades trophiques ou trophozoïtes :**

Ce sont des petits éléments apparaissant à l'intérieur des alvéoles pulmonaires, et provenant des kystes. Leur émergence des kystes se fait à travers un ou plusieurs sites de la membrane. Campbell (26) a décrit des petits trophozoïtes (1,5  $\mu\text{m}$  de diamètre) et des grands trophozoïtes (2,5  $\mu\text{m}$  de diamètre).

**\* Les prékystes :**

Les prékystes, de 5  $\mu\text{m}$  en moyenne, possèdent une paroi mince en cours d'évolution entourant des vacuoles, des mitochondries et un amas de substances nucléaires.

**\* Les kystes :**

Ce sont des organismes, de 5 à 6  $\mu\text{m}$  de diamètre, qui possèdent plusieurs concavités à leur surface. La paroi kystique est formée de 3 couches : la couche externe plus épaisse est séparée de la couche interne par un espace moins dense aux électrons.

Autour de la membrane kystique, il existe des structures tubulaires. Campbell (26) décrivait des pseudopodes et pensait qu'ils assuraient la mobilité de certaines formes de parasites. Pifer et coll. (121) pensent plutôt à un rôle dans la fonction de nutrition.

**\* Les corps intrakystiques ou sporozoïtes :**

Ils sont au nombre de 8 à l'intérieur des kystes à maturité. Leur diamètre est de 1  $\mu\text{m}$ . Ils possèdent une double membrane, un noyau, et divers organites (mitochondries, vacuole, reticulum endoplasmique).

**\* Les kystes vides :**

Ce sont des kystes matures qui ont évacué leur contenu. Ils correspondent aux formations en croissant en microscopie optique.

**II-2 - CYCLE BIOLOGIQUE (121)**

Ce cycle se déroule en quelques heures dans les alvéoles pulmonaires : de 4 à 6 heures selon le modèle de Pifer décrit en 1977.

Tout se passe dans la cavité alvéolaire et à l'extérieur des cellules. Là, les organismes peuvent être trouvés soit isolés, soit le plus souvent groupés en quantité variable. Le cycle entier existe chez un même hôte. Le réservoir est constitué par de nombreux mammifères domestiques et sauvages. L'organe cible est le poumon et le tissu-cible est l'alvéole pulmonaire. Les formes infectieuses semblent pénétrer par voie aérienne.

Le développement du cycle se fait par plusieurs étapes. Le kyste mûr va libérer 8 sporozoïtes par rupture de sa paroi. Les sporozoïtes, une fois libres, sont appelés "petits trophozoïtes". Cette petite forme mobile va grandir et acquérir une paroi épaisse. Une fois arrivé à sa taille normale, deux possibilités se présentent pour le trophozoïte :

- il continue sa transformation jusqu'au stade prékystique,
- il se produit une mitose qui donne naissance à 2 cellules filles.

Le passage de la forme trophozoïte à celle du prékyste se caractérise par un épaissement de la paroi, associé à une dispersion de la chromatine. La chromatine se sépare en petites masses nucléaires distinctes qui acquièrent chacune une membrane nucléaire. Elles s'entourent d'un cytoplasme et d'une membrane cellulaire individuelle.

La transformation achevée, le kyste mûr se détache de la cellule-hôte et devient plus sphérique. La paroi se rompt à un ou plusieurs endroits et libère des sporozoïtes.

Le cycle est bouclé.

## **II-3 - EPIDEMIOLOGIE (68,128)**

### *II-3-a- RESERVOIR*

*Pneumocystis carinii* est un microorganisme ubiquitaire. Il a été retrouvé dans les poumons d'espèces variées : cochon d'Inde, cobaye, rat, souris, lapin, renard, chien, chat, porc, ovin, oiseau et singe.

Il est également retrouvé chez l'Homme lors d'autopsies systématiques.

### *II-3-b - L'INFECTION A PNEUMOCYSTIS CARINII*

Elle a une répartition mondiale. Aucune variation saisonnière n'a été décrite. Elle peut survenir à tout âge et quel que soit le sexe de l'individu.

En fait, la répartition au sein d'une population est celle des pathologies qui en sont à l'origine. C'est ainsi qu'avant 1980, la plupart des cas de pneumopathies à *Pneumocystis carinii* étaient sporadiques et peu fréquentes. Elles n'affectaient que les nourrissons prématurés et dénutris, et étaient surtout rencontrées chez des sujets à l'immunité déficiente tels que les malades atteints de néoplasie ou mis sous thérapeutique immunodépressive.

Mais depuis 1980, l'infection à *Pneumocystis carinii*, survenant sur un terrain immunodéficient prend une nouvelle ampleur. En effet, c'est l'augmentation de l'incidence

de cette pneumocystose chez de jeunes homosexuels américains qui a servi de révélateur et a permis d'identifier en 1981, le syndrome d'immunodéficience acquise ou SIDA.

### *II-3-c - TRANSMISSION*

Le mode de transmission de *Pneumocystis carinii* prête encore à discussion. La transmission se ferait de sujet atteint à sujet sain. Il y a peu de chances que la contamination se fasse d'animal à homme. Elle serait donc exclusivement interhumaine.

Elle se produit soit :

- de manière directe : le sujet atteint contaminant le sujet sain par l'intermédiaire de gouttelettes transportées par l'air ambiant,
- de manière indirecte : une ou plusieurs personnes intermédiaires servant de "vecteurs" dans la chaîne épidémiologique.

### *II-3-d - LE TERRAIN*

L'organisme dispose de plusieurs moyens agissant en synergie contre *Pneumocystis carinii*. Il s'agit :

- des macrophages alvéolaires qui phagocytent et détruisent le parasite en quelques heures,
- des lymphocytes sensibilisés, en particulier les lymphocytes T,
- des anticorps spécifiques présents dans le sérum et dans les alvéoles.

*Pneumocystis carinii* se comporte comme un germe opportuniste et n'est pathogène que chez les immunodéprimés.

Les situations propices au développement d'une pneumopathie à *Pneumocystis carinii* sont :

- le déficit immunitaire physiologique des nourrissons auquel se surajoutent des facteurs favorisants tels que la prématurité, la malnutrition et l'hypotrophie,
- les déficits immunitaires congénitaux,
- les déficits immunitaires acquis liés à une maladie :
  - affections malignes diverses : lymphomes, leucoses, leucémies, tumeurs cancéreuses, etc.,
  - SIDA,
  - toute affection s'accompagnant d'une dénutrition ou d'une altération de l'état général,
- les déficits immunitaires acquis liés à des thérapeutiques :
  - corticothérapie au long cours,
  - chimiothérapie,
  - radiothérapie,
  - traitement immunosuppresseur .

Actuellement, l'atteinte par le virus du SIDA domine les circonstances pathologiques à l'origine des pneumocystoses.

## II-4 - TRAITEMENT

- Triméthoprime-sulfaméthoxazole : **BACTRIM\*** (Lab. Roche)

Les réactions d'hypersensibilité aux sulfamides peuvent être sévères.

### Posologie :

- voie orale : 100mg/kg de sulfaméthoxazole et 20 mg/kg de triméthoprime par jour, pendant 2 à 3 semaines, en 3 prises ;
- voie intraveineuse : 75 mg/kg de sulfaméthoxazole, 15 mg/kg de triméthoprime par jour, en 4 perfusions d'une heure.

- Iséthionate de pentamidine : **PENTACARINAT\*** (Lab. Roger Bellon)

On l'utilise en cas d'intolérance au **BACTRIM\***.

L'étude de la pentamidine proprement dite et de sa posologie dans le traitement de la pneumocystose, font l'objet de la 3ème partie de la thèse.

## **II-5 - PROPHYLAXIE**

- Triméthoprime-sulfaméthoxazole : **BACTRIM\***

La posologie chez l'adulte est de 1 comprimé/jour de **BACTRIM\***, ou de 1 comprimé, 3 jours/semaine de **BACTRIM forte\***.

- Pentamidine : **PENTACARINAT\***

On l'utilise en aérosol, en séance mensuelle. La dose usuelle est de 300 mg par séance.

L'étude de la pentamidine et de sa posologie dans la prophylaxie de la pneumocystose sont traitées dans la 3ème partie de la thèse.

- Pyriméthamine-sulfadoxime : **FANSIDAR\*** (Lab. Roche)

Posologie : 1 comprimé/20 kg de poids toutes les 2 ou 3 semaines.

Ce dernier médicament est peu utilisé.

**TROISIEME PARTIE**

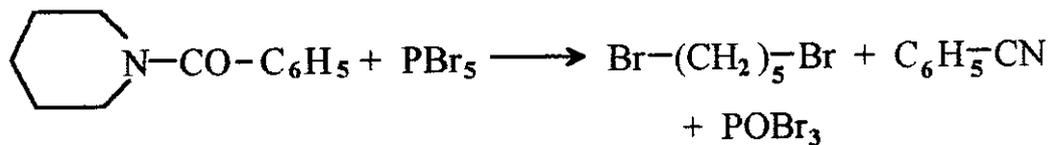
**ETUDE DE LA PENTAMIDINE  
EN THERAPEUTIQUE**

## I - PRINCIPE ACTIF : ISETHIONATE DE PENTAMIDINE

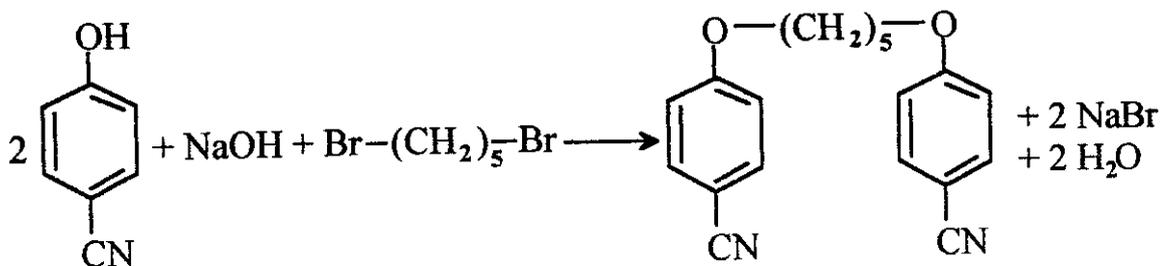
L'iséthionate de pentamidine est une diamidine aromatique de synthèse. Sa monographie figure dans la British Pharmacopeia (1988, tome I, p. 418).

### I-1 - SYNTHESE DU PRINCIPE ACTIF

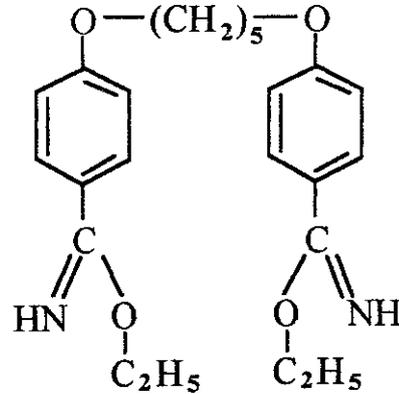
- Par bromation de la N-benzoylpipéridine à l'aide du pentabromure de phosphore, on obtient le dibromo-1,5-pentane :



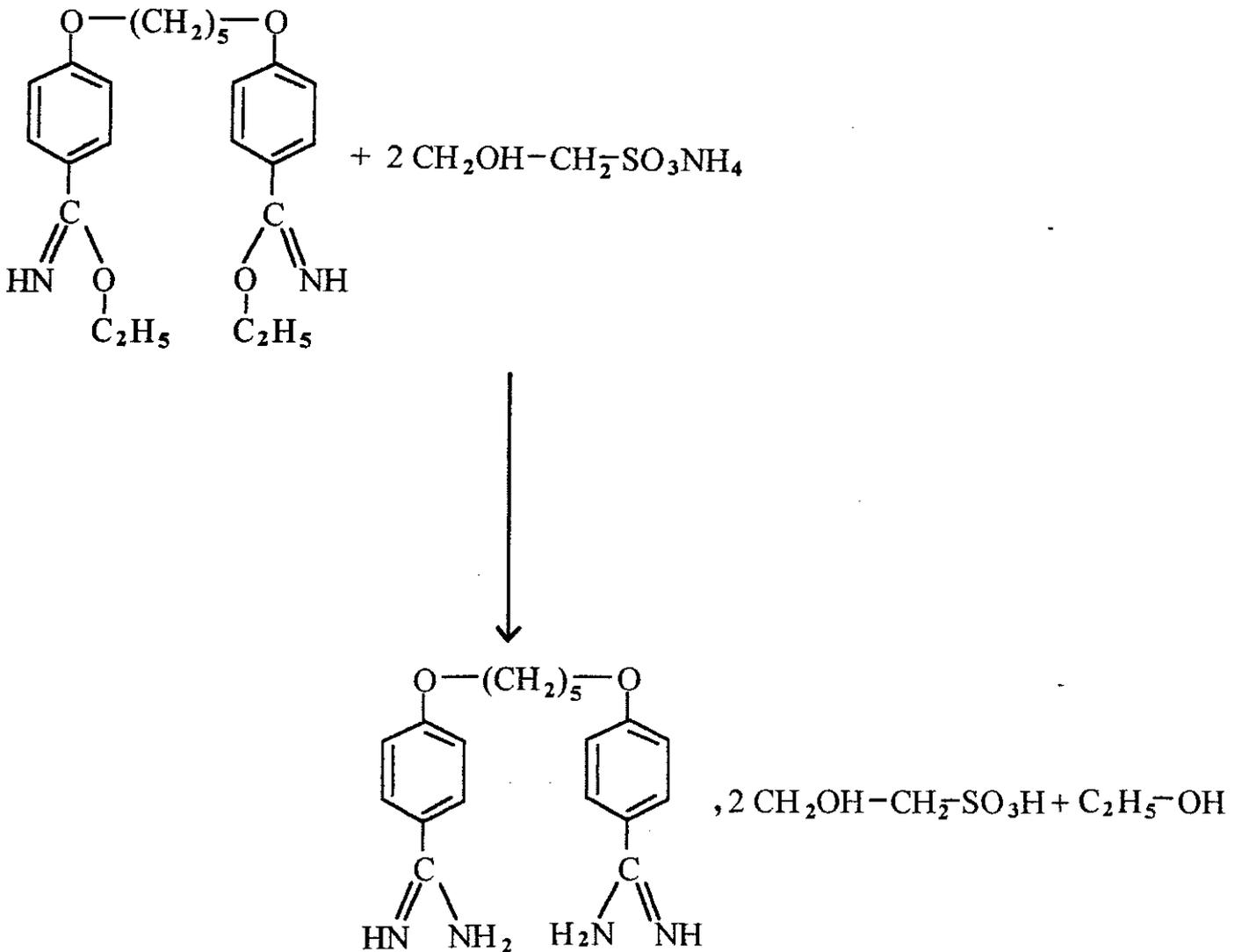
- En faisant agir le para-oxybenzonitrile et l'hydroxyde de sodium sur le dibromo-1,5-pentane, on obtient le di-(cyano-4'phénoxy)-1,5-pentane :



- Par traitement du produit précédent par l'alcool éthylique et l'acide chlorhydrique, puis neutralisation, on aboutit au di-(imino-éthylester-4'phénoxy)-1,5-pentane :



- A partir de ce dernier, on prépare l'iséthionate de pentamidine par action de l'iséthionate d'ammonium :

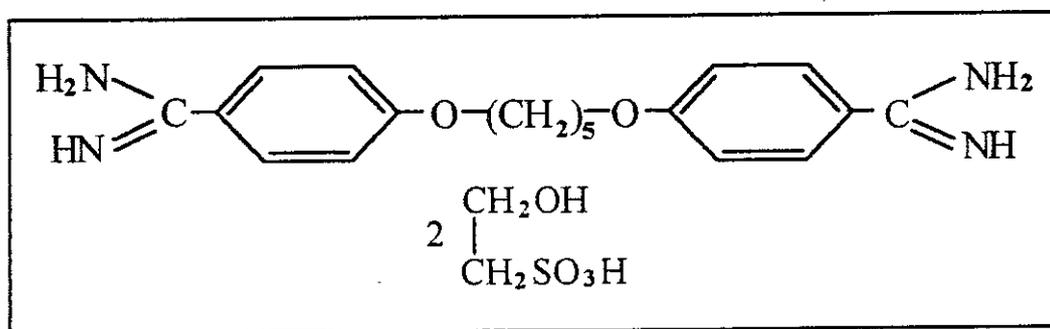


## I-2 - CHIMIE

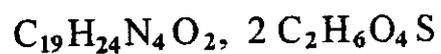
L'iséthionate de pentamidine est :

(pentaméthylènedioxy)-4,4'-dibenzamidine bis (hydroxyéthane-2-sulfonate)

- Formule développée :



- Formule brute :



Masse molaire : 592,68

N % = 9,45

S % = 10,82

base % = 57,43

1,74 mg d'iséthionate de pentamidine correspond approximativement à 1 mg de pentamidine base.

### I-3 - PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES

#### I-3-a - CARACTERES DU PRODUIT CHIMIQUE

L'iséthionate de pentamidine est une poudre pratiquement blanche pouvant présenter de très faibles reflets jaune-vert. Ce sel est inodore et hygroscopique. Son point de fusion est de 189°-191°C.

#### I-3-b - SOLUBILITE

Les solubilités de l'iséthionate de pentamidine sont :

- Eau..... soluble dans 10 parties d'eau
- Alcool à 96° à 20°C..... peu soluble
- Alcool à 96° à ébullition..... très soluble
- Glycérol..... peu soluble
- Ether, chloroforme, acétone..... insoluble

Le pH de la solution aqueuse à 5 % est compris entre 4,5 et 6,5.

### I-4 - DOSAGE

Le dosage se fait par le semi-microdosage de l'azote après minéralisation par l'acide sulfurique, selon la technique de la Pharmacopée Française (Xème Edition). 1 ml d'acide sulfurique 0,05 M correspond à 14,82 mg de  $C_{19}H_{24}N_4O_2,2 C_2H_6O_4S$ .

La teneur en  $C_{19}H_{24}N_4O_2,2 C_2H_6O_4S$  est comprise entre 98,5 % et 102,5 %, calculée sur la substance desséchée.

## **I-5 - STABILITE**

Une étude publiée en 1986 (44) rapporte la stabilité de l'iséthionate de pentamidine à des concentrations de 1 et 2 mg.ml<sup>-1</sup> dans le glucose à 5 % et le chlorure de sodium à 0,9 %. Les solutions ont été conservées à 22-26°C pendant 48 h. On note une bonne stabilité des solutions pendant la durée de l'étude (le contenant étant une poche en PVC). Seule une légère augmentation du pH de la solution saline est notée après 48 heures.

Cette augmentation est confirmée par une étude réalisée après 5 heures de perfusion dans une ligne de PVC à un débit de 20 ml/heure : pH = 5,07 au temps 0 et 5,41 au temps 5 heures. Cette même expérience met en évidence une adsorption de l'ordre de 10 % dans la tubulure de PVC, d'une solution d'iséthionate de pentamidine à 2 mg.ml<sup>-1</sup> dans le chlorure de sodium à 0,9 %.

Ce phénomène observé dès la première demi-heure de perfusion est en faveur du choix du glucosé à 5 % comme véhicule de l'iséthionate de pentamidine lors d'une administration intra-veineuse.

## **II - LE PRODUIT FINI : LE MEDICAMENT**

### **II-1 - DESCRIPTION**

Actuellement, l'iséthionate de pentamidine, issu de la Recherche Rhône Poulenc Rorer (Lab. Roger Bellon), est commercialisé en France sous le nom de spécialité : PENTACARINAT\*.

Son autorisation de mise sur le marché date de 1989, et la mise sur le marché s'est faite en 1990.

Autrefois, le méthane sulfonate de pentamidine était commercialisé par le laboratoire Spécia (Groupe Rhône Poulenc) sous le nom de spécialité LOMIDINE\*. Cette dernière spécialité n'est plus commercialisée en France, actuellement.

Le PENTACARINAT\* se présente sous forme d'une poudre stérile d'iséthionate de pentamidine en flacon de verre de 10 ml, avec bouchon en caoutchouc.

L'administration se fait soit par voie intramusculaire ou intraveineuse, soit par aérosol au moyen d'un nébuliseur après solubilisation extemporanée dans la quantité prescrite d'eau pour préparation injectable.

Chaque flacon renferme 300 mg de pentamidine (DCI) iséthionate.

## **II-2 - COMPATIBILITE**

L'iséthionate de pentamidine précipite en présence de solution de chlorure de sodium isotonique 0,9 %.

## **II-3 - CONTROLE DU PRODUIT FINI**

L'iséthionate de pentamidine est contrôlé selon la monographie de la British Pharmacopoeia (1988, vol. II, p. 832) en ce qui concerne le principe actif. Il doit satisfaire aux prescriptions des préparations pour usage parentéral (Pharmacopée Française, Xème Edition, juillet 1987, et Pharmacopée Européenne, 2ème Edition), c'est-à-dire : contrôle de la stérilité et de l'uniformité de masse.

## **II-4 - STABILITE DU PRODUIT FINI**

### *II-4-a - STABILITE DANS LE CONDITIONNEMENT D'ORIGINE*

Cette étude porte sur 10 lots conservés à température ambiante, 25°C, 37°C et 45°C. A température ambiante et pour une durée de conservation allant de 17 à 56 mois, le produit est parfaitement stable. La durée de validité de la spécialité est fixée à 5 ans, à une température ne dépassant pas 30°C.

### *II-4-b- STABILITE APRES RECONSTITUTION DE LA SOLUTION*

La solution aqueuse d'isethionate de pentamidine reconstituée dans un flacon de verre a été étudiée à température ambiante (20 à 22°C) et à 4°C ; 4 flacons ont été utilisés pour chaque température pendant 24 et 48 heures. Aucun changement n'est intervenu dans les caractères organoleptiques et dans le pH de la solution. Aucun produit d'hydrolyse n'a été mis en évidence. Si la solution n'est pas utilisée immédiatement, elle peut être conservée pendant 24 heures à une température ne dépassant pas 20°C.

## **III - DOSAGE DE LA PENTAMIDINE**

Si l'on connaît à l'heure actuelle deux méthodes physicochimiques, une méthode utilisant des radioéléments, et une méthode microbiologique, une seule, la chromatographie liquide haute performance (CLHP), permet par sa grande sensibilité un dosage précis.

### **III-1 - DOSAGE FLUORIMETRIQUE PAR JACKSON (77)**

Le principe du dosage s'applique à toutes les amidines aromatiques : par addition de glyoxal et de benzaldéhyde à la pentamidine, on forme un complexe (la

glyoxalidone) qui a la propriété d'être fluorescent vers 410 nm. La détection se fait alors par spectrofluorimétrie.

Mais, d'après Waalkes (141) qui l'a expérimentée, cette technique ne présente pas une sensibilité suffisante pour détecter la pentamidine dans le sérum.

C'est pourquoi cette méthode ne sera pas développée ici.

## **III-2 - DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE**

### *III-2-a - RAPPELS*

La chromatographie est une méthode de fractionnement de mélanges, reposant sur des échanges multiples entre une phase fixe et une phase mobile. Tous les constituants à séparer sont entraînés en même temps par la phase mobile, mais ils se déplacent chacun à une vitesse relative qui dépend du rapport des affinités pour la phase mobile et la phase fixe.

Lorsque la phase mobile est un liquide, on parle de chromatographie liquide et l'on a alors des phénomènes de partage. La migration d'une phase polaire sur une phase apolaire constitue la chromatographie en phase inversée.

Afin d'avoir des vitesses de passage importantes, on travaille en haute pression : on parle alors de chromatographie liquide haute pression.

A la sortie de la colonne, se trouve un détecteur qui permet de suivre une propriété physique particulière de chaque "tranche" de liquide en train de passer : on aura

donc un enregistrement se traduisant par une série de pics en fonction du temps. Ici, la détection va mesurer l'absorption vers 280 nm (l'étalon interne étant l'hexamidine).

### *III-2-b - DOSAGE PAR DICKINSON ET COLL. (45)*

Cette méthode permet une grande sensibilité puisque le niveau de détection est à moins de 5 ng.ml<sup>-1</sup>. Comme la pentamidine est un composé polaire faiblement soluble dans les solvants organiques, on opère par chromatographie d'appariement d'ions en phase inversée.

L'ajustement à 3 du pH de la phase mobile permet la protonation totale de la pentamidine qui s'associera avec le réactif d'appariement d'ions, l'heptane sulfonate de sodium.

La phase mobile contient du méthanol, une solution aqueuse contenant 0,05 M d'heptane sulfonate de sodium et 0,014 M de triéthylamine, et de l'acide phosphorique pour avoir un pH de 3. L'étalon interne sera l'hexamidine. La séparation se fait sur une colonne (2,1 mm de diamètre) portée à une température de 22°C. La détection se fait par un détecteur Micromeritics, modèle 788 à 280 nm.

### *III-2-c - REMARQUES*

On note que les techniques les plus récentes procèdent par analyse chromatographique. Les conditions chromatographiques diffèrent par le type de colonne (C<sub>18</sub>, C<sub>8</sub>, taille et diamètre différents), la nature de la phase mobile, la détection (fluorimétrique ou spectrophotométrique dans l'ultraviolet). Toutes ces méthodes utilisent un étalon interne : l'hexamidine ou le disopyramide. Leur limite de sensibilité est de l'ordre de 1 à 5 ng.ml<sup>-1</sup>.

### III-3 - METHODE UTILISANT LES RADIOELEMENTS

Launoy (91,92) a proposé l'emploi de la pentamidine marquée au carbone 14, soit sur le carbone terminal d'une des fonctions amidines, soit sur le carbone central de la chaîne pentaméthylénique axiale.

Cet auteur a pu ensuite mesurer la radioactivité du plasma, de l'urine et de différents organes traités au préalable par de la pentamidine marquée. Si les résultats obtenus restaient les mêmes, indépendamment du fait qu'on utilisait l'une ou l'autre des deux substances marquées, on serait en droit de conclure qu'il n'y avait pas eu coupure de la molécule et que, par conséquent, il était légitime de corréler la radioactivité enregistrée au dosage de la pentamidine. La limite de sensibilité est de 100 ng.ml<sup>-1</sup>.

### III-4 - METHODE MICROBIOLOGIQUE

Cette méthode, utilisée par Bernard et coll. (12) permet de doser la pentamidine dans les milieux biologiques grâce à une souche de champignons résistants à l'amphotéricine B et sensibles à la pentamidine : le *Candida tropicalis* ATCC 28707.

Les échantillons plasmatiques et urinaires sont déposés directement dans les puits d'une gélose imprégnée de la souche. Les tissus sont broyés et traités par l'acide chlorhydrique 0,1 N afin d'extraire la pentamidine. Après 24 heures d'incubation à 35°C, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque puits sont mesurés.

La limite de sensibilité obtenue dans le plasma est de l'ordre de 80 ng.ml<sup>-1</sup>.

## **IV - ETUDE TOXICOLOGIQUE CHEZ L'ANIMAL**

### **IV -1 - TOXICITE DE LA PENTAMIDINE PAR VOIE GENERALE (142)**

#### *IV-1-a - TOXICITE AIGUE*

La dose létale 50 chez la souris est de 28 mg.kg<sup>-1</sup> de pentamidine par voie intraveineuse et de 64 mg.kg<sup>-1</sup> par voie sous-cutanée. La mort est due à une insuffisance respiratoire associée à une dépression du système nerveux central et à une baisse de la température (147,148).

#### *IV-1-b - TOXICITE SUBAIGUE*

Chez la plupart des animaux, l'effet le plus important après injection intraveineuse, est une chute de la pression sanguine. Cette baisse peut être attribuée à une vasodilatation périphérique, à la libération d'histamine (117), ou encore à une perturbation du système nerveux végétatif (17).

#### *IV-1-c - ORGANES-CIBLES*

##### **1 - Le rein**

Chez le chien, après 2 semaines de traitement à la posologie de 8 mg/kg/jour, on note une élévation de l'urée et une élévation moins importante de la créatinine. Ceci n'a pas été constaté à des posologies plus faibles.

A cette dose, il y a eu une augmentation de la filtration glomérulaire, mais le volume et la gravité spécifique de l'urine sont restés normaux. La présence de cellules tubulaires rénales montre une action sur les tubules rénaux.

On notera que le poids des reins et leur structure en microscopie électronique n'ont pas été modifiés lorsque la durée du traitement était la même que celle d'un traitement classique chez l'Homme.

Chez le Rat, les signes de toxicité rénale étaient présents après 2 doses seulement de pentamidine, même à la posologie de 2 mg/kg/jour qui est inférieure à la posologie thérapeutique usuelle chez l'Homme.

Chez les animaux, des doses toxiques de pentamidine provoquent un gonflement en nuage du rein et une dégénérescence des tubules rénaux. La pentamidine aurait une action néphrotoxique qui semblerait réversible.

## **2 - Le foie**

Chez le Chien, il n'y a eu aucun signe présentant le foie comme un organe-cible.

Chez le Rat, le poids relatif du foie a été augmenté pour l'un ou les deux sexes avec des posologies de 6 à 18 mg/kg/jour. Il n'y a pas eu de modifications morphologiques. Les tests hépatiques sont perturbés, ce qui semble lié à la concentration hépatique de pentamidine. Après 3 semaines de récupération, les paramètres biochimiques étaient revenus à la normale.

Chez l'animal, on peut dire que le foie est moins sensible que le rein à la toxicité de la pentamidine.

### ***3 - Le pancréas***

Chez le Chien, la glycémie a été abaissée seulement avec une posologie de 6 mg/kg/jour après un traitement de 15 jours. Chez le Rat, la glycémie a été élevée uniquement à la deuxième semaine avec une posologie de 18 mg/kg/jour. Aucune lésion n'a été signalée en anatomopathologie dans les différentes espèces.

Ces résultats qui concordent mal avec ce qui est observé chez l'Homme, tendent à prouver que le Rat et le Chien ne constituent pas de bons modèles pour l'étude de la toxicité pancréatique de ce médicament.

#### ***IV-1-d - MODIFICATION DE LA CALCEMIE***

Chez le Chien, la calcémie, pour la posologie de 4 à 8 mg/kg/j, a été plus faible que lors des contrôles effectués à la deuxième semaine pour l'un ou l'autre sexe. Chez le Rat, les différences constatées n'ont pas de signification toxicologique.

On peut noter que le Chien est donc un modèle plus fiable que le Rat pour l'étude de l'hypocalcémie.

#### ***IV-1-e - TROUBLES HEMATOLOGIQUES***

Chez le Chien, on a une augmentation de la vitesse de sédimentation qui peut être due aux lésions locales d'intolérance. Chez le Rat, il n'y eu aucun effet important sur les paramètres concernant les globules rouges. A des doses de 6 et 18 mg/kg/j, le nombre de leucocytes, de lymphocytes et de thrombocytes a été augmenté à la 2ème semaine. A la 6ème semaine et à la fin de la période de récupération, les numérations leucocytaires ont été plus basses que chez les témoins.

#### *IV-1-f- TOLERANCE LOCALE*

La tolérance locale est bonne. Chez l'animal, elle dépend de la concentration et du volume administrés. Elle est meilleure chez le Rat que chez le Chien par voie intraveineuse. Par voie intramusculaire, chez le Chien, il a été constaté des nécroses musculaires au cours des essais.

#### **IV-2 - TOXICITE DE LA PENTAMIDINE EN AEROSOL**

Les organes-cibles étant le foie et surtout le rein, le tableau IV indique les concentrations en pentamidine dans ces organes après un traitement de 2 semaines à la dose de 5 mg/kg/j, soit par la voie intraveineuse, soit par aérosol chez le Rat immunodéprimé pendant 6 semaines (les animaux ont été sacrifiés 1 heure ou 24 heures après avoir reçu la dernière dose de pentamidine).

La faible toxicité de la pentamidine s'explique par la pharmacocinétique de cette dernière, utilisée en aérosol. Sa concentration dans les organes-cibles est plus faible quand elle est administrée en aérosol. Il en découle bien évidemment une diminution de sa toxicité.

#### **V - TERATOGENESE**

Une étude de la tératogénèse a été faite chez le Lapin par le laboratoire Roger Bellon. La toxicité maternelle n'est apparue qu'aux doses les plus élevées de l'étude. Les avortements, l'augmentation des anomalies foetales mineures, et le retard du développement foetal laisse penser que le médicament exerce un effet toxique direct sur le foetus.

	FOIE ( $\mu\text{g/g}$ )		REIN ( $\mu\text{g/g}$ )		SANG ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	1 h	24 h	1 h	24 h	1 h	24 h
I.V	$10,5 \pm 0,70$	$1,69 \pm 0,22$	$133 \pm 18,0$	$110 \pm 14,0$	$0,024 \pm 0,003$	$0,013 \pm 0,003$
Aérosol	$0,05 \pm 0,04$	$0,05 \pm 0,01$	$0,76 \pm 0,22$	$2,71 \pm 0,91$	»	»

- TABLEAU IV -

**CONCENTRATIONS EN PENTAMIDINE  
DANS LES ORGANES-CIBLES ET DANS LE SANG**  
*d'après DEBS et coll. (41)*

## **VI - MUTAGENÈSE**

*In vitro*, Waalkes et Makulu (143) ont constaté que la pentamidine réagit avec les acides nucléiques isolés pour donner des précipités insolubles dans l'eau à pH neutre. Cet effet a été observé avec tous les types d'ADN et d'ARN provenant de bactéries, de champignons, ou de mammifères. Dans des études ultérieures, on a constaté que les diamidines aromatiques réagissaient et précipitaient avec tous les polynucléotides et nucléotides tri- ou diphosphates.

On pense donc que la pentamidine aurait des propriétés mutagènes. Le test de mutation des gènes de cellules de mammifères a été en faveur d'une faible activité en présence d'activation métabolique. L'étude *in vitro* des anomalies chromosomiques de lymphocytes humains n'a apporté aucune preuve de mutagénèse en présence d'une activité métabolique. D'après les résultats obtenus dans les différentes études, on ne peut affirmer que la pentamidine soit dénuée de toute activité mutagène. Cependant, cette activité mutagène a été peu importante. Il semblerait donc peu probable que la pentamidine entraîne un risque génotoxique important chez l'Homme.

## **VII - PHARMACOCINETIQUE**

Les premières études de pharmacocinétique sont très anciennes. Dès 1943, Wien (148) a réalisé une étude sur l'ensemble des diamidines aromatiques. Dans ce chapitre, les résultats des travaux récents sur la pharmacocinétique sont divisés en deux parties :

- pharmacocinétique chez l'animal,
- pharmacocinétique chez l'Homme.

## VII-1 - PHARMACOCINETIQUE CHEZ L'ANIMAL

Les études récentes de pharmacocinétique chez l'animal ont porté essentiellement sur les concentrations sanguines et tissulaires en fonction du mode d'administration (intraveineuse, intramusculaire, aérosol), soit sur des animaux sains, soit sur des animaux immunodéprimés par injections répétées de corticoïdes, pour des études de prophylaxie ou de thérapeutique vis-à-vis de *Pneumocystis carinii*.

### VII-1-a - CONCENTRATIONS PLASMATIQUES

Farinotti et coll. (55) ont dosé la pentamidine dans le plasma chez des rats sains après administration par voie intraveineuse, par voie intramusculaire ou par aérosol. La posologie de pentamidine base était de 4 mg/kg pour les injections parentérales et  $5,8 \pm 1,8$  mg.kg<sup>-1</sup> pour la voie aérosol. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (moyenne  $\pm$  dériviation standard) (Tableau V).

Quel que soit le mode d'administration, les valeurs maxima de la concentration plasmatique sont rencontrées pour la première valeur du temps (temps = 0,25 jour). Ensuite, les concentrations plasmatiques de pentamidine sont en-dessous de la limite de détection, au 5ème jour pour les voies intramusculaire et intraveineuse, et 3 jours après l'administration pour l'aérosol.

### VII-1-b - CONCENTRATION DANS LE LIQUIDE DE LAVAGE BRONCHO-ALVEOLAIRE (LBA)

Debs et coll. (42) ont comparé différentes techniques d'administration chez des rongeurs sains, à la dose de 5 mg.kg<sup>-1</sup> de pentamidine par voie intraveineuse et par aérosol (Tableau VI).

Temps (jours)	Concentration après administration par		
	IV	IM	AEROSOL
0,25	30 ± 9	48 ± 14	19 ± 15
1	16 ± 5	15 ± 11	15 ± 11
3	11 ± 16	13 ± 12	< 5

- TABLEAU V -

**CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE PENTAMIDINE OBSERVEES APRES  
ADMINISTRATION INTRA VEINEUSE (IV), INTRAMUSCULAIRE (IM), OU AEROSOL  
d'après FARINOTTI et coll. (55)**

Temps	Fraction cellulaire		Surnageant	
	I.V. (ng pentamidine/mg protéine)	Aérosol	I.V. (ng pentamidine/10 ml liquide)	Aérosol
1 h	8,6 ± 2,9	190,0 ± 60,1	1,4 ± 0,9	21,2 ± 0,6
24 h	21,0 ± 6,0	230,2 ± 20,0	1,8 ± 0,4	31,6 ± 9,8

- TABLEAU VI -

**CONCENTRATIONS EN PENTAMIDINE  
DANS LE LIQUIDE DE LAVAGE BRONCHO-ALVEOLAIRE**  
*d'après DEBS et coll. (42)*

Les auteurs ont donc conclu que chez l'animal sain, l'aérosol est la meilleure voie d'administration pour amener la drogue dans l'espace alvéolaire, site d'infection de *Pneumocystis carinii* chez l'immunodéprimé.

#### VII-1-c - CONCENTRATIONS TISSULAIRES

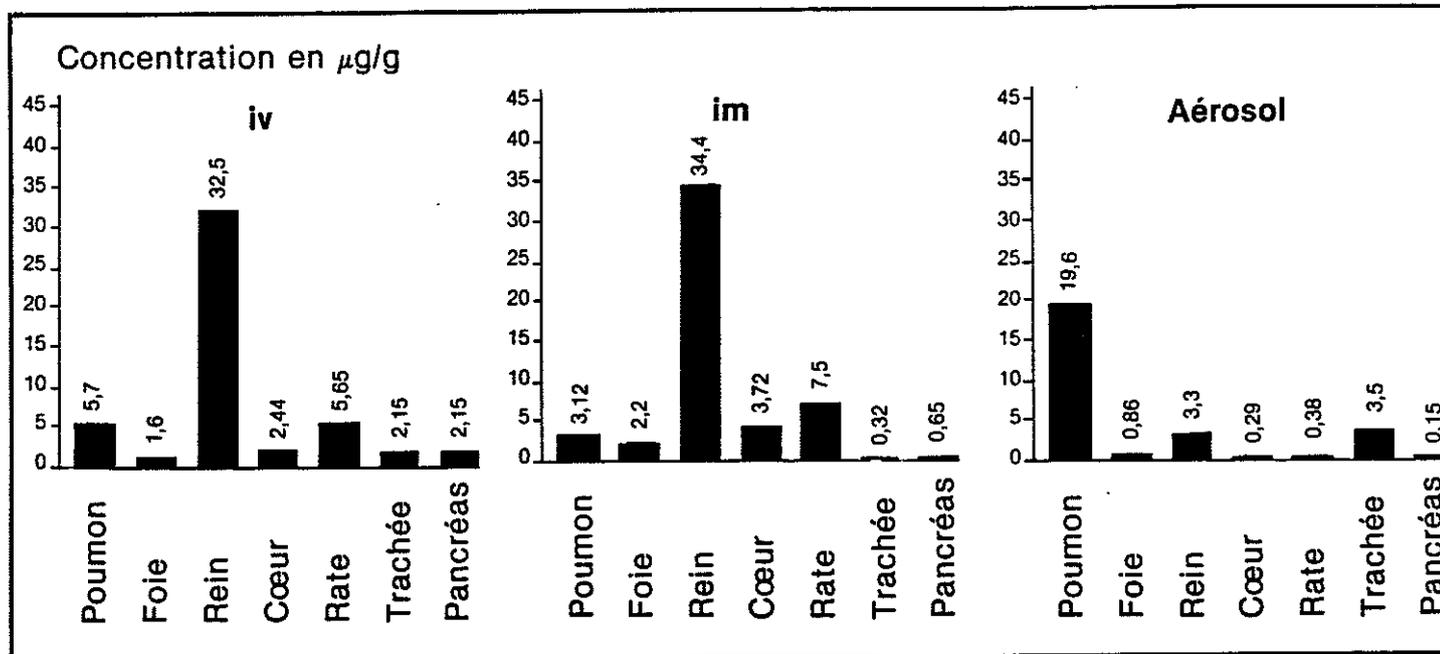
##### 1 - Chez l'animal sain

En 1989, Farinotti et coll. (55) ont obtenu les résultats suivants avec des doses correspondant à 4 mg.kg<sup>-1</sup> de pentamidine base. Ils ont étudié la distribution de la pentamidine dans les différents organes le jour suivant l'administration d'une dose unique par voie intraveineuse, intramusculaire ou par aérosol (les concentrations moyennes sont exprimées en µg.g<sup>-1</sup>) (Tableau VII).

On constate que les concentrations de pentamidine obtenues dans le tissu pulmonaire sont 3,5 fois plus importantes avec l'aérosol. Aussi, les concentrations dans les organes-cibles de la toxicité sont beaucoup plus basses avec l'aérosol (10 fois plus faibles pour le rein).

Farinotti (55) a étudié aussi les concentrations de pentamidine dans les tissus en fonction du temps. Après une administration unique de pentamidine, la concentration de pentamidine dans les **POUMONS** était toujours plus élevée après aérosol qu'après administration parentérale et restait en plateau pendant 50 jours, avec des doses assez importantes au 60ème jour.

Après administration parentérale, les concentrations décroissent et permettent de conclure à une demi-vie de 29 jours pour la voie intraveineuse, et de 41 jours pour la voie intramusculaire.



- TABLEAU VII -

**DISTRIBUTION DE PENTAMIDINE DANS LES DIFFERENTS ORGANES,  
LE JOUR SUIVANT L'ADMINISTRATION D'UNE DOSE UNIQUE  
PAR VOIES INTRAMUSCULAIRE (IM), INTRAVEINEUSE (IV), OU PAR AEROSOL  
*d'après FARINOTTI (55)***

Comme la pentamidine n'est pas adsorbée par le tractus digestif, le pourcentage ingéré peut être considéré comme négligeable par rapport à la quantité retrouvée dans les poumons.

Dans le FOIE, l'élimination était plus rapide : la pentamidine n'était plus décelable 12 jours après l'aérosol et 37 jours après l'administration intraveineuse et intramusculaire.

Dans le REIN, les concentrations maximales après aérosol étaient respectivement 10 fois et 12 fois moins élevées que celles obtenues après administration intraveineuse et intramusculaire. Pour le lot de rats ayant reçu l'aérosol, les concentrations en pentamidine n'étaient plus décelables après le 37ème jour, alors que la pentamidine était encore décelable au 60ème jour avec les lots traités par voie intraveineuse ou intramusculaire.

## ***2 - Chez l'animal immunodéprimé***

Les essais chez le Rat immunodéprimé avaient pour but de juger de l'efficacité du traitement et de la prophylaxie de la pneumonie à *Pneumocystis carinii* par la pentamidine en aérosol.

Dans une étude publiée en 1987, Debs et coll. (41), à la dose de 5 mg/kg/jour pendant 2 semaines, après 5 semaines d'immunosuppression ont obtenu l'éradication de la pneumonie à *Pneumocystis carinii* chez 75 % des animaux.

Les taux de pentamidine obtenus 24 heures après la dernière administration, mettent en avant l'intérêt de l'aérosol qui, pour des rapports de concentration pulmonaire seulement 6 fois plus faibles que la voie intraveineuse (en raison des difficultés de

réalisation d'un aérosol chez le Rat), donnent des concentrations rénales et hépatiques 50 et 20 fois plus faibles.

Les concentrations dans les différents tissus, lorsque la pentamidine est utilisée en aérosol, montrent, comme chez l'animal sain, une concentration réduite dans le rein, organe-cible de la toxicité de la pentamidine.

Les concentrations pulmonaires trouvées par Debs et coll. (41) sont inférieures chez les animaux traités par aérosol par rapport à ceux traités par voie intraveineuse, alors que Girard (62) trouve des concentrations pulmonaires élevées par aérosol dans un essai réalisé dans des conditions très voisines. Ceci peut s'expliquer par les conditions d'utilisation de l'aérosol qui joue un rôle important dans la pénétration pulmonaire. Les différents essais ont montré la nécessité d'augmenter la dose chez le Rat immunodéprimé.

Girard (62) a montré qu'en traitement prophylactique, en passant de 4,8 à 8,6 mg/kg de pentamidine base administrée 3 fois par semaine pendant 7 semaines, on obtenait respectivement 80 et 100 % de rats protégés de la pneumonie à *Pneumocystis carinii*.

On note que la concentration rénale est plus importante chez le Rat immunodéprimé que chez le Rat sain.

Girard (62) a aussi montré que, en thérapeutique, la pentamidine en aérosol, à la dose de 14,6 mg.kg<sup>-1</sup> 3 fois par semaine pendant 3 semaines, était efficace pour obtenir la guérison de la pneumonie et l'élimination des kystes de *Pneumocystis carinii* chez 70 % des Rats. Chez le reste des animaux, bien que la pneumonie ait été guérie, les kystes persistent. Il a conclu qu'il existait chez l'animal :

- un effet dose-dépendant du médicament aussi bien en prophylaxie qu'en traitement,
- des rapports de concentrations en pentamidine poumon/rein et poumon/foie élevés.

#### *VII-1-d - EXCRETION*

##### *1 - Etude de Launoy et coll. (91,92) publiée en 1960*

L'emploi de la LOMIDINE\* en chimioprophylaxie de la trypanosomose humaine a conduit Launoy à étudier l'élimination et le stockage de cette molécule. S'il était possible de détecter des doses très faibles ( $10^{-8}$ - $10^{-9}$ ) d'une autre diamidine, la stilbamide ou 4-4'-diamidinostilbène, grâce à sa très forte fluorescence, il n'en est pas de même avec la LOMIDINE\* non fluorescente et où les réactions colorées sont peu sensibles. Launoy a travaillé avec deux pentamidines radioactives marquées au  $^{14}\text{C}$  en des points différents de la molécule : soit sur le carbone d'une des fonctions amidines, soit sur le carbone central de la chaîne pentaméthylénique. Ce marquage radioactif sur des carbones différents de la molécule permet de suivre le produit de base et de ne pas le confondre avec des produits de son métabolisme, en particulier les métabolites obtenus par clivage de la molécule.

L'expérience fut faite sur la Souris blanche et le Rat blanc. Les travaux effectués sur la Souris ont montré qu'après une dose unique intrapéritonéale de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ , 50 % environ de la dose étaient excrétés dans les 5 jours suivant l'administration. Les deux organes qui fixent le plus la substance sont le foie et le rein, mais la désorption du foie se fait plus vite. Dans le cas du rein, le rythme final de désimprégnation est très lent (période de demi-désactivation de l'ordre de 220 jours). Il semble donc que ce soit le rein qui reste le dernier chargé de pentamide après 6 mois.

La comparaison du rythme de détoxication des différents tissus montre que le produit n'existe que d'une manière extrêmement transitoire dans le sang et qu'il disparaît très vite par fixation sur les tissus, que parmi ceux-ci le foie est de loin le plus avide de pentamide, mais que c'est aussi celui qui paraît se désimprégner le plus vite. Le rein fixe une quantité initiale moins grande, mais la fixation est beaucoup plus durable. Le cerveau

ne fixe qu'une quantité minime, mais le peu qui a été fixé reste lié à la substance nerveuse et se retrouve, en apparence sans diminution, au bout de plusieurs mois (ce qui explique que jamais le système nerveux central ne soit assez imprégné pour que la dose de protection soit atteinte). Le maintien de la faible dose fixée s'explique vraisemblablement par le non-renouvellement du tissu nerveux.

L'ensemble des faits observés s'accorde avec l'idée d'une incorporation partielle du médicament aux tissus, la désimprégnation ne se faisant qu'au fur et à mesure du renouvellement de ceux-ci.

Launoy a vérifié que si on attend assez longtemps après l'administration de la pentamidine au Rat, la protection contre *Trypanosoma gambiense* cesse à un moment où la quantité encore stockée est mesurable, au point que son élimination peut encore être suivie chez l'animal pendant plusieurs mois : il existe donc bien un seuil nécessaire à la protection.

La recherche dans le lait de la rate venant de mettre bas n'a pu être faite directement. Mais le lait trouvé dans l'estomac du raton, 24 heures plus tard, était inactif même quand, 4 jours avant la naissance, la mère avait reçu 5 mg de pentamidine. Par contre, il y a passage du médicament par voie placentaire car on a trouvé une activité mesurable dans le foie du jeune rat et elle ne peut s'expliquer par une transmission du produit par le lait, ce dernier étant inactif. Le taux hépatique chez le raton est toutefois si faible qu'il explique la non-protection contre la trypanosomose.

## **2 - Etude de Waalkes et coll. (141) publiée en 1970**

Waalkes et De Vita ont mis au point un dosage fluorimétrique. Après extraction en milieu alcalin par du butanol, puis après légère acidification par de l'heptane, une

glyoxalidone fortement fluorescente est produite par du glyoxal et du benzaldéhyde en présence de l'amidine aromatique. Cette technique analytique est appliquée au plasma et à l'urine humaine et à différents tissus, urine et fèces de Souris.

Ces travaux ont mis en évidence l'élimination urinaire et fécale de la pentamidine. Quatre jours après une dose unique intrapéritonéale de  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$ , la quantité de pentamidine recueillie dans les urines était de 40 % environ et de 15 % environ dans les selles.

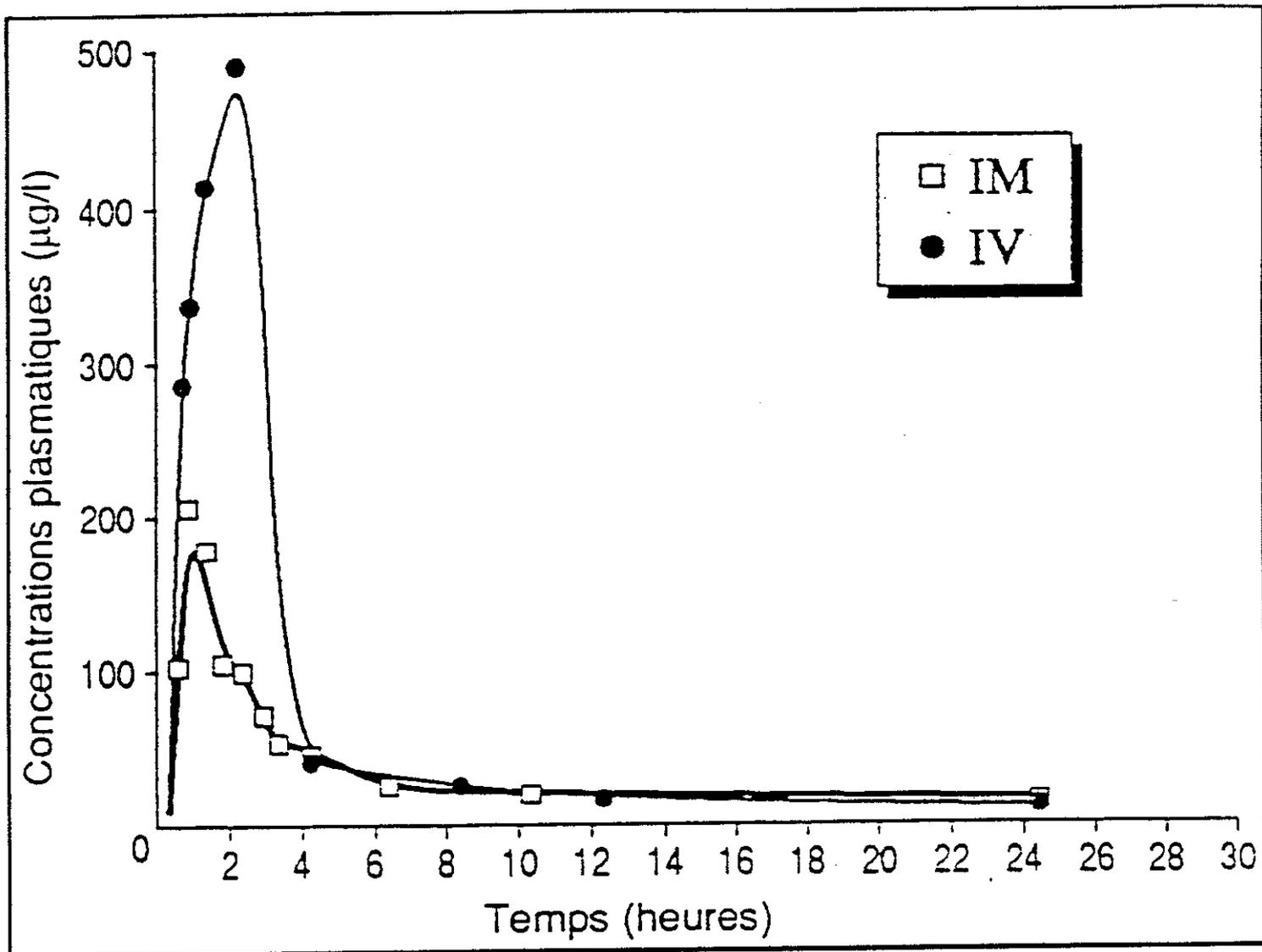
## VII-2 - PHARMACOCINETIQUE CHEZ L'HOMME

Il faut signaler que les études sur la pharmacocinétique de la pentamidine chez l'Homme, pendant les dernières années, ont été réalisées chez des patients atteints de pneumonie à *Pneumocystis carinii* (ceci en raison de la fréquence de cette infection chez les sujets immunodéprimés et en particulier chez les patients atteints de SIDA). En effet, les études faites chez des patients atteints de trypanosomose africaine sont plus anciennes.

### VII-2-a - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE LA PENTAMIDINE ADMINISTREE PAR VOIE PARENTERALE

#### 1 - Etude de Conte et coll. (36)

Seule l'étude de Conte et coll. permet d'analyser certains paramètres pharmacocinétiques chez l'Homme. Elle porte sur des malades sidéens atteints de pneumocystose et traités par la pentamidine à la dose de  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$ , soit par voie intraveineuse (perfusion de 2 heures sur 6 patients), soit par voie intramusculaire (sur 6 patients). Les auteurs ont utilisé un dosage par chromatographie liquide à haute performance pour étudier la pharmacocinétique de la pentamidine.



- Figure 12 -

**EVOLUTION DES CONCENTRATIONS THERAPEUTIQUES DE LA PENTAMIDINE  
EN FONCTION DU TEMPS**  
*d'après CONTE et coll. (36)*

Pour la voie intramusculaire, une concentration plasmatique maximale de  $209 \pm 48 \text{ ng.ml}^{-1}$  est obtenue en 0,67 heure. Pour la voie intraveineuse, après l'arrêt d'une perfusion, la concentration plasmatique chute rapidement de  $500 \text{ ng.ml}^{-1}$  (concentration maximale) à  $40 \text{ ng.ml}^{-1}$  en 2 heures.

La figure 12 représente l'évolution des concentrations plasmatiques de pentamidine en fonction du temps ; seules les valeurs moyennes sont représentées en raison de la grande variabilité interindividuelle observée. Après administration intramusculaire, la clearance plasmatique de la pentamidine est de 305 l/h avec une demie-vie d'élimination de 9h40. Après administration intraveineuse, la clearance est de 248 l/h avec une demie-vie d'élimination de 6h40. Le pourcentage total de la dose excrétée durant la période de 24 h est de 4,08 % pour les patients traités par la voie intramusculaire et de 2,46 % pour ceux qui ont été soignés par voie intraveineuse.

## *2 - Etude de Donnelly et coll. (46)*

Ces auteurs confirment ces résultats. Ils ont réalisé des autopsies sur 22 patients atteints de SIDA qui avaient reçu de la pentamidine par voie intramusculaire ou intraveineuse, à la dose de  $4 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ , pour une pneumocystose. Ils ont trouvé des concentrations dans les tissus pulmonaires plus basses que celles trouvées dans le foie, le rein, la rate, le pancréas et les surrénales. Selon ces auteurs, pour la voie parentérale, il faut au moins 5 jours (1 administration/jour) pour atteindre des concentrations pulmonaires de pentamidine efficaces de  $35 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Au-delà, les concentrations pulmonaires de pentamidine restent constantes malgré l'administration quotidienne. L'élimination pulmonaire est très lente. Les auteurs rapportent des concentrations pulmonaires respectives de 38 ; 1,5 et 3,3  $\mu\text{g.g}^{-1}$  chez des malades atteints du SIDA décédés 13, 71 et 117 jours après la dernière administration de pentamidine. L'élimination est très lente : on a trouvé des doses détectables de pentamidine dans certains tissus jusqu'à un an après la dernière dose, alors

que chez certains patients, on n'a pu obtenir une dose efficace dans le poumon après plusieurs traitements.

#### VII-2-b - EXCRETION

Une méthode de dosage biologique est proposée par Bernard et coll. (12) . Elle utilise l'inhibition de croissance par la pentamidine, d'un *Candida tropicalis* ATCC 28707 résistant à l'amphotéricine B.

Le minimum détectable de pentamidine par cette méthode, est de  $0,08 \mu\text{g.ml}^{-1}$  dans le sérum ou l'urine et de  $0,8 \mu\text{g.g}^{-1}$  dans les tissus après homogénéisation et extraction par HCl 0,1N. Cette technique est sensible et spécifique.

Chez l'Homme, en traitement pour une pneumonie à *Pneumocystis carinii*, recevant 4 mg de pentamidine/kg en perfusion intraveineuse, la concentration sérique du médicament est de 0,5 à  $3,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$  puis diminue rapidement avec une demi-vie d'élimination de  $17 \pm 4$  min.

Les urines d'un sujet ayant reçu 14 perfusions intraveineuses à la dose de 4 mg/kg sont analysées durant 15 jours, la demi-vie d'élimination est de 5,1 jours. La quantité de pentamidine excrétée pendant cette période est de 213 mg soit 6 % seulement de la dose totale.

Bernard et coll. concluent à la rapide élimination de la pentamidine du sérum et à sa lente absorption après injection intramusculaire. Ils montrent également que l'élimination sérique est biphasique : après une phase initiale rapide avec une demi-vie qui se mesure en minutes, reflet de la disposition de la drogue dans les tissus, succède une phase prolongée avec une demi-vie mesurée en jours ou en semaines, reflet de la lente

élimination des tissus. Chez l'Homme la quantité accumulée dans les poumons est faible en comparaison avec celle trouvée dans d'autres viscères.

### ***VII-2-c - PHARMACOCINETIQUE DE LA PENTAMIDINE ADMINISTREE PAR AEROSOL***

Avec ce mode d'administration, l'interprétation des résultats reste délicate en raison de la difficulté de maîtrise de la dose administrée qui varie selon le type d'aéroliseur (pneumatique, ultrasonique), la taille des particules, et la coopération du patient.

L'ensemble des études a été réalisé chez des patients atteints de pneumocystose, elles visaient à évaluer :

- le passage systémique de la pentamidine,
- l'importance de sa concentration au niveau de la cible thérapeutique par son dosage dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire.

#### ***1 - Etude du passage systémique***

Conte et coll. (33) ont réalisé une étude sur 22 patients présentant une pneumonie à *Pneumocystis carinii*. 13 ont reçu l'iséthionate de pentamidine en aérosol à la dose de 4 mg.kg<sup>-1</sup> et 9 par voie intraveineuse à la dose de 3 mg.kg<sup>-1</sup> pendant 10 à 21 jours.

Le tableau VIII rapporte les taux plasmatiques mesurés chez les 13 patients traités par aérosol pendant 30 à 45 minutes (appareil ULTRAVENT\*, véhicule : 8 ml d'eau pour préparation injectable). Les concentrations plasmatiques ont été 10 à 12 fois moins élevées après un aérosol quotidien qu'après une dose comparable en administration intraveineuse (concentrations maximales 260 à 500 ng.ml<sup>-1</sup> selon le temps de perfusion), et n'étaient plus décelables au-delà de 2 heures. Les auteurs ont, en effet, observé à la fin de chaque aérosol, des concentrations plasmatiques inférieures en moyenne à 23,2 ng.ml<sup>-1</sup>.

Temps (heures)	Nombre de sujets	Concentrations plasmaticques en ng/ml
0,17	5	3,41 ± 3,6
0,5	6	9,27 ± 6,87
0,67	2	24,88 ± 14,47
1	6	7,99 ± 11,57
1,5	6	1,78 ± 2,84
2	6	0,84 ± 1,07

- TABLEAU VIII -

**CONCENTRATIONS PLASMATIQUES OBSERVEES**  
**APRES AEROSOL D'ISETHIONATE DE PENTAMIDINE 4 mg.kg<sup>-1</sup>**  
*d'après CONTE et coll. (33)*

Après traitement répété tous les jours pendant 21 jours, il n'y a pratiquement pas d'accumulation plasmatique : le pic s'élevant à  $20,2 \pm 21,4 \text{ ng.ml}^{-1}$  et le Tmax se situant vers le 5ème jour.

Le pic de concentration plasmatique, après une séance d'aérosol, s'observe à la fin de la 1ère heure et s'élève à  $14 \pm 12 \text{ ng.ml}^{-1}$  (soit approximativement 10 à 5 % des concentrations observées après administration par voies intramusculaire et intraveineuse).

On peut donc dire que le passage systémique est réduit. Les données urinaires confirment ce point. Après aérosol, on ne retrouve que de 0,11 % à 0,15 % de la dose administrée dans les urines de 72 heures contre 5 % après perfusion, ce qui montre la difficulté qu'il y a à maîtriser la dose inhalée, estimée par Conte à 40 % de la dose délivrée.

## ***2 - Concentrations de pentamidine dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA)***

Les résultats obtenus sont hétérogènes dans leur présentation : certains auteurs réalisent un dosage global, tandis que d'autres séparent le surnageant du culot riche en macrophages. De plus, il n'existe pas de paramètre fiable susceptible de refléter la quantité de surfactant récupérée au cours du lavage.

Une étude de Montgomery et coll. (106) porte sur 8 patients atteints de SIDA : 3 ont reçu la pentamidine par voie intraveineuse à la dose de  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$ , 5 par aérosol à la dose de 300 mg. L'iséthionate de pentamidine a été dosé dans le plasma et dans le LBA (surnageant et sédiment) (Tableau IX).

Ces résultats montrent une concentration 10 fois supérieure dans le surnageant et 80 fois supérieure dans le sédiment avec l'aérosol. Les concentrations plasmatiques

Voie d'administration	Surnageant (ng/ml)	Sédiment (ng/ml)
I.V.	2,64 ± 0,73	9,34 ± 1,74
Aérosol	23,2 ± 7,75	705 ± 242

- TABLEAU IX -

**CONCENTRATIONS EN PENTAMIDINE  
DANS LE LIQUIDE BRONCHO-ALVEOLAIRE (SURNAGEANT ET SEDIMENT)**  
*d'après MONTGOMERY et coll. (106)*

maximales étaient difficiles à doser car extrêmement basses chez les patients traités par aérosol (13 ng.ml<sup>-1</sup> pour la plus élevée), alors que par voie intraveineuse celles-ci atteignent 480 à 600 ng.ml<sup>-1</sup> suivant les études.

En ce qui concerne les résultats obtenus par Conte (33), les concentrations pulmonaires, dosées dans cet essai sur la totalité du LBA, ont donné des concentrations de 2 à 20 fois supérieures par aérosol. La comparaison entre les dosages dans le plasma et le LBA suggère une rétention de la pentamidine, dans le poumon, par aérosol.

Dans une autre étude, Conte et coll. (34) ont mesuré les concentrations dans le LBA, et l'absorption systémique et l'excrétion de l'iséthionate de pentamidine chez 17 patients (13 traités par aérosol à la dose de 4 mg.kg<sup>-1</sup> et 4 par voie intraveineuse à la dose de 3 mg.kg<sup>-1</sup>, pendant une durée de 1 à 18 jours).

Les concentrations mesurées dans le plasma et le LBA confirment l'étude précédente. De plus, il n'y a pas eu accumulation dans le plasma avec des aérosols répétés comme cela a été décrit avec des doses multiples par voie intraveineuse.

La demi-vie dans le poumon est longue après aérosol : la pentamidine a encore été retrouvée dans le LBA chez 3 malades, respectivement 33, 69 et 115 jours après la fin d'un traitement de 2 semaines.

Les données obtenues chez les malades atteints du SIDA suggèrent que la demi-vie de la pentamidine dans le LBA est supérieure à **10 ou 14 jours** et pourrait même atteindre **30 jours**.

Toutefois, le faible passage plasmatique et la concentration élevée de l'iséthionate de pentamidine dans le poumon par inhalation autorisent à prévoir une toxicité

beaucoup moins élevée que par voie intraveineuse, et une bonne efficacité par la concentration obtenue au site-même de l'infection par *Pneumocystis carinii*.

### VII-3 - CONCLUSION

Administrée par voie parentérale, la pentamidine est détectable dans le sang pendant une courte période. Elle se fixe rapidement dans les tissus (foie, rein,...), mais la concentration reste négligeable dans le LCR et le tissu cérébral. L'élimination du produit non métabolisé se fait par voie rénale (50 à 75 % sont retrouvés dans les urines dans les 6 premières heures). La pentamidine restant fixée dans les tissus, son élimination est ensuite plus lente, ne s'annulant qu'au bout de 6 à 8 semaines (142).

Les travaux comparatifs entre les différents modes d'administration de la pentamidine ont largement démontré que les concentrations obtenues dans les poumons, par aérosol, sont supérieures et persistent plus longtemps que celles obtenues par la voie parentérale. La concentration pulmonaire en pentamidine est un facteur décisif dans le traitement de la pneumonie à *Pneumocystis carinii*. Les concentrations dans les différents organes-cibles de la toxicité (reins, foie) sont, au contraire, faibles lorsque l'administration se fait par aérosol ; la pharmacocinétique de la pentamidine par cette voie explique la faible toxicité générale.

## VIII - INDICATIONS THERAPEUTIQUES

### VIII-1 - PNEUMONIE A *PNEUMOCYSTIS CARINII*

#### VIII-1-a - TRAITEMENT DE LA MALADIE

##### 1 - *Pentamidine par voie parentérale*

L'administration intraveineuse lente est actuellement préférée à la voie intramusculaire dont les complications locales sont fréquentes.

Dans la plupart des études contrôlées évaluant comparativement la pentamidine et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (56), les taux de guérison ont été similaires.

Cependant, l'utilisation de la pentamidine par voie parentérale dans le traitement de la pneumocystose doit tenir compte des risques d'effets secondaires potentiellement sévères et des alternatives thérapeutiques. Au cours de la pneumocystose liée au SIDA, la pentamidine est généralement un traitement de seconde intention réservé aux patients présentant un risque élevé d'intolérance à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (notamment chez ceux ayant des antécédents de rash, fièvre ou neutropénie lors de son administration).

Il n'existe actuellement pas de données cliniques convaincantes en faveur d'un relais par la pentamidine chez les patients s'améliorant insuffisamment sous une autre thérapeutique anti-*Pneumocystis*. L'utilisation de la pentamidine par voie intraveineuse n'est en pratique envisageable qu'en milieu hospitalier et une adaptation des doses devrait permettre de mieux contrôler les effets toxiques.

## **2 - Pentamidine en aérosol**

L'administration de la pentamidine par aérosols constitue une approche logique, compte-tenu du caractère strictement intrapulmonaire de l'infection (des pneumocystoses disséminées n'ont été qu'exceptionnellement signalées) et de la pharmacocinétique de la pentamidine administrée par voie parentérale, caractérisée par sa relativement faible déposition intrapulmonaire.

En 1987, deux essais, concernant des patients atteints de SIDA, ont montré l'efficacité et la bonne tolérance systémique des aérosols d'iséthionate de pentamidine dans le traitement de formes peu sévères de pneumocystose. Dans l'étude conduite par Montgomery et coll. (107), 13 patients sur 15 ont guéri grâce à l'administration d'environ 300 à 400 mg d'iséthionate de pentamidine par jour, délivrée avec un nébuliseur pneumatique de type Respigard II\*. Dans l'étude de Conte et coll. (33), 9 patients sur 13 ont guéri après administration quotidienne de 4 mg/kg/jour d'iséthionate de pentamidine à l'aide d'un nébuliseur pneumatique de type Ultravent\*.

Les meilleures indications d'un traitement par aérosols de pentamidine sont les situations où les risques de toxicité des traitements par voie générale sont élevés, comme par exemple chez les patients présentant une neutropénie sévère ou des antécédents de réaction d'intolérance à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole.

### **VIII-1-b - PROPHYLAXIE DE LA MALADIE**

Au cours de différents déficits immunitaires, le risque de survenue de pneumocystose justifie la mise en oeuvre d'une prophylaxie. On entend par prophylaxie primaire, la prévention d'un premier épisode de pneumocystose : il importe alors de déterminer quels sont les patients considérés à haut risque de développer, à court ou moyen

terme, la pneumopathie. La prophylaxie secondaire concerne la prévention des rechutes de pneumocystoses.

L'iséthionate de pentamidine a rarement été utilisé par voie parentérale dans la prévention. Il a pu être proposé des administrations mensuelles à la dose de  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$  dont cependant l'efficacité et la tolérance à long terme n'ont pas été évaluées. C'est en fait la voie par aérosol qui a été privilégiée par la plupart des équipes.

Leoung et coll. (95) ont réalisé une étude sur 408 patients sidéens avec antécédents de pneumocystoses à *Pneumocystis carinii* ou séropositifs symptomatiques sans antécédents de pneumocystoses. L'appareil utilisé pour tous les malades est un nébuliseur de type pneumatique. Le taux de PPC à 12 mois de traitement est variable en fonction de la posologie (pour tous groupes cliniques confondus) :

- 30 mg tous les 15 jours : 33,9 %
- 150 mg tous les 15 jours : 16,3 %
- 300 mg tous les 30 jours : 15,8 %.

L'étude Leoung révèle l'existence d'un effet-dose pour la pentamidine : la meilleure activité prophylactique est obtenue aux posologies de 150 mg tous les 15 jours et surtout 300 mg tous les mois (cette dernière présentant l'avantage d'une contrainte minimale pour le patient qui n'est traité qu'une fois par mois).

Ces résultats ont été confirmés par l'analyse du groupe de patients traités en prophylaxie secondaire. Le taux de rechute à 12 mois de traitement est de :

- 30 mg tous les 15 jours : 54,4 %
- 150 mg tous les 15 jours : 30,6 %
- 300 mg tous les 30 jours : 24,5 %.

Cette prophylaxie s'adresse donc à 2 populations distinctes de patients à risque, infectés par le VIH :

- patients séropositifs dont le taux de lymphocytes T<sub>4</sub> est inférieur à 200/mm<sup>3</sup> ou inférieur à 20 % des lymphocytes totaux, et n'ayant pas fait de PPC (prophylaxie primaire),
- patients au stade SIDA de la maladie ayant déjà fait un épisode de PPC, même s'il est déjà traité par l'AZT (prophylaxie secondaire).

Remarques :

Si la décision de débiter une prophylaxie n'est établie que sur la base du chiffre de lymphocytes T<sub>4</sub>, ce chiffre devra être vérifié pour s'assurer de la persistance d'un taux de lymphocytes T<sub>4</sub> inférieur à 200/mm<sup>3</sup>.

D'éventuelles localisations extra-respiratoires de cette infection, ne sont pas, bien évidemment, prévenues par les aérosols.

L'appareil de nébulisation de référence est le RESPIGARD II\*, nébuliseur de type pneumatique.

## VIII-2 - TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE

Ne passant pas la barrière hémato-méningée (19,104,120), la pentamidine, par voie intramusculaire, est donc indiquée dans la trypanosomose à *Trypanosoma gambiense*, en phase lymphatico-sanguine (en l'absence de signes cliniques neurologiques et avec une normalité du LCR et de l'électroencéphalogramme). En effet, dans le cas de la trypanosomose humaine africaine, le traitement doit toujours être précédé de l'examen du LCR. L'efficacité de la pentamidine est douteuse dans les cas suivants : nombre de leucocytes supérieur à 5/mm<sup>3</sup>, protéinorachie supérieure à 37 mg/100 ml, présence de

trypanosomes dans le culot de centrifugation. La pentamidine est souvent sans action contre *Trypanosoma rhodesiense*, dû à des phénomènes de résistance.

La pentamidine est aussi indiquée en chimioprophylaxie de masse (120). Elle agit en faisant disparaître les trypanosomes du sang des porteurs de parasites, malades ou trypano-tolérants. Cela réduit beaucoup la possibilité pour la glossine de se contaminer. Cependant, cette prophylaxie est dangereuse pour l'individu, chez qui elle peut décapiter une trypanosomose qui évoluera à bas bruit vers un état de méningo-encéphalite.

Il faut reconnaître que cette chimioprophylaxie est très discutée car elle est d'efficacité médiocre. De nos jours, elle n'est plus utilisée.

### VIII-3 - LEISHMANIOSES VISCERALES ET CUTANÉES

La pentamidine, par voie intramusculaire, est indiquée dans le traitement de :

- la leishmaniose viscérale, en cas d'intolérance aux antimoniés ou d'inefficacité de ces produits,
- la leishmaniose cutanée, la leishmaniose tégumentaire diffuse et la leishmaniose cutanéomuqueuse due à *Leishmania aethiopica*,
- la leishmaniose cutanée due à *Leishmania guyanensis*,
- la leishmaniose cutanéomuqueuse due à *Leishmania braziliensis* dans les cas réfractaires aux antimoniés.

La pentamidine est surtout indiquée dans les formes viscérales en traitement alterné avec les dérivés de l'antimoine (65). Sa toxicité et sa faible diffusion dans les tissus superficiels limitent son utilisation et particulièrement dans les formes cutanées. Cependant, dans la leishmaniose cutanée diffuse d'Ethiopie, de bons résultats ont été obtenus (24) mais à des doses voisines des doses toxiques (alors qu'aucune réponse ne fut obtenue par traitement aux antimoniés).

## **IX - EFFETS SECONDAIRES**

### **IX-1 - PENTAMIDINE PAR VOIE PARENTERALE**

#### *IX-1-a - REACTION LOCALE (126)*

Il existe des complications locales de type :

- douleur au point d'injection : cette douleur peut être atténuée par l'addition de xylocaïne dans la seringue,
- induration,
  
- abcès ou nécrose : la désinfection du point de piqûre, l'utilisation d'une aiguille sèche, son retrait rapide, la friction de la fesse, ont permis de diminuer fortement le pourcentage de ces effets. Il faut s'assurer que l'injection soit bien faite en intramusculaire profonde et qu'il n'y ait pas de reflux du produit.

#### *IX-1-b - TROUBLES PANCREATIQUES*

Les atteintes pancréatiques imputables à la pentamidine sont au nombre de 3 :

- l'hypoglycémie est sans doute la plus anciennement connue,
- le diabète, souvent retardé et parfois définitif, est devenu une notion classique,
- les pancréatites aiguës semblent exceptionnelles car peu d'observations sont rapportées dans la littérature.

##### *1 - Les accidents hypoglycémiques*

La fréquence des accidents hypoglycémiques est loin d'être négligeable. Bouchard et coll. (16) montrent que les hypoglycémies surviennent dans 6 à 35 % des cas

traités. L'hypoglycémie est une complication précoce survenant entre le 5ème et le 14ème jour après le début du traitement. Un seul cas a été noté une semaine après l'arrêt du traitement.

Le dépistage doit être systématique, avec une attention particulière au-delà du 5ème jour, au mieux par des dosages pluriquotidiens de la glycémie, au besoin à la bandelette.

Le traitement repose avant tout sur l'apport massif de glucose par voie intraveineuse.

Les hypoglycémies n'imposent pas l'interruption du traitement par la pentamidine, pour les différents auteurs.

## ***2 - Le diabète***

Le diabète sucré pancréatique est une complication plus rare. Bouchard et coll. (16) montrent que le diabète est d'apparition plus tardive que l'hypoglycémie. Il peut survenir en cours de traitement mais il apparaît en principe plusieurs semaines après celui-ci.

Lorsqu'il survient, et indépendamment de sa date, il s'agit en général d'un diabète sévère insulino-dépendant (16). Il se révèle de manière brutale avec des glycémies élevées et une glycosurie abondante entraînant un amaigrissement important.

Le diabète semble succéder à des épisodes hypoglycémiques et paraît être en rapport avec une dose cumulée élevée de pentamidine (25) de l'ordre de 3 g.

Une insuffisance rénale est parfois retrouvée lors du traitement (16). Il est légitime de penser, d'après les données pharmacocinétiques, que c'est un facteur de risque majeur d'atteinte pancréatique.

Il est donc recommandé d'évaluer, avant la mise en place de la thérapie, la tolérance du glucose par l'épreuve d'hyperglycémie provoquée. De plus, avant et après chaque injection, il est demandé de surveiller la glycosurie.

Remarque :

Bercault et coll. (7) rapportent le cas d'une acidose lactique mortelle au cours du traitement par la pentamidine. Ceci est dû à son interférence avec les mécanismes de la glycolyse aérobie. Bien qu'exceptionnelle, cette observation suggère qu'une surveillance de la lactacidémie peut être utile lors d'un traitement à la pentamidine, particulièrement si la production ou la clairance des lactates sont altérées par d'autres facteurs.

### ***3 - La pancréatite aiguë***

Il s'agit là d'une complication exceptionnelle, néanmoins, elle doit être signalée car son diagnostic peut être difficile et son évolution fatale. Le diagnostic de la pancréatite a été fait sur la clinique (douleurs abdominales) et l'augmentation de l'amylasémie (109).

### ***4 - Mécanisme physiopathologique***

Parmi les complications métaboliques secondaires à la pentamidine, les troubles de la glycorégulation ont une place particulière.

La succession hypoglycémie puis diabète insulino-dépendant a permis à Bouchard et coll. (16) de proposer un mécanisme physiopathologique pour ces deux types d'accidents.

Bouchard et coll. (16) ont montré qu'il s'agit d'un effet toxique sélectif de la pentamidine sur les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans. Cette toxicité entraîne initialement une libération inappropriée d'insuline responsable des hypoglycémies constatées. Cet effet toxique est progressif et cumulatif (108). L'épuisement insulino-sécrétoire par déplétion en rapport avec la destruction des cellules  $\beta$  peut évoluer secondairement vers l'installation d'un diabète insulino-dépendant. Par ailleurs, les autres fonctions du pancréas sont préservées car le glucagon est normal ou élevé ; de plus une injection de glucagon exogène entraîne une élévation de la glycémie (prouvant aussi le bon fonctionnement hépatique). Cependant, la cytolyse massive des cellules  $\beta$  pourrait être l'élément déclenchant d'une pancréatite.

#### *IX-1-c - L'INSUFFISANCE RENALE*

L'atteinte rénale survient au cours de la 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> semaine suivant le début du traitement. Elle est en général modérée et régressive dans les semaines ou le mois qui suit son arrêt (16,126). Des atteintes rénales graves peuvent toutefois survenir. L'analyse histologique de ce cas révèle, en général, une atteinte tubulo-interstitielle de type toxique sans lésions inflammatoires.

Une insuffisance rénale rapidement évolutive doit faire envisager l'interruption du traitement sous peine de courir des risques de toxicité pancréatique. Une protéinurie isolée peut survenir dans certains cas, ainsi qu'une albuminurie discrète. Elles vont être régressives dès l'arrêt du traitement.

Il est nécessaire de surveiller la fonction rénale avec la réalisation de l'ionogramme, car il y a risque d'hypokaliémie. En cas d'insuffisance rénale, on conseille de réduire les doses unitaires de 30 % à 50 %.

*IX-1-d - TROUBLES NEUROMUSCULAIRES (43,49)*

- Paresthésie, anesthésie du visage,
- Syndrome sciatalgique,
- Neuropathies périphériques,
- Sciatique,
- Crises épileptiques (58).

*IX-1-e - TROUBLES HEMATOLOGIQUES (63)*

- Leucopénie,
- Anémie,
- Thrombocytopénie.

*IX-1-f - TROUBLES HEPATIQUES*

- Augmentation du taux des transaminases.

*IX-1-g - TROUBLES CARDIAQUES (63,126)*

- Crise de tachycardie,
- Anomalies de l'électrocardiogramme portant sur la phase de repolarisation (d'où surveillance avant et pendant le traitement), allongement de l'espace QT de l'électrocardiogramme,
- Troubles du rythme,
- Collapsus cardiovasculaire.

L'allongement de l'espace QT et l'hypokaliémie sont des facteurs favorisant des torsades de pointes.

*IX-1-h - HYPOCALCEMIE (125)*

Elle est notée dans quelques études. Sa fréquence est difficile à retenir car elle varie en fonction des auteurs.

*IX-1-i - TROUBLES GENERAUX (63,126)*

- Pâleur passagère avec des frissons, hyperthermie, sueurs,
- Mauvais goût dans la bouche (goût métallique) pouvant aller jusqu'à la perte du goût, avec risque d'anorexie,
- Nausées, vomissements, douleurs abdominales,
- Réaction d'allergie : eczéma, urticaire,
- Céphalées,
- Asthénie, somnolence,
- Vertiges, lipothymie, syncopes,
- Crises d'hypotension nécessitant l'alitement du sujet 15 minutes, au moins, avant la piqûre et une heure après.

L'administration *per os* d'adrénaline ou d'un anti-histaminique, ainsi que l'injection de tonicardiaques tendent à diminuer l'apparition de ces effets secondaires.

*IX-1-j - REMARQUE (16,43,63,126)*

Grâce aux différentes études, on peut classer par ordre de fréquence (du plus fréquent au moins fréquent) les effets secondaires les plus souvent rencontrés lors des traitements par la pentamidine. Cette classification est approximative étant donné les variations selon les séries cliniques. On trouve :

- douleur et nécrose tissulaire au site d'injection intramusculaire,

- insuffisance rénale,
- mauvais goût dans la bouche,
- hypotension orthostatique,
- trouble de la glycorégulation,
- perturbations hématologiques,
- anomalies du bilan hépatique,
- troubles du rythme cardiaque.

## **IX-2 - PENTAMIDINE EN AEROSOL**

### *IX-2-a - EFFETS SECONDAIRES MINEURS*

Dans les études de Leoung (95) et de Landman (88) les effets secondaires les plus fréquemment rencontrés au cours de la séance sont la toux et le bronchospasme (avec une gêne respiratoire). Bien que très fréquente, la toux n'a entraîné une interruption de traitement que chez 0,5 % des patients de l'étude de Leoung et un arrêt définitif dans 0,3 % des cas.

Ces deux effets secondaires peuvent être facilement prévenus par inhalation d'un bronchodilatateur avant et/ou pendant la séance.

Lors d'une séance d'aérosol de pentamidine, certains effets indésirables transitoires peuvent apparaître et persister pendant quelques heures :

- sensation de goût métallique,
- mal de gorge à type de pharyngite,
- fièvre,
- fatigue, étourdissement.

### *IX-2-b - LE PNEUMOTHORAX*

Leoung (95) et Landman (88) ont rapporté dans leurs études respectives le nombre de cas de pneumothorax observés au cours de la prophylaxie par la pentamidine. Ils pensent que la survenue de ces pneumothorax n'est pas liée à la dose délivrée car, dans la plupart des cas, les pneumothorax surviennent chez des patients ayant déjà fait une pneumocystose à *Pneumocystis carinii* (PPC).

Pour Leoung (95), l'apparition de ces pneumothorax, observés presque exclusivement en prophylaxie secondaire, laisse penser que ce sont les séquelles pulmonaires de la PPC plutôt que l'aérosol lui-même qui en sont responsables. En effet, plusieurs auteurs pensent à l'éventuelle responsabilité de *Pneumocystis carinii* dans la survenue de ces pneumothorax.

### *IX-2-c - REACTION ALLERGIQUE*

Deux rash cutanéomuqueux ont été rapportés dans la littérature, au cours de la prophylaxie. Dans les deux cas, il s'agissait d'une allergie prouvée, soit par un test cutané à la pentamidine, soit par une réintroduction à faible dose de l'aérosol (94).

### *IX-2-d - TOLERANCE*

#### *1 - Sur la fonction respiratoire*

La pentamidine administrée par aérosol n'a pas d'effet délétère sur les fonctions respiratoires après un an de traitement. Il n'y a pas de modifications des épreuves fonctionnelles respiratoires (EFR) en faveur du développement d'une maladie pulmonaire obstructive ou de la perte de la surface capillaire fonctionnelle des alvéoles, tant en prophylaxie primaire que secondaire.

Des EFR pratiquées immédiatement après une séance d'aérosol chez 25 patients ont montré chez 14 sujets une diminution du volume expiratoire maximal de plus de 8%. 11 des patients qui ont ensuite reçu une inhalation d'un bronchodilatateur ont normalisé leurs tests fonctionnels respiratoires (95).

Dans une autre étude, Smith et coll. (134) ont montré une diminution de 75 % du "peak flow" chez 8 patients ayant reçu 300 mg de pentamidine tous les 15 jours. Si ces patients reçoivent du salbutamol 5 mg en spray avant l'aérosol, la diminution du "peak flow" n'est plus que de 1,2 % après la séance d'aérosol.

En conclusion, une inhalation, préalable ou pendant la séance d'aérosol, d'un bronchodilatateur permet d'éviter efficacement les phénomènes d'obstruction bronchique.

### ***2 - Sur la fonction pancréatique***

Deux cas de pancréatite due aux aérosols de pentamidine ont été récemment décrits (73) dans le cas d'une utilisation journalière. Certains auteurs (81) ont observé deux cas d'hypoglycémie qui ont été transitoires et spontanément réversibles malgré la poursuite du traitement.

### ***3 - Sur les fonctions hépatique et rénale***

Aucun effet secondaire n'a été rapporté dans le cadre de la prophylaxie par les aérosols de pentamidine, en une séance mensuelle. Dans le cas d'une utilisation journalière (105), un cas d'insuffisance rénale a été décrit.

#### **4 - Tolérance hématologique**

La tolérance hématologique du produit est excellente. La baisse constatée dans certaines études, des différents paramètres hématologiques, globules blancs, plaquettes, ne reflète que l'aggravation du SIDA ou la prise concomitante de traitements connus pour leur toxicité hématologique (AZT par exemple).

### **X - INTERACTIONS ET ASSOCIATIONS MEDICAMENTEUSES**

#### **X-1 - INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES**

Il n'existe pas d'interactions médicamenteuses connues avec la pentamidine.

Au cours de différentes études, certains patients ont reçu conjointement à la pentamidine en aérosol, de l'AZT (ou de l'aciclovir, ou du ganciclovir), plus un nombre indéterminé, de chimiothérapie pour sarcome de Kaposi, de traitements antibiotiques et antifongiques. En aucun cas la pentamidine en aérosol n'a influé sur la tolérance (plus ou moins bonne) de ces diverses thérapeutiques, et aucune interaction médicamenteuse n'a pu être décelée. Cette absence d'interaction est absolument fondamentale chez le sidéen, nécessairement polymédicamenté.

#### **X-2 - INCOMPATIBILITES MAJEURES**

La pentamidine précipite en présence de solution de chlorure de sodium normale à 0,9 %.

### **X-3 - ASSOCIATION AVEC L'AZT**

Si l'AZT permet de réduire le nombre d'infections opportunistes, y compris les pneumocystoses à *Pneumocystis carinii*, pendant les six premiers mois de son utilisation, il en va différemment au-delà, comme en témoigne l'étude de Dournon (48). En effet, plusieurs auteurs ont noté un délai de rechute de la pneumocystose de moins en moins important.

Girard et coll. (64) ont comparé deux groupes de patients ayant déjà fait une pneumocystose à *Pneumocystis carinii* (le premier groupe ne recevant que de l'AZT, le second recevant de l'AZT plus de la pentamidine en aérosol). Le taux de rechute de pneumocystose était de 61 % dans le groupe traité par AZT et de seulement 9 % dans le groupe traité par AZT associé aux aérosols de pentamidine.

En conclusion, l'association du traitement par l'AZT et d'une prophylaxie dépourvue d'effets secondaires médullaires, tels que les aérosols de pentamidine, est donc particulièrement indiquée pour réduire le risque d'apparition ou de rechute de pneumocystose à *Pneumocystis carinii*.

## **XI - CONTRE-INDICATIONS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI**

Elles sont, bien entendu, liées aux effets secondaires.

### **XI-1 - VOIE PARENTERALE (87,118)**

- Antécédents de réaction allergique (notion d'hypersensibilité),
- Insuffisance pancréatique,
- Insuffisance hépatique,

Il faut être extrêmement prudent :

- chez les diabétiques,
- en cas d'insuffisance rénale,
- en cas d'anomalies cardiovasculaires cliniques ou électrocardiographiques.

A éviter :

- chez les vieillards en mauvais état général,
- chez les enfants de moins de 8 kg,
- chez les femmes en début de grossesse : la pentamidine traverse le placenta mais ne semble pas passer dans le lait maternel (127). D'exceptionnels avortements ayant été rapportés, par prudence, ce médicament est interdit pendant le premier trimestre de la grossesse. De manière générale, la pentamidine est déconseillée en cas de grossesse ou d'allaitement, sauf si son utilisation s'avère indispensable (vu le caractère potentiellement fatal de la maladie).

#### **XI-2 - AEROSOL (88,32)**

- Antécédents de réaction allergique :

Une allergie à la pentamidine par voie générale peut réapparaître en cas d'administration par aérosol.

- Asthme au cours du traitement :

Ceci est dû au fait que les effets secondaires des aérosols de pentamidine sont essentiellement trachéobronchiques avec un risque de bronchospasme.

- Tuberculose pulmonaire évolutive :

Les patients dont l'examen des expectorations révèle la présence de BAAR ne doivent pas recevoir d'aérosol. La toux provoquée par l'aérosol peut être cause de transmission de *Mycobacterium tuberculosis* au personnel soignant.

- Antécédent de pneumothorax :

Des pneumothorax ont été rapportés au cours d'un traitement par aérosol, mais l'imputabilité à la pentamidine reste débattue. Les pneumothorax seraient plutôt dûs à une séquelle de pneumocystose à *Pneumocystis carinii* (rupture de kyste) qu'aux aérosols, mais il semble raisonnable d'éviter la pentamidine dans ce cas là.

- A éviter :

- Chez la femme enceinte :

En raison de la foetotoxicité chez l'animal, l'administration est déconseillée en cas de grossesse. En cas d'allaitement, le passage de la pentamidine dans le lait n'étant pas connu, son utilisation est déconseillée ou l'allaitement interrompu si la prophylaxie s'avère indispensable pour la mère.

- Chez l'enfant de moins de 8 kg :

Il n'existe pas d'études sur la posologie et la toxicité des aérosols de pentamidine chez l'enfant (cette forme de prophylaxie ne peut être recommandée pour l'instant).

## **XII - POSOLOGIE**

### **XII-1 - VOIE PARENTERALE INTRAVEINEUSE OU INTRAMUSCULAIRE**

#### ***XII-1-a - PNEUMONIE A PNEUMOCYSTIS CARINII***

Adultes et enfants : 4 mg/kg/jour pendant 14 jours, soit en perfusion veineuse lente durant au moins 1 heure, ou par injection intramusculaire profonde.

#### ***XII-1-b - TRYPANOSOMOSE AFRICAINE (DANS LA PHASE LYMPHATICO-SANGUINE)***

Adultes et enfants : 4 mg/kg par injection pour un total de 7 à 10 injections intramusculaires à raison d'une par jour ou d'une tous les 2 jours.

**XII-1-c - LEISHMANIOSES**

**1 - Leishmaniose viscérale**

Injection de 4 mg/kg 3 fois par semaine pendant 5 à 25 semaines ou davantage, jusqu'à disparition du parasite dans deux ponctions consécutives de moelle osseuse pratiquées à 14 jours d'intervalle.

**2 - Leishmaniose cutanée (*L. tropica* et *L. major*)**

Injection de 3 à 4 mg/kg : 1 ou 2 fois par semaine jusqu'à la disparition de la lésion (les récurrences sont rares).

**3 - Leishmaniose tégumentaire diffuse (*L. aethiopica*)**

Injection de 3 à 4 mg/kg : 1 fois par semaine, la cure étant prolongée pendant au moins 4 mois après disparition du parasite dans le suc dermique recueilli par scarification. Les récurrences sont fréquentes pendant les premiers mois, tant que l'immunité n'est pas établie.

**4 - Leishmaniose cutanéomuqueuse (*L. braziliensis*, et *L. guyanensis*)**

Injection de 4 mg/kg : 3 fois par semaine pendant 5 à 25 semaines ou davantage, jusqu'à disparition de la lésion.

Remarque : Toutes les doses indiquées, qui sont rapportées au kg de poids corporel, sont valables aussi bien pour l'adulte que pour l'enfant.

## **XII-2 - AEROSOL**

Dans ce cas l'indication est la prophylaxie de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii*.

Les données pharmacocinétiques, et notamment la demi-vie pulmonaire prolongée de la pentamidine administrée par aérosol, permettent de proposer une posologie de 300 mg en une administration unique mensuelle, à même d'assurer le meilleur rapport efficacité/tolérance et observance optimale.

## **XIII - SURDOSAGE**

En cas de surdosage accidentel par voie intramusculaire ou intraveineuse, ou de perfusion trop rapide, on notera une majoration des effets indésirables : hypotension, hypoglycémie, altération de la fonction rénale.

Il n'existe pas d'antidote de la pentamidine. On préconisera un traitement symptomatique de ce surdosage accidentel.

## **XIV - MODE D'EMPLOI**

### **XIV-1 - PENTAMIDINE PAR VOIE PARENTERALE**

L'injection intramusculaire profonde constitue le mode d'administration de choix. Il faut administrer la dose en une seule injection. Avant l'emploi, on dissoudra la pentamidine dans de l'eau pour préparation injectable.

La perfusion intraveineuse doit être lente, sur 60 minutes, pour éviter le risque de collapsus cardiovasculaire. On va alors diluer la pentamidine dans 50 à 250 ml de solution injectable de glucose à 5 %.

En ce qui concerne la stabilité de la solution de pentamidine reconstituée, il est conseillé de ne pas la conserver au-delà de 24 heures.

Toute injection doit être faite chez un malade couché et à jeun.

Pour éviter le risque d'hypotension et de syncope lors des injections, le patient doit toujours rester en *decubitus* dorsal, sous surveillance pendant au moins 30 minutes après la fin de l'injection. Si possible, on contrôlera régulièrement la tension artérielle, la numération formule sanguine et la créatinine sérique tout au long du traitement ainsi que la glycémie quotidiennement.

#### **XIV-2 - PENTAMIDINE EN AEROSOL**

##### ***XIV-2-a - LE NEBULISEUR***

La qualité de la séance d'aérosol dépend pour l'essentiel d'une bonne technique d'inhalation par le patient et de l'utilisation d'un appareil nébuliseur adéquat. Seuls les nébuliseurs permettant de délivrer, au niveau de leur embout buccal, des particules de petite taille en 1 et 2  $\mu\text{m}$  de diamètre massique médian (DMM) doivent être utilisés. En effet, ce sont des particules de cette taille qui permettent un dépôt intra-alvéolaire préférentiel de pentamidine tout en évitant un dépôt trachéobronchique responsable des effets secondaires tels que la toux et le bronchospasme.

Les études démontrant l'efficacité des aérosols en prophylaxie ont été effectuées avec un nébuliseur de type pneumatique, le RESPIGARD II\*, considéré actuellement comme le système de référence d'aérosolisation de la pentamidine (Figure 13).

Il s'agit d'un appareil où le médicament en solution aqueuse est pulvérisé par de l'air comprimé (nébuliseur pneumatique) permettant d'obtenir des particules de  $1,42 \mu\text{m}$  de DMM au niveau de l'embout buccal de l'appareil.

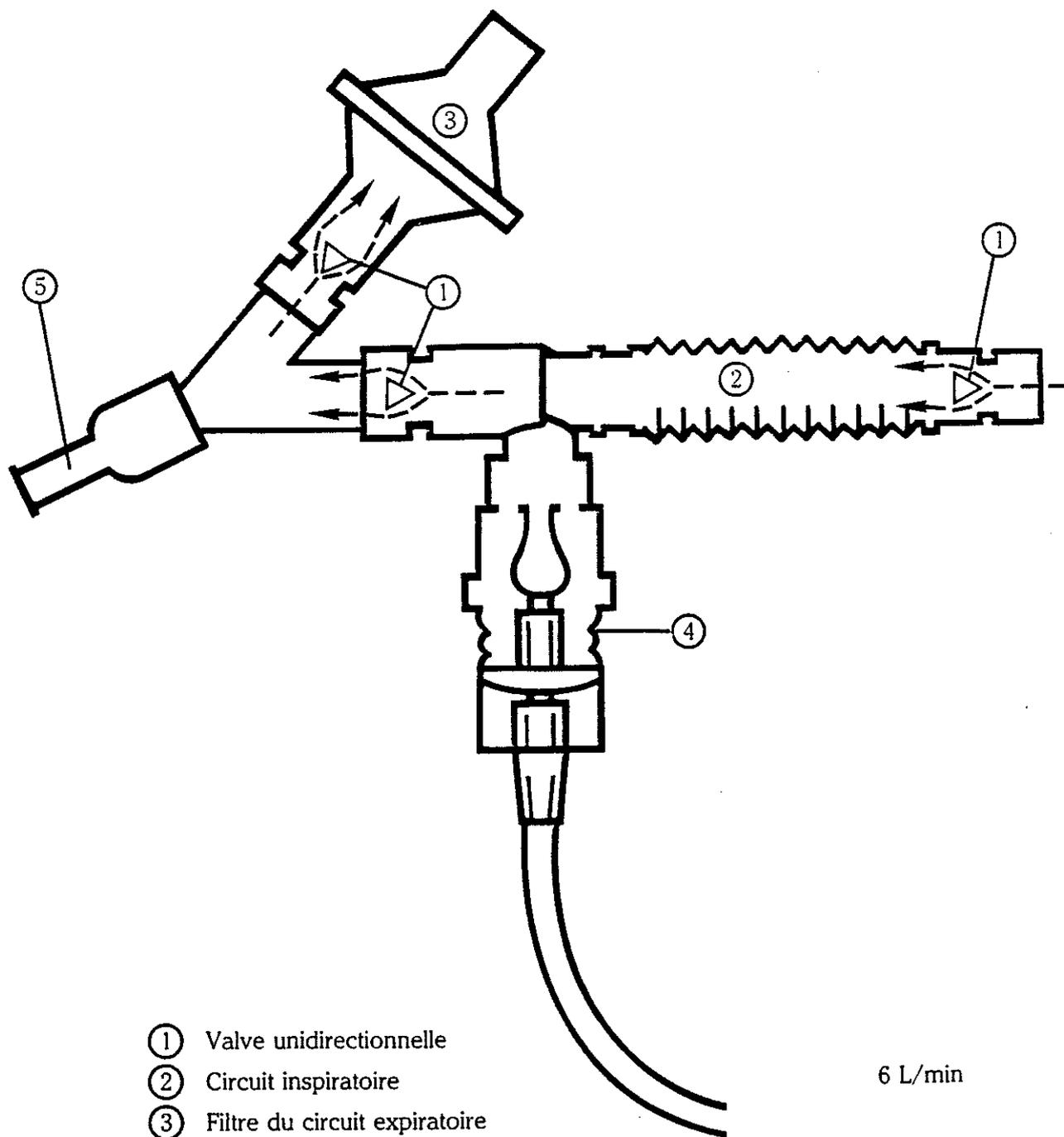
Le RESPIGARD II\* comporte un embout buccal d'inhalation et un filtre expiratoire. Son mode d'emploi a une exigence : il faut introduire 6 ml d'eau pour préparations injectables dans le flacon et l'agiter jusqu'à obtention d'une solution limpide. Le RESPIGARD II\* est un appareil pneumatique à usage unique, ne devant pas être réemployé.

Quel que soit l'appareil utilisé :

- la totalité de la pentamidine doit être aérosolisée et inhalée par l'intermédiaire d'une pièce buccale,
- la nébulisation est arrêtée lorsqu'il n'y a plus d'aérosol émis, soit habituellement après 15 à 30 minutes,
- l'expiration doit toujours s'effectuer à travers le circuit expiratoire qui comprend un filtre,
- en cas de suspension de la séance, on interrompt le fonctionnement de l'appareil.

#### *XIV-2-b - DESCRIPTION D'UNE SEANCE D'AEROSOL*

Une séance d'aérosol dure en moyenne de 15 à 30 minutes. La pièce où s'effectuent les aérosols doit être aérée, et désinfectée au moins une fois par mois. La présence du personnel soignant est indispensable pendant l'aérosolisation.



- ① Valve unidirectionnelle
- ② Circuit inspiratoire
- ③ Filtre du circuit expiratoire
- ④ Nébulisateur Acorn II
- ⑤ Pièce buccale

6 L/min

- Figure 13 -

**LE RESPIGARD II\***

- Diluer la pentamidine dans 6 ml d'eau pour préparation injectable.
- Introduire la solution dans le réservoir du nébuliseur.
- Brancher le nébuliseur sur une arrivée d'oxygène ou d'air comprimé, un débit de 5 à 7 litres/minute permet la formation d'un aérosol au niveau de l'embout buccal.
- Le patient peut commencer la séance en effectuant des inspirations lentes et profondes, et en expirant directement dans l'appareil. Afin d'éviter la propagation du produit dans l'air environnant, et pour protéger le personnel soignant, le RESPIGARD II\* contient un filtre à la sortie du circuit expiratoire.
- En cas d'interruption de la séance d'aérosol, fermer l'arrivée d'oxygène ou d'air comprimé afin d'éviter la fuite de l'aérosol.
- En cas de toux ou de bronchospasme, arrêter la séance. Administrer au patient 2 bouffées de bronchodilatateur puis reprendre l'aérosol après 10 minutes. Si les signes persistent de façon intense, arrêter définitivement la séance. Il est recommandé d'utiliser systématiquement un bronchodilatateur (2 bouffées 10 minutes avant la séance) chez les patients ayant déjà montré des signes d'irritation bronchique au cours de leur premier aérosol.
- En cas de maux de gorge, de mauvais goût dans la bouche, arrêter la séance pour faire boire un peu le patient, puis reprendre la séance.

**QUATRIEME PARTIE**

**METABOLISME**

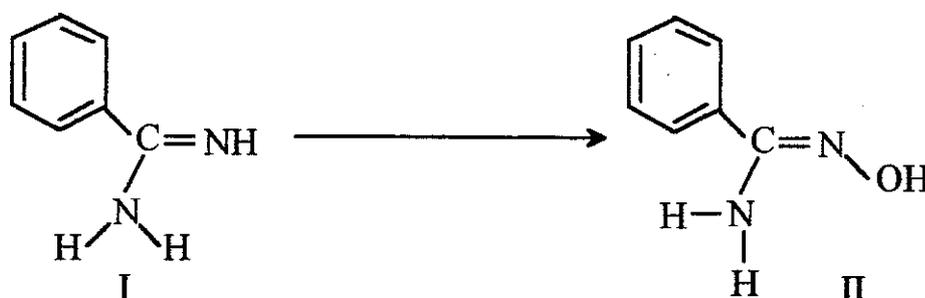
**ET**

**MODE D'ACTION**

## I - METABOLISME

Au cours des premières études de pharmacocinétique avec la LOMIDINE\* marquée, Launoy (91,92), en 1960, avait cru pouvoir dire que la molécule était éliminée telle quelle sans subir de transformation métabolique dans l'organisme. Cette notion était reprise par Waalkes dix ans après et confirmée par d'autres auteurs (10).

Les recherches sur des molécules nouvelles pour traiter la trypanosomose humaine africaine se sont orientées vers des modifications de la molécule de base active, la pentamidine et vers la synthèse de métabolites potentiels en se basant sur les biotransformations des amidines par N-oxydation. Clément a démontré que la benzamidine (I) subissait une N-oxydation pour être transformée en benzamidoxime (II) (27,31).



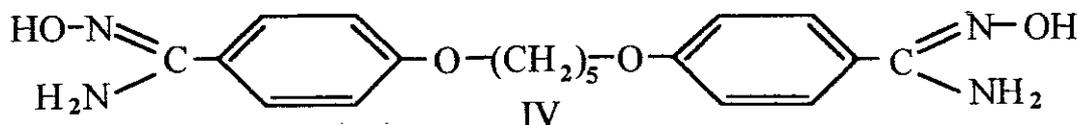
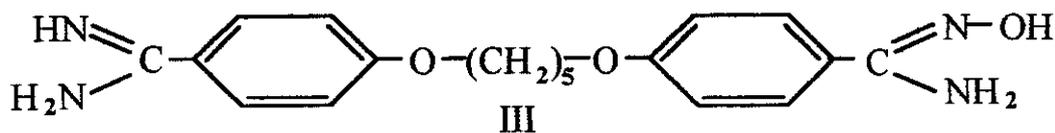
La benzamidine et de nombreux dérivés substitués sur le noyau benzénique se transforment de même lorsqu'ils sont en présence d'homogénat de foie de lapin. Les spectres de masse de ces produits isolés sont en faveur de cette N-hydroxylation.

Le mécanisme met en jeu du cytochrome P-450 comme le démontre la diminution de la vitesse d'hydroxylation en présence de CO, inhibiteur des cytochromes (31). Ni l'ion superoxyde, ni le peroxyde d'hydrogène ne participent à cette réaction.

Berger et coll. (9) montrent que la pentamidine subit *in vitro* cette transformation par N-hydroxylation. Des microsomes de foie de Rats sont isolés et incubés avec de l'isethionate de pentamidine en présence de NADPH. Les incubats sont extraits sur une colonne en phase solide, Prep-Sep C<sub>18</sub> CN-10 puis élués avec 1 ml d'un mélange contenant 95 % de CH<sub>3</sub>CN-10 mM d'heptanesulfonate - 10 mM de chlorure de tétraméthylammonium et 4,2 mMol de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dans H<sub>2</sub>O. Cet éluat est mis à sec puis repris par 200 µl de tampon pour être analysé par HPLC.

La chromatographie liquide à haute performance est réalisée sur colonne (25 cmX4,6 mm) remplie d'une phase reverse de diisopropyl C<sub>8</sub>. La phase mobile contient les ingrédients du tampon d'extraction mais avec un gradient linéaire de 22,5 à 45 % de CH<sub>3</sub>CN sur 25 min. La détection se fait par spectrophotométrie à 265 nm.

Des standards de monooxime de pentamidine (N-hydroxypentamidine) (III) et de dioxime de pentamidine (N,N'-dihydroxypentamidine) (IV) sont synthétisés selon la méthode de Clément (30) à partir du 4,4'-pentaméthylène dioxydibenzonitrile qui, traité par l'hydroxylamine, donne les amidoximes.



On identifie leur présence dans les extraits grâce à leur temps de rétention en HPLC (pentamidine, 12,5 min ; monoxime, 11,9 min ; dioxime, 11,6 min) et par spectrométrie de masse.

La même technique, utilisant des microsomes de foie de rat en présence de pentamidine et analyse du milieu par HPLC, montre qu'à côté des 2 pics de faible intensité, correspondant aux dérivés mono et dihydroxylés sur le groupement amidine, il existe des pics majeurs qui ont été identifiés à des produits d'oxydation sur la chaîne carbonée, le 1,5-bis(4-amidinophénoxy)-2-pentanol et le 1,5-bis(4-amidinophénoxy)-3-pentanol (11). L'identification se fait par surcharge avec ces produits obtenus par synthèse (11) et par spectrométrie de masse (MS/MS). Un dérivé d'hydroxylation en 1 sur la chaîne alcane est possible mais il y a formation d'un hémiacetal qui s'hydrolyse en p-hydroxypentamidine et en 1-(4-amidinophénoxy)-5-pentanal non formellement identifié.

Les caractéristiques de la cinétique enzymatique de formation des deux composés majeurs sont déterminées à partir de l'équation de Lineweaver-Burk :

Métabolite avec OH en 2 :  $K_m = 56 \pm 19 \mu\text{M}$

$$V_{\max} = 126 \pm 21 \text{ pM/min/mg protéines microsomales}$$

Métabolite avec OH en 3 :  $K_m = 28 \pm 0,28 \mu\text{M}$

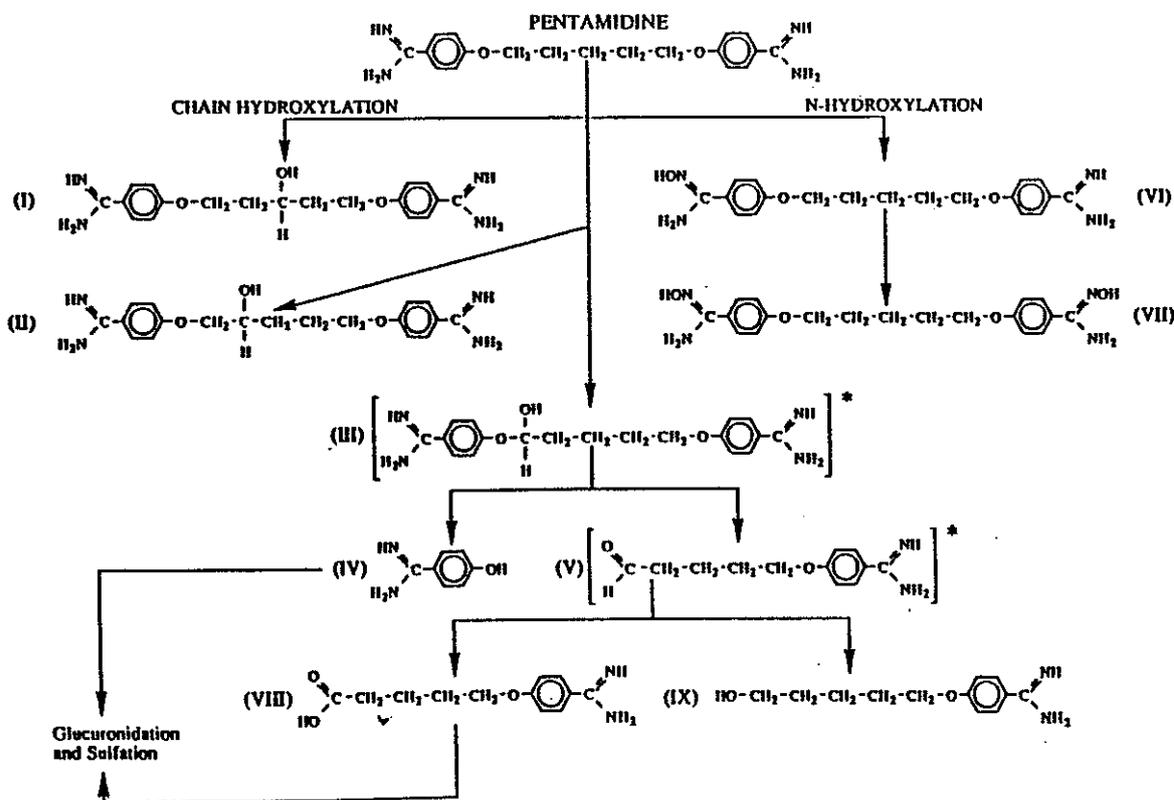
$$V_{\max} = 195 \pm 2,36 \text{ pM/min/mg protéines microsomales}$$

Après avoir identifié 5 métabolites de la pentamidine, l'équipe de Berger en Caroline du Nord (10) s'est attachée à prouver l'existence de deux métabolites primaires supplémentaires, l'acide 5-(4'-amidinophénoxy)pentanoïque et le 5-(4'-amidinophénoxy)-1-pentanal.

Des foies de rats perfusés sont utilisés pour identifier les métabolites secondaires avec la pentamidine marquée au  $^{14}\text{C}$ . Deux nouveaux pics radioactifs sont détectés par HPLC dans ces conditions. Le traitement du liquide réactionnel par la sulfatase ou la  $\beta$ -glucuronidase réduit ou élimine ces pics ce qui conduit à penser qu'il s'agit d'un mélange de sulfo ou glucurono conjugués de p-hydroxybenzamidine et d'acide 5-(4'-amidinophénoxy)pentanoïque. Il semble que seuls ces deux métabolites sont ainsi conjugués avec l'acide sulfonique ou l'acide glucuronique.

L'utilisation de pentamidine marquée permet de conclure que 15 % seulement de pentamidine est retrouvée non métabolisée prouvant la rapidité du métabolisme de ce médicament chez le Rat.

Le schéma global du métabolisme de la pentamidine est le suivant (d'après Berger [10]) :



I, 1,5-bis(4'-amidinophenoxy)-3-pentanol; II, 1,5-di(4'-amidinophenoxy)-2-pentanol; III, 1,5-di(4'-amidinophenoxy)-1-pentanol; IV, *para*-hydroxybenzamidine; V, 5-(4'-amidinophenoxy)-1-pentanol; VI, 1-(4'-hydroxyamidinophenoxy)-5-(4'-amidinophenoxy)pentane; VII, 1,5-bis(4'-hydroxyamidinophenoxy)pentane; VIII, 5-(4'-amidinophenoxy)pentanoic acid; IX, 5-(4'-amidinophenoxy)-1-pentanol.

Nous reproduisons le chromatogramme obtenu après incubation de la pentamidine avec des microsomes hépatiques de Rat (10).

Les composés hydroxylés se retrouvent dans les mêmes organes que la pentamidine principalement au niveau du foie, des reins et du poumon :

	Concentration en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de tissus dans le					
	foie après		rein après		poumon après	
	2H	6H	2H	6H	2H	6H
Composé monohydroxylé.....	10	5,6	11	9	3	2,8
Composé dihydroxylé.....	18	13	19	17	4	4

Le groupe de Fairlamb à Londres (8) a étudié le métabolisme de la pentamidine par le trypanosome lui-même en utilisant deux souches de *T. brucei* : celle (S427/118) sensible au médicament et une résistante obtenue par ces auteurs en cultivant le trypanosome en présence de quantités croissantes de pentamidine, la souche S427/118/PR32, capable de pousser sur un milieu contenant  $32 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$  de pentamidine.

A partir d'extraits de ces parasites, ils réalisent des incubations en présence de  $[^3\text{H}]$  pentamidine et font des incubations similaires avec des microsomes de foie de rat comme témoins.

Les analyses par HPLC des milieux d'incubation donnent les résultats suivants :

- les souches sensibles ne métabolisent pas la pentamidine alors que les microsomes de foie de rat métabolisent à peu près 6 % du médicament en produisant :

- la p-hydroxybenzamidine,
  - l'acide 5-(4'-amidinophénoxy) pentanoïque,
  - le 5-(4'-amidinophénoxy)-1-pentanol,
  - ainsi qu'une petite quantité de 2- et 3-hydroxypentamidine.
- les souches résistantes ne catalysent aucune transformation décelable.

Par rapport aux résultats obtenus par Berger (9,10,11) les incubats de microsomes métabolisent bien la pentamidine mais les quantités relatives de produits formés sont différentes puisque cette nouvelle expérimentation privilégie les produits issus d'une hydroxylation en 1 et non en positions 2 et 3 comme précédemment. Cette différence peut être reliée aux conditions de maintien de l'animal (type de boisson et de nourriture).

En conclusion l'action trypanocide n'est pas liée à l'activation métabolique de la drogue dans *T. brucei* et l'interférence avec le métabolisme des polyamines ne doit pas être la cible primaire. D'autre part, la résistance au médicament ne doit pas être due à son inactivation métabolique.

Les amidoximes à leur tour peuvent subir un métabolisme réductionnel qui va les ramener au niveau de la pentamidine mère (28).

Cette étude de l'hydroxylation de la pentamidine est reprise en 1994 par Clément et Jung (29) pour chercher à identifier les formes de cytochrome P450 impliquées dans cette réaction.

En incubant des microsomes de foie de Lapin avec de la pentamidine, ils observent la formation de N-hydroxypentamidine. En présence d'un système monooxygénasique à cytochrome P450 reconstitué (NADPH-P450 réductase + mélange d'isoenzymes de foie de Lapin) le métabolite majeur est la N-hydroxypentamidine obtenue à

la vitesse de  $0,387 \pm 0,028$  nM/min/nM de P450. Si on remplace le mélange d'isoenzymes par les deux variants 2C3, la vitesse de N-hydroxylation est alors de 1,139-2,438 nM/min/nM de P450 soit 3 à 6 fois supérieure à celle observée en présence du mélange d'isoenzymes. Avec les microsomes de foie humain, le métabolite majeur est également la N-hydroxypentamidine (0,001-0,023 nM/min/mg de protéines), mais on décèle aussi la présence des métabolites hydroxylés sur la chaîne carbonée. Cependant, cette C-hydroxylation est moins bien suivie que chez le Rat ou le Lapin.

Les auteurs confirment que la N-hydroxylation est catalysée par un cytochrome P450 qui n'appartient pas aux isoenzymes P450 inductibles.

Il est intéressant de noter que ces systèmes monooxygénasiques existent aussi au niveau du poumon et que ces transformations métaboliques peuvent aussi s'y exercer.

Si les propriétés antiprotozoaires sont dues à la forte liaison de la pentamidine avec l'ADN, Berger (9) a recherché la capacité de liaison des métabolites N,N'-dihydroxylés avec l'ADN par la courbe de dénaturation thermique en présence d'ADN de thymus de veau. Les résultats sont les suivants :

Pentamidine :  $\Delta T_m = 10,7^\circ\text{C}$

N,N'-dihydroxypentamidine :  $\Delta T_m = 0,2^\circ\text{C}$

ce qui prouve que le dérivé dihydroxylé sur l'azote n'est pas capable de se lier à l'ADN, et cela expliquerait la relative inactivité de l'amidoxime.

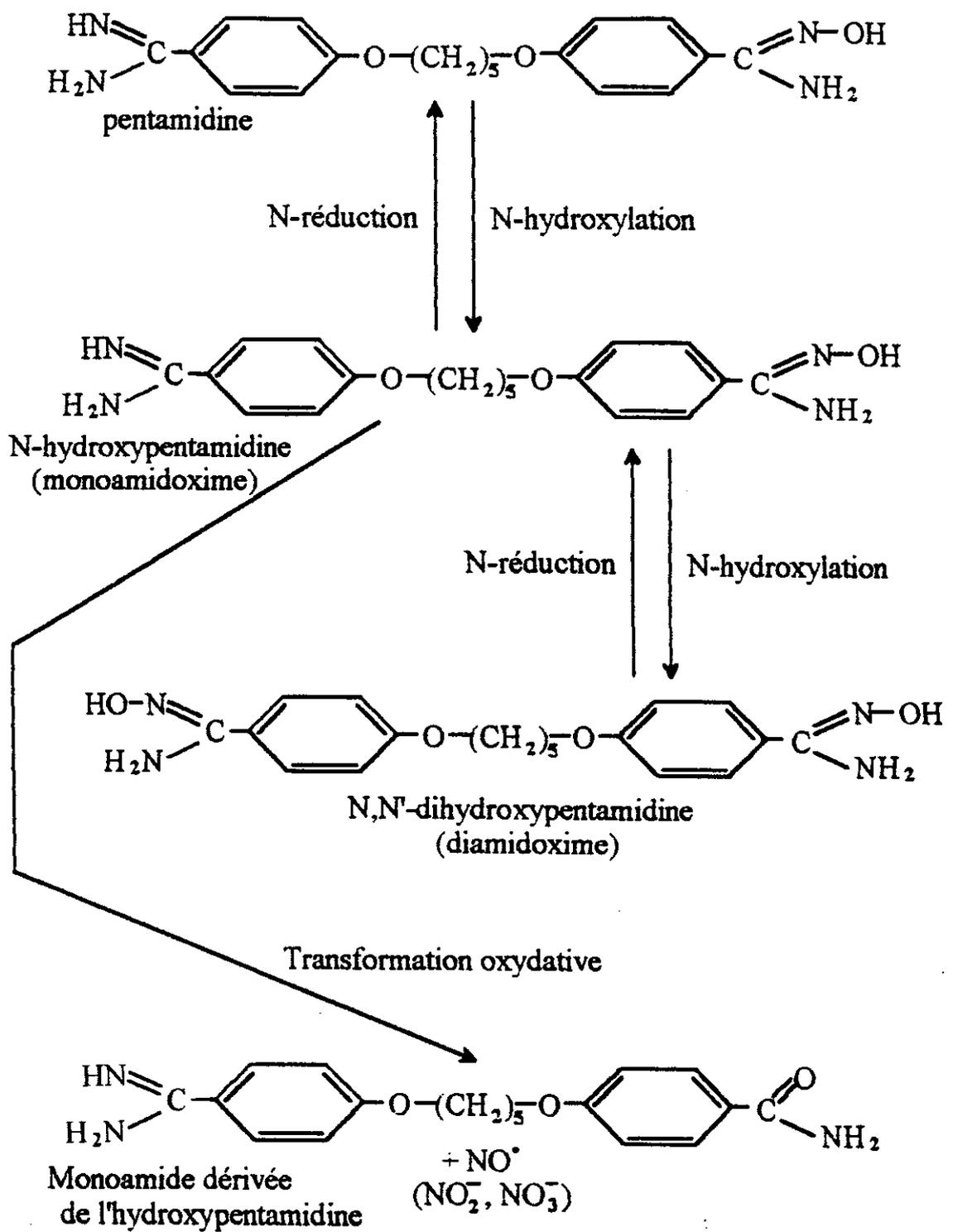
En effet, les deux pentamidoximes synthétisées testées *in vivo* contre les trypanosomes africains et les leishmanies sont moins actifs que la pentamidine (30). Les dérivés hydroxylés présentent une activité trypanocide très réduite *in vitro* comparée à celle de la pentamidine. En fait, cette activité est si faible que la concentration nécessaire pour

inhiber 50 % d'incorporation de substance marquée ne peut pas être calculée pour ces composés. La différence d'activité observée entre les expériences effectuées *in vivo* et *in vitro* est sans doute due à la possibilité de transformation inverse (amidoxime -> amidine) *in vivo* (30).

Au cours d'expériences *in vitro*, Berger (9) a montré que la N-hydroxypentamidine n'a pas d'activité antimicrobienne. Ces expériences faites *in vitro* sont en contradiction avec celles réalisées par Clément et Raether (30) qui montrent que les amidoximes de pentamidine ont une action trypanocide et leishmanicide, même si celle-ci est moins prononcée que celle de la pentamidine elle-même. Cette divergence entre les résultats observés *in vitro* et *in vivo* peuvent s'expliquer par une réduction de l'amidoxime *in vivo*. Cette rapide rétro-réduction conduit à la pentamidine elle-même dont on observe alors les effets. Le système enzymatique responsable de cette réduction met en jeu du NADPH et présente un pH optimum de 6,3.

Enfin, une autre voie métabolique conduisant au monoxyde d'azote est également proposée (29). Les dérivés N-hydroxylés obtenus grâce au cytochrome P450 2C3 chez le Lapin, ou au P450 2CMP chez l'Homme, subissent une oxydation pour les transformer en dérivés monoamidés (Figure 14). Cette oxydation est catalysée par un cytochrome P450 appartenant à la famille P450 3A, cytochrome qui n'est pas capable d'hydroxyler la pentamidine.

Ce NO libéré pourrait expliquer certains effets secondaires de la pentamidine, comme la baisse de la tension artérielle, le rush cutané, et l'hypoglycémie ou l'hyperglycémie, fréquemment observés après administration de ce médicament. Ce dérivé pourrait aussi participer à l'action trypanocide de la pentamidine.



- Figure 14 -

**CYCLE METABOLIQUE DE LA PENTAMIDINE**  
*d'après CLEMENT et coll. (29)*

## II - MODE D'ACTION

### II-1 - TRANSPORT DE LA PENTAMIDINE CHEZ LE FLAGELLE

Avant d'analyser les diverses hypothèses émises concernant le mode d'action des pentamidines sur les trypanosomes africains, examinons d'abord comment le médicament pénètre dans le flagellé.

Damper et Patton (40) ont recherché la présence d'un système de transport de la pentamidine dans les formes trypomastigotes sanguines de *Trypanosoma brucei*. Ces auteurs utilisent la [<sup>3</sup>H] pentamidine qu'ils préparent par réaction d'échange avec de l'eau tritiée. Après purification le produit marqué a une activité spécifique de 1200 mCi/mme. Les trypanosomes sont mis en présence de solution de pentamidine à la concentration de 0,1 mM, c'est-à-dire au-dessous de la concentration létale en médicament.

La quantité de pentamidine captée par la cellule suit une courbe linéaire pendant un temps fixé à 100 secondes et on peut calculer pour cette fixation un  $K_m = 2,6 \pm 0,42 \mu M$  et une  $V_{max} = 91 \pm 0,52 \text{ pM/min}/2,5 \times 10^7$  cellules. Le système est saturable et en présence de stilbamidine, propamidine ou hydroxystilbamidine, on note que la capture de la pentamidine est réduite et traduit une inhibition compétitive.

Des acides aminés basiques ou aromatiques n'ont aucun effet sur ce transport qui est lié à la fonction amidine aromatique.

Ce transport est bloqué en présence de l'acide salicylhydroxamique (SHAM), inhibiteur de l' $\alpha$ -glycérophosphate oxydase et de la respiration, ou de l'iodoacétate, inhibiteur de la glycolyse. Ces faits montrent que le système de transport est couplé avec une dépense d'énergie.

Les mêmes auteurs (39) étudient différentes souches de *Trypanosoma brucei* et *Trypanosoma rhodesiense*. Les souches résistantes aux drogues présentent une plus faible vitesse de transport de la pentamidine, ce qui est particulièrement net avec *T. rhodesiense* qui est spécifiquement moins sensible au médicament. Ces modifications du transport de la pentamidine représentent le premier mécanisme de la résistance des trypanosomes à la pentamidine. Dans toutes les souches étudiées, les trypomastigotes procycliques (formes insecticoles) sont moins sensibles à la pentamidine et montrent une remarquable capacité à ne pas fixer le médicament.

## II-2 - MODE D'ACTION

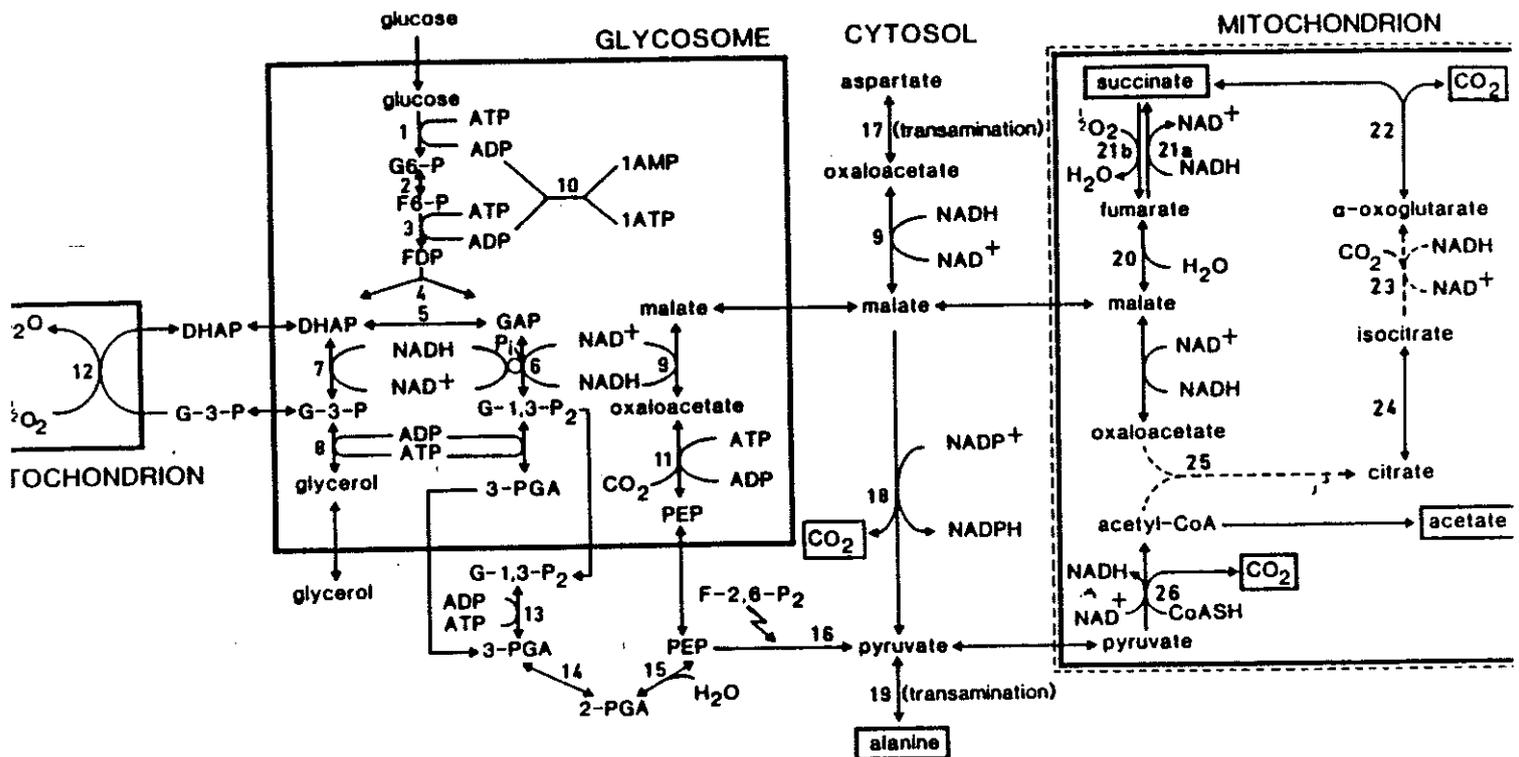
Le mode d'action à l'échelle moléculaire de la pentamidine est très mal connu. Il a donné lieu à de nombreuses recherches portant soit sur les parasites cibles, soit sur les tissus de l'hôte afin de préciser quel métabolisme était susceptible d'être perturbé par le médicament et ainsi traduire l'action toxique de celui-ci sur le patient.

La figure 15 représente le métabolisme du glucose chez les trypomastigotes.

La figure 16 représente la biosynthèse des polyamines et du trypanothion.

Karvonen (82) étudie l'action de la pentamidine sur la diamine oxydase, enzyme du catabolisme des polyamines, et montre que comme la bis-guanylhydrazone du méthylglyoxal, la pentamidine est un puissant inhibiteur de l'enzyme puisque 3  $\mu\text{M}$  suffisent pour réduire l'activité enzymatique de 50 %. Cette inhibition, non compétitive, s'observe donc pour des concentrations voisines de celles trouvées dans le sang au cours de l'utilisation thérapeutique du médicament.

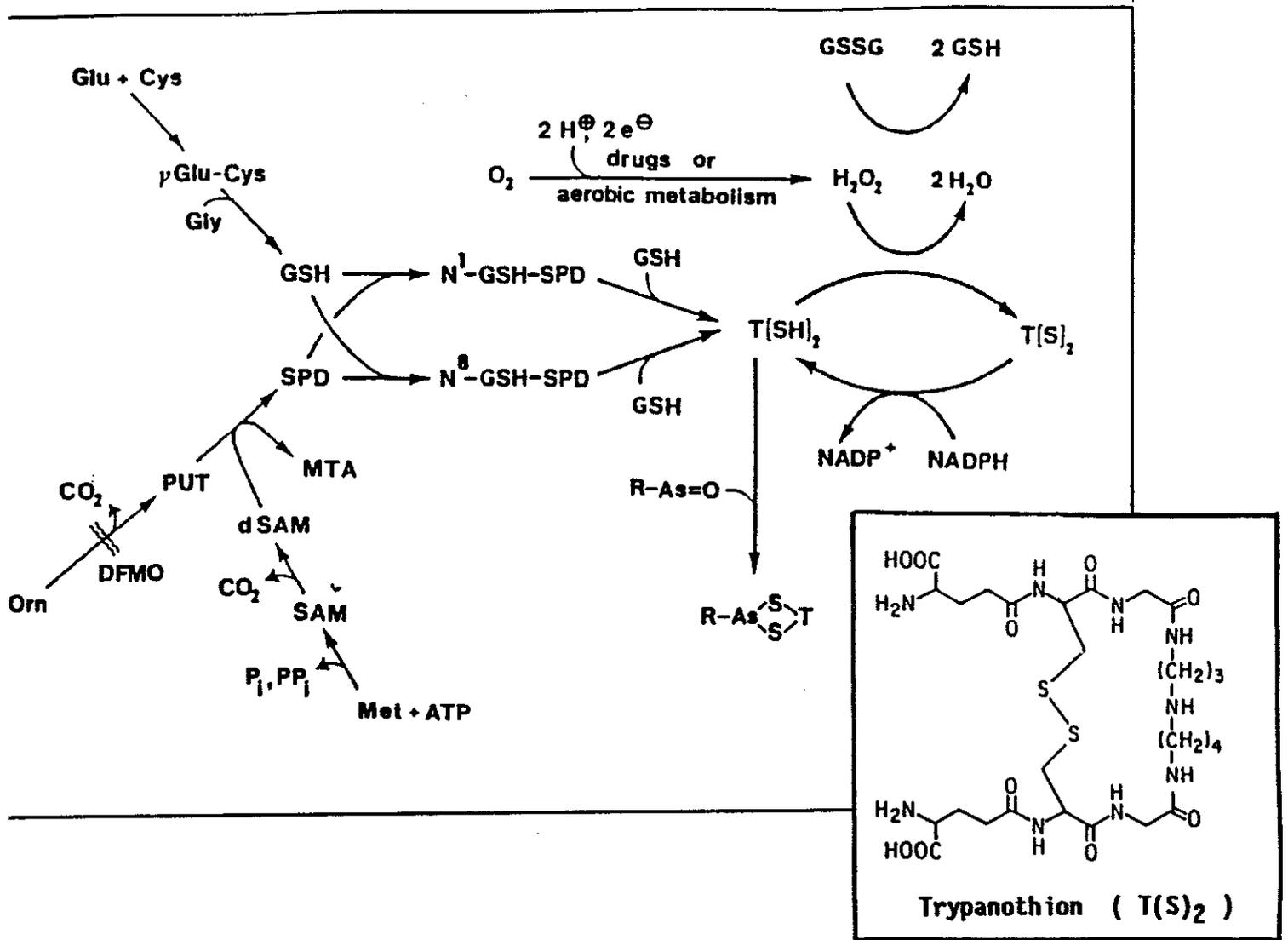
Ces résultats sont confirmés plus récemment par Libby et Porter (97) sur des cellules de mélanome humain et sur des cellules L1210 murines. La pentamidine est un puissant inhibiteur de la polyamine oxydase ( $K_i = 7,6 \mu\text{M}$ ) ainsi que de la



- (1: hexokinase; 2: phosphoglucose isomérase;  
 3: phosphofruktokinase; 4: aldolase; 5: triosephosphate isomérase;  
 6: glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase;  
 7: glycérol-3-phosphate déshydrogénase; 8: glycérol kinase;  
 9: malate déshydrogénase; 10: adénylate kinase;  
 11: phosphoénolpyruvate carboxykinase; 12: glycérol-3-phosphate oxydase;  
 13: phosphoglycérate kinase; 14: phosphoglycérate mutase; 15: énilase;  
 16: pyruvate kinase; 17: aspartate aminotransférase; 18: enzyme malique;  
 19: alanine aminotransférase; 20: fumarate hydratase; 21a: fumarate  
 réductase; 21b: succinate déshydrogénase; 22: α-oxoglutarate décarboxylase;  
 23: isocitrate déshydrogénase; 24: aconitase; 25: citrate synthétase;  
 26: pyruvate déshydrogénase)

- Figure 15 -

**METABOLISME DU GLUCOSE CHEZ LES TRYPOMASTIGOTES PROCYCLIQUES**  
*d'après OPPERDOES F.R. (115)*



- Figure 16 -

**BIOSYNTHESE DES POLYAMINES ET DU TRYPANOTHION**  
*d'après HENDERSON G.B. (72)*

spermidine/spermine acétyltransférase ( $K_i = 2 \mu\text{M}$ ). Ces deux enzymes qui interviennent dans le catabolisme des polyamines, spermidine et spermine, ne sont pas retrouvées au niveau du trypanosome. Néanmoins les auteurs estiment que la disponibilité de la spermidine pour *T. brucei* ou *P. carinii* est diminuée puisque la transformation de spermine en spermidine se trouve bloquée chez l'hôte par ce médicament.

L'action sur le métabolisme hépatique de la souris recevant  $38,8 \text{ mg.kg}^{-1}$  d'iséthionate de pentamidine par voie intrapéritonéale, est suivie par Sippel et coll. (133). On observe au début une élévation de la glycémie et du taux des acides gras puis une augmentation durable des triglycérides et du glycogène hépatique accompagnée par une diminution du pyruvate, du lactate et de l'ATP au niveau du foie. Ces faits traduiraient, au début, une stimulation de la lipolyse et de la glycogénolyse sous l'action des catécholamines libérées en réponse à la chute de la pression sanguine. Puis la glycolyse hépatique semble diminuer puisqu'on note la chute du lactate et du pyruvate avec augmentation du glycogène. Le mécanisme de cette inhibition de la glycolyse n'est pas connu mais serait la cause majeure de l'hypoglycémie observée. La chute de l'ATP est liée à des troubles de la fonction mitochondriale dont les modifications morphologiques ont été signalées depuis longtemps par Williamson (149) chez les trypanosomes.

Sur des microsomes isolés d'hépatocytes, la pentamidine n'a pas d'effet sur l'activité de la glucose-6-phosphatase mais semble activer le transport du glucose-6-phosphate (69).

Pour étudier les mécanismes d'apparition d'hypoglycémies ou de diabète chez les patients sidéens traités par la pentamidine pour une affection pulmonaire à *P. carinii*, Assan et coll. (4) ont utilisé différents modèles expérimentaux. Chez le Rat intact, traité par  $7,5 \text{ mg/jour}$  de pentamidine, on n'observe aucun signe de dysglycémie. L'administration de doses plus élevées ( $15 \text{ mg/j}$ ) est accompagnée d'hypoglycémies sévères entraînant la mort. Avec des rats rendus expérimentalement insuffisants rénaux, la dose de  $7,5 \text{ mg/jour}$  de

pentamidine entraîne l'alternance de périodes hypoglycémiques profondes avec des hyperglycémies accompagnées de glycosurie et de cétonurie. Ces animaux présentent un trouble de la sécrétion d'insuline qui est trop élevée en présence de glycémie basse ou effondrée en période d'hyperglycémie. Les îlots de Langerhans montrent des lésions histologiques : congestion vasculaire importante, dégranulation et nécrose des cellules  $\beta$  alors que les autres cellules, et en particulier celles sécrétant le glucagon, sont intactes.

Ces auteurs concluent à l'induction de lésions des cellules  $\beta$  langerhansiennes par la pentamidine et au rôle de l'insuffisance rénale comme facteur de risque supplémentaire.

Avec des rats recevant par voie intrapéritonéale des doses de 10, 25 et 50 ng d'iséthionate de pentamidine pendant 1, 4, 6, 9, et 16 jours, Glaumann et coll. (66) ont étudié la répartition de la pentamidine au niveau des fractions subcellulaires hépatiques.

La microscopie électronique montre que l'architecture de l'hépatocyte est préservée, à l'exception des lysosomes secondaires qui sont altérés et présentent des images de structures multilamellaires et de type myéliniques. Le stockage du médicament au niveau de ces structures est important : 30 à 50 fois plus que dans l'homogénat de foie, ce qui correspond à la quasi totalité de la pentamidine distribuée au niveau de la glande hépatique. Ceci peut rendre compte de sa toxicité au niveau de cette glande.

En utilisant des lignées cellulaires de foie humain (HEP-G2) et des clones résistants aux drogues (HEP-G2DR), Parker et coll. (116) observent, sur ces 2 types de cellules, une réduction de la synthèse protidique et de l'expression de l'albumine pour une concentration de pentamidine de 5  $\mu$ M dans le milieu. Mais pendant les premières 24 heures l'inhibition de la synthèse de l'ADN ne s'observe que chez les cellules HEP G2 et pas chez les cellules résistantes.

Par la suite, après élimination du médicament, seules les cellules résistantes montrent une récupération significative, à la fois, de la synthèse des protéines et de l'albumine, ce qui tend à montrer que la résistance doit jouer un rôle dans le mécanisme d'action de la pentamidine.

L'action de la pentamidine sur le métabolisme des acides nucléiques a donné lieu à de nombreuses recherches.

Dès 1965, Waring (146), cherchant des inhibiteurs vis-à-vis de l'ARN polymérase-ADN dépendante d'*Escherichia coli*, montre que la pentamidine réalise une nette inhibition de l'activité enzymatique. Cette action se retrouve pour d'autres trypanocides tels que l'antrycide, le bromure d'éthidium et la suramine. Ces substances montrent toutes une inhibition de l'incorporation de l'AMP et une précipitation de l'amorce d'ADN.

Bornstein et Yasko (15) sur des lignées cellulaires de tumeurs ascitiques de la souris C3H montrent que la pentamidine inhibe l'incorporation de  $^{32}\text{PO}_4\text{H}_3$  et de  $^3\text{H}$  thymidine dans l'ADN, et que la même action est observée en ce qui concerne l'incorporation de  $^{32}\text{PO}_4\text{H}_3$  et de  $^3\text{H}$  uridine dans l'ARN, mais à un degré moindre. Ils notent également une diminution de l'incorporation du phosphate radioactif dans les phospholipides et des acides aminés marqués dans les protéines. Ces actions, au niveau de différents métabolismes, évoquent une inhibition des systèmes cellulaires générateurs d'énergie.

En 1975, Makulu et coll. (101) mettent en évidence une réaction de précipitation lorsque la pentamidine est mise en présence d'ATP et la réaction colorée obtenue par le glyoxal en présence de benzaldéhyde montre la présence de la polyamine au niveau du précipité. Cette précipitation peut s'observer avec les nucléosides tri- et

diphosphates mais pas avec les monophosphates, les nucléosides ou les bases seules. Cette précipitation va s'observer aussi en présence des macromolécules, ADN et ARN.

Les auteurs pensent que cette interaction peut expliquer les lésions rénales chez les cancéreux présentant une infection intercurrente à *P. carinii* et traités par la pentamidine, ainsi que les réactions cutanées observées en présence du médicament.

Des études plus précises ont été poursuivies récemment. Dykstra et Tidwell (53) ont cloné le gène de la topoisomérase de *Pneumocystis carinii* et ont fait exprimer ce gène par de la levure. Les topoisomérases permettent la progression de la fourche de réplication favorisant la séparation et la formation d'ADN circulaire. Cette topoisomérase ATP dépendante ou de type II, catalyse les ruptures transitoires des deux brins complémentaires d'un ADN surenroulé, fait passer un segment bicaténaire à travers l'ouverture et rejoint les extrémités. Le surenroulement se trouve réduit de deux tours par cycle de réaction. La pentamidine a la possibilité d'inhiber l'activité de cette topoisomérase.

Il a été possible de montrer que cette diamidine était capable de se lier à des endroits précis de l'acide nucléique. En utilisant des polymères de synthèse de désoxynucléotides et en mesurant la température de fusion ou la viscosité du milieu, Wilson et coll. (150) ont montré que la pentamidine était capable de se lier avec des polymères du type poly dA,dT mais pas avec des polymères de structure poly A,v. Cette propriété est précisée par Jenkins et coll. (80) qui utilisent un dodécamère synthétique de désoxyribonucléotides d(CGCAAATTTG CG)<sub>2</sub> et montrent par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire la liaison de la pentamidine avec le site 5'-ATTT sur une longueur de 4 à 5 paires de bases.

Chez les trypanosomatidés, différents chercheurs (71,99,100) ont montré des altérations au niveau du kinétoplaste par divers trypanocides conduisant à des cellules "dyskinétoplastiques" dans lesquelles l'ADN du kinétoplaste est altéré.

Si des études récentes ont montré que la pentamidine n'inhibe pas de façon significative l'ADN polymérase de *Trypanosoma brucei* (102), il n'en est pas de même au niveau de la topoisomérase de *Trypanosoma equiperdum*. Shapiro (131) montre l'intérêt de cet enzyme parce qu'il est essentiel au cours du métabolisme de l'ADN et qu'il existe des différences entre l'hôte et le parasite en ce qui concerne la structure, la réplication et la transcription de l'ADN.

L'ADN du kinétoplaste (ADNk) correspond à l'ADN mitochondrial et représente une structure originale qui comprend de très nombreux minicercles (de 2 K bases environ chacun avec des séquences de bases différentes) et des dizaines de maxicercles (chacun d'environ 25 K bases, avec seulement une séquence). Les maxicercles codent pour les protéines mitochondriales et l'ARN ribosomal. La réplication de cet ADNk nécessite une très forte activité topoisomérasique pour décaténer, réattacher les minicercles et remodeler les minicercles-filles. La topoisomérase II a été purifiée à partir de nombreux kinétoplastidés dont *Trypanosoma brucei* (135).

L'auteur recherche les inhibiteurs de la topoisomérase II de l'ADNk de *Trypanosoma equiperdum* car ses minicercles ont des séquences homologues, caractéristiques, ce qui simplifie l'étude de la réplication des minicercles. Ces inhibiteurs produisent une augmentation massive de la quantité d'ADN de minicercles libres, augmentation particulièrement nette dans la population des molécules linéaires, produits attendus par clivage du complexe topoisomérase-ADN de minicercle. Cet ADN rendu linéaire est la preuve de l'action du médicament sur la topoisomérase.

Cette liaison de la pentamidine à l'ADN (au niveau du sillon étroit) inhibe la topoisomérase II mitochondriale du trypanosome de façon sélective car la topoisomérase nucléaire n'est pas affectée. Ceci explique les lésions structurales observées au niveau du kinétoplaste pour générer ces cellules "dyskinétoplastiques" déjà signalées.

Au niveau des membranes des cellules cérébrales de Rats, Reynolds et coll. (122,123) ont montré que la pentamidine représente une action antagoniste au niveau du récepteur NMDA (N-méthyl-D-aspartate) à des concentrations proches de celles trouvées dans le cerveau de malades décédés du SIDA, ce qui pourrait expliquer un rôle protecteur des neurones contre la neurotoxicité induite par le NMDA. En effet, l'activation de ce récepteur permet l'entrée du  $\text{Ca}^{++}$  cytotoxique dans certaines circonstances.

Très récemment les rapports entre pentamidine et calcium au niveau du trypanosome lui-même ont fait l'objet d'une étude approfondie (6). Le médicament inhibe l'activité de la  $(\text{Ca}^{++}-\text{Mg}^{++})\text{ATPase}$  de la membrane plasmique de *Trypanosoma brucei*, en présence ou en l'absence de calmoduline ; le transport du calcium est donc perturbé. La concentration nécessaire pour obtenir la moitié de l'inhibition de l'activité enzymatique est de 20  $\mu\text{M}$ . A cette concentration il n'y a pas d'effet sur l'activité de la  $\text{Ca}^{++}\text{ATPase}$  des érythrocytes humains ou de porc. Cette notion récente ouvre une nouvelle cible de recherche pour les médicaments trypanocides.

La plupart des médicaments classiquement utilisés contre la trypanosomose agissent au niveau du métabolisme des polyamines et de la formation du trypanothion (bis glutathionyl spermidine), molécule spécifique non trouvée chez l'hôte.

Bitonti (14) a montré que la pentamidine agit sur la S-adénosylméthionine décarboxylase, enzyme indispensable à la formation du radical aminopropyl, transformant la putrescine en spermidine. Toutefois cette inhibition nécessite une concentration de l'ordre de 10 mM pour être complète et n'est pas spécifique puisque l'ornithine décarboxylase de *Trypanosoma brucei* est également inhibée mais a une concentration 100 fois plus forte.

Ces recherches ont été reprises par Berger et coll. (8) sur des trypanosomes traités *in vivo* par la pentamidine. A cet effet, des rats infestés par *Trypanosoma brucei* sont

traités par la pentamidine à la dose de 4 mg.kg<sup>-1</sup>. Après 4 heures les trypanosomes sont recueillis et leur contenu en polyamine est dosé par chromatographie liquide à haute performance. Aucune modification concernant la synthèse de la putrescine, la spermidine, la glutathionyl spermidine et le trypanothion n'est observée. Cela est sans doute en rapport avec une exposition inadéquate du parasite à la drogue *in vivo*, d'autant qu'il a été observé que le trypanosome ne peut accumuler qu'un maximum de 1 mM de pentamidine, des doses supérieures entraînant une lyse du parasite.

Par conséquent, l'inhibition de la S-adénosylméthionine décarboxylase est peu probable pour expliquer *in vivo* l'action de ce médicament.

Dans cette expérience on note une augmentation de la concentration en lysine au niveau du trypanosome traité, 13 fois plus que chez un *Trypanosoma brucei*-témoin, ainsi que l'arginine, 2,5 fois plus concentrée que chez le témoin.

Une nouvelle cible potentielle pour expliquer l'action de la pentamidine a été signalée par Théo Baltz dans une communication orale au cours du "Deuxième Congrès de Neurologie Tropicale" qui s'est tenu à Limoges du 21 au 23 septembre 1994. Cet auteur fixe la pentamidine sur un support solide pour réaliser une chromatographie d'affinité et fait passer au travers de la colonne des broyats de trypanosomes. Il observe qu'un enzyme est retenu : il s'agit de l'aldolase du parasite car dans les mêmes conditions, l'aldolase des cellules de l'hôte n'est pas fixée. Cet enzyme combiné avec le médicament ne pourrait jouer son rôle dans la glycolyse, voie capitale pour l'énergie du parasite, ce qui expliquerait l'action trypanocide de la pentamidine.

De cette revue de la littérature on peut conclure que le mécanisme d'action de la pentamidine au niveau moléculaire n'est pas encore élucidé.

## **CONCLUSION**

En retraçant l'historique de la pentamidine, on s'aperçoit que sa synthèse date de 1937. Or, ce n'est qu'en 1952 que le laboratoire SPECIA commercialise la pentamidine sous forme de méthane sulfonate de pentamidine (LOMIDINE\*) en ampoules injectables. Les indications de cette spécialité sont la maladie du sommeil (première période de la maladie) et les leishmanioses.

Cependant, par voie parentérale, la pentamidine a une toxicité importante (rénale et pancréatique) et de nombreux effets secondaires. C'est pour cette raison qu'elle est placée dans le traitement de deuxième intention.

Mais, à partir de 1980, la pentamidine connaît un regain d'intérêt et fait l'objet de nombreuses études dans diverses publications. En effet, dès 1980, on note une forte progression du nombre de pneumocystoses dues à l'apparition du SIDA. Or, depuis 1958, on connaissait l'efficacité de la pentamidine dans le traitement de la pneumocystose. Au cours de différents déficits immunitaires, le risque de survenue de pneumocystose justifie la mise en oeuvre d'une prophylaxie. La fréquence des réactions d'intolérance après administration parentérale, a donc motivé de multiples travaux récents visant, d'une part à mieux connaître la pharmacocinétique de la molécule, et, d'autre part, à chercher une autre voie d'administration.

Ainsi, en 1990, le laboratoire Roger Bellon met sur le marché la pentamidine sous forme d'iséthionate de pentamidine ou PENTACARINAT\* (poudre pour usage parentéral ou aérosol).

La prophylaxie de la pneumocystose par la pentamidine montre qu'un médicament ancien, mal toléré par voie parentérale, peut par l'optimisation de la formulation (remplacement du méthane sulfonate par de l'iséthionate de pentamidine) et par la recherche d'une voie d'administration mieux adaptée (aérosol) contribuer à diminuer la morbidité et la mortalité d'une affection opportuniste d'actualité.

Le regain d'intérêt pour la pentamidine explique les nombreux travaux récents sur l'étude de son métabolisme et de son mode d'action. A ce jour, le mode d'action à l'échelle moléculaire n'est toujours pas connu. C'est une voie de recherche importante car, dans l'avenir, elle pourra peut-être apporter à la pentamidine de nouvelles indications dans d'autres affections.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- 1 - Adams A.R., and W. Yorke. A case of indian kala-azar treated with 4-4'diamidino stilbene. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1939, **33**: p. 323.
- 2 - Adler S., and M. Rachmilewitz. A note on the treatment of a case of *leishmania infantum* with 4-4'diamidino stilbene. *Ann. Med. Trop. Parasitol.*, 1939, **33**: 327-328.
- 3 - Andronik V., J.L. Boucher, M. Delaforge, Y. Henry, and D. Mansuy. Formation of nitric oxide by cytochrome P450 - catalized oxidation of aromatic amidoximes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992, **185**: 452-458.
- 4 - Assan R., D. Assan, X. Debusche and M. Toublanc. Pentamidine induced dysglycemia: experimental models in the Rat. *Diabete Metab.*, 1993, **19**: 262-272.
- 5 - Ballout A. Cis-platinum-pentamidine : méthode d'études analytiques et applications pharmacologiques actuelles. Thèse pharm., Limoges, 1987.
- 6 - Benain G., C. Lopez-Estrano, R. Docampo, and S.N.J. Moreno. A calmodulin-stimulated  $Ca^{2+}$  pump in plasma-membrane vesicles from *Trypanosoma brucei* ; selective inhibition by pentamidine. *Biochem. J.*, 1993, **296**: 759-763.
- 7 - Bercault N., P. Martin, C. Huguet, C. Fleury, G. Calamy, and C. Gueveler. Acidose lactique mortelle au cours d'un traitement par la pentamidine. *Réan. Soins Intens. Med. Urg.*, 1989, **2**: p. 112.
- 8 - Berger B.J., N.S. Carter, and A.H. Fairlamb. Polyamine and pentamidine metabolism in African trypanosomes. *Acta Trop.*, 1993, **54**: 215-224.
- 9 - Berger B.J., R.J. Lombardy, G.D. Marbury, C.A. Bell, C.C. Dykstra, J.E. Hall, and R.R. Tidwell. Metabolic N-hydroxylation of pentamidine *in vitro*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1990, **34**: 1678-1684.
- 10 - Berger B.J., N.A. Naiman, J.E. Hall, J. Peggins, T.G. Brewer, and R.R. Tidwell. Primary and secondary metabolism of pentamidine in rats. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 1992, **36**: 1825-1831.
- 11 - Berger B.J., V.V. Reddy, S.T. Le, R.J. Lombardy, J.E. Hall, and R.R. Tidwell. Hydroxylation of pentamidine by rat liver microsomes. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1991, **256**: 883-889.
- 12 - Bernard E.M., H.J. Donnelly, M.P. Maher, and D. Armstrong. Use of a new bioassay to study pentamidine pharmacokinetics. *J. Inf. Dis.*, 1985, **152**: p. 754.

- 13 - Bird T., and J. Thompson. *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Lancet*, 1957, **1**: p. 59.
- 14 - Bitonti A.J., J.A. Dumont, and P.P. Mc Cann. Characterization of *Trypanosoma brucei brucei* S-adenosyl-L-methionine decarboxylase and its inhibition by Berenil, pentamidine and methyl glyoxal bis (guanylhydrazone). *Biochem. J.*, 1986, **237**: 685-689.
- 15 - Bornstein R.S., and J.W. Yarbro. An evaluation of the mechanism of action of pentamidine isethionate. *J. Surg. Oncol.*, 1970, **2**: 393-398.
- 16 - Bouchard P., P. Sai, and G. Reach. Diabetes mellitus following pentamidine-induced hyperglycemia in Humans. *Diabetes*, 1982, **31**: 40-45.
- 17 - Boughton B.J. Cardiac side effects of pentamidine. *Br. Med. J.*, 1987, **294**: p. 1101.
- 18 - Bourée P. *Maladies tropicales*. Masson édit., Paris, 1987, 396 p.
- 19 - Bourgeade A. *Les trypanosomiasés*. *Le Praticien*, 1981, **398**: p. 8.
- 20 - Bousquet C. *Leishmaniose en France : situation et connaissances actuelles*. Thèse Pharm., Clermont-Ferrand, 1991.
- 21 - Bouteille B. *Le traitement de la trypanosomiase africaine, étude d'un modèle expérimental : le Mouton*. Thèse Pharm., Limoges, 1990.
- 22 - Bouteille B., M.L. Darde, M. Pestre-Alexandre, M. Dumas, G. Catanzano, J.C. Breton, J.A. Nicolas, and D.C. N'Do. *Le Mouton : modèle expérimental pour l'étude de la trypanosomiase africaine*. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1986, **79**: 730-738.
- 23 - Bouton C., S. Kernsaum, D. Christol, H. Trinh Dinh, F. Vezinet, L. Gutman, M. Seman, and R. Bastin. Diagnostic morphologique du *Pneumocystis carinii*. *Pathol. Biol.*, 1977, **25**: 153-160.
- 24 - Bryceson A. Diffuse cutaneous leishmaniasis in Ethiopia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1970, **64**: 369-379.
- 25 - Bryceson A., and L. Woodstock. The accumulative effect of pentamidine dimethane sulfonate on the blood sugar. *E. Afr. Med. J.*, 1969, **46**: 170-173.
- 26 - Campbell W.G. Ultrastructure of *Pneumocystis carinii* in human lung. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1972, **93**: 312-324.
- 27 - Clément B. The N-oxydation of benzamidines *in vitro*. *Xenobiotica*, 1983, **13**: 467-473.
- 28 - Clément B., M. Immel, R. Terlinden, and F.J. Wingen. Reduction of amidoxime derivatives to pentamidine *in vivo*. *Arch. Pharm.*, 1992, **325**: 61-62.

- 29 - Clément B., and F. Jung. N-hydroxylation of the antiprotozoal drug pentamidine catalyzed by rabbit liver cytochrome P450 2C3 or human liver microsomes, microsomal retroreduction, and further oxidative transformation of the formed amidoximes. *Drug. Metab. Dispos.*, 1994, **22**: 486-497.
- 30 - Clément B., and W. Raether. Amidoximes of pentamidine : synthesis, trypanocidal and leishmanicidal activity. *Drug Res.*, 1985, **35**: 1009-1014.
- 31 - Clément B., and M. Zimmermann. Characteristics of the microsomal N-hydroxylation of benzamidine to benzamidoxime. *Xenobiotica*, 1987, **17**: 657-659.
- 32 - Conover B., J.C Goldsmith, and B.A. Buelher. Aerolized pentamidine and pregnancy. *Ann. Intern. Med.*, 1988, **109**: p. 927.
- 33 - Conte J.E., and J.A. Golden. Concentrations of aerolized pentamidine in broncho-alveolar lavage, systemic absorption and excretion. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 1988, **32**: 1490-1493.
- 34 - Conte J.E., H. Hollander, and J.A. Golden. Inhaled or reduced-dose intravenous pentamidine for *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Ann. Intern. Med.*, 1987, **107**: 495-498.
- 35 - Conte J.E., R.A. Upton, and E.T. Lin. Pentamidine pharmacokinetics in patients with AIDS with impaired renal function. *J. Infect. Dis.*, 1987, **156**: 885-890.
- 36 - Conte J.E., R.A. Upton, R.T., Phelps, C.B. Wofsy, E. Zurlinden, and E.T. Lin. Use of a specific and sensitive assay to determine pentamidine pharmacokinetics in patients with AIDS. *J. Infect. Dis.*, 1986, **154**: 923-929.
- 37 - Corkery K.I., J.M. Luce, and A.B. Montgomery. Aerolized pentamidine for treatment and prophylaxis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Respir. Med.*, 1988, **33**: 676-685.
- 38 - Cubadda C. Les trypanosomiasés humaines africaines. Thèse Pharm., Marseille, 1985.
- 39 - Damper D., and C.L. Patton. Pentamidine transport and sensitivity in brucei-group trypanosomes. *J. Protozoal.*, 1976, **23**: 349-356.
- 40 - Damper D., and C.L. Patton. Pentamidine transport in *Trypanosoma brucei*. Kinetics and specificity. *Biochem. Pharmacol.*, 1976, **25**: 271-276.
- 41 - Debs R.J., W. Blumenfeld, E.N. Brunette, R.M. Straubinger, A.B. Montgomery, E.T. Lin, N. Agabian, and D.P. Papahadjopoulos. Successful treatment with aerolized pentamidine of *Pneumocystis carinii* pneumonia in Rats. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1987, **31**: 37-41.

- 42 - Debs R.J., R.M. Straubinger, E.N. Brunette, J.M. Lin, E.T. Lin, A.B. Montgomery, D.S. Friend, and D.P. Papahadjopoulos. Selective enhancement of pentamidine uptake in the lung by aerosolization and delivery in liposomes. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1987, **135**: 731-737.
- 43 - Decroix V. Les leishamioses en Guyanne Française. Thèse Pharm., Lille, 1990.
- 44 - De N.C., A.S. Alam, and J.N. Kapoor. Stability of pentamidine isethionate in 5 % dextrose and 0.9 % sodium chlorhyde injections. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1986, **43**: 1486-1488.
- 45 - Dickinson C.M., T.R. Navin, and F.C. Churchill. High performance liquid chromatographic method for quantitation of pentamidine in blood serum. *J. Chromatogr.*, 1985, **345**: 91-97.
- 46 - Donnelly H., E.M. Bernard, H. Rothkotter, J.W.M. Gold, and D. Armstrong. Distribution of pentamidine in patients with AIDS. *J. Inf. Dis.*, 1988, **157**: 985-989.
- 47 - Doucet J. La trypanosomiase : diagnostic parasitologique. *Méd. Afr. Noire*, 1973, **20**: 283-288.
- 48 - Dournon E. Effects of zidovudine in 365 consecutive patients with AIDS or AIDS-related complex. *Lancet*, 1988, **2**: 1297-1302.
- 49 - Drillaud E. Traitement de la leishmaniose tégumentaire par la pentamidine en Guyane Française à propos de 416 cas. Thèse Méd., Bordeaux, 1987.
- 50 - Dumas M., J.C. Breton, M. Pestre-Alexandre, J.A. Nicolas, and G. Catanzano. Réflexions sur le traitement de la trypanosomiase humaine africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1983, **76**: 622-627.
- 51 - Dumas M., Girard P.L., and I.P. N'Diaye. Traitement de la trypanosomiase humaine africaine en milieu hospitalier. *Méd. Afr. Noire*, 1976, **23**: 39-41.
- 52 - Dussol M.H. La pentamidine et ses dérivés dans le traitement de la pneumocystose à *Pneumocystis carinii*. Thèse Pharm., Marseille, 1991.
- 53 - Dykstra C.C., and R.R. Tidwell. Inhibition of topoisomerase from *Pneumocystis carinii* by aromatic dicationic molecules. *J. Protozool.*, 1991, **38**: 785-815.
- 54 - Farinotti R. Aérosol de pentamidine : exemple d'adaptation d'un médicament à la thérapeutique du SIDA. *J. Pharm. Clin.*, 1989, **8**: 233-235.
- 55 - Farinotti R., M. Brun-Pascaud, P.M. Girard, E. Guillot, A. Certain, and J.H. Trouvin. Comparison of tissular disposition of pentamidine in the Rat after aerosol or parenteral administration. *J. Infect. Dis.*, 1989, **160**: 507-512.

- 56 - Farinotti R., and P.M. Girard. L'isethionate de pentamidine : propriétés pharmacocinétiques et utilisation dans le traitement et la prévention de la pneumocystose. *J. Pharm. Clin.*, 1989, **8**: 185-195.
- 57 - Fischl M.A., and G.M. Dickinson. Safety and efficacy of sulfamethoxazole and trimethoprim chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS. *JAMA*, 1988, **259**: 1185-1194.
- 58 - Gallais P., and H. Collomb. Kala-azar et système nerveux : à propos de 2 observations d'épilepsies. *Presse Médicale*, 1956, **63**: 846-848.
- 59 - Gentilini M. *Médecine tropicale*. Flammarion Médecine-Sciences édit., Paris, 1993, 928 p.
- 60 - Gentilini M., M. Danis, G. Brücker and D. Richard-Lenoble. *Diagnostic en parasitologie*. Masson édit., Paris, 2ème édit., 1993, 160 p.
- 61 - Gentilini M., and B. Duflo. *Médecine tropicale*. Flammarion Médecine-Sciences édit., Paris, 1985, 682 p.
- 62 - Girard P.M. Pentamidine aerosol in prophylaxis and treatment of murine *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1987, **31**: 978-981.
- 63 - Girard P.M. Traitement et prophylaxie de de la pneumocystose au cours du syndrome d'immunodéficience acquise. *Med. Mal. Infect.*, 1988, **12**: 722-728.
- 64 - Girard P.M., R. Landman, and G. Gaudebout. Prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia relapse by pentamidine aerosol in zidovudine treated AIDS patients. *Lancet*, 1989, **1**: 1348-1353.
- 65 - Giraud P., R. Bernard, A. Orsini, and J. Coignet. Données nouvelles sur le traitement du kala-azar. *Arch. Fr. Pédiatr.*, 1961, **18**: 1002-1013.
- 66 - Glaumann H., V. Bronner, Ö. Ericsson, L.L. Gustafsson, and L. Rombo. Pentamidine accumulate in rat liver lysosomes and inhibit phospholipid degradation. *Pharmacol. Toxicol.*, 1994, **74**: 17-22.
- 67 - Golden J.A. Prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia by inhaled pentamidine. *Lancet*, 1989, **1**: 654-657.
- 68 - Golvan Y.J. *Eléments de parasitologie médicale*. Flammarion Médecine-Pharmacie édit., Paris, 2ème édit., 1974, 599 p.
- 69 - Grant A., A.M. Mac Gregor, and A. Burchell. Characterization of glucose-6-phosphatase in hepatocytes. Effects of amiloride and pentamidine. *Biochem. Pharmacol.*, 1991, **42**: 27-32.

- 70 - Grignard V., G. Dupont, and R. Locquin. *Traité de chimie organique*. Masson édit., Paris, 1953, **XXII**: 1290 p.
- 71 - Hajduk S.L. Influence of DNA complexing compounds on the kinetoplast of Trypanosomatids. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 1978, **6**: 158-200.
- 72 - Henderson G.B., and A.H. Fairlamb. Trypanothione metabolism : a chemotherapeutic target in trypanosomatids. *Parasitol. Today*, 1987, **3**: 312-315.
- 73 - Herer B. Pancreatitis associated with pentamidine by aerosol. *Br. Med. J.*, 1989, **298**: p. 605.
- 74 - Hughes W.T. *Pneumocystis carinii* pneumonia. *N. Engl. J. Med.*, 1987, **317**: 1021-1023.
- 75 - Ivady G.Y., and L. Paldy. Ein neues Behandlungsverfahren der intersitiellen plasmazelligen Pneumonie Frühgeborener mit fünfwertigen Stibium und promatischen Diamidinen. *Wschr. Kinderheilk.*, 1958, **106**: p. 10.
- 76 - Ivady G.Y., and L. Paldy. Treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in infancy. *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 1976, **43**: 201-208.
- 77 - Jackson D.P., W.J. Kuhl, and J.L. Irvin. The determination of aromatic diamines in plasma and urine. *J. Biol. Chem.*, 1947, **167**: 377-386.
- 78 - Jacquemin P.J., and J.L. Jacquemin. *Parasitologie clinique*. Masson édit., Paris, 3ème édition, 1987, 273 p.
- 79 - Jancso N., and H. Jancso. Chemotherapeutische Schnell fertigung von Trypanosomen durch Ausschaltung der natürlichen Abwehrkräfte. *Z. Immun. Forsch.*, 1935, **85**: p. 81.
- 80 - Jenkins T.C., A.N. Lane, S. Neidle, and D.G. Brown. NMR and molecular modeling studies of the interaction of berenil and pentamidine with d(CGC AAATTTGCG)<sub>2</sub>. *Eur. J. Biochem.*, 1993, **213**: 1175-1184.
- 81 - Karboski J.A., and P.J. Godley. Inhaled pentamidine and hypoglycemia. *Ann. Intern. Med.*, 1988, **108**: p. 490.
- 82 - Karvonen E. Inhibition of diamine oxydase of rat small intestine by pentamidine and berenil (diminazene aceturate). *Biochem. Pharmacol.*, 1987, **36**: 2863-2864.
- 83 - Kerubann S., C. Bouton, and D. Cristol. Pneumopathie à *Pneumocystis carinii* du Rat. *Med. Mal. Infect.*, 1980, **10**: 236-239.
- 84 - King H., E.M. Lourie, and W. Yorke. New trypanocidal substances. *The Lancet*, 1937, **11**: p. 1360.

- 85 - King H., E.M. Lourie, and W. Yorke. Further report on new trypanocidal substances. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1938, **32**: p. 177.
- 86 - Kouchner G., and P. Bourée. La maladie du sommeil en trypanosomiase africaine. *Médecine Actuelle*, 1982, **9**: 356-359.
- 87 - Labourdette C. Aspects actuels des leishmanioses. Thèse Méd., Paris-Sud, 1985.
- 88 - Landman R. Les aérosols de pentamidine en prophylaxie primaire et secondaire de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii*. *Med. Mal. Infect.*, 1990, **20**: 386-393.
- 89 - Landman R., M. Kulpa, A. Mettetal, J.M. Ortoli, J.F. Chambon, and P.M. Girard. Prophylaxie de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* : utilisation des aérosols de pentamidine à domicile. *Med. Mal. Infect.*, 1992, **22**: 513-517.
- 90 - Launoy L. Métabolisme des glucides dans les trypanosomoses, conséquences thérapeutiques de cette étude. *Actualité pharmacologique*, 1950, **2**: 179-204.
- 91 - Launoy L., M. Guillot, and H. Jonchère. Etude du stockage et de l'élimination de la pentamidine chez la Souris et le Rat blanc. *Ann. Pharm. Franc.*, 1960, **18**: 273-284.
- 92 - Launoy L., M. Guillot, and H. Jonchère. Etude du stockage et de l'élimination de la pentamidine chez la Souris et le Rat blanc. *Ann. Pharm. Franc.*, 1960, **18**: 424-439.
- 93 - Launoy L., and H. Lagodsky. Documents relatifs à l'activité trypanocide de quelques diamidines. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1940, **33**: 320-324.
- 94 - Leen C.L. Rush due to nebulized pentamidine. *Lancet*, 1988, **2**: p. 1250.
- 95 - Leoung G.S. Treatment and prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Ann. Int. Med.*, 1986, **105**: 45-48.
- 96 - Levine S.J., and D.A. White. Pulmonary effects of AIDS : *Pneumocystis carinii*. *Clinics Chest. Med.*, 1988, **9**: 395-423.
- 97 - Libby P.R., and C.W. Porter. Inhibition of enzymes of polyamine buck-conversion by pentamidine and berenil. *Biochem. Pharmacol.*, 1992, **44**: 830-832.
- 98 - Lourie E.M., and W. Yorke. The trypanocidal action of certain aromatic diamidines. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1939, **33**: p. 289.
- 99 - Macadam R.F., and J. Williamson. Lesions in the fine structure of *Trypanosoma rhodesiense* specifically associated with drug treatment. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1969, **63**: 421-422.
- 100 - Macadam R.F., and J. Williamson. Drug effects on the fine structure of *Trypanosoma rhodesiense* : diamidines. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1972, **66**: 897-904.

- 101 - Makulu D.R., and T.P. Waalkes. Interaction between aromatic diamidines and nucleic acids : possible implications for chemotherapy. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1975, **54**: 305-309.
- 102 - Marcus S.L., R. Kopelman, B. Koll, and C.J. Bacchi. Effects of exogenous polyamine and trypanocides on the DNA polymerase activities from *Trypanosoma brucei brucei* mouse thymus and murine leukemia virus. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1982, **5**: 231-243.
- 103 - Masur H., and T.C. Jones. The interaction *in vitro* of *Pneumocystis carinii* with macrophages. *J. Exp. Med.*, 1978, **147**: 157-170.
- 104 - Michaud A. Médicaments actifs contre les trypanosomiasés humaines africaines ou maladie du sommeil. Thèse Pharm., Toulouse, 1983.
- 105 - Miller R.F. Acute renal failure after nebulised pentamidine. *Lancet*, 1989, **2**: 1271-1272.
- 106 - Montgomery A.B., R.J. Debs, J.M. Luce, K.J. Corkery, J. Turner, E.N. Brunette, E.T. Lin, and P.C. Hopewell. Selective delivery of pentamidine to the lung by aerosol. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1988, **137**: 477-478.
- 107 - Montgomery A.B., J.M. Luce, J. Turner, E.T. Lin, R.J. Debs, K.J. Corkery, E.N. Brunette, and P.C. Hopewell. Aerolized pentamidine as sole therapy for *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Lancet*, 1987, **2**: 480-483.
- 108 - Morin D., M.L. Dumas, H. Valette, and R. Dumas. Insuffisance rénale aiguë et diabète insulino-dépendant transitoire au cours du traitement d'un kala-azar par la pentamidine et antimoniate de N-méthylglucamine. *Arch. Fr. Pédiatr.*, 1991, **48**: 349-351.
- 109 - Murphey S.A., and A.S. Joseph. Acute pancreatitis associated with pentamidine therapy. *Arch. Intern. Med.*, 1981, **141**: 56-58.
- 110 - Murphy M.J., L.L. Pifer, and W.T. Hughes. *Pneumocystis carinii in vitro*. A study by scanning electron microscopy. *Am. J. Pathol.*, 1977, **86**: 387-402.
- 111 - Navin T.R., C.M. Dickinson, S.R. Adams, M. Mayersohn, and D. Juranek. Effect of azotemia in dogs on the pharmacokinetics of pentamidine. *J. Inf. Dis.*, 1987, **155**: 1020-1026.
- 112 - Nicolas J.A., C. Bosgiraud, G. Dubost, M. Amevigbe, M. Pestre-Alexandre, B. Bouteille, M.L. Darde, J.M. Vallat, and M. Dumas. Essai de la pentamidine dans le traitement de la trypanosomiasé du mouton inoculé par *Trypanosoma brucei brucei*. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1988, **81**: 623-625.

- 113 - Novamani K. Aérosol d'isethionate de pentamidine en prophylaxie de la pneumocystose à *Pneumocystis carinii*. Thèse Pharm., Rennes, 1991.
- 114 - O'Fel A. Parasitologie-Mycologie, C. et R., La Madeleine, 5ème édition, 1992, 481p.
- 115 - Opperdoes F.R. Compartmentation of carbohydrate metabolism in trypanosomes. Ann. Rev. Microbiol., 1987, **41**: 127-151.
- 116 - Parker C.L., R.B. Finley, B.G. Wright, R. Nzeribe, and J. Stewart. The inhibitory effects of pentamidine on biochemical events in human liver cells. Toxic. *in vitro*, 1993, **7**: 177-184.
- 117 - Pearson R.D., and E.L. Hewlett. Pentamidine for the treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia and other protozoal diseases. Ann. Intern. Med., 1985, **103**: 782-788.
- 118 - Pene P., and M.E. Boisson. Indications thérapeutiques des leishmanioses. Méd. Afr. Noire, 1973, **20**: 867-870.
- 119 - Peron C. La trypanosomiase humaine africaine. Thèse Pharm., Nantes, 1983.
- 120 - Piens M.A., and J.P. Garin. La trypanosomiase humaine en Afrique de l'ouest et en Afrique centrale. Méd. Afr. Noire, 1984, **31**: 161-175.
- 121 - Pifer L.L., W.T. Hughes, and M.J. Murphy. Propagation of *Pneumocystis carinii* *in vitro*. Pediatr. Res., 1977, **2**: 305-316.
- 122 - Reynolds I.J. Interactions between zinc and spermidine on the N-methyl-D aspartate receptor complex : clues to the mechanism of action of 1,10-bis(guanidino)decane and pentamidine. J. Pharm. Exp. Therap., 1992, **263**: 632-638.
- 123 - Reynolds I.J., D.M. Zeleski, K.D. Rothermund, K.A. Hartnett, R. Tidwell, and E. Aizenman. Studies on the effects of several pentamidine analogues on the MNDA receptor. Eur. J. Pharmacol. - Mol. Pharmacol. section, 1993, **244**: 175-179.
- 124 - Rodde D. Sida : des résultats encore fragmentaires. Le Moniteur des Pharmacies et des Laboratoires, 1994, **2067**: 20-22.
- 125 - Salmeron S. Pancréatites aiguës mortelles au cours du traitement de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* par la pentamidine à propos de 2 cas chez des patients atteints du SIDA. Thèse Méd., Paris VI, 1985.
- 126 - Sands M., M.A. Kron, and R.B. Brown. Pentamidine : a review. Rev. Infect. Dis., 1985, **7**: 625-634.
- 127 - Sankale M., and A. Brun. Les médicaments des parasitoses tropicales au cours de la grossesse et de l'allaitement. Le Concours Médical, 1991, **113**: 2248-2251.

- 128 - Sarfati C., and N. Godineau-Gauthey. La pneumocystose à *Pneumocystis carinii*. Technique et biologie, 1988, **5**: 208-218.
- 129 - Schern K. Ueber die Wirkung von serum und Leberextrakten auf Trypanosomen. Arb. a. d. Kaiser. Ges. Amt., 1911, **38**: p. 388.
- 130 - Schern K., and R. Artagaveytia-Allende. La terapia de la trypanosomiasis y espirosis. Arch. Soc. Biol. Montevideo, 1935, **6**: p. 244.
- 131 - Shapiro T.A. Inhibition of topoisomerase in African trypanosomes. Acta Trop., 1993, **54**: 251-260.
- 132 - Sicard T. Perspective de lutte contre la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma gambiense*. Thèse Méd., Marseille, 1985.
- 133 - Sippel H., V. Steinmann, and C.J. Estler. Influence of pentamidine and two new trypanocidal agents (DAPI, DIPI) on liver metabolism on mice. Pharmacol. Toxicol., 1991, **69**: 372-377.
- 134 - Smith D.E. Reversible bronchoconstriction with nebulized pentamidine. Lancet, 1988, **2**: p. 905.
- 135 - Strauss P.R., and J.C. Wang. The TOP<sub>2</sub> gene of *Trypanosoma brucei*: a single-copy gene that shares extensive homology with other TOP<sub>2</sub> genes encoding eukaryotic DNA topoisomerase II. Mol. Biochem. Parasitol., 1990, **38**: 141-150.
- 136 - Traoré M.T. Traitement de la trypanosomose africaine : essai expérimental de diverses molécules isolées et associées. Thèse Méd., Limoges, 1985.
- 137 - Traoré S., and J.H. Ricosse. La lutte contre les grandes endémies en Afrique occidentale francophone. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 1971, **51**: 523-540.
- 138 - Van Hoof L., C. Henrard, and E. Peel. Pentamidine in the prevention and treatment of trypanosomiasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1944, **37**: p. 271.
- 139 - Vavra J., and K.Kucera. *Pneumocystis carinii*, Delanoë, its ultrastructure and ultrastructural affinities. J. Protozool., 1970, **17**: 463-483.
- 140 - Vickerman K. Developmental cycles and biology of pathogenic trypanosomes. Brit. Med. Bull., 1985, **41**: 105-114.
- 141 - Waalkes T.P., and V.T. De Vita. The determination of pentamidine in plasma, urine and tissues. J. Lab. Clin. Med., 1970, **75**: 871-878.
- 142 - Waalkes T.P., V.T. De Vita, and C. Denham. Pentamidine : clinical pharmacologic correlations in man and mice. Clin. Pharmacol. Ther., 1970, **11**: 505-512.

- 143 - Waalkes T.P., and D.R. Makulu. Pharmacologic aspect of pentamidine. Natl. Cancer Inst. Monogr., 1976, **43**: 171-176.
- 144 - Wagner A. Die Synthalin behandlung des Diabetes mellitus. Deutsch. Med. Woch., 1926, **2**: p. 2067.
- 145 - Waldman R.H., D.E. Pearce, and B.A. Martin. Pentamidine isethionate levels in lungs, livers and kidneys of rats after aerosol or I.M. administration. Am. Rev. Resp. Dis., 1973, **108**: 1004-1006.
- 146 - Waring M.J. The effects of antimicrobial agents on ribonucleic acid polymerase. Mol. Pharmacol., 1965, **1**: 1-13.
- 147 - Wien R. The pharmacological actions of certain aromatic diamidines possessing trypanocidal activity. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1943, **37**: 1-18.
- 148 - Wien R., W. Freeman, and N.M. Scotcher. The metabolic effects produced by certain aromatic diamidines. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1943, **37**: 19-33.
- 149 - Williamson J. Effects of trypanocides on the fine structure of target organisms. Pharmacol. Ther., 1979, **7**: 445-512.
- 150 - Wilson D.W., L. Ratmeyer, M. Zhao, L. Strekowski, and D. Boykin. The search for structure - specific nucleic acid - interactive drugs : effects of compounds structure on RNA versus DNA interaction strength. Biochemistry, 1993, **32**: 4098-4104.



# **INTRODUCTION** 1

## **PREMIERE PARTIE**

### **HISTORIQUE DE LA PENTAMIDINE** 4

#### **I - 1937 : SYNTHÈSE DE LA PENTAMIDINE** 5

**I-1 - RECHERCHES DE N. JANCZO ET H. JANCZO** 5

**I-2 - RECHERCHES DE KURT SCHERN** 6

**I-3 - TRAVAUX DE KING, LOURIE ET YORKE** 7

#### **II - 1941 : PREMIERS ARTICLES MONTRANT L'EFFICACITÉ CLINIQUE SUR LES TRYPANOSOMOSES AFRICAINES ET LA LEISHMANIOSE VISCÉRALE** 12

#### **III - 1958 : TRAVAUX DÉMONTRANT L'ACTIVITÉ DE LA PENTAMIDINE DANS LA PNEUMOCYTOSE** 13

#### **IV - 1990 : MISE SUR LE MARCHÉ DU PENTACARINAT\*** 15

## **DEUXIÈME PARTIE :**

### **PARASITOLOGIE**

**Quelques considérations sur  
la trypanosomose humaine africaine,  
les leishmanioses,  
la pneumonie à *Pneumocystis carinii*** 17

#### **I - LA TRYPANOSOMOSE AFRICAINE ET LES LEISHMANIOSES** 18

**I-1 - TAXONOMIE** 18

**I-2 - LA TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE** 19

**I-2-a - LES PARASITES** 19

**1 - Classification** 19

**2 - Structure** 19

<i>I-2-b - EPIDEMIOLOGIE</i>	20
<b>1 - Répartition géographique</b>	20
<b>2 - Transmission</b>	20
<i>I-2-c - CYCLE</i>	21
<i>I-2-d - SYMPTOMATOLOGIE</i>	21
<b>1 - Trypanosomose à <i>T. gambiense</i></b>	21
* Incubation	21
* Phase lymphatico-sanguine	22
* Phase de polarisation cérébrale	22
<b>2 - Trypanosomose à <i>T. rhodesiense</i></b>	22
<i>I-2-e - TRAITEMENT</i>	23
<b>I-3 - LES LEISHMANIOSES</b>	24
<i>I-3-a - LES PARASITES</i>	24
<b>1 - Classification</b>	24
<b>2 - Structure</b>	25
* La forme amastigote	25
* La forme promastigote	25
<i>I-3-b - EPIDEMIOLOGIE</i>	25
<b>1 - Répartition géographique</b>	25
* Les leishmanioses viscérales	25
* Les leishmanioses cutanées de l'Ancien Monde	26
* Les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses du Nouveau Monde	26
<b>2 - Transmission</b>	26
<i>I-3-c - CYCLE</i>	27
<i>I-3-d - SYMPTOMATOLOGIE</i>	27
<b>1 - Leishmanioses viscérales ou kala-azar</b>	27
<b>2 - Leishmanioses tégumentaires</b>	28
* Leishmanioses cutanées de l'Ancien Monde	28
* Leishmanioses cutanéomuqueuses du Nouveau Monde	28
<i>I-3-e - TRAITEMENT</i>	29
<b>1 - Leishmanioses viscérales</b>	29
<b>2 - Leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses</b>	30

<b>II - LA PNEUMONIE A <i>PNEUMOCYSTIS CARINII</i></b>	<b>30</b>
<b>II-1 - LE PARASITE</b>	<b>31</b>
<i>II-1-a - TAXONOMIE</i>	31
* Théorie d'appartenance au phylum des protozoaires	31
* Nature virale	32
* Nature fongique	33
<i>II-1-b - MORPHOLOGIE</i>	
* Stades trophiques ou trophozoïtes	34
* Les prékystes	34
* Les kystes	34
* Les corps intrakystiques ou sporozoïtes	34
* Les kystes vides	35
<b>II-2 - CYCLE BIOLOGIQUE</b>	<b>35</b>
<b>II-3 - EPIDEMIOLOGIE</b>	<b>36</b>
<i>II-3-a - RESERVOIR</i>	36
<i>II-3-b - L'INFECTION A <i>PNEUMOCYSTIS CARINII</i></i>	36
<i>II-3-c - TRANSMISSION</i>	37
<i>II-3-d - LE TERRAIN</i>	37
<b>II-4 - TRAITEMENT</b>	<b>38</b>
<b>II-5 - PROPHYLAXIE</b>	<b>39</b>

### TROISIEME PARTIE

## **ETUDE DE LA PENTAMIDINE EN THERAPEUTIQUE**

<b>I - PRINCIPE ACTIF : ISETHIONATE DE PENTAMIDINE</b>	<b>41</b>
<b>I-1 - SYNTHÈSE DU PRINCIPE ACTIF</b>	<b>41</b>
<b>I-2 - CHIMIE</b>	<b>43</b>
<b>I-3 - PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES</b>	<b>44</b>
<i>I-3-a - CARACTÈRES DU PRODUIT CHIMIQUE</i>	44
<i>I-3-b - SOLUBILITÉ</i>	44
<b>I-4 - DOSAGE</b>	<b>44</b>
<b>I-5 - STABILITÉ</b>	<b>45</b>

<b>II - LE PRODUIT FINI : LE MEDICAMENT</b>	<b>45</b>
<b>II-1 - DESCRIPTION</b>	<b>45</b>
<b>II-2 - COMPATIBILITE</b>	<b>46</b>
<b>II-3 - CONTROLE DU PRODUIT FINI</b>	<b>46</b>
<b>II-4 - STABILITE DU PRODUIT FINI</b>	<b>47</b>
<i>II-4-a - STABILITE DANS LE CONDITIONNEMENT D'ORIGINE</i>	<b>47</b>
<i>II-4-b - STABILITE APRES RECONSTITUTION DE LA SOLUTION</i>	<b>47</b>
<b>III - DOSAGE DE LA PENTAMIDINE</b>	<b>47</b>
<b>III-1 - DOSAGE FLUORIMETRIQUE PAR JACKSON</b>	<b>47</b>
<b>III-2 - DOSAGE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE</b>	<b>48</b>
<i>III-2-a - RAPPELS</i>	<b>48</b>
<i>III-2-b - DOSAGE PAR DICKINSON ET COLL.</i>	<b>49</b>
<i>III-2-c - REMARQUES</i>	<b>49</b>
<b>III-3 - METHODE UTILISANT LES RADIOELEMENTS</b>	<b>50</b>
<b>III-4 - METHODE MICROBIOLOGIQUE</b>	<b>50</b>
<b>IV - ETUDE TOXICOLOGIQUE CHEZ L'ANIMAL</b>	<b>51</b>
<b>IV-1 - TOXICITE DE LA PENTAMIDINE PAR VOIE GENERALE</b>	<b>51</b>
<i>IV-1-a - TOXICITE AIGUE</i>	<b>51</b>
<i>IV-1-b - TOXICITE SUBAIGUE</i>	<b>51</b>
<i>IV-1-c - ORGANES-CIBLES</i>	<b>51</b>
<b>1 - Le rein</b>	<b>51</b>
<b>2 - Le foie</b>	<b>52</b>
<b>3 - Le pancréas</b>	<b>53</b>
<i>IV-1-d - MODIFICATION DE LA CALCEMIE</i>	<b>53</b>
<i>IV-1-e - TROUBLES HEMATOLOGIQUES</i>	<b>53</b>
<i>IV-1-f - TOLERANCE LOCALE</i>	<b>54</b>
<b>IV-2 - TOXICITE DE LA PENTAMIDINE EN AEROSOL</b>	<b>54</b>
<b>V - TERATOGENESE</b>	<b>54</b>
<b>VI - MUTAGENESE</b>	<b>55</b>

<b>VII - PHARMACOCINETIQUE</b>	55
<b>VII-1 - PHARMACOCINETIQUE CHEZ L'ANIMAL</b>	56
<i>VII-1-a - CONCENTRATIONS PLASMATIQUES</i>	56
<i>VII-1-b - CONCENTRATION DANS LE LIQUIDE DE LAVAGE                   BRONCHO-ALVEOLAIRE</i>	56
<i>VII-1-c - CONCENTRATIONS TISSULAIRES</i>	57
1 - <i>Chez l'animal sain</i>	57
2 - <i>Chez l'animal immunodéprimé</i>	58
<i>VII-1-d - EXCRETION</i>	60
1 - <i>Etude de Launoy et coll. publiée en 1960</i>	60
2 - <i>Etude de Waalkes et coll. publiée en 1970</i>	61
<b>VII-2 - PHARMACOCINETIQUE CHEZ L'HOMME</b>	62
<i>VII-2-a - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE LA                   PENTAMIDINE ADMINISTREE PAR VOIE PARENTERALE</i>	62
1 - <i>Etude de Conte et coll.</i>	62
2 - <i>Etude de Donnelly et coll.</i>	63
<i>VII-2-b - EXCRETION</i>	64
<i>VII-2-c - PHARMACOCINETIQUE DE LA PENTAMIDINE                   ADMINISTREE PAR AEROSOL</i>	65
1 - <i>Etude du passage systémique</i>	65
2 - <i>Concentrations de pentamidine dans le liquide de lavage                   broncho-alvéolaire</i>	66
<b>VII-3 - CONCLUSION</b>	68
<b>VIII - INDICATIONS THERAPEUTIQUES</b>	69
<b>VIII-1 - PNEUMONIE A PNEUMOCYSTIS CARINII</b>	69
<i>VIII-1-a - TRAITEMENT DE LA MALADIE</i>	69
1 - <i>Pentamidine par voie parentérale</i>	69
2 - <i>Pentamidine en aérosol</i>	70
<i>VIII-1-b - PROPHYLAXIE DE LA MALADIE</i>	70
<b>VIII-2 - TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE</b>	72
<b>VIII-3 - LEISHMANIOSES VISCERALES ET CUTANÉES</b>	73

<b>IX - EFFETS SECONDAIRES</b>	74
<b>IX-1- PENTAMIDINE PAR VOIE PARENTERALE</b>	74
<i>IX-1-a - REACTION LOCALE</i>	74
<i>IX-1-b - TROUBLES PANCREATIQUES</i>	74
1 - <i>Les accidents hypoglycémiques</i>	74
2 - <i>Le diabète</i>	75
3 - <i>La pancréatite aiguë</i>	76
4 - <i>Mécanisme physiopathologique</i>	76
<i>IX-1-c - L'INSUFFISANCE RENALE</i>	77
<i>IX-1-d - TROUBLES NEUROMUSCULAIRES</i>	78
<i>IX-1-e - TROUBLES HEMATOLOGIQUES</i>	78
<i>IX-1-f - TROUBLES HEPATIQUES</i>	78
<i>IX-1-g - TROUBLES CARDIAQUES</i>	78
<i>IX-1-h - HYPOCALCEMIE</i>	79
<i>IX-1-i - TROUBLES GENERAUX</i>	79
<i>IX-1-j - REMARQUE</i>	79
<b>IX-2 - PENTAMIDINE EN AEROSOL</b>	80
<i>IX-2-a - EFFETS SECONDAIRES MINEURS</i>	80
<i>IX-2-b - LE PNEUMOTHORAX</i>	81
<i>IX-2-c - REACTION ALLERGIQUE</i>	81
<i>IX-2-d - TOLERANCE</i>	81
1 - <i>Sur la fonction respiratoire</i>	81
2 - <i>Sur la fonction pancréatique</i>	82
3 - <i>Sur les fonctions hépatique et rénale</i>	82
4 - <i>Tolérance hématologique</i>	83
<b>X - INTERACTIONS ET ASSOCIATIONS MEDICAMENTEUSES</b>	83
<b>X-1 - INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES</b>	83
<b>X-2 - INCOMPATIBILITES MAJEURES</b>	83
<b>X-3 - ASSOCIATION AVEC L'AZT</b>	84
<b>XI - CONTRE-INDICATIONS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI</b>	84
<b>XI-1 - VOIE PARENTERALE</b>	84
<b>IX-2 - AEROSOL</b>	85

<b>XII - POSOLOGIE</b>	86
<b>XII-1 - VOIE PARENTERALE INTRA VEINEUSE OU     INTRAMUSCULAIRE</b>	86
<i>XII-1-a - PNEUMOCYSTOSE A PNEUMOCYSTIS CARINII</i>	86
<i>XII-1-b - TRYPANOSOMOSE AFRICAINE         (DANS LA PHASE LYMPHATICO-SANGUINE)</i>	86
<i>XII-1-c - LEISHMANIOSES</i>	87
1 - <i>Leishmaniose viscérale</i>	87
2 - <i>Leishmaniose cutanée</i>	87
3 - <i>Leishmaniose tégumentaire diffuse</i>	87
4 - <i>Leishmaniose cutanéomuqueuse</i>	87
<b>XII-2 - AEROSOL</b>	88
<b>XIII - SURDOSAGE</b>	88
<b>XIV - MODE D'EMPLOI</b>	88
<b>XIV-1 - PENTAMIDINE PAR VOIE PARENTERALE</b>	88
<b>XIV-2 - PENTAMIDINE EN AEROSOL</b>	89
<i>XIV-2-a - LE NEBULISEUR</i>	89
<i>XIV-2-b - DESCRIPTION D'UNE SEANCE D'AEROSOL</i>	90
<b>QUATRIEME PARTIE :</b>	92
<b>METABOLISME ET MODE D'ACTION</b>	
<b>I - METABOLISME</b>	93
<b>II - MODE D'ACTION</b>	101
<b>II-1 - TRANSPORT DE LA PENTAMIDINE CHEZ LE FLAGELLE</b>	101
<b>II-2 - MODE D'ACTION</b>	102
<b>CONCLUSION</b>	110
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	113



## RESUME

La synthèse de la pentamidine date de 1937. La LOMIDINE\* (méthane sulfonate de pentamidine) fut commercialisée à partir de 1952 ; ses indications sont la trypanosomose (dans la phase lymphatico-sanguine) et les leishmanioses. La spécialité se présente sous forme d'ampoules injectables. Cependant, par voie parentérale, la pentamidine a une toxicité importante (rénale et pancréatique) et de nombreux effets secondaires.

Ainsi en 1990, l'iséthionate de pentamidine ou PENTACARINAT\* (poudre pour usage parentéral ou aérosol) est mis sur le marché. En plus de la trypanosomose et des leishmanioses, le PENTACARINAT\* a une nouvelle indication, en l'administrant en aérosol : la prophylaxie de la pneumonie à *Pneumocystis carinii*.

Le regain d'intérêt pour la pentamidine, qui est un médicament ancien, explique les nombreux travaux récents sur l'étude de son métabolisme et de son mode d'action. A ce jour, son mode d'action à l'échelle moléculaire n'est toujours pas connu ; c'est une voie de recherche importante car, dans l'avenir, elle pourra peut-être apporter à la pentamidine de nouvelles indications dans d'autres pathologies.

## MOTS-CLES

Pentamidine, LOMIDINE\*, PENTACARINAT\*, Trypanosomose, Leishmaniose, Pneumocystose.