Université Joseph Fourier
GRENOBLE
PHARMACIE

SICD1
Bibliothèques
de l'UJF et de Grenoble INP

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

B.U.M. GRENOBLE
D 115 040509 6

1er exemplaire

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

n° 7014

Mai 2000

L'EMERGENCE DE MUTANTS DU VIRUS DE L'HEPATITE B SOUS L'EFFET DU TRAITEMENT PAR LES NOUVEAUX ANALOGUES NUCLEOSIDIQUES : LAMIVUDINE ET FAMCICLOVIR

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE

DIPLOME D'ETAT

PAMIES SANDRINE
Née le 06/11/1976 à LYON 3ème

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 15 MAI 2000 à 18 heure

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Monsieur le Professeur E. DROUET Président de jury

Monsieur le Professeur JP ZARSKI

Monsieur le Docteur en Pharmacie JP BARBIER

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE
GRENOBLE
MÉDECINE - PHARMACIE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Mai 2000

L'EMERGENCE DE MUTANTS DU VIRUS DE L'HEPATITE B SOUS L'EFFET DU TRAITEMENT PAR LES NOUVEAUX ANALOGUES NUCLEOSIDIQUES : LAMIVUDINE ET FAMCICLOVIR

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE

DIPLOME D'ETAT

PAMIES SANDRINE
Née le 06/11/1976 à LYON 3ème

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 15 MAI 2000 à 18 heure

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Monsieur le Professeur E. DROUET Président de jury

Monsieur le Professeur JP ZARSKI

Monsieur le Docteur en Pharmacie JP BARBIER

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE
GRENOBLE
MÉDECINE - PHARMACIE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER

FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Domaine de la Merci 38760 LA TRONCHE

-:-:-:-:-:-

Doyen de la faculté : M. Le Professeur **P. DEMENGE**
Vice Doyen : M. le Professeur **J. CALOP**

PROFESSEURS DE PHARMACIE

ALARY	Josette	Chimie Analytique
BAKRI	Abdelaziz	Pharmacie Galénique
BENOIT-GUYOD	Jean-Louis	Chimie Toxicologie et Eco-toxicologie
CALOP	Jean	Pharmacie Clinique et Bio-technique
CUSSAC	Max	Chimie Thérapeutique
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Générale
DEMENGE	Pierre	Physiologie/Pharmacologie
DROUET	Emmanuel	Microbiologie-Immunologie
FAVIER	Alain	Biochimie
GOULON	Chantal	Physique-Pharmacie
GRILLOT	Renée	Parasitologie
LECLERC	Gérard	Chimie Organique
MARIOTTE	Anne-Marie	Pharmacognosie
RIBUOT	Christophe	Physiologie/Pharmacologie
ROUSSEL	Anne-Marie	Biochimie
SEIGLE-MURANDI	Françoise	Botanique et Cryptogamie
STEIMAN	Régine	Biologie cellulaire
WOUESSIDJEWE	Denis	Pharmacie Galénique

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER

FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté	M. le Professeur J. L. DEBRU
Vice-Doyen	M. le Professeur J. P. CHIROSSEL
Assesseurs	M. le Professeur J. LEBEAU
	M. le Professeur J.P. ROMANET
	M. le Professeur B. SELE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AMBLARD	Pierre	Dermato. VénéréologieA
MBROISE-THOMAS	Pierre	Parasitologie et Mycol.
BACHELOT	Ivan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
BACONNIER	Pierre	Biostatistiques et Informatique Méd.
BARGE	Michel	Neurochirurgie
BARRET	Luc	Médecine Légale
BAUDAIN	Philippe	Radiologie et Imag. Méd.
BEANI	J.-Claude	Dermatologie,Vénéréologie
BENABID	Al.-Louis	Biophys. et Trait. de l'image
BENSA	J. Claude	Immunologie
BERNARD	Pierre	Gynéco et Obstétrique
BESSARD	Germain	Pharma. Fondamentale
BLIN	Dominique	Chir. Thor.et Cardio Vascul.
BOLLA	Michel	Radiothérapie
BOST	Michel	Pédiatrie
BOUCHARLAT	Jacques	Pédo Psychiatrie
BOUGEROL	Thierry	Psychiatrie d'adultes
BRAMBILLA	Christian	Pneumologie
BRAMBILLA	Elisabeth	Anatomie et Cyto. Pathol.
BRICHON	P.Yves	Chir. Thor. et Cardio.Vasc.
CARPENTIER	Françoise	Thérapeutique
CARPENTIER	Patrick	Méd.Interne
CESBRON	Jean-Yves	Immunologie
CHAMBAZ	Edmond	Biologie Cellulaire
CHARACHON	Robert	O.R.L.
CHIROSSEL	J. Paul	Anatomie
CINQUIN	Philippe	Biostatistique et Inf. Méd.
COLOMB	Maurice	Immunologie
CORDONNIER	Daniel	Néphrologie
COULOMB	Max	Radiologie et Imagerie Méd.
CROUZET	Guy	Radiologie et Imagerie Méd.
DEBRU	Jean-Luc	Médecine Interne
DE GAUDEMARIS	Régis	Méd. du Trav. et des risques professionnels.
DEMONGEOT	Jacques	Biostatistique et Inf. Méd
DESCOTES	Jean-Luc	Urologie
DUPRE	Alain	Chirurgie Générale
DYON	J.François	Chirurgie Infantile
FAGRET	Daniel	Bioph et Trait. Image
FAURE	Claude	Anatomie
FAVROT	Marie C.	Cancerologie CLB Lyon
FEUERSTEIN	Claude	Physiologie
FOURNET	Jacques	Hépato-Gastro-Entéro.
FRANCO	Alain	Médecine. Interne
FRANCOIS	Patrice	Épidém., Écon. de la Sant. et Prévention.
GARNIER	Philippe	Pédiatrie
GIRARDET	Pierre	Anesthé. et Réa. Chir.
GOULLIER-FLEURET	Andrée	Parasitologie et Mycologie
GUIDICELLI	Henri	Chirurgie Vasculaire
GUIGNIER	Michel	Réanimation Médicale
HADJIAN	A.-Jean	Biochimie et biol.Mol
HALIMI	Serge	Nutrition
HOMMEL	Marc	Neurologie.
HOSTEIN	Jean	Hépato-Gastro-Entérol.
JOUK	Pierre-Simon	Biologie du Dévelop.. et de la reproduction.
JUVIN	Robert	Rhumatologie
LAVIEILLE	Jean-Pierre	O.R.L.
LE BAS	François	Biophys.et Trait. de l'Image.
LEBEAU	Jacques	Stomat. et Chirurgie Maxillo-Faciale
LEROUX	Dominique	Génétique
LETOUBLON	Christian	Chirurgie Générale
LEVERVE	Xavier	Thérapeutique
LEVY	Patrick	Physiologie
LUNARDI	Joël	Biochimie et Bio. Molécu.
MACHECOURT	Jacques	Cardio. et Maladie Vascu.
MAGNE	Jean-Luc	Chir. Vasculaire
MALLION	J. Michel	Méd.du Trav. et Risques Prof.
MASSOT	Christian	Médecine Interne
MERLOZ	Philippe	Chir. Ortho. et Traumato.
MOREL	Françoise	Bioch. et Biol. Moléculaire
MICOUD	Max	Maladies Infect. et Trop.
MOUILLON	Michel	Ophtalmologie
MOUSSEAU	Mireille	Cancérologie
MOUTET	François	Chir. Plast.Reconst. et Esth.
PASQUIER	Basile	Anat. et Cyto.Patho
PASSAGIA	J.-Guy	Anatomie.
PAYEN de LA GARANDERIE	J. François	Anesthésiologie
PELLAT	Jacques	Neurologie
PHELIP	Xavier	Rhumatologie
PISON	Christophe	Pneumologie
POLACK	Benoît	Hématologie
POLLAK	Pierre	Neurologie
PONS	Jean-Claude	Gynécologie et Obstétrique
RAMBAUD	Pierre	Pédiatrie
RAMBEAUD	J. Jacques	Urologie
RAPHAEL	Bernard	Stomato. et Chirurgie Maxillo-faciale
REYT	Emile	O.R.L.
ROMANET	J. Paul	Ophtalmologie
SARAGAGLIA	Dominique	Chir. Orthopédique et Traumatologique
SCHAERER	René	Cancérologie
SEIGNEURIN	Daniel	Histo.embryo.cytogénét. Reproduction
SEIGNEURIN	J. Marie	Bactério-Viro - Hygiène.
SELE	Bernard	Biologie du Développement et de la Reproduction
SOTTO	J. Jacques	Hématologie et Transfusion
STAHL	J. Paul	Maladies Infect. et Trop.
VANZETTO	Gérald	Clin./Urgences Cardio.
VIALTEL	Paul	Néphrologie
VROUSOS	Constantin	Radiothérapie
VUILLEZ	J.-Philippe	Biophys./Méd. Nucléaire
ZARSKI	J.Pierre	Hépato-Gastro-Entérol.

Merci à toute l'équipe du service d'hépato-gastro-entérologie du CHU de Grenoble et en particulier au professeur ZARSKI pour son aide précieuse qui a permis la réalisation de ce document.

Merci à Mr DROUET qui nous a transmis pendant ses cours son intérêt pour la virologie.

Merci à Mr JP BARBIER et à toute son équipe pour m'avoir permis, grâce à un emploi du temps adapté, d'avancer plus efficacement dans mon travail.

Avec mes plus sincères remerciements

SOMMAIRE

INTRODUCTION..... page 1

RAPPELS

La réplication du VHB..... page 8

Le génome viral..... page 10

Les différents traitements..... page 12

LA LAMIVUDINE

Pharmacologie..... page 16

Efficacité

souches sauvages..... page 23

souches mutantes..... page 33

Résistance..... page 35

Conclusion..... page 47

LE FAMCICLOVIR

Pharmacologie..... page 49

Efficacité..... page 53

Résistance..... page 58

Conclusion..... page 63

CAS CLINIQUE

1er cas ..... page 65

2ème cas..... page 70

CONCLUSION..... page 76

BIBLIOGRAPHIE.....page 79

INTRODUCTION

I. Incidence de l'infection par le VHB dans la population mondiale :

L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) est un véritable problème de santé publique car on dénombre approximativement 5% de la population mondiale, soit en moyenne 300 millions de personnes porteuses du virus. ((1))

La proportion de la population contaminer par le VHB est différente selon les pays :

- ⇨ en Asie, 10 à 15% de la population est contaminée
- ⇨ en Afrique, 10% de la population est atteinte
- ⇨ en Italie, 2 à 5%
- ⇨ en France et aux USA, 0,3% de la population est atteinte.

On retrouve différents modes de contamination, qui différent selon la population étudiée :

- la transmission par voie sexuelle
- la transmission mère - enfant : cette transmission est surtout retrouvé dans les pays de forte endémie.
- la transmission parentérale : ce dernier mode de transmission est retrouvé lors des transfusions sanguines et de l'utilisation des produits dérivés du sang. Les nouvelles techniques de stérilisation ont permis de diminuer considérablement les risques de transmission du VHB.

II. Différentes évolutions après la contamination

Une fois le patient contaminé par le VHB, il peut se produire différentes possibilités :

- ➢ la transmission péri-natale conduit dans 80 à 95% des cas à la chronicité. En effet, il existe probablement un passage transplacentaire de l'Ag HBe, ce qui rend les nouveaux nés immuno-tolérants au VHB.

- ➢ Lorsqu'un adulte est contaminé par voie parentérale ou sexuelle, on retrouve :
  - 0,1% d'hépatite fulminante
  - 20% d'hépatite aiguë
  - 80% d'infections inapparentes.

Mise à part les hépatites fulminantes, l'infection par le VHB peut évoluer vers la chronicité (environ dans 5% des cas), et peut aboutir à une cirrhose ou à un carcinome hépatocellulaire.

En réalité, l'effet cytophatogénique du VHB n'est pas très important. Les lésions hépatiques sont dûes à des réactions immunologiques, dirigées contre les hépatocytes infectés.

Ces mécanismes immunitaires sont différents selon qu'il s'agisse d'une hépatite fulminante, aiguë ou chronique :

⇒ en cas d'hépatite fulminante, les lésions sont dûes à une intensité excessive de la réponse immunitaire.

⇒ Lors d'une hépatite aiguë, il s'agit d'un rejet aigu et massif des hépatocytes infectés.

⇒ au cours de l'hépatite chronique, la réaction immunitaire est dirigé contre les hépatocytes où à lieu la réplication virale.

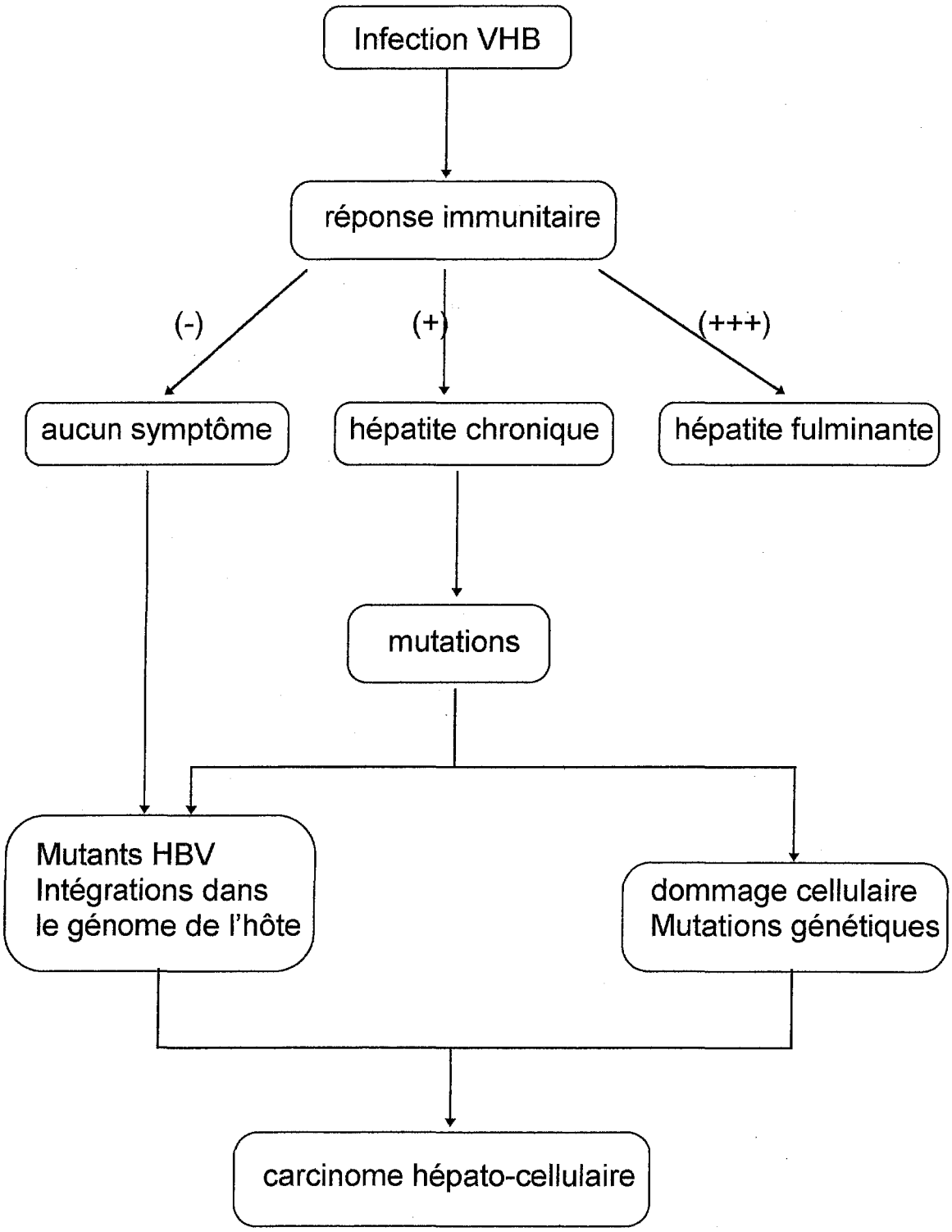
Les résultats de laboratoire permettent de distinguer les différentes situations rencontrées (cf tableau 1). ((2))

pathologie		ALAT	Ag HBs	Ac anti-HBs	Ag HBe	Ac anti-HBe	ADN VHB
hépatite aiguë	début	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	état	(+++)	(+/-)	(-)	(+/-)	(-)	(+/-)
	guérison	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
hépatite chronique	sans mutliplication virale	(+ ou +++)	(+)	(-)	(+/-)	(+/-)	(-)
	avec multiplication virale	(+)	(+)	(-)	(+/-)	(+/-)	(+)
Porteur asymptomatique	contagieux	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	non contagieux	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)

Tableau 1. Caractéristiques des marqueurs biologiques en fonction du type d'hépatite.

Le développement du carcinome hépatocellulaire (CHC) :

L'infection par le VHB est l'étiologie majeure pour le développement d'un cancer hépatique. L'intégration d'une partie du génome viral serait responsable d'une instabilité génomique. Cette intégration provoquerait des réarrangements chromosomiques : délétions, translocations... Ces réarrangements seraient à l'origine de la modification de l'expression de gènes ; oncogènes ou anti-oncogènes. ((3))



Le VHB peut donc intervenir dans la carcinogénèse hépatique par plusieurs mécanismes, qui sont probablement associés chez un même patient :

- la cirrhose d'une part
- l'action directe du génome du VHB par l'intégration à l'ADN des hépatocytes d'autre part.

RAPPELS

I. RAPPELS SUR LE VIRUS DE L'HEPATITE B

1. Rappels sur le VHB et sa réplication :

Une fois la personne infectée, le virus de l'hépatite B va se répliquer dans les hépatocytes.

La réplication virale se fait en différentes étapes (figure n°1) :

⇒ La membrane du virus fusionne avec la membrane de l'hépatocyte.

⇒ L'ADN viral pénètre dans la cellule pour se retrouver dans le noyau cellulaire.

⇒ L'ADN double brin superenroulé est transformé en ADN double brin.

⇒ Le double brin d'ADN viral est ensuite transcrit en ARN viral.

⇒ Cet ARN viral donne un ARN messager et une copie de l'ARN viral, qui se trouvent tout deux à l'extérieur du noyau.

⇒ L'ARN viral est traduit en protéines virales.

⇒ Les protéines virales et l'ARN viral s'assemblent pour former de nouvelles particules.

⇒ Les protéines virales permettent également la synthèse de particules vides, qui vont donner, une fois excrétées dans le milieu extracellulaire, l'Ag HBs.

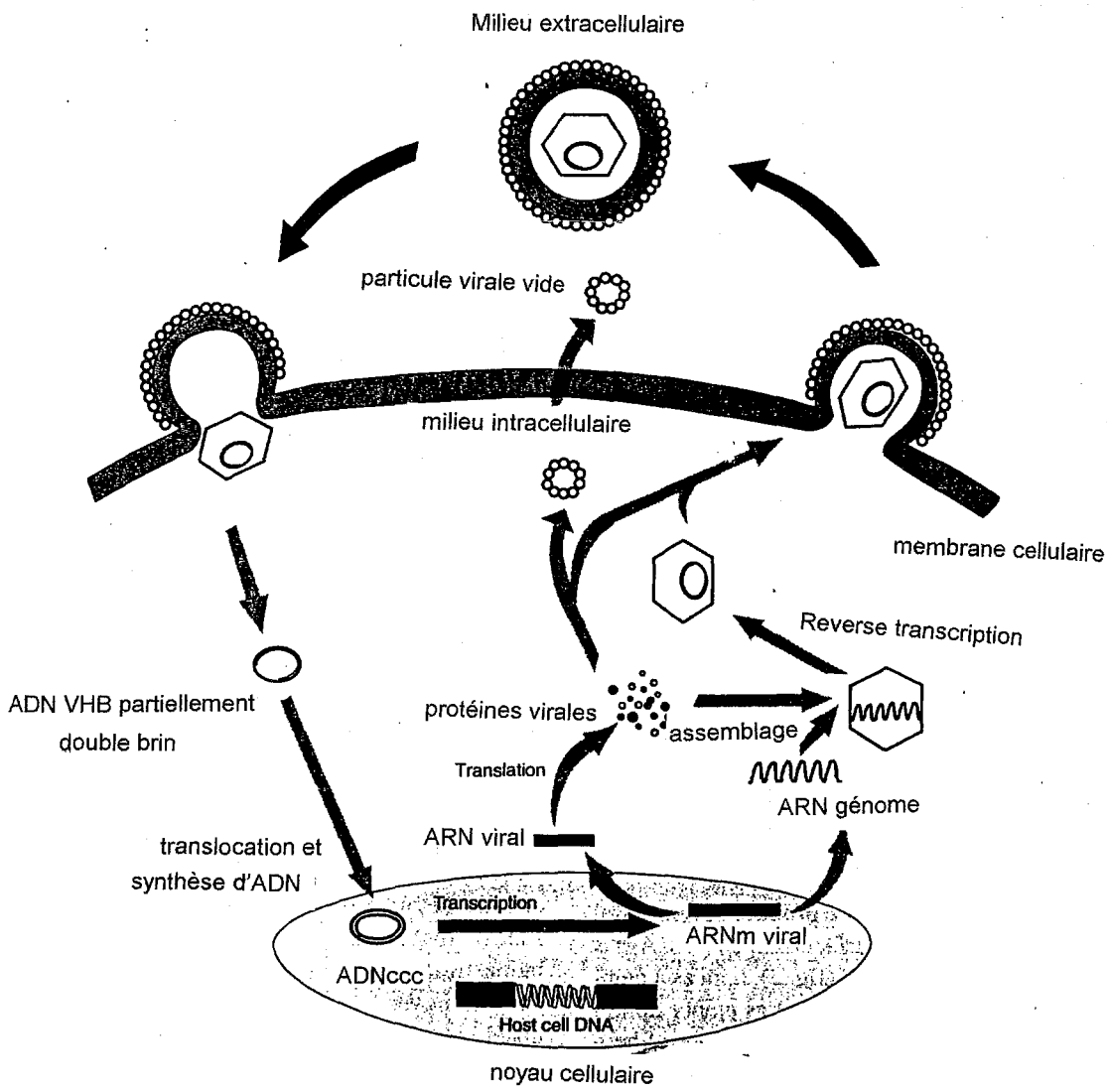


figure n°1
LA REPLICATION DU VHB
Drugs, Juillet 1999
((4))

2. Rappel sur le génome viral :

Le virus de l'hépatite B appartient à la famille des hepadnavirus. Il s'agit d'un virus à ADN , dont le génome est fait de 3,2 Kbases. Cet ADN est circulaire, bicaténaire mais partiellement double brin. Les deux brins d'ADN sont en effet de longueur différente : un brin court et un brin long.

Le génome viral contient 4 régions :

- la région S :
  Cette région code la protéine majeure qui constitue, ce qui correspond à l'antigène HBs.

- la région C :
  Cette partie du génome code pour un polypeptide portant les antigènes HBc et HBe. Seul l'Ag HBc est lié à la capsule. L'Ag HBe est détecté dans le sérum lors de la multiplication virale.

- la région P :
  Cette région code l'enzyme permettant la réplication virale. Il s'agit donc de l'ADN polymérase.

- la région X :
  Cette région code une protéine dont le rôle n'est pas encore connu.

Les quatre régions du génome viral sont représentées sur la figure n°2 :

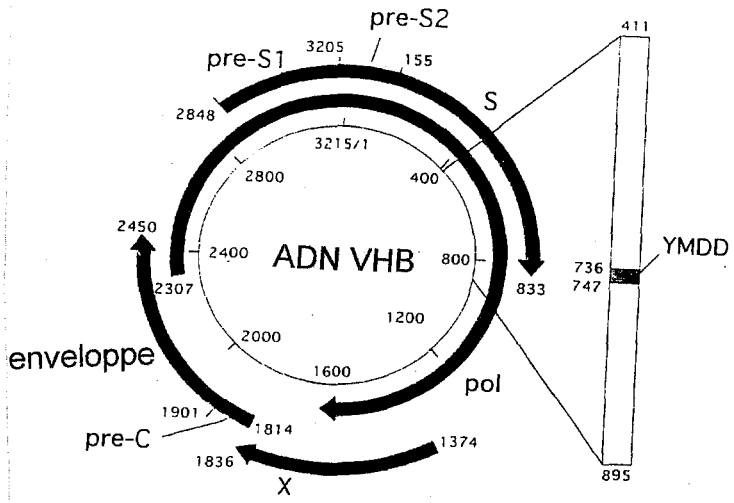


figure n°2

REPRESENTATION DU GENOME VIRAL

Drugs, Juillet 1999

((4))

II. RAPPEL DES DIFFERENTS TRAITEMENTS

L'hépatite B est une infection relativement fréquente. On dénombre une moyenne de 300 millions de porteurs chroniques. Les régions les plus concernées sont l'Asie et l'Afrique Noire, où l'hépatite B est une véritable hyperendémie.
Dans les régions de plus faible endémie comme l'Europe et l'Afrique de Nord, l'infection touche un peu moins de 10% de la population.

Le traitement antiviral est indiqué dans les formes biologiquement actives, avec multiplication virale et présence d'ADN du virus dans le sérum.
Ce traitement a pour but de stopper la multiplication virale permettant ainsi la stabilisation de l'hépatite chronique, ce qui permet d'obtenir :

* un arrêt de la réplication du virus
* disparition de l'ADN viral.
* une séroconversion HBe.
* Une séroconversion HBs

Les médicament utilisés dans le traitement de l'hépatite B chronique sont les suivants :

1. L'interféron alpha

a. mode d'action :

Cette molécule est un antiviral agissant par des mécanismes différents :

- un effet antiviral inhibant les ARN viraux
- une activation des enzymes antivirales
- elle améliore l'efficacité de la réponse immunitaire.

b. efficacité clinique :

L'interféron alpha permet d'obtenir une séroconversion HBe chez 35% des malades et la disparition de l'Ag HbS chez 10% des patients.

Certains facteurs sont prédictifs d'une mauvaise réponse :

- sujet âgé
- patient porteur d'une cirrhose
- patient co-infecté par le VIH
- patient porteur d'une forme mutante

c. mode d'utilisation :

Cette molécule s'utilise par voie sous-cutanée, à des doses de 5 à 10 MUI 3 fois par semaine. Ce traitement se fait sur une durée de 4 à 6 mois en fonction de la réponse du patient.

d. effets indésirables :

Ce traitement antiviral peut donner les effets indésirables suivants :

- syndrome pseudo-grippal, constant et bénin, qui se produit au moment des injections.
- neutropénie
- thrombopénie
- complications neuropsychiatriques
- dysthyroïdie

2. l'adénine arabinosine : VIDARABINE

a. mode d'action :

Cette molécule inhibe l'action de l'ADN polymérase du virus de l'hépatite B .

b. efficacité clinique :

L a VIDARABINE permet d'obtenir une séroconversion HBe chez environ 20 à 30% des patients, mais uniquement chez des malades avec faible réplication virale.

c. mode d'utilisation :

Cette molécule s'utilise en injection intramusculaire, à des doses de 10 mg/kg/jour durant les 5 premiers jours, puis à une dose de 5 mg/kg/jour pendant les 21 jours suivants.

d. effets indésirables :

Ce traitement peut donner les effets indésirables suivants :

- neuropathie périphérique
- myalgie des membres inférieurs.

3. Les corticoïdes.

Un traitement par une corticothérapie brève peut être utilisé avant le traitement par interféron alpha. Cela pourrait améliorer la réponse à l'interféron; notamment lorsque l'activité des amino-transférases est faible.
Le traitement aux corticoïdes est bref (4 à 6 semaines), permet d'obtenir, lors de son arrêt brutal, un rebond immunitaire avec augmentation de la lyse des cellules hépatiques infectées, surtout pour les patients chez qui les ALAT sont basses.

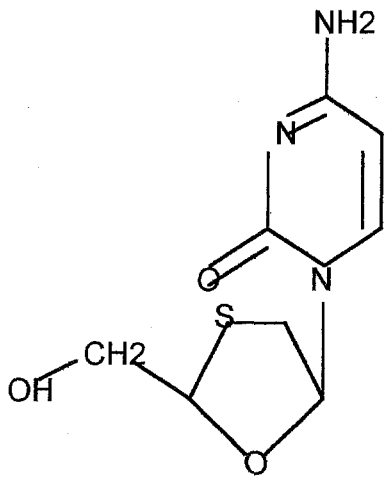
4. la transplantation hépatique

La transplantation hépatique est indiquée en cas de cirrhose sévère. La transplantation hépatique pose le problème de la réinfection du greffon hépatique en post-transplantation. Cette réinfection est d'autant plus risquée que l'ADN viral est déjà présent dans le sérum du patient avant la transplantation.
Le traitement par interféron ou par immunoglobulines anti-HBs peut retarder la réinfection.

LA LAMIVUDINE

PHARMACOLOGIE

La Lamivudine est un nouvel analogue nucléosidique.
Sa formule chimique exacte est le (-)-β-2'-3'-didéoxy-3'-thiacytidine.
Plus communément, on l'appelle 3 TC.
Sa structure chimique est représentée sur le schéma suivant : ((5))



Cette molécule est douée de propriétés antivirales. En effet, elle a le pouvoir d'inhiber l'ADN polymérase de différents virus, et de bloquer ainsi leur réplication. Cette molécule inhibe donc la réplication de nombreux virus, le plus connu étant le VIH. Depuis peu, on utilise également la Lamivudine contre le virus de l'hépatite B. Son utilisation dans le traitement de l'hépatite B chronique a récemment été approuvée par « The Federal Drug Administration ».

1. Mode d'action

Afin d'exercer son activité antivirale, la Lamivudine doit subir 3 phosphorylations successives (figure n° 3):

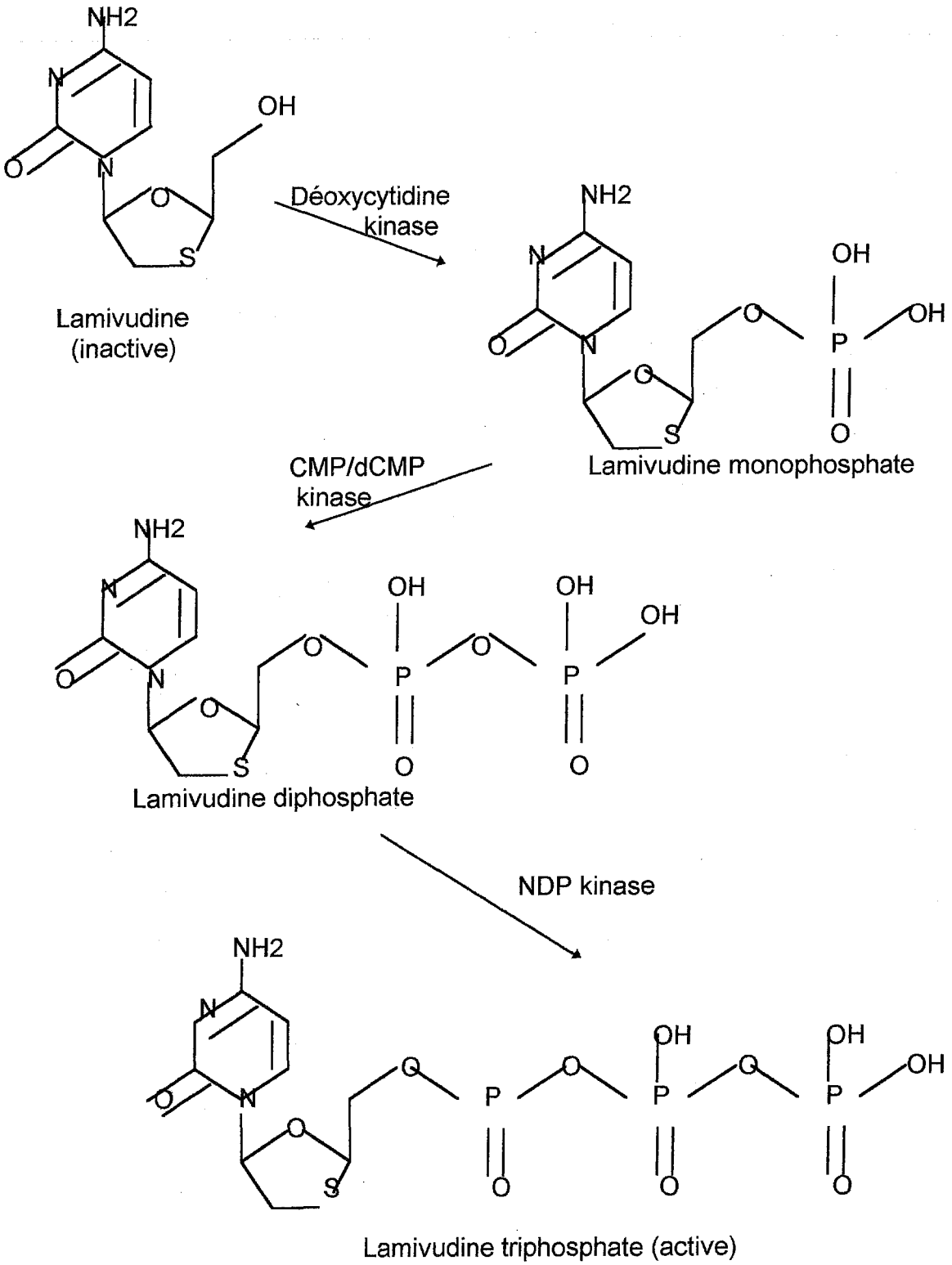


figure n° 3

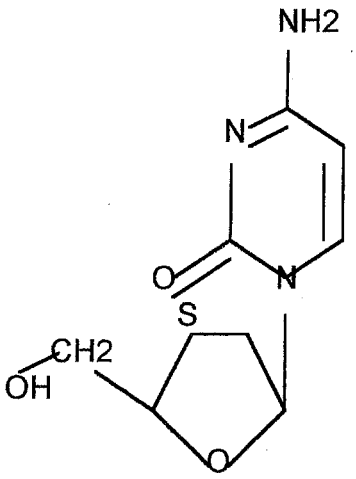
PHOSPHORYLATIONS SUCCESSIVES DE LA LAMIVUDINE

Ces trois phosphorylations sont réalisées par des enzymes différentes :

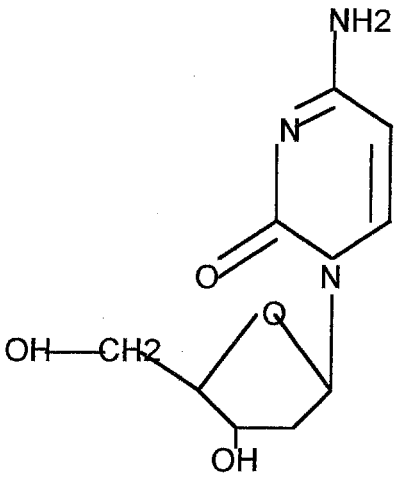
- la première est due à la déoxycytidine kinase
- la deuxième est réalisée par la cytidine monophosphate kinase
- la troisième grâce à la nucléoside diphosphate kinase.

Une fois métabolisée, la lamivudine tri-phosphate va entrer en compétition avec le substrat naturel de l'ADN polymérase : la déoxycytidine tri-phosphate.

En effet, la Lamivudine et la déoxycytidine ont une structure chimique très proche :



Lamivudine



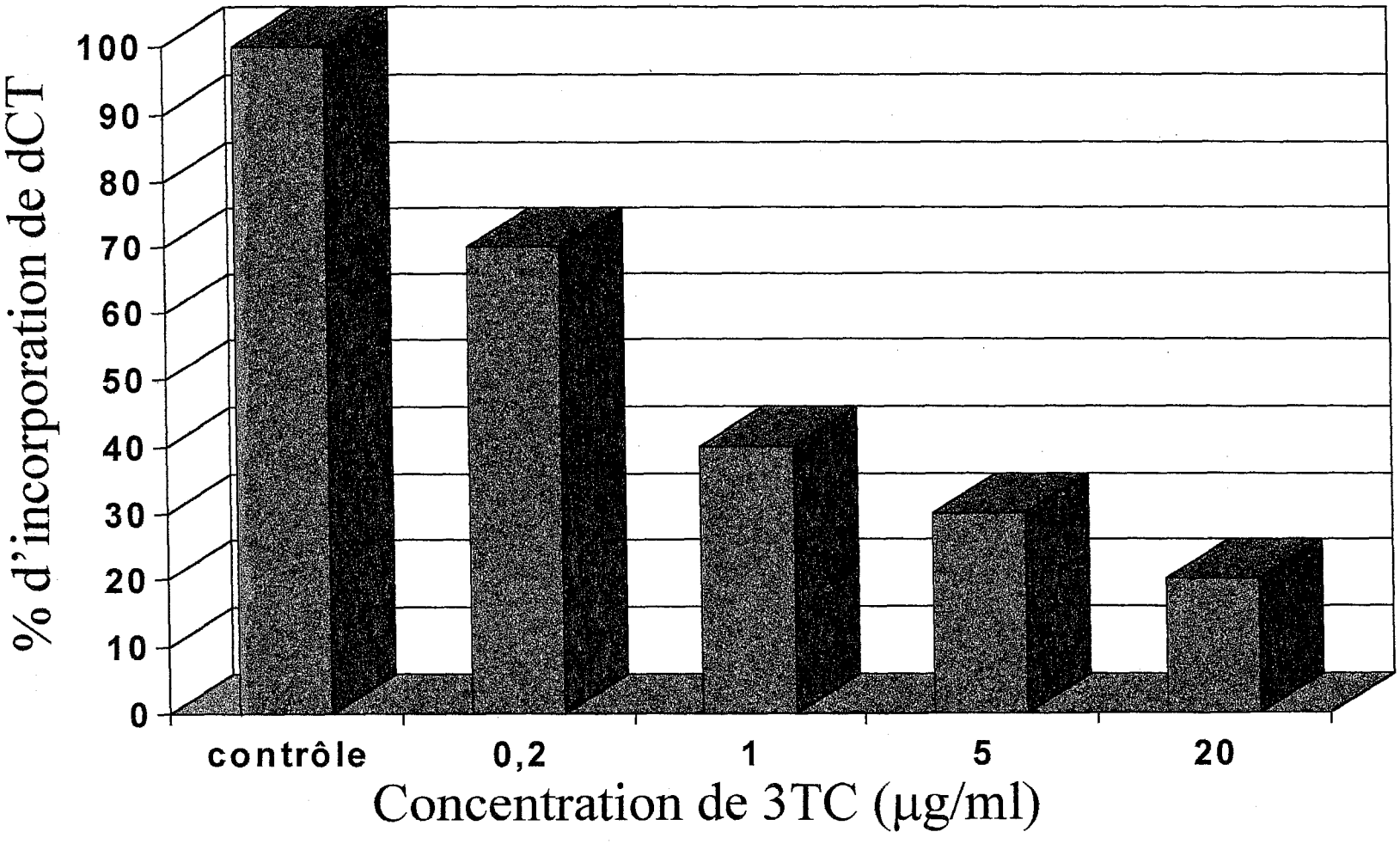
Déoxycytidine

Le 3TC-TP va donc rentrer en compétition avec le dC-TP au niveau du site de fixation de l'ADN polymérase. Ce phénomène de compétition nécessite donc que la Lamivudine soit présente en quantité importante : plus la concentration en 3TC-TP est forte, moins le dC-TP sera incorporé et plus l'inhibition de l'ADN polymérase sera importante.

L'efficacité de la Lamivudine dépend donc de la concentration de 3TC-TP que l'on retrouvera au niveau de l'ADN du VHB :
On voit donc très nettement la relation entre : (graphe 1)

- ⇨ les concentrations de 3TC et l'incorporation du dC
- ⇨ les concentrations de 3TC et l 'inhibition de l'ADN polymérase.

INCORPORATION DE LA LAMIVUDINE*



Drugs, 1999

Graphe 1

Une fois l'analogue nucléosidique fixé sur l'ADN polymérase, celle-ci est inactivée de façon définitive : le 3TC-TP est ensuite déphosphorylé pour ne donner plus que le 3TC-MP ; qui va rester fixé sur l'enzyme :

$$P_{ADN} + \text{3TC-TP} \longleftrightarrow P_{ADN\text{-}3TC\text{-}TP} \longrightarrow P_{ADN\text{-}3TC\text{-}MP}$$

(active) (inactive)

2. Pharmacocinétique

La Lamivudine présente l'avantage d'être absorbée par voie orale :

⇒ Sa biodisponibilité est d'environ 86 à 88%.
⇒ Elle est distribuée dans tout l'organisme.
⇒ Le taux de fixation protéique est de 36%
⇒ Sa demi-vie d'élimination est de 6,2 heures, ce qui permet de ne donner qu'une seule prise par jour.

Il est à noter que cette pharmacocinétique n'est que faiblement modifiée chez un sujet souffrant de dysfonctionnement hépatique.

3. Tolérance

Les effets indésirables dus à la Lamivudine ont été évalués dans les différentes études réalisés afin de déterminer l'efficacité de ce traitement. les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 2 et le graphe 2.

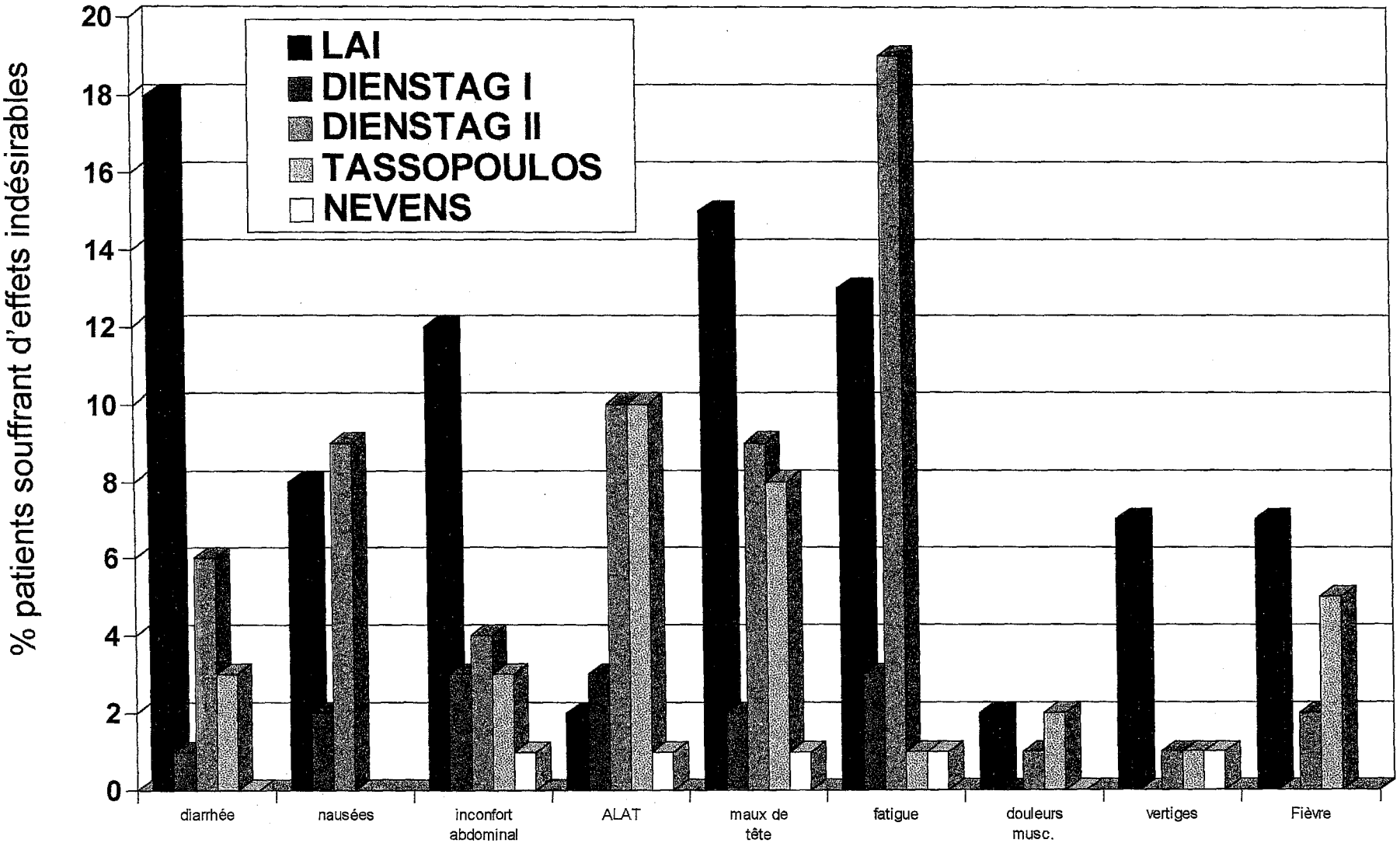
Globalement, l'incidence des effets indésirables est identique entre le groupe traité par placebo et par la Lamivudine.

La toxicité des antiviraux s'explique par le fait qu'ils inhibent l'ADN viral, mais également (pour certains seulement), l'ADN mitochondrial des cellules non infectées. C'est l'inhibition de l'ADN mitochondrial qui est responsable des effets indésirables. Or, la Lamivudine n'a qu'une très faibles affinité pour cet ADN mitochondrial, il est donc normal qu'elle soit très bien tolérée.

	LAI	DIENSTAG I	DIENSTAG II	TASSOPOULOS	NEVENS
Infections respiratoires	35%			3%	
toux	15%				
inflammation de la gorge	16%				
irritation nasale	8%				
douleurs musculaires	2%	1%	0%	2%	0%
inconfort abdominal	12%	3%	4%		0%
diarrhées	18%	1%	6%	3%	1%
nausées, vomissements	8%	2%	9%	3%	0%
augmentation ALAT	2%	3%	10%		
maux de tête	15%	2%	9%	10%	
fatigue	13%	3%	19%	8%	1%
vertiges	7%	1%		1%	1%
fièvre	7%	2%		5%	
chute de cheveux	2%				
troubles du sommeil			4%		
paresthésies			3%		
rash cutané		1%	6%		1%

Tableau 2. Effets indésirables répertoriés dans différentes études avec 100 mg/jour de Lamivudine

PRINCIPAUX EFFETS INDESIRABLES REPERTORIES AVEC 100 mg / jour DE LAMIVUDINE



Graphe 2

EFFICACITE

La Lamivudine est un nouvel analogue nucléosidique très prometteur. Son efficacité a été testée dans de nombreuses études afin d'évaluer les avantages de cette molécule par rapport aux traitements existant actuellement. En effet, la Lamivudine peut être utilisée pour traiter des patients atteints d'une hépatite B chronique, mais également en post-transplantation hépatique, afin d'éviter la réinfection du greffon par le virus de l'hépatite B.

Différentes études ont donc été réalisées chez différentes catégories de patients :

- ⇨ des patients porteurs du VHB, chez qui la Lamivudine est utilisée comme traitement de première intention.
- ⇨ des patients ayant déjà subis un traitement par INTERFERON , sans résultat.
- ⇨ des patients ayant subis une transplantation hépatique et traités par la Lamivudine afin d'éviter la réinfection du greffon par le VHB.

I . Etude chez des souches sauvages

A. La Lamivudine comme traitement de première intention :

a. Etude de NEVENS (1997) ((6))

Cette étude est réalisée sur 51 patients pendant une durée de 6 mois.
Ces patients sont divisés en 3 groupes:

- un groupe de 11 patients traités par 25 mg/jour
- un groupe de 24 patients traités par 100 mg/jour
- le dernier groupe de 16 patients traités par 300 mg /jour

Ces patients seront ensuite suivis pendant une durée de 20 semaines après l'arrêt du traitement.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.

b.Etude multicentrique américaine de TANIKAWA (1998) ((7))

Cette étude a été réalisée chez 137 patients américains, en double aveugle. Ces patients ont été répartis en 2 groupes et traités pendant 52 semaines de la façon suivante :

- le 1er groupe reçoit 100 mg par jour de Lamivudine.
- le 2ème groupe est traité par placebo

Cette étude permet d'évaluer l'efficacité de la Lamivudine selon différents critères :

- ⇨ La séroconversion HBe
- ⇨ La normalisation des transaminases
- ⇨ La nécrose inflammatoire

1. Etude de la séroconversion HBe

La séroconversion HBe peut être obtenue grâce à l'utilisation de la Lamivudine. Après un traitement par 100 mg par jour, on obtient les résultats décrits sur la figure n°4.

2. efficacité de la Lamivudine sur l'élévation des transaminases.

Dès l'instauration du traitement, on constate une régression voire une normalisation des transaminases chez les patients traités par la Lamivudine.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.

Effets indésirables :

Il se produit parfois l'effet inverse, avec une élévation de ces enzymes hépatiques, ce qui survient dans moins de 15% des cas, et qui est considéré comme un effet indésirable de la Lamivudine.

Cette élévation des transaminases peut se faire dans différentes proportions :

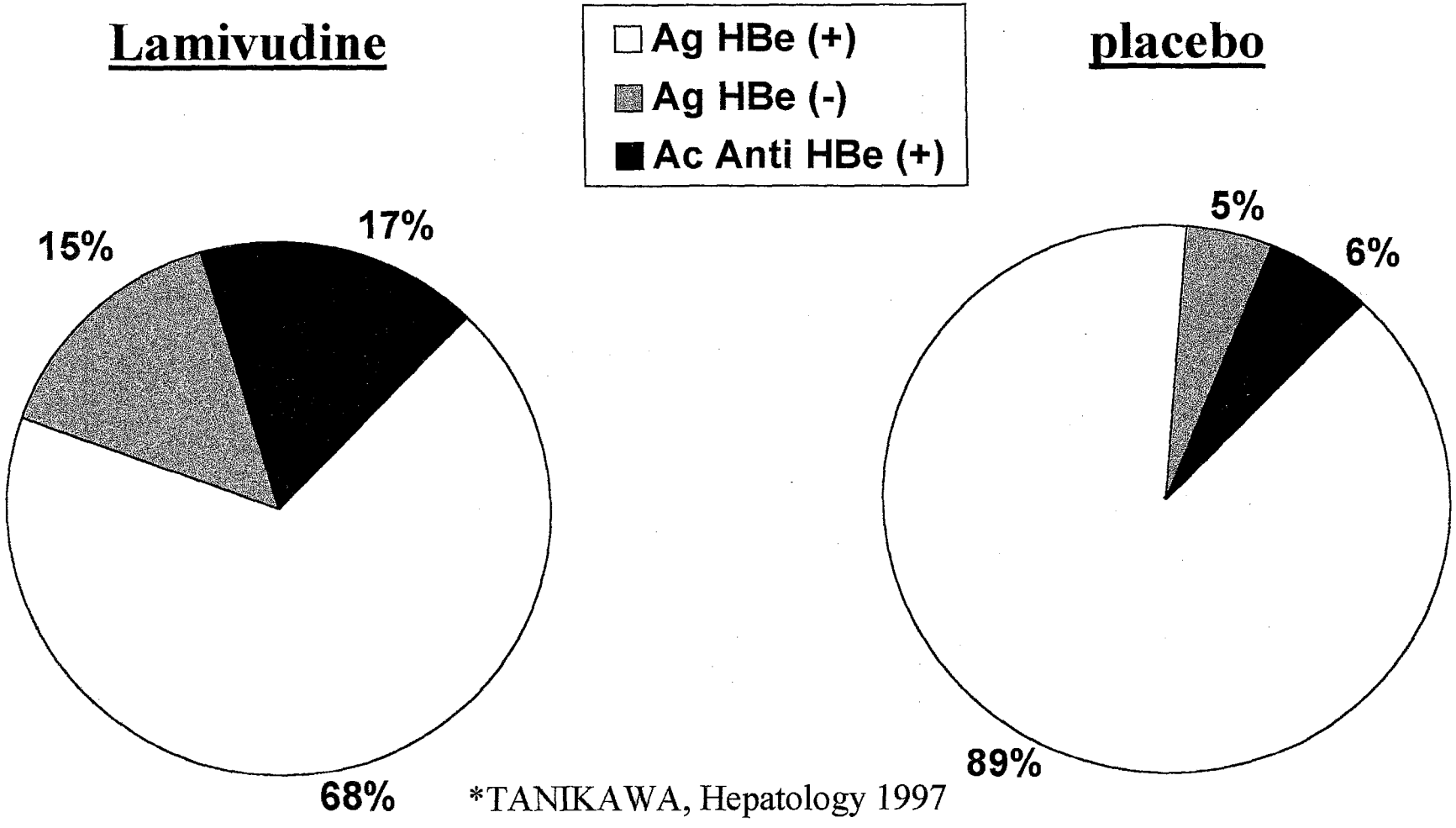
- ◊ le niveau le plus couramment obtenu est une augmentation de grade 3, soit entre 3,1 à 10 fois la valeur normale. Cette élévation se retrouve ici chez moins de 15% des patients
- ◊ une élévation supérieure est parfois observée : le grade 4 (qui signe un augmentation des transaminases à plus de 10 fois la normale) est tout de même plus rare, et ne se retrouve que chez 6% des patients touchés par cet effet indésirable.

3. étude de la nécrose inflammatoire

Elle permet ainsi d'évaluer, grâce à différentes biopsies hépatiques, l'efficacité du traitement instauré.

- ➢ On obtient à la fin du traitement une diminution de cette nécrose hépatique chez 52% des patients traités par la Lamivudine contre seulement 25% des patients traités par placebo.
- ➢ Par contre, cette nécrose augmente chez 26% des patients ayant reçus un placebo à la place de la Lamivudine.

Etude de la séroconversion obtenue à la fin du traitement*



*TANIKAWA, Hepatology 1997

Figure 4

c.Etude de LAI sur 358 patients chinois (1998) ((8))

Cette étude à été réalisée sur une durée totale de 1 an, en double aveugle, sur 358 patients chinois porteurs d'une hépatite B chronique.

Ces patients sont répartis en 3 groupes :

→ un groupe traité par 25 mg par jour de Lamivudine
→ le deuxième groupe traité par 100 mg/ jour
→ le 3ème groupe sert de référence et reçoit un placebo

Certains effets indésirables ont tout de même été remarqués :

- 1,1% (soit 3 patients) ont eu une légère augmentation des transaminases pendant le traitement.
- cette élévation est moins fréquente chez les patients traités que chez ceux sous placebo (4,1%).

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.

c. Etude américaine de DIENSTAG (1999) ((9))

Cette étude a été menée aux Etats-Unis. Elle comporte 143 patients, divisés en 2 groupes :

- un groupe de 66 patients traités par 100 mg par jour de Lamivudine
- un groupe de 71 patients traités par placebo, servant de groupe témoin.

Ces patients sont traités pendant une durée de 52 semaines, et seront ensuite suivis pendant une durée de 16 semaines afin d'étudier l'évolution après arrêt du traitement. Les résultats obtenus après une année de traitement sont regroupés dans le tableau 3 .

➢ aggravation des lésions :
- 11% des patients traités par la Lamivudine ont des lésions hépatiques plus importantes qu'avant le traitement.
- contre 24% des patients dans le groupe placebo (17 sur 71 patients)

➢ une augmentation de la nécrose inflammatoire :
⇨ chez 5% des patients recevant la Lamivudine
⇨ chez 20% des patients du groupe témoin.

A l'arrêt du traitement :

↳ Etude de la disparition de l'Ag HBe:

Six semaines après l'arrêt du traitement, cet Ag réapparaît chez 4 patients. Par contre, on observe la disparition de cet Ag chez 2 patients qui présentaient toujours l'Ag HBe après les 52 semaines de traitement par la Lamivudine.

↳ Réponse biochimique

Après les 6 semaines d'arrêt, elles restent normales chez 44% des patients.

Etude des mutations :

Le génome du VHB est analysé chez chaque patient, avant le traitement et après les 52 semaines de Lamivudine.

Après les 52 semaines de traitement, 14% des patients ont une mutation YMDD au niveau du site de l'ADN polymérase.
Seuls les patients sans mutation ont pu obtenir une séroconversion HBe.

La réponse histologique est différente selon les patients présentant ou non une mutation.
Pour les patients présentant une mutation :

- ⇨ A la 52ème semaine, seulement 43% des patients présentant une amélioration histologique.
- ⇨ Après 6 semaines d'arrêt de traitement, le taux d'ADN viral est les transaminases sont plus augmentés :

  ADN VHB = 112 pg/ml
  ALAT = 110 UI/l

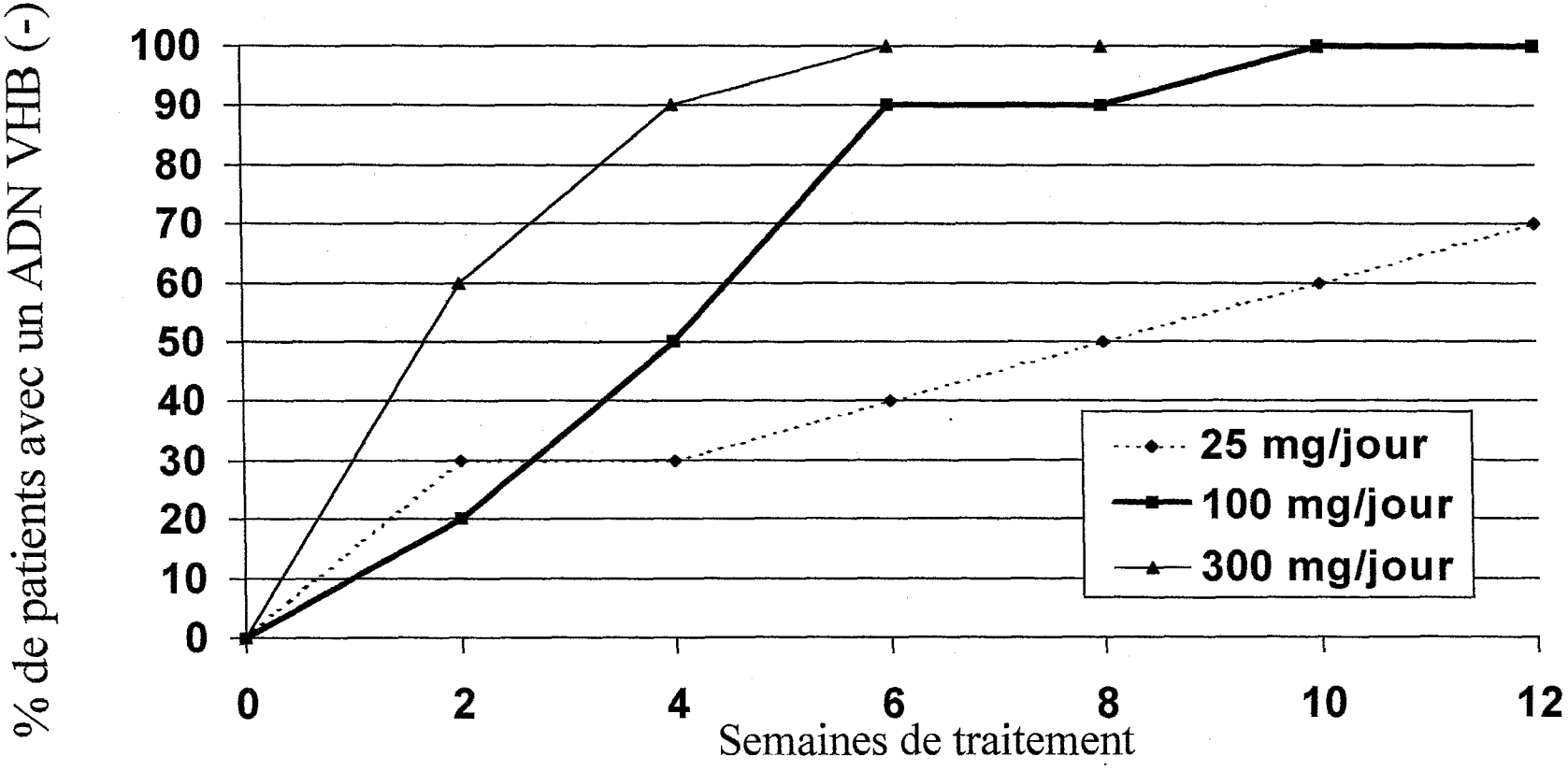
B. Etude chez des patients chez qui l'INTERFERON n'a pas été efficace :

étude multicentrique américaine de DIENSTAG (1996) ((10))

Cette étude a été réalisée en double aveugle, sur 32 patients, dont 17 d'entre eux n'avaient pas répondu à un traitement préalable par Interféron. Ces patients ont reçus de la Lamivudine, cela pendant une durée de 12 semaines à des doses de 25, 100 ou 300 mg par jour afin d'évaluer l'efficacité de cette molécule, ainsi que la dose thérapeutique donnant les meilleurs résultats.
Ces patients seront ensuite suivis pendant une durée moyenne de 36 semaines.

L'évolution de l'ADN viral pendant le traitement et après l'arrêt de la Lamivudine sont regroupés sur les graphes 3 et 4 .

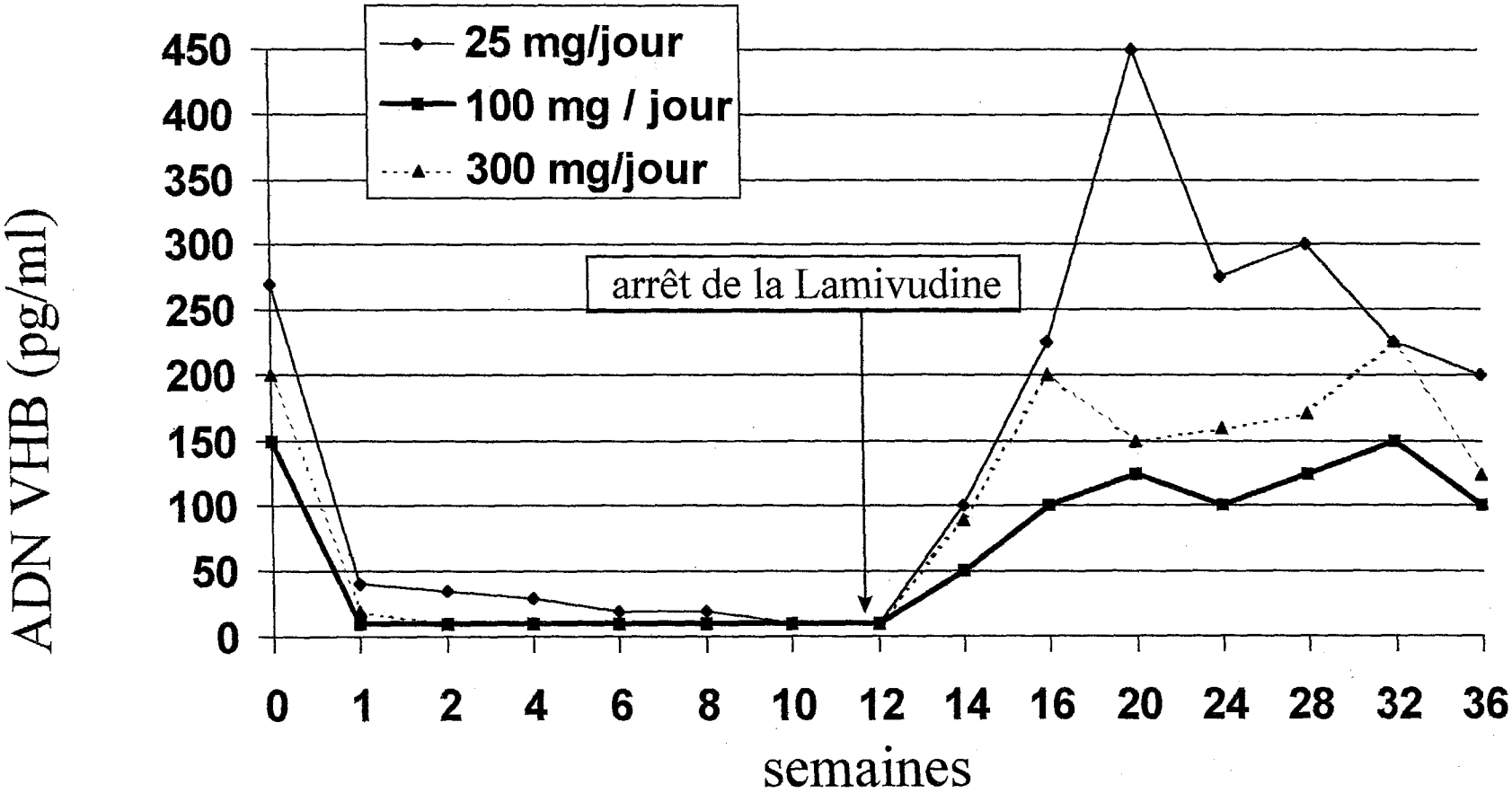
Evaluation de la négativation de l'ADN VHB en fonction des doses de Lamivudine*



* DIENSTAG, N Eng J Med 1995

Graphe 3

Evolution de l'ADN VHB après l'arrêt de la Lamivudine*



* DIENSTAG, N Eng J Med 1995

Graphe 4

C. Patient ayant subis une transplantation hépatique :

La Lamivudine comme agent prophylactique d'une réinfection par le VHB après une transplantation hépatique :étude de GRELLIER (1996) ((11))

La transplantation hépatique peut être une solution pour certains patients. Le problème, mis à part l'acceptation du greffon par l'organisme, réside dans la fréquence de la réinfection de ce greffon par le virus de l'hépatite B.

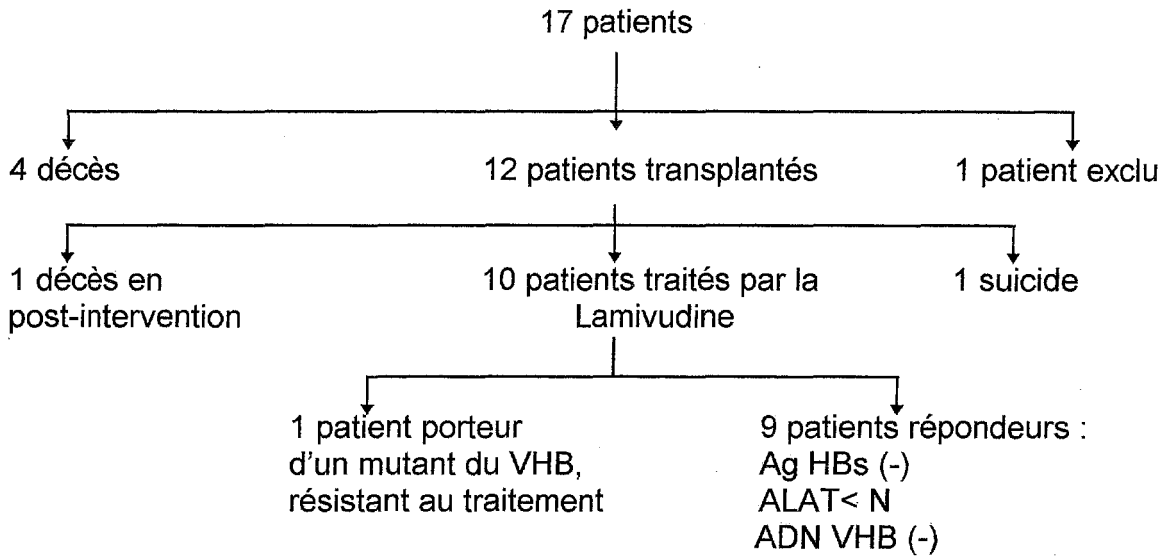
L'utilisation de nouveaux analogues nucléosidiques tels la Lamivudine peut permettre d'éviter la réinfection du greffon par le VHB.

Cette étude a été réalisée sur 17 patients, tous présentant un Ag HBs (+), et devant subir une transplantation hépatique. Cette étude vise à démontrer l'efficacité de la Lamivudine comme agent prophylactique d'une réinfection après une transplantation hépatique.

Parmi les 17 patients sélectionnés :

- 4 patients sont décédés avant transplantation, en raison de :
  - une péritonite
  - une hémorragie
  - une septicémie
  - un syndrome hépatorénal
- 1 malade a été exclu de l'étude pour des problèmes de thrombose.
- 12 patients ont finalement pu être transplantés.

Diagramme récapitulatif



Pour les 10 patients transplantés, les résultats sont regroupés dans le tableau 3.

	DIENSTAG N =32			NEVENS N = 51			TANIKAWA N = 137		LAI N = 358			DIENSTAG N = 137		GRELLIER N = 17
	25 mg/j n = 10	100 mg/j n = 11	300 mg/j n = 11	25 mg/j n = 11	100 mg/j n = 24	300 mg/j n = 16	placebo n = 71	100 mg/j n = 66	placebo n = 73	25 mg/j n = 142	100 mg/j n = 143	placebo n = 71	100 mg / j n = 66	100 mg/j
caratéristiques des patients	Homme et Femme 18 à 70 ans 17 non répondeurs à l'IFN Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+)			Homme et Femme 18 à 70 ans 43% blans 49% asiatiques Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) ALAT < 300 UI/l			Homme et Femme 18 à 76 ans Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+)		Homme et Femme 16 à 70 ans Ag HBs(+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) ALAT = 10N			Homme et Femme 18 ans minimum Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) ALAT > 1,3 N		Homme et Femme transplantation hépatique Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+)
Durée de traitement	12 semaines			24 semaines			52 semaines		52 semaines			52 semaines		24 semaines
% de patients avec Ag HBe (-)	0%	20%	20%	?	?	?	5%	15%	?	?	?	11%	32%	88%
% de patients avec séroconversion HBe	6%	17%	16%	0%	3%	1%	6%	17%	4%	13%	16%	5%	16%	?
% de patients avec des transaminases normales	7%	41%	38%	64%	45%	36%	8%	40%	24%	65%	72%	7%	41%	68%
Diminution du score de KNODELL	25%	52%	48%	?	?	?	25%	50%	25%	49%	56%	34%	64%	?
% de patients avec ADN VHB (-)	70%	100%	100%	58%	93%	88%	?	?	?	?	?	16%	44%	80%
suivi du traitement	36 semaines			20 semaines			aucun		aucun			16 semaines		aucun
% de patients ayant maintenu leur résultat	0%	36%	18%	48%	67%	53%	?	?	?	?	?		73%	?
mutants apparus pendant le traitement										9% avec sauvage + résistant 5% avec souche résistance seule			14%	10%

Tableau 3. Résultats obtenus dans les différentes études citées.

II. Etude chez des souches mutantes

Efficacité de la Lamivudine chez des patients porteurs d'une hépatite B chronique à forme mutante. : étude de TASSOPOULOS (1999). ((12))

Cette étude a été réalisée en double aveugle, contre un groupe placebo.

- un groupe de 60 patients est traité par 100 mg de Lamivudine par jour, pendant une durée de 52 semaines.
- un groupe témoin de 65 patients reçoit un placebo, pendant une durée de 26 semaines.

Les patients inclus dans l'étude sont des porteurs chroniques de l'hépatite B à forme mutante.
Ils seront suivis pendant une durée de 26 semaines après arrêt du traitement.
Les résultats obtenus sont regroupés sur le tableau 4 :

	TASSOPOULOS N = 125	
	placebo n = 65	100 mg / jour n = 60
caractéristiques des patients	Homme et Femme 16 à 70 ans Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) 1,5N<ALAT<10N VHB à forme mutante	
Durée du traitement	28 semaines	52 semaines
% de patients ayant un ADN VHB (-)	25%	90%
% de patients avec des transaminases normales	5%	63%
Diminution du score de KNODELL	7%	60%
A la fin du traitement émergence de mutants		27%
Suivi après arrêt du traitement		26 semaines
Ag HBe (-) maintenu		80%

Tableau 4. Etude de TASSOPOULOS

RESISTANCE

La Lamivudine semble, à la suite des études menées, un analogue nucléosidiques donnant de bons résultats, et pourrait donc être très utile pour lutter contre l'hépatite B, notamment en post-transplantation, afin de prévenir la réinfection du greffon par le virus de l'hépatite B .

Le problème majeur causé par la Lamivudine réside dans l'émergence de mutants devenant résistants au traitement.

Différentes études ont été réalisées afin d'évaluer l'impact clinique des résistances :

1. Etude de patients transplantés où la Lamivudine est utilisée pour lutter contre la réinfection du greffon :

Etude chez un patient porteur d'un virus mutant résistant : étude de TIPPLES. (1996) ((13))

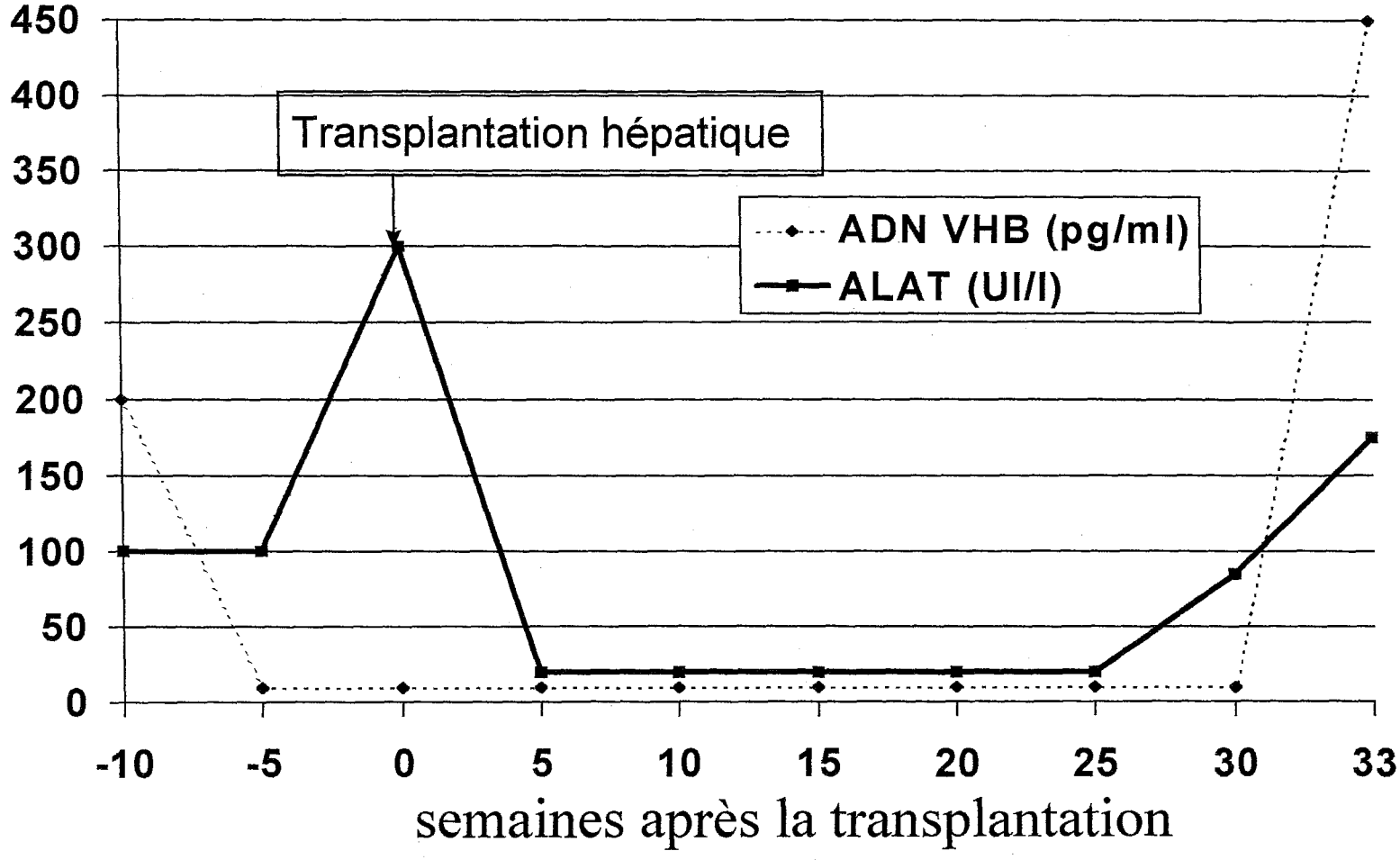
Il s'agit d'une patiente de 40 ans infecté par le VHB depuis 1985. Cette patiente a été traité par Interféron en 1992, mais ce traitement a du être interrompu à la suite de thrombopénie importante.
Devant l'aggravation de son atteinte hépatique avec cirrhose, ascite et oedème, on décide de réaliser une transplantation hépatique suivie d'un traitement par la Lamivudine à 100 mg par jour.

les résultats obtenus sont regroupés sur le graphe 5.

Etude des mutations :

On retrouve donc, ici aussi, une mutation principale sur le site catalytique de l'ADN polymérase virale (le motif YMDD). Cette mutation a donc un rôle primordial dans l'apparition des mutants résistants à la Lamivudine. Le rôle des mutations associées, bien que non encore élucidé, semble potentialiser la résistance.

EVOLUTION DE L'ADN VHB et des TRANSAMINASES APRES LA TRANSPLANTATION*



*TIPPLES, Hepatology 1996

Graphe 5

Etude de HONKOOP (1997) ((14))

Cette étude a été menée chez 14 patients, ayant reçu une transplantation hépatique, et ayant donc un traitement immunosuppresseur pour lutter contre le rejet de greffe. Ces patients sont donc traités par 100 mg de Lamivudine par jour, ce traitement étant instauré afin d'éviter la réinfection du greffon par le virus.
Cette étude se poursuit sur une durée de 60 semaines.

Les patients inclus dans cette étude ont été sélectionnés selon les critères suivants :

- patients ayant subis une transplantation hépatique.
- sont âgés de 17 à 50 ans.
- ont été traités par la Lamivudine en monothérapie pendant au moins les 6 mois précédant la greffe.
- HBV DNA (+)
- ALAT > 3 N

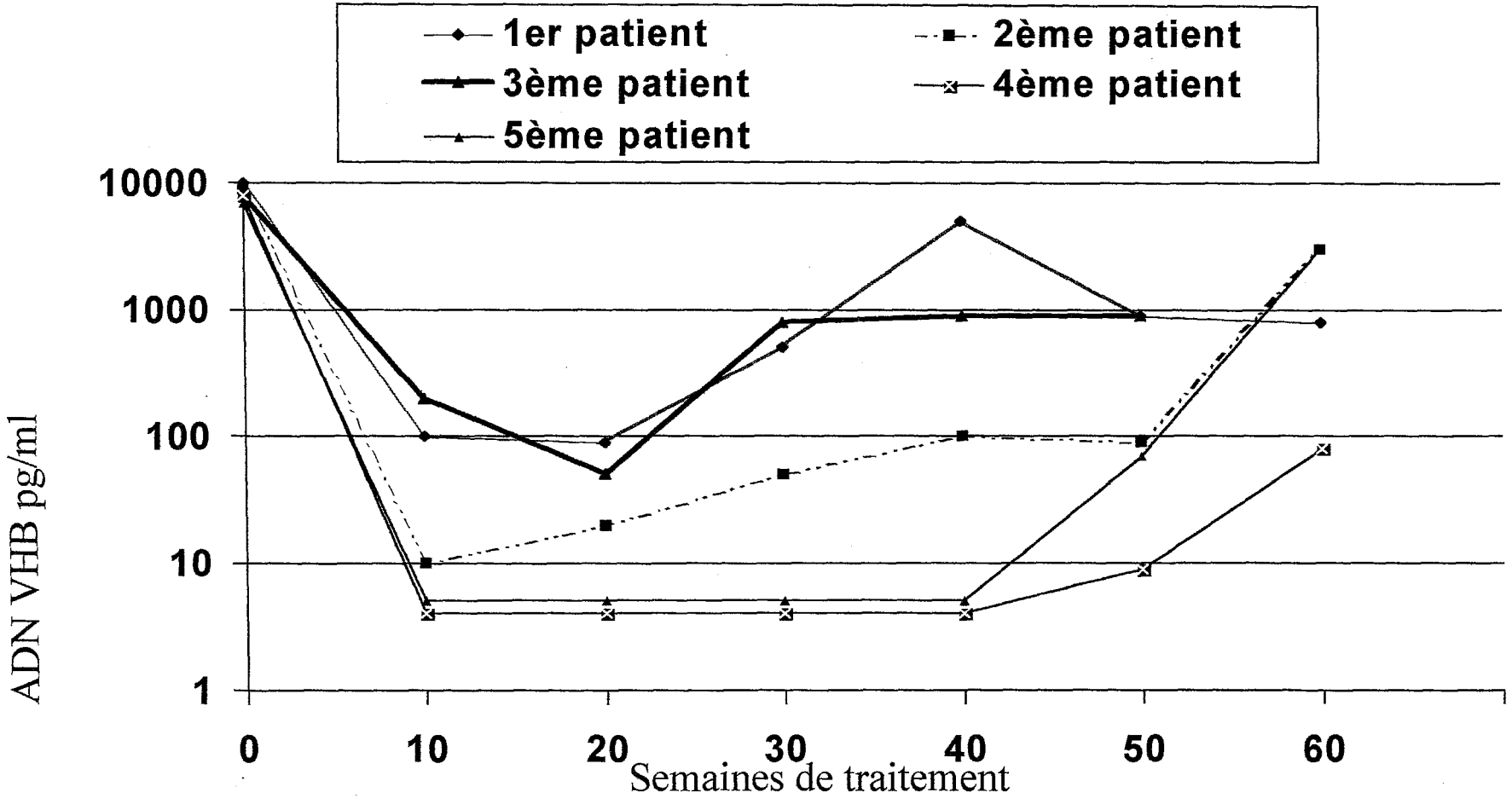
Après 26 semaines de traitement, 5 patients parmi les 14 ont des signes de reprise de l'hépatite :

⇨ réapparition de l'ADN VHB
⇨ réaugmentation des transaminases.

Un patient est exclu de l'étude car il est non compliant à la thérapie, et a donc été réinfecté par le VHB à la suite de la transplantation.

Ces résultats sont regroupés sur le graphe 6 :

EVOLUTION DE L'ADN VHB chez les patients résistants au traitement*



* HONKOOP, J Hepatology 1996

Graphe 6

2. Etude des mutations responsables de la résistance du VHB .

Etude de CHAYAMA et al. (1998) ((15))

Cette étude a été réalisée sur 20 patients.
ces patients sont recrutés selon les critères suivants :

- patients d'origine japonaise
- adultes
- ont été traités pendant 2 ans par la Lamivudine
- sont désormais résistant au traitement

Le génome de ces patients a été analysé par PCR, avant et après l'apparition de mutants résistants au traitement.

Différentes mutations ont été identifiées :

- au niveau de l'ADN polymérase
- au niveau de la région codant pour l'Ag HBs

Ces résultats sont regroupés dans le tableau 5.

3. Etude des différentes mutations du motif YMDD

Différentes mutations du site YMDD ont donc été identifiées. On a ainsi constaté que ces mutations portaient sur le même acide aminé. On a donc étudié les différents variants existants , afin de mieux comprendre le rôle de cette mutation. ((16))

On ainsi créé différents mutants, en substituant la méthionine du motif YMDD par d'autres acides aminés :

→ l'isoleucine : mutant YIDD
→ la valine : mutant YVDD
→ l'alanine : mutant YADD
→ la leucine : mutant YLDD
→ la lysine : mutant YKDD
→ l'arginine : mutant YRDD
→ la thréonine : mutant YTDD

On obtient ainsi les génomes suivants (figure n°5):



nt 593 nt 634

type sauvage	TGT TTG GCT TTC AGT TAT ATG GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y M D D	
variant YIDD	TGT TTG GCT TTC AGT TAT AT**T** GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y **I** D D	
variant YVDD	TGT TTG GCT TTC AGT TAT **G**TG GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y V D D	
variant YADD	TGT TTG GCT TTC AGT TAT **GC**G GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y V D D	
variant YLDD	TGT TTG GCT TTC AGT TAT **T**TG GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y L D D	
variant YKDD	TGT TTG GCT TTC AGT TAT A**A**G GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y K D D	
variant YRDD	TGT TTG GCT TTC AGT TAT A**G**G GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y R D D	
variant YTDD	TGT TTG GCT TTC AGT TAT A**C**G GAT GAT GTG GTA TTG GGG	
	Y T D D	

Figure 5. Mutations du motif YMDD

Après avoir créer les différents mutants, l'étude a montrée que 4 d'entre eux étaient réplicables : l'isoleucine, la valine, l'alanine, la leucine. ((17))
Mais seulement deux de ces variants, l'isoleucine et la valine, sont résistants à la Lamivudine. Or, ce sont ces deux variants qui sont retrouvés chez les patients résistants à la Lamivudine. Les autres variants réplicables, l'alanine et la leucine, ne sont pas résistants à la Lamivudine.

Il apparaît ainsi qu'une seule mutation au niveau du site YMDD suffit à provoquer une résistance du virus à la Lamivudine. Les autres mutations retrouvées parfois en dehors du motif YMDD sont donc secondaires, et leur rôle n'est pas encore élucidé.

a. Rôle de la substitution de la méthionine par un autre acide aminé :

La structure de l'ADN polymérase a été identifiée et est représenté sur la figure n°6.

L'ADN polymérase est codé par un ensemble de nucléotides, allant du nucléotide 411 au nucléotide 895. Parmi ces nucléotides, 12 d'entre eux sont responsables du motif YMDD (du nucléotide 736 au 747).

Ce motif YMDD est situé au niveau du site catalytique de l'ADN polymérase, et a donc un rôle essentiel dans la duplication de l'ADN viral. ((18;19;20))

La Lamivudine se fixe sur l'ADN polymérase et empêche la multiplication du virus.

- En l'absence de mutation :

Elle se fixe sur les acides aminés 521 à 537 qui codent une hélice de l'ADN polymérase, adjacente au motif YMDD.
La distance entre la méthionine 528 et la leucine 552 du motif YMDD.
La distance entre ces deux acides aminés est de 0,8 A°. Cette distance est très faible et permet l'existence d'une liaison de type Van Der Waals.

- Lors d'une mutation sur le motif YMDD :

Lors de cette mutation, la méthionine 528 est remplacée par la Leucine. De même, la méthionine 552 est remplacée par la valine. La distance qui séparait ces deux hélices passe donc de 0,8 A° à 4A°. Cette distance devient trop grande, et ne permet plus d'établir une liaison de van Der Waals et donc ne permettant plus la fixation de la Lamivudine.

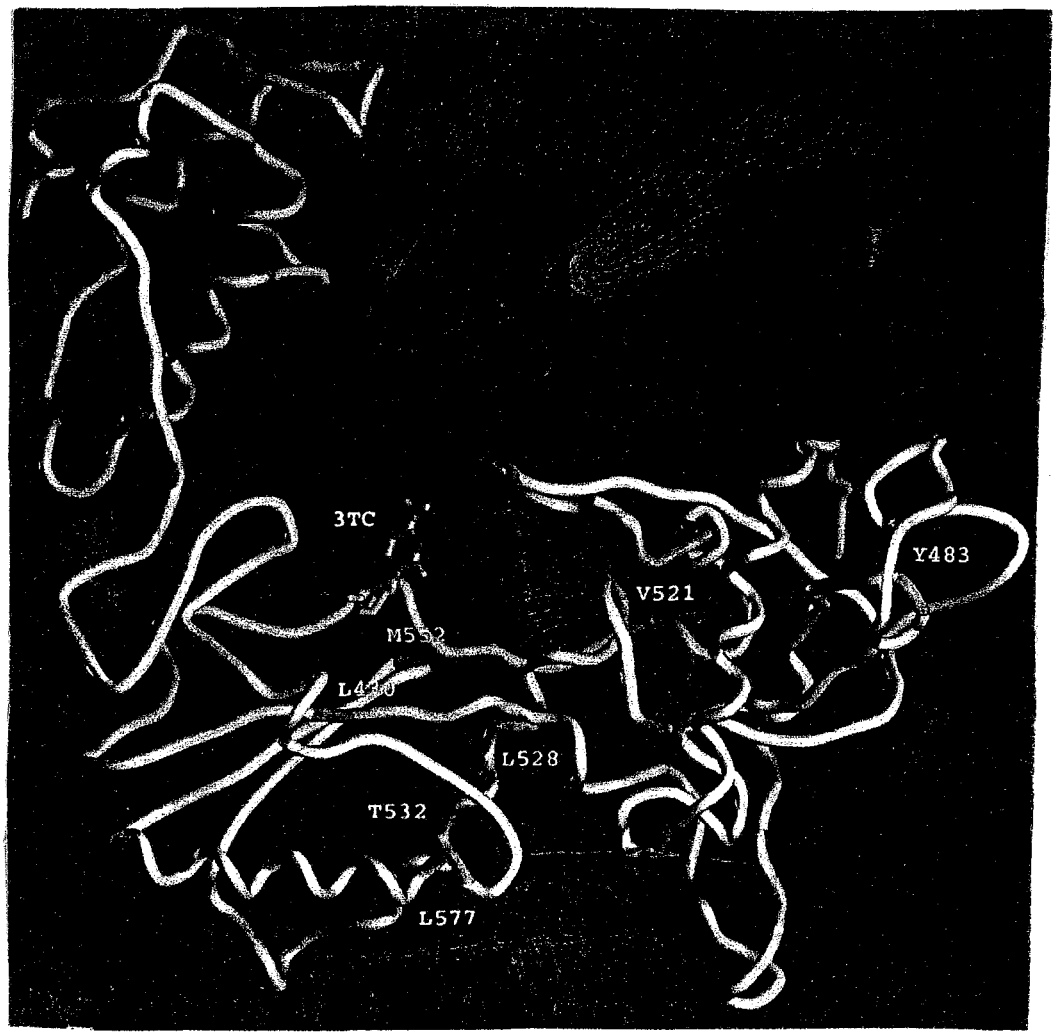


figure 2

REPRESENTATION EN 3D DE L'ADN POLYMERASE

Autres mutations observées :

Mis à part la mutation du motif YMDD, on retrouve d'autres différences entre le génome des mutants et celui du virus original :

- une mutation de l'acide aminé 501 : la leucine est remplacée par un autre acide aminé.
- l'acide aminé 515 est également modifié : la leucine est substituée par la méthionine.
- Le tryptophane en position 196 (se trouvant donc sur la protéine S) et remplacé par l'arginine.

b. Conséquences des mutations.

Les mutations observées sur l'ADN polymérase ont différentes conséquences pour le virus, au niveau de :

⇨ la réplication de l'ADN viral
⇨ la sécrétion de l'Ag HBs

Modification de la réplication virale :

Comme nous venons de la voir, certains mutants YMDD ne sont pas réplicables. C'est le cas des mutants YKDD, YRDD et YTDD. (graphe 7)
D'autres variants permettent toujours une réplication, comme YIDD, YVDD, YADD et YLDD. La substitution de la méthionine par un autre acide aminé n'est pas sans conséquence sur la synthèse de l'ADN viral. En effet, on constate que la quantité d'ADN synthétisé par un virus mutant et bien plus faible que celle synthétisée par une ADN polymérase non mutante. On chiffre la quantité d'ADN synthétisée par une souche mutante à environ 7 fois inférieure à une souche sauvage.

Modification de la sécrétion d'Ag HBs :

Les mutations observées peuvent aussi avoir une conséquence sur la sécrétion de l'Ag HBs. En effet, la substitution de la méthionine par un autre acide aminé affecte également la protéine responsable de la synthèse de l'Ag HBs.

En effet, on a obtenu différents résultats par comparaison de la sécrétion de l 'Ag HBs par les différents mutants synthétisés lors de cette étude. On constate ainsi que certains mutants (YADD, YKDD, YTDD) ne sécrètent pas d'Ag HBs. (figure n°7)

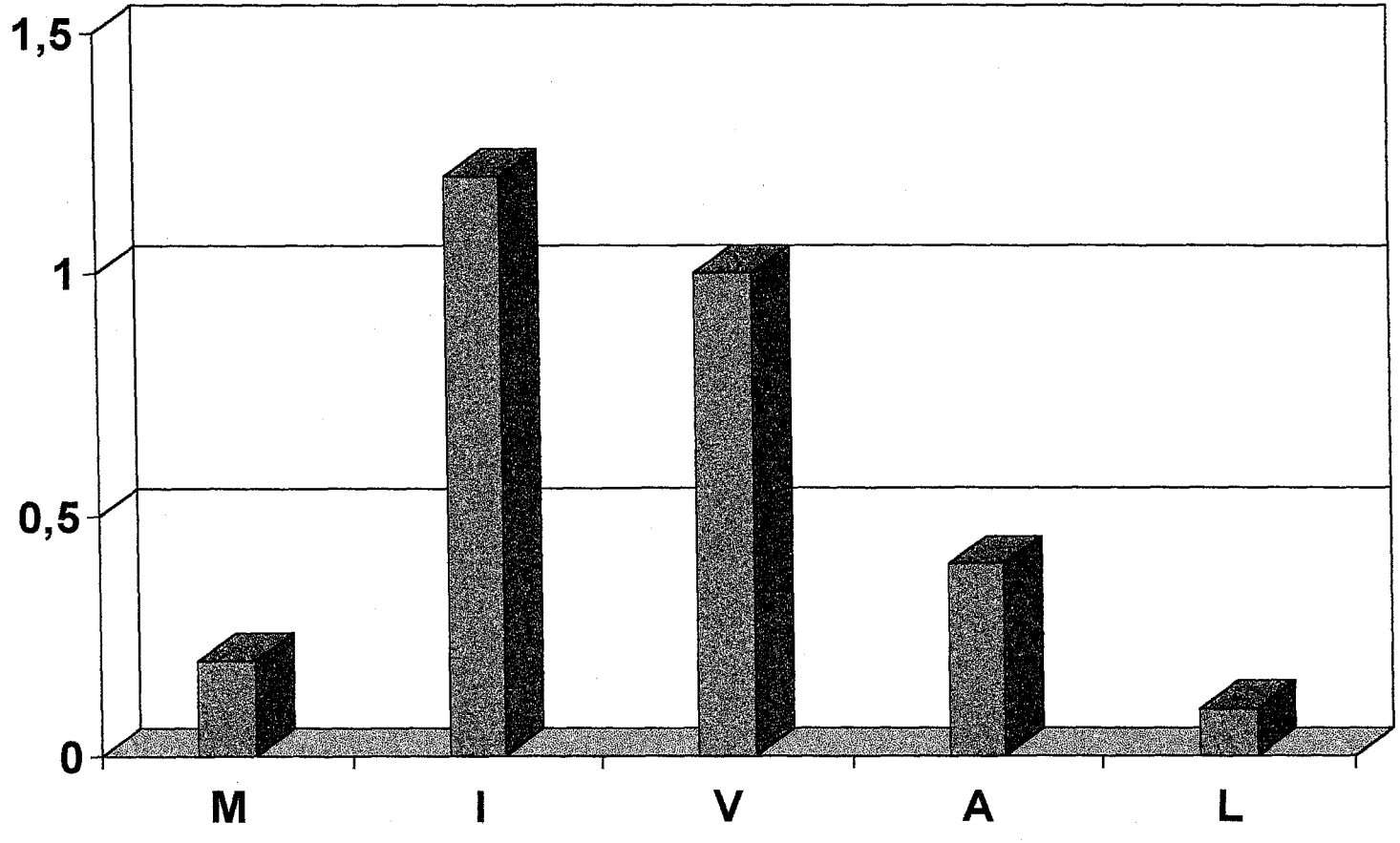
Ces résultats s'expliquent par la mutation observées sur la protéine S :
le tryptophane en position 196 est remplacé par l'arginine : un acide aminé hydrophobe (le tryptophane) est donc remplacé par un acide aminé hydrophile (l'arginine). L'Ag HBs, même s'il est toujours synthétisé, ne peut donc plus être excrété à l'extérieur du cytoplasme de la cellule. C'est donc pour cela que l'on ne retrouve pas de trace de cet Ag.

REPLICATION DES DIFFERENTS MUTANTS*

M = YMDD

I = YIDD V = YVDD

A = YADD L = YLDD



*ALLEN et al. Hepatology 1998

Graphe 7

Sécrétion d'Ag HBs positive		Sécrétion d'Ag HBs négative	
YMDD	GTT ATA TGG ATG ATG TGG V I W M M W	YADD	GTT AT**G** **C**GG ATG ATG TGG V **M** **R** M M W
YIDD	GTT ATA T**T**G ATG ATG TGG V I **L** M M W	YKDD	GTT ATA **A**GG ATG ATG TGG V I **R** M M W
YVDD	GTT AT**G** TGG ATG ATG TGG V **M** W M M W	YTDD	GTT ATA **C**GG ATG ATG TGG V I **R** M M W
YLDD	GTT AT**T** TGG ATG ATG TGG V I W M M W		
YRDD	GTT ATA **G**GG ATG ATG TGG V I **G** M M W		

Figure 7

Sécrétion de l'Ag HBs chez les différents mutants

	CHAYAMA N = 20	HONKOOP N = 14	TIPPLES N = 1
Dose de Lamivudine	100 mg / jour	100 mg / jour	100 mg / jour
caratéristiques des patients	Homme et Femme 20 à 70 ans japonais Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+)	Homme et Femme 17 à 50 ans cocasiens Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) ALAT>3N	Femme 40 ans cocasien Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+)
Statut clinique	VHB chronique	VHB chronique	Transplantation hépatique
Durée du traitement	24 mois	60 semaines	33 semaines
Apparition d'une résistance au traitement	17 mois	26 semaines	28 semaines
mutations du motif YMDD de l'ADN polymérase	YVDD	3 patients YIDD 1 patient YVDD	YIDDIVL au lieu de YLDDVVL
mutation du motif responsable de l'Ag HBs	nt 195: Ile → Met	nt 196: Try → Leu	

Tableau 5. Etude des mutations du génome du VHB

CONCLUSION

La Lamivudine s'avère donc être un analogue nucléosidique intéressant, qui permet d'obtenir de bons résultats chez les patients naïfs (n'ayant reçu aucun traitement préalable) comme chez les patients ayant déjà reçu un traitement par Interféron qui n'a pas été efficace.

La plupart des études ont été réalisées avec différentes posologies de Lamivudine : 25 mg, 100 ou 300 mg / jour de Lamivudine.

La dose de 100 mg/jour a été retenue car elle semble donner les meilleurs résultats :

- une séroconversion HBe dans 38% des cas.
- une normalisation des transaminases dans 51% des cas.
- une diminution du score de KNODELL dans 55% des cas.

Les principaux problèmes posés par ce traitement sont :

- la reprise de la réplication virale à l'arrêt du traitement
- l'émergence de mutants résistants à la Lamivudine

Après l'arrêt du traitement, on observe que les résultats obtenus sont maintenus pendant plusieurs mois : en moyenne, on note que les résultats obtenus (séroconversion HBe, négativation de l'ADN viral) sont maintenus dans 80% des cas, après un arrêt de traitement d'environ 19 mois.

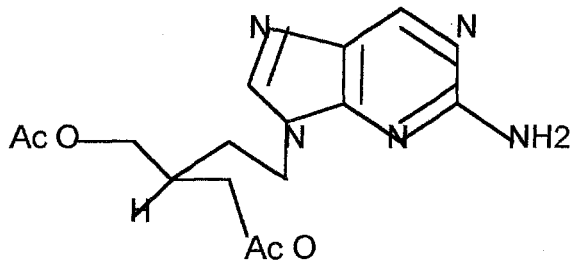
D'autre part, l'émergence de mutants résistants à la Lamivudine est également un problème auquel les cliniciens sont confrontés.
En moyenne, les mutants apparaissent après 6 à 7 mois de traitement. Les mutations retrouvées sont principalement :

- le motif YMDD
- des mutations associées dont le rôle n'a pas encore été élucidé.

LE FAMCICLOVIR

PHARMACOLOGIE

Le Famciclovir est un analogue nucléosidique possédant la formule suivante :



Le Famciclovir est un analogue nucléosidique, pro-drogue du penciclovir, utilisé contre les virus de l'herpès. Le Famciclovir présente l'avantage d'être administrable per os, contrairement au penciclovir qui n'est actif que par voie intraveineuse.

Devenir du famciclovir dans l'organisme :

- Le Famciclovir est administré par voie orale. Il reste dans la lumière intestinale pendant 15 à 30 minutes, et est absorbé intact.

- Le Famciclovir passe dans la veine porte et se retrouve au niveau du foie. Le foie est un organe riche en enzymes, et notamment en xanthine oxydase, capable de métaboliser la molécule, avec élimination des deux groupements acétyle.

- La xanthine oxydase transforme le famciclovir en penciclovir : la base purine est oxydée.

La métabolisation du Famciclovir est représentée sur la figure n°8 :

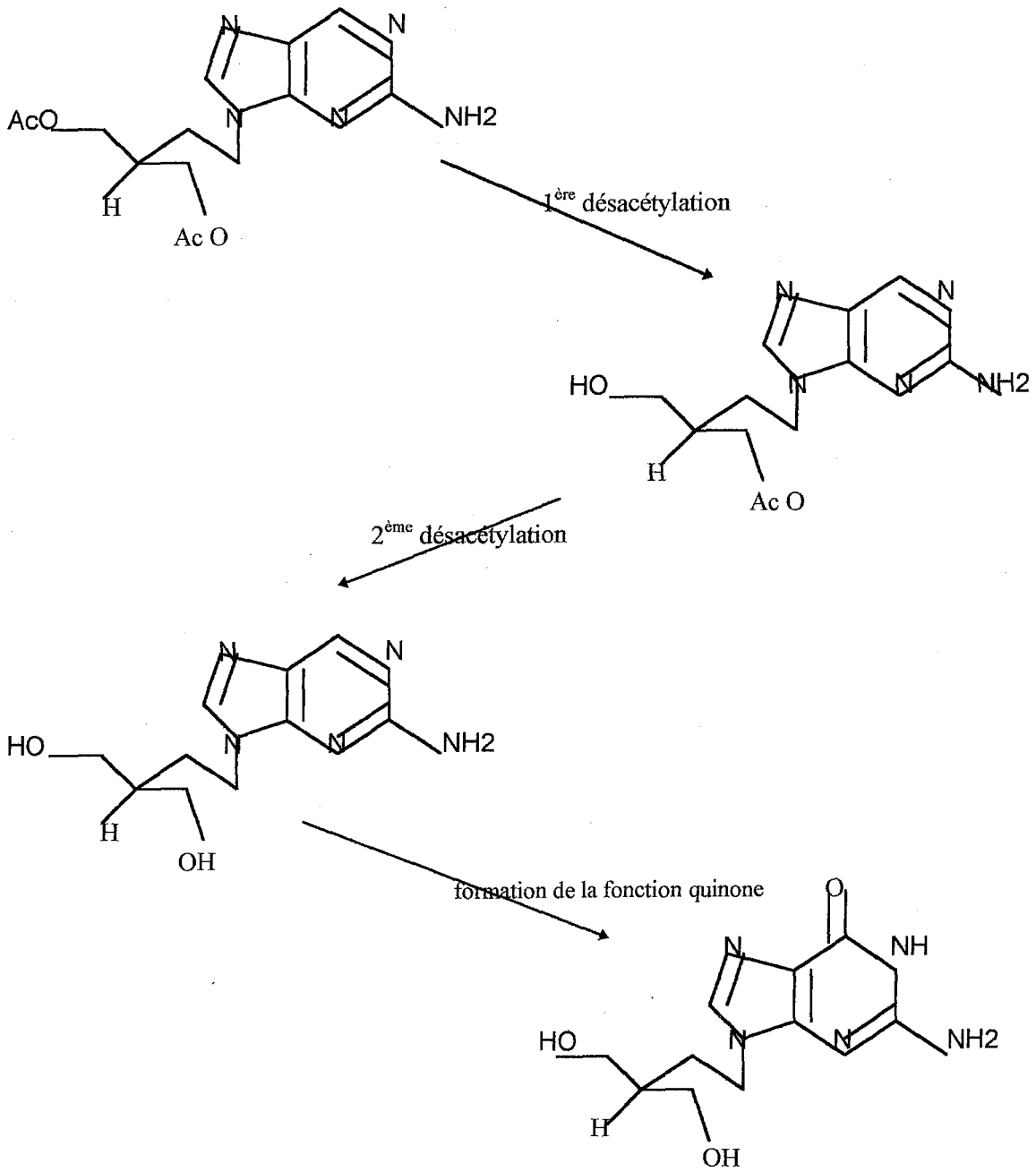


figure n°8

METABOLISATION DU FAMCICLOVIR : Voie principale
((21))

Au niveau sanguin :

Seul le famciclovir métabolisé entièrement au niveau du foie peut exercer son activité antivirale. En effet, le famciclovir qui se retrouve au niveau sanguin ne peut pas être métabolisé en penciclovir car on ne retrouve pas de xanthine oxydase dans le sang. Donc, même si le famciclovir a subit les deux désacétylations, la fonction purine ne peut pas être oxydée, et ne peut donc pas obtenir le penciclovir.

Mode d'action :

Une fois métabolisé en penciclovir, cet analogue nucléotidique doit subir de nouvelles transformations avant de pouvoir exercer son activité antivirale.

En effet, il doit ensuite subir trois phosphorylations successives pour aboutir au métabolite actif : le penciclovir tri-phosphate.
Il va entrer en compétition avec le substrat naturel de l'ADN polymérase : le déoxy-guanine tri-phosphate. Une fois fixé sur l'ADN polymérase, le penciclovir inhibe l'élongation de la chaîne d'ADN et bloque ainsi toute réplication.

Pharmacocinétique

- ⇨ Après administration orale, le famciclovir est absorbé rapidement, puis est transformé en composé actif : le penciclovir
- ⇨ la biodisponibilité du penciclovir après absorption orale du famciclovir est de 77%
- ⇨ Le pic plasmatique de penciclovir après administration orale se produit après 45 minutes.
- ⇨ le taux de liaison aux protéines plasmatiques est faible (inférieur à 20%), avec une demi-vie plasmatique de 2,3 heures. La courte demi-vie explique le fait qu'il faut trois administrations en 24 heures, afin d'obtenir une concentration plasmatique efficace de façon continue.
- ⇨ Après des prises répétées de famciclovir, on ne décèle aucun signe d'accumulation du penciclovir.

Effets indésirables :

Le famciclovir semble très bien supporté. On relève tout de même quelques effets indésirables :

- céphalées
- nausées
- vomissements
- rares cas de confusion chez les personnes âgées
- vertiges
- hallucinations
- éruptions cutanées de type urticaire.

EFFICACITE

Plusieurs études ont testées le famciclovir chez des patients ayant subis une transplantation hépatique, comme chez des patients n'ayant pas répondus aux autres traitements.

A. Efficacité du Famciclovir comme traitement de première intention

1. Etude de BENNER (1996) ((22))

Cette étude a été réalisée chez 7 patients porteurs du virus de l'hépatite B. Ces patients sont à un stade avancé de cirrhose décompensée.
Ces patients ont les caractéristiques suivantes :

- Ag HBe (+)
- ALAT > 7N
- ADN VHB (+)

Ces patients sont traités par du famciclovir à des doses de 500 mg trois fois par jour. le traitement est établie pour une durée minimale de 78 jours.
Les résultats obtenus sont regroupés dans la tableau 6.

2. Etude en double aveugle, pour prouver l'efficacité du famciclovir : étude de TREPO (1999) ((23))

Cette étude a été réalisée chez 333 patients, possédant les caractéristiques suivantes :

- Ag HBe positif
- Ag HBs positif
- ADN viral positif
- 73% de patients hommes
- 74% de patients de race blanche.
- 59% des patients ont subis un traitement préalable par INTERFERON.

Cette étude a été menée contre un placebo, en double aveugle. Les patients sont traités par du famciclovir, cela pendant une durée de 16 semaines.

Ces patients sont répartis en 3 groupes après tirage au sort:

- Le premier groupe reçoit 125 mg de famciclovir trois fois par jour.
- Le deuxième groupe est traité par 250 mg trois fois par jour
- Le troisième groupe est traité par 500 mg trois fois par jour de famciclovir.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 6.

On constate que la diminution rapide de l'ADN viral et des transaminases est dose-dépendante, la dose de 500 mg trois fois par jour semblant être la plus efficace.
Ce traitement est également très bien toléré, car ces patients ne se plaignent d'effets indésirables gênants.

B. Efficacité du Famciclovir en prévention de la réinfection du greffon

Les patients porteurs d'une hépatite B chronique évolutive doivent parfois recourir à la transplantation comme dernier espoir de guérison. Après cette transplantation, ces patients reçoivent un traitement immunosuppresseur, afin de lutter contre le rejet de greffe. Mais ce traitement a comme inconvénient principal de favoriser la réapparition du virus de l'hépatite B, l'organisme ne possédant plus de défense naturelle pour lutter contre l'infection. On est ainsi confronter régulièrement à des cas d'hépatites en post-transplantation, dont 72% d'entre elles sont dues à une réactivation du VHB, réactivation qui conduit la plupart du temps au décès des patients.

1. Etude de KRUGER (1995) ((24))

Cette étude est réalisée chez 11 patients, de janvier 90 à Juin 94.
Ces patients ont subis une transplantation hépatique et possèdent les caractéristiques suivantes :

⇨ patients âgés de 36 à 68 ans
⇨ Ag HBs (+)
⇨ HBV DNA (+)
⇨ ALAT > 2N

Le traitement est établi pour une durée de 45 semaines. Le traitement est instauré de la façon suivante :

- 750 mg 3 fois par jour pendant 2 semaines.
- 500 mg 3 fois par jour pendant 2 semaines.
- puis 125 mg 3 fois par jour.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 6.

2. Etude de RABINOVITZ (1996) ((25))

Cette étude est réalisée chez 8 patients ayant subis une transplantation. Ces patients ont les caractéristiques suivantes :

- 6 hommes et 2 femmes
- patients âgés de 36 à 63 ans
- Ag HBe (+)
- ADN VHB (+)

Ce traitement est instauré pour une durée de 27 semaines, avec des doses de famciclovir de 500 mg trois fois par jour.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau 6.

3. Etude de GHANY (1998) ((26))

Un étude a été conduite chez 11 patients transplantés. Après la transplantation, ces patients ont reçus de Immunoglobulines anti-HBs comme immunoprophylaxie pour éviter la réinfection du greffon par le VHB.

6 mois après la greffe, ces patients sont tous redevenus Ag HBs positif, ce qui signe la reprise de l'infection virale.

Parmi ces patients, 5 sont co-infectés par le virus de l'hépatite D.

Ces patients ont donc été traités par le famciclovir, à des doses de 500 mg trois fois par jour. Un seul patient parmi ces 11 a reçu les deux premières semaines des doses supérieures : 750 mg trois fois par jour.

Les résultats sont présentés dans le tableau 6.

Sur les 11 patients de cette étude, 1 patient est décédé à la suite d'une septicémie survenue sur une péritonite, mais cet incident n'a pas été mis en relation avec la prise de famciclovir.

Après une interrogation des patients, le famciclovir semble être très bien supporté, et on ne relate aucun effet indésirable notable.

C. Le Famciclovir en traitement de deuxième intention chez des patients déjà résistants.

Chez des patients ayant subis une transplantation hépatique : étude de WALTERS et HONKOOP (1998). ((27))

Un étude a été réalisée sur 4 patients porteurs du VHB. Ces patients sont tout d'abord traités par la lamivudine à une dose journalière de 300 mg.
Après 20 semaines de traitement, on obtient d'excellents résultats, avec une normalisation des transaminases et une négativation du taux d'ADN viral.
Ces résultats perdurent jusqu'à la 72ème semaine, puis on voit réapparaître l'ADN viral et les transaminases réaugmentent.

Devant cette résistance au traitement, on décide de séquencer l'ADN viral afin d'observer les mutations.
On place également les patients sous un autre analogue nucléosidique : le famciclovir.
Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 6.

On retrouve deux mutations différentes au niveau de l'acide aminé 552 :

- M552I
- M552V

Les deux mutations retrouvés au niveau du génome stabilisent la configuration de l'ADN polymérase. Le patient porteur de la mutation M552I est également résistant au traitement. Or, la mutation M552I est le précurseur de la mutation M552V. En réévaluant ce patient, on estime que ces deux mutations coexistent chez ce patient, ce qui explique la résistance au famciclovir.

En conclusion :

Seul un des 4 patients, porteurs d'une mutation M552I, répond au traitement par famciclovir, et voit le taux d'ADN viral se négativer, et les transaminases se normaliser.

	BENNER N = 7	GHANY N = 11	KRUGER N = 11	RABINOVITZ N = 8
Dose journalière	500 mg 3 fois / jour	500 mg 3 fois / jour	750 mg 3 fois/j 2 sem. 500 mg 3 fois/j 2 sem. puis 125 mg 3 fois / j	500 mg 3 fois/jour
Caractéristiques des patients	Homme et Femme 30 à 60 ans cirrhose décompensée Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) ALAT > 2 N	Homme et Femme 31 à 64 ans transplantés hépatiques Ig HB en prophylaxie Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) 5 patients VHD (+)	Hommes 36 à 68 ans transplantés hépatiques Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+)	6 Hommes et 2 Femmes 36 à 63 ans transplantés hépatiques Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+)
Durée de traitement	12 semaines	4 semaines	45 semaines	27 semaines
% de patients avec une séroconversion HBe	?	10%	11%	?
% de patients avec des transaminases normales	57%	73%	73%	50%
% de patients ayant un ADN VHB (-)	43%	88%	36%	37%

Tableau 6. Etude de l'efficacité du Famciclovir

RESISTANCE

Le famciclovir semble donc être également un analogue nucléosidique donnant de bons résultats contre l'hépatite B, et permettant d'obtenir une normalisation des transaminases et une négativation de l'ADN viral.

Il peut être utilisé en première intention tout comme à la suite d'autres traitements qui se sont avérés inefficaces.

A. Etude chez des patients transplantés hépatiques :

Etude de PICHOUD et al. (1999). ((28))

Cette étude a été mené chez un patient de 25 ans, porteur du virus de l'hépatite B depuis 1992.
Un premier traitement par Interféron est instauré de Mai 1992 à Avril 1995 à la dose de 8 M UI 3 fois par semaine.
Ce traitement s'avère inefficace car l'Ag HBe est toujours présent. On décide donc de remplacer l'Interféron par le Famciclovir à une dose de 500 mg trois fois par jour.

On mène également une étude en parallèle sur 10 patients, répartis en 4 groupes :

* 5 patients traités par 500 mg 3 fois/jour
* 1 patient traité par 250 mg 3 fois/jour
* 3 patients traités par 125 mg 3 fois/jour
* 1 patient témoin traité par placebo.

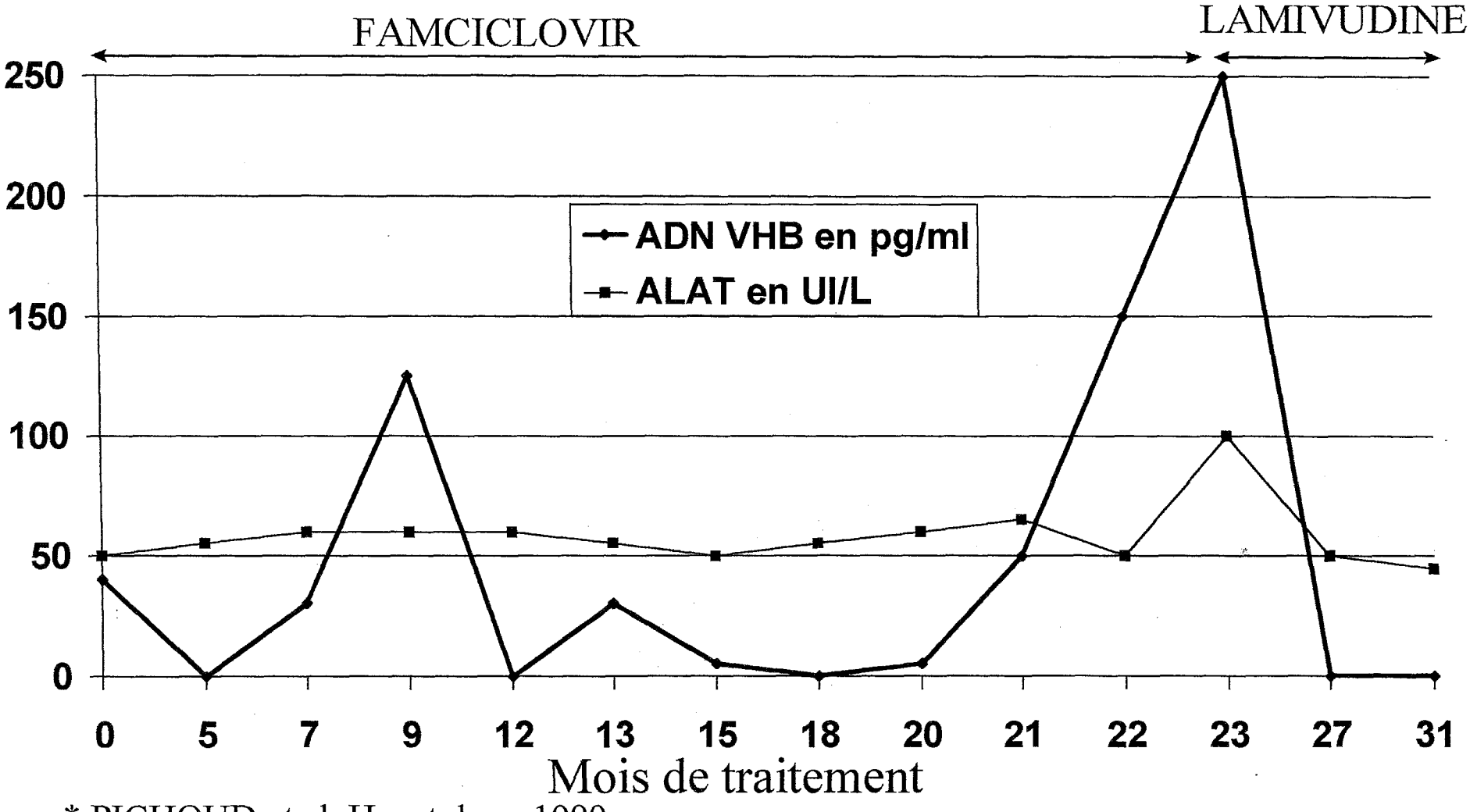
Les résultats obtenus sont regroupés sur le graphe 8:

On observe 2 mutations :

- une mutation au niveau de l'acide aminé 508 : la valine est remplacée par la leucine.
- une mutation de l'acide aminé 515 : la leucine est remplacée par la méthionine.

Les mutations observées se répartissent différemment en fonction des groupes de patients et des doses de famciclovir administrées. (tableau 7)

Evolution de L'ADN VHB et des Transaminases*



* PICHOUD et al. Hepatology 1999

Graphe 8

Jours de traitement antiviral	Jours de traitement au famciclovir	gènes de l'ADN polymérase						inhibition de l'ADN polymérase par le PCV-TP
		nt 297	nt 1498	nt 1511	nt 1519	nt 2008	nt 2331	
pré-traitement		T	G	C	C	C	G	40%
87								
600	154							30%
816	370		G,T,C		A			0%
1329	883	C	T	T	A	A	A	0%
changement d'AA		aucun	Val 449 Leu	Pro 503 Leu	Leu 506 Met	aucun	aucun	

Tableau 7. Mutations retrouvées après traitement par le famciclovir

B. Etude de l'efficacité du famciclovir à la suite d'un autre traitement antiviral., chez des patients transplantés : Etude de AYE (1997) ((29))

Cette étude a été réalisée chez un patient transplanté hépatiques à la suite d'une hépatite B chronique.
Ce patient possède les caractéristiques suivantes :

- Homme de 42 ans
- Ag HBe (+)
- Ag HBs (+)
- ADN VHB (+)

Le génome du virus de l'hépatite B est analysé entre les 816 et 1329ème jours de traitement, c'est-à-dire lorsque le patient est traité par 500 mg de famciclovir par jour.

Les variations sont représentés sur le schéma.
On observe plusieurs mutations qui sont apparues au cours du traitement, et qui peuvent expliquer la résistance du virus au famciclovir :
plusieurs gènes subissent des mutations provoquant ou non des modifications des acides aminés correspondant :

- le nucléotide 297 :

la thymine est remplacé par la cytosine. Cette mutation, qui est apparue au 1329ème jour, ne provoque pas de modification d'acide aminé.

- le nucléotide 1498 :

la guanine est ici modifiée dès le 816ème jour, et est remplacée par la thymine ou par la cytosine. L'acide aminé correspondant (le numéro 499) ; la valine ; est remplacée par la leucine.

- le nucléotide 1511 :

la cytosine est remplacée par l'adénine dès le 816ème jour de traitement. Cette mutation provoque un changement de l'acide aminé 503 : la proline est remplacée par la leucine.

- le nucléotide 1519 :

la cytosine est remplacée, dès le 816ème jour de traitement, par l'alanine, ce qui provoque un changement d'acide aminé : la leucine en position 506 est remplacée par la méthionine.

- D'autres mutations ont été retrouvés après le 1329ème jour de traitement :

  * le nucléotide 2008 : la cytosine est remplacée par l'adénine, de même que le nucléotide 2331.
  * Ces deux dernières mutations ne provoquent pas de changement d'acide aminé.

	PICHOUD et al. (N = 1)	AYE et al. (N = 1)
caratéristiques des patients	Homme 25 ans Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) ALAT > 1,5 N	Homme 42 ans Ag HBs (+) Ag HBe (+) ADN VHB (+) transplantation hépatique
Traitement préalable	IFN de Mai 92 à Avril 95	Ganciclovir + Foscarnet: 86 j Ganciclovir : 87 jours
Durée du traitement Famciclovir	31 Mois 500 mg 3 fois / jour	446 jous : 250mg 3 fois/j 500 jours: 500 mg 3 fois/j
Apparition d'une résistance au traitement	23 Mois	210 jous de FCV
mutants observés	Valine 539 Isoleucine	Valine 499 Leucine Proline 503 Méthionine Leucine 506 Méthionine

Tableau 8. Etude de la résistance du VHB au Famciclovir

CONCLUSION

Le Famciclovir est donc un analogue nucléosidique, précurseur du penciclovir connu pour son action antivirale. Ce précurseur présente l'avantage d'être administrable par voie orale. Il peut être utilisé seul ou en association avec un autre analogue nucléosidique, chez le patient naïf comme chez une personne ayant reçu un premier traitement par Interféron, s'étant avérer inefficace.

Le famciclovir est utilisée à une posologie moyenne de 500 mg trois fois par jour. Cette posologie semble présenter un bon indice EFFICACITE/TOLERANCE, bien que d'une manière générale, cette molécule soit très bien supportée.

Le problème majeur, comme pour les autres analogues nucléosidiques, réside dans l'émergence d'une résistance au traitement par mutations de l'ADN viral. Cette résistance apparaît après plusieurs mois de traitement, en moyenne après 20 mois.

Les mutations apparues ont été identifiées, bien que leurs rôles soient encore inconnus :

* valine 539 isoleucine
* valine 499 leucine
* proline 503 méthionine
* leucine 506 méthionine

Le famciclovir peut donc être utilisé seul ou en association avec d'autre molécule antivirale afin d'obtenir une efficacité supérieure.

CAS CLINIQUE

1er cas clinique

Il s'agit d'un homme âgé de 41 ans, ayant consulté en raison d'une élévation des transaminases qui persiste depuis son épisode aiguë d'hépatite B en 1995.

A la première consultation, ce patient présente le bilan suivant :

ALAT = 5 N
Ag HBs (+)
ADN VHB = 187 ng/ml
Ac Anti HBc

Devant ce bilan, on décide de réaliser une biopsie hépatique sous échographie afin d'évaluer la gravité des lésions. Après étude de la ponction, on diagnostique une hépatite B chronique, avec une activité modérer, accompagnée d'une cirrhose. Le score de KNODELL est évalué à 14. Devant ce diagnostic d'hépatite B chronique active, on décide de mettre en place un traitement antiviral, à base d'INTERFERON.

- le 02/04/97 :

  On instaure donc un traitement par INTERFERON à la dose de 6 M UI en injection sous-cutanée 3 fois par semaine. Ce traitement est établi pour une durée minimale de 6 mois.
  Ce traitement semble bien supporté. Le patient ne se plaint pas de syndrome pseudo-grippal. L'activité professionnelle a pu également être poursuivie.
  Le traitement est donc bien supporté.

- 10/97 :

  Après 6 mois de traitement par interféron, on retrouve les résultats suivants :

  ADN VHB = 2000 pg/ml
  Ag HBs (+)

  Le traitement par interféron n'a donc donné aucune réponse, ni biologique, ni virologique.

  On décide d'instaurer un traitement par la Lamivudine, à des doses de 100 mg une fois par jour. La durée du traitement n'est pas fixé pour le moment, et dépendra de l'efficacité de cette molécule.
  Ce traitement est débuté le 24/10/97, et est instauré pour une durée d'environ 1 an.

- 12/98 :

Après plus d'un an de traitement, on refait un bilan biologique et virologique complet :

⇨ ADN VHB = 836 pg/ml
⇨ ALAT = 5 N
⇨ Ag HBs (+)
⇨ Ag HBe (+)

Après une légère diminution de l'ADN viral, celui-ci augmente de nouveau. La Lamivudine n'est donc plus efficace, et n'a pas permis d'obtenir une séroconversion HBe.

- 03/99 :

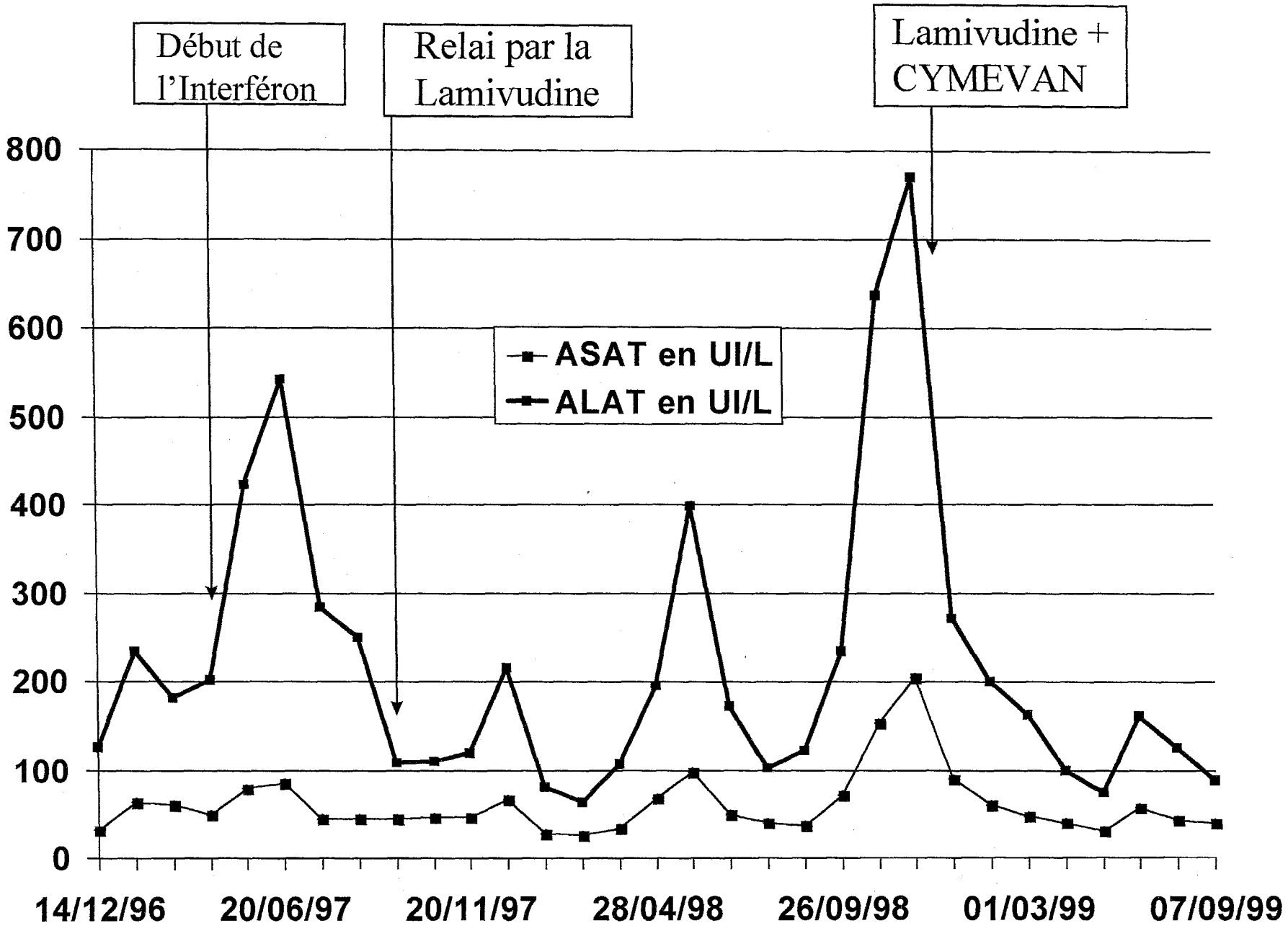
Un nouveau traitement est donc instauré :
Lamivudine 100 mg / jour
CYMEVAN (ganciclovir) :

⇨ 10 mg / kg / jour en IV pendant 5 jours
⇨ 5 mg / kg / jour en IV pendant les 14 jours suivants
⇨ relais par 1 g 3 fois / jour par voie orale.

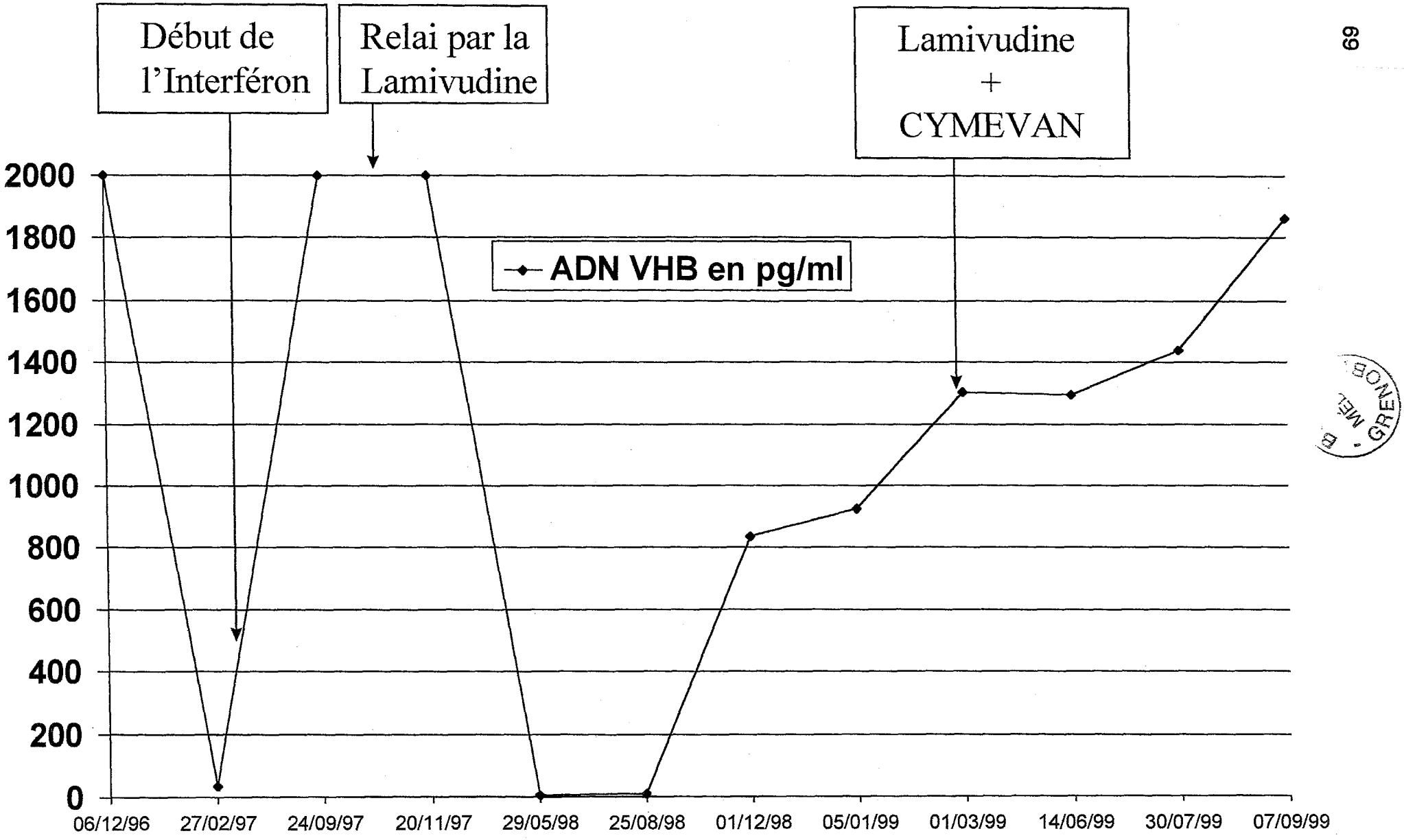
Malgré l'addition de CYMEVAN, les taux d'ADN du VHB ne cessent d'augmenter. On décide donc de passer de 3 grammes à 6 grammes de CYMEVAN par jour.
Mais ces doses trop importantes sont mal supportés par le patient et, après 10 jours de CYMEVAN à 6 grammes, on doit rediminuer à 3 grammes par jour.

Dates	06/12/96	14/12/96	31/01/97	27/02/97	02/04/97	25/04/97	22/05/97	20/06/97
ADN VHB en pg/ml	>2000			37				
ASAT en UI/l		32	64					
ALAT en UI/l		126	234		182	202	424	542
Dates	17/07/97	31/07/97	18/08/97	24/09/97	20/11/97	24/12/97	30/01/98	27/02/98
ADN VHB en pg/ml				>2000	>2000			
ASAT en UI/l			59		46	67	28	26
ALAT en UI/l	283		59	109	120	216	81	64
Dates	25/03/98	28/04/98	29/05/98	03/07/98	30/07/98	25/08/98	25/09/98	26/10/98
ADN VHB en pg/ml			< 2,5			8		
ASAT en UI/l	34	68	97	50	40	37	72	153
ALAT en UI/l	107	195	399	172	102	122	234	637
Dates	01/12/98	05/01/99	01/03/99	30/03/99	11/05/99	14/06/99	30/07/99	07/09/99
ADN VHB en pg/ml	836	925	1304			1293	1441	1862
ASAT en UI/l		90	48	38	31	58	44	40
ALAT en UI/l		271	163	101	75	162	126	88

Tableau 9. Valeurs biologiques


Début de l'Interféron
Relai par la Lamivudine
Lamivudine + CYMEVAN
ASAT en UI/L
ALAT en UI/L
800
700
600
500
400
300
200
100
0
14/12/96
20/06/97
20/11/97
28/04/98
26/09/98
01/03/99
07/09/99

Graphe 9


Début de l'Interféron
Relai par la Lamivudine
Lamivudine + CYMEVAN
ADN VHB en pg/ml
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
06/12/96
27/02/97
24/09/97
20/11/97
29/05/98
25/08/98
01/12/98
05/01/99
01/03/99
14/06/99
30/07/99
07/09/99

Graphe 10

2ème cas clinique

Il s'agit d'un homme âgé de 46 ans, ayant consulté pour une augmentation des transaminases. Ce patient est connu pour avoir été contaminé par le virus de l'hépatite B au début de l'année 1992.

Ce patient présente le bilan suivant :

ALAT = 2 N
ADN VHB = 239 pg/ml
Ag HBs (+)
Ag HBe (+)

- mai à décembre 1992 :

Il a subit un premier traitement à base d'INTERFERON et de VIDARABINE de:
Ce traitement s'établit de la façon suivante :

* VIDARABINE IM 225 mg matin et soir du 25/05/92 au 21/06/92.
* INTERFRON 8 MUI 3 fois / semaine du 10/06/92 au 10/11/92.
* Réduction de l'INTERFERON à 5 MUI/ injection du 10/11/92 au 10/12/92.

Ce premier traitement n'a pas été très efficace car on constate toujours, même plusieurs mois après l'arrêt du traitement, des transaminases élevées.

- 10/02/94 au 03/08/94 :

On instaure donc un deuxième traitement à base d'INTERFERON seul :
INTERFERON 8 MUI 3 fois/semaine du.
Ce deuxième traitement s'avère également inefficace.

Devant la persistance d'un taux élevé de transaminases, on décide de pratiquer une biopsie hépatique afin de connaître avec précision le stade d'évolution de la cirrhose.
Après une étude de la biopsie, on obtient les résultats suivants :

- Hépatite B ayant une activité minime avec une fibrose sans cirrhose constituée.
- La cytolyse est chronique et modérée : les transaminases sont à 2,5 fois la normale, et le taux d'ADN viral est de 239 pg/ml.

- 23/02/95 :

On décide d'associer un traitement par INTERFERON à une vaccinothérapie à l'aide du vaccin GENEVAC B.
On réalise donc des injections de GENEVAC B selon le schéma suivant :

- une injection / mois pendant 3 mois
- puis une injection à 6 mois
- une injection à 9 mois
- une injection à 12 mois.

- 12/95 :

A la fin de la vaccinothérapie, on constate que les transaminases sont toujours élevées, ce qui signe la poursuite de l'atteinte hépatique.

⇨ ALAT = 3,5 N

⇨ ADN VHB = 265 pg/ml

La vaccinothérapie n'a donc pas été efficace, et le traitement par INTERFERON est indispensable.

On débute donc le traitement par INTERFERON à des doses de 6 MUI / injection, trois fois par semaine. Le traitement est établit sur une durée d'environ 6 mois, et sera réévalué durant le traitement.

- 01/97 :

Après 11 mois de traitement, l'INTERFERON ne semble pas être efficace. On décide donc d'instaurer un nouveau traitement à base de Lamivudine. L'autorisation Temporaire d'Utilisation est obtenue est on instaure le traitement à des doses de 100 mg par jour.
Le traitement est prévu pour une durée minimale d'un an.

- 01/98 :

Après un an de traitement, on obtient les résultats suivants :

- ALAT = N
- ADN VHB (-)
- Ag HBe (+)
- Ac AntiHBe (-)

On décide donc de poursuivre encore le traitement jusqu'à obtenir cette séroconversion.

- 05/98 :

Entre le 25 mars et le 06 mai :
Le traitement est interrompu pendant 9 jours .
Lors du bilan biologique réalisée au milieu du moi de mai, on constate une hypertransaminasémie importante, à 10 puis 15 fois la normale.
On soupçonne ainsi que l'interruption du traitement pendant 11 jours ait permis au virus de reprendre sa réplication, et on craint également l'apparition d'un échappement à la thérapeutique, dû à une mutation du génome viral.

On décide donc de continuer le traitement par la Lamivudine en lui associant un traitement par INTERFERON.

- 08/98 :

Après 3 mois de traitement à base d'INTERFERON et de Lamivudine, on obtient les résultats suivants :

⇨ ALAT =1,5 N
⇨ ADN VHB (-)
⇨ Ac Anti HBe (+)

Devant ces résultats, on décide de poursuivre le traitement pendant encore au moins 6 mois.

- 04/99 :

Après presque un an de traitement, on constate une reprise de la réplication virale :

➢ ALAT = 4,9 N
➢ ADN VHB = 1,7 mEq/ml

On décide donc d'arrêter l'Interféron, et de le remplacer par de l'ADEFOVIR, mais cette molécule n'est pas disponible à ce moment.

- 10/99 :

Devant l'augmentation continue de l'ADN viral et des ALAT, on décide d'instaurer un traitement à base de CYMEVAN à 3 grammes par jour, tout en maintenant le traitement à base de Lamivudine.

Dates	10/01/95	13/01/95	23/02/95	21/08/95	20/11/95	25/08/96	10/04/97	13/05/97	12/06/97
ADN viral en pg/ml		239			265	37	80		
ASAT en UI/l	36	19	37	19	20	24	34	80	27
ALAT en UI/l	77	52	82	68	71	76	95	109	75

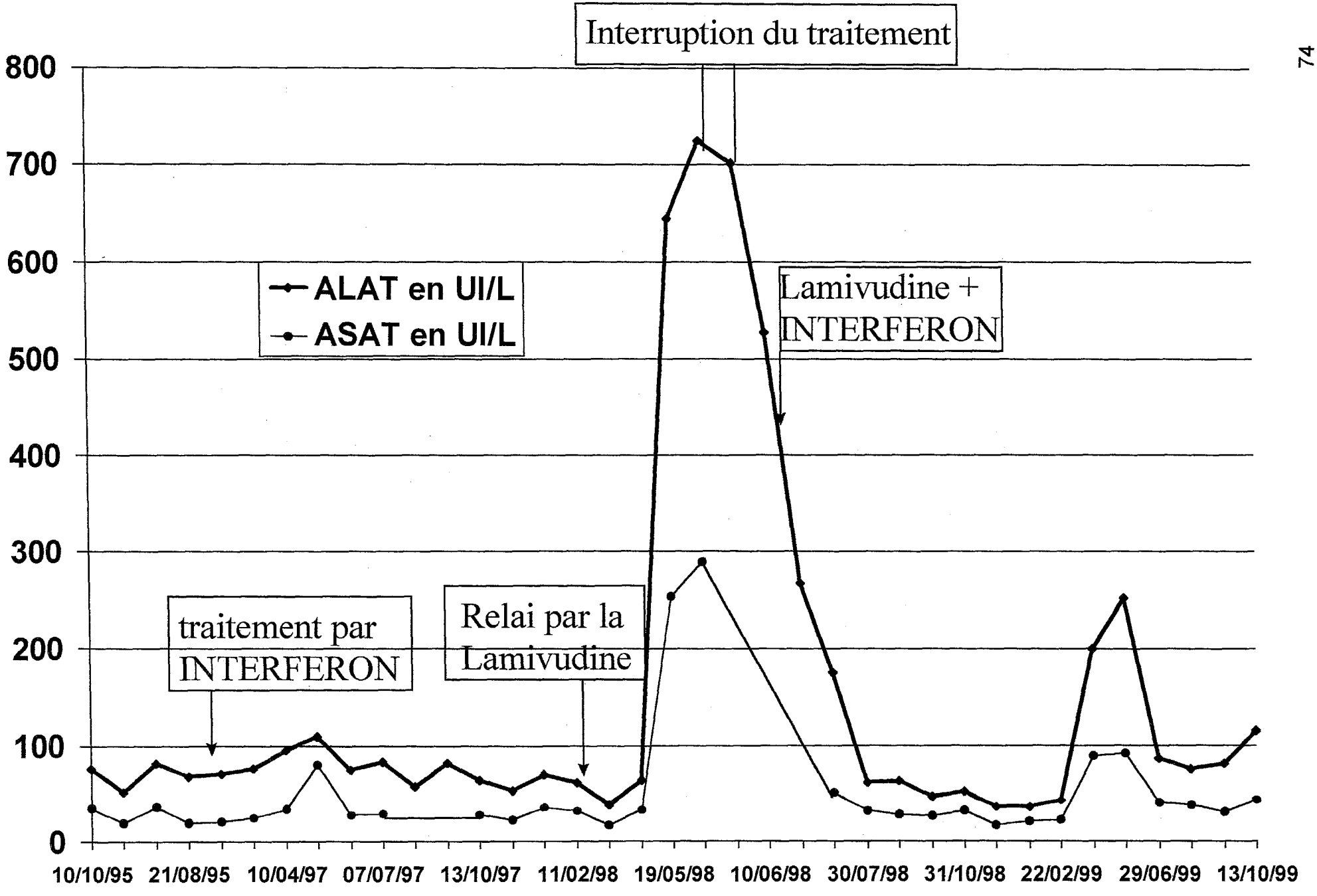
Dates	07/07/97	06/08/97	09/09/07	13/10/97	08/12/97	13/01/98	11/02/98	23/03/98	22/04/98
ADN viral en pg/ml	1	312		< 2,5	< 2,5			4	
ASAT en UI/l	28			27	22	35	32	17	33
ALAT en UI/L	83	58	82	64	53	70	61	38	64

Dates	19/05/98	25/05/98	03/06/98	10/06/98	22/06/98	30/06/98	30/07/98	24/08/98	28/09/98
ADN viral en pg/ml		2,6	< 2,5					< 2,5	
ASAT en UI/l	254	289				50	31	27	26
ALAT en UI/l	644	725	702	527	268	175	62	63	46

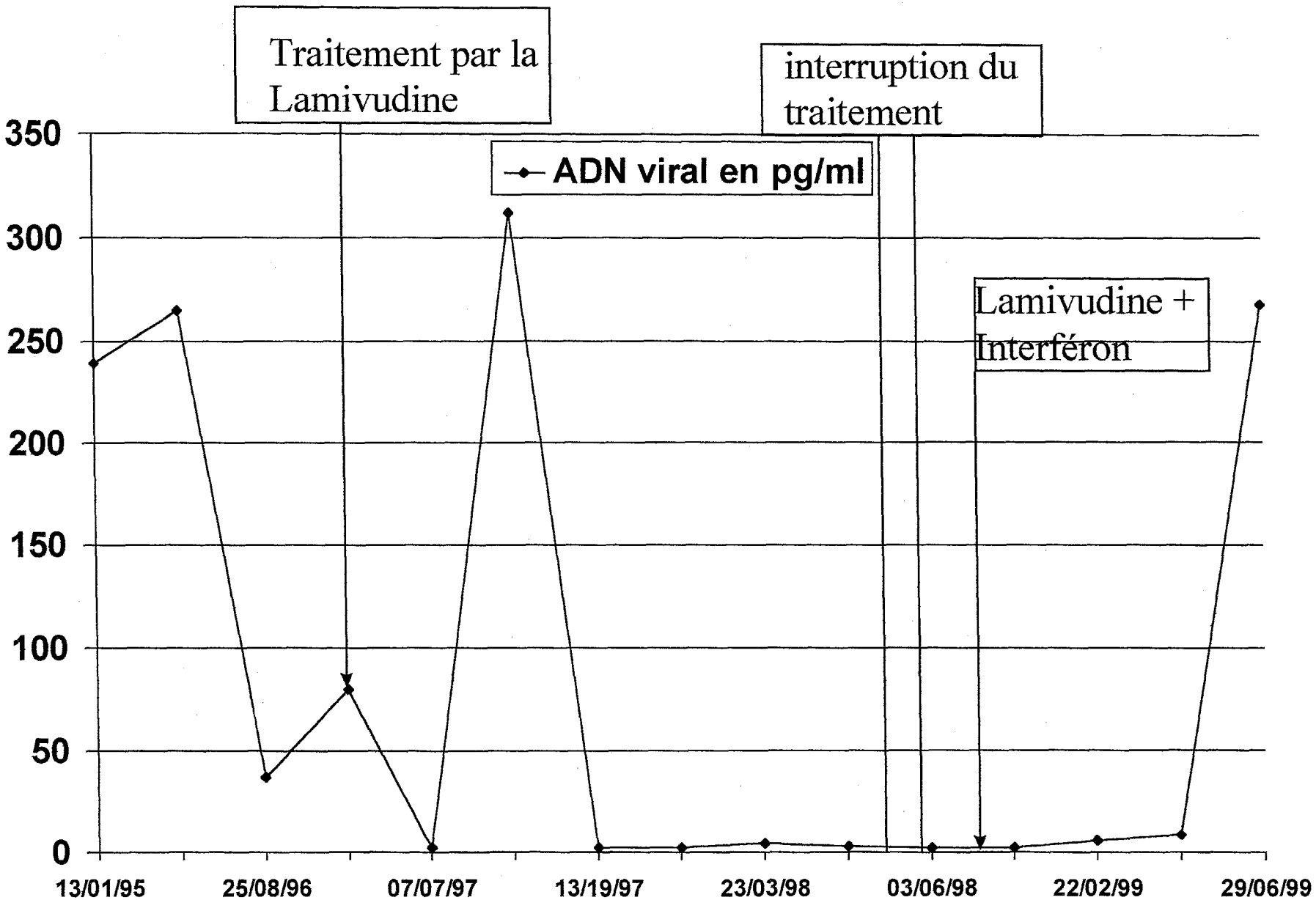
Dates	31/10/98	23/11/98	21/01/99	22/02/99	28/04/99	30/04/99	29/06/99	31/07/99	24/09/99
ADN viral en pg/ml				6		8,6	268		
ASAT en UI/l	32	16	21	22	89	91	40	37	30
ALAT en UI/l	52	36	36	42	199	253	86	75	81

Dates	13/10/99
ADN viral en pg/ml	
ASAT en UI/l	42
ALAT en UI/l	115

Tableau 10. Valeurs biologiques


Interruption du traitement
800
700
600
500
400
300
200
100
0
ALAT en UI/L
ASAT en UI/L
Lamivudine + INTERFERON
traitement par INTERFERON
Relai par la Lamivudine
10/10/95
21/08/95
10/04/97
07/07/97
13/10/97
11/02/98
19/05/98
10/06/98
30/07/98
31/10/98
22/02/99
29/06/99
13/10/99

Graphe 11


Traitement par la Lamivudine
interruption du traitement
ADN viral en pg/ml
Lamivudine + Interféron
350
300
250
200
150
100
50
0
13/01/95
25/08/96
07/07/97
13/19/97
23/03/98
03/06/98
22/02/99
29/06/99

Graphe 12

CONCLUSION

Sandrine PAMIES

L'EMERGENCE DE MUTANTS DU VIRUS DE L'HEPATITE B SOUS L'EFFET DU TRAITEMENT PAR LES NOUVEAUX ANALOGUES NUCLEOSIDIQUES : LAMIVUDINE ET FAMCICLOVIR

De nouveaux analogues nucléosidiques ont été récemment commercialisés pour le traitement de l'hépatite B.

Après avoir étudier l'efficacité et les résistances à ces deux nouveaux analogues nucléosidiques, on peut en déduire que :
la séroconversion HBe qui est le signe le plus significatif de la rémission de l'infection par le VHB ne survient en moyenne que dans 20% des cas avec 100 mg par jour de Lamivudine, contre 10% des cas avec le Famciclovir à des doses de 500 mg par jour de famciclovir.

On rencontre lors de ces différents traitements deux problèmes principaux :

- la réapparition de l'infection lors de l'arrêt du traitement chez un pourcentage non négligeable de patients
- l'émergence de mutants résistants aux nouveaux analogues nucléosidiques

⇒ La réapparition de l'infection après l'arrêt du traitement est un véritable problème qui oblige d'instaurer le traitement pendant une durée d'environ 1 an. Après l'arrêt du traitement, on constate qu'environ 80% des patients ayant obtenu une rémission complète (disparition de l'ADN viral et surtout séroconversion HBe) ne présente aucun signe de réinfection virale, pendant une durée d'environ 19 mois. En revanche, les patients ne présentant qu'une réponse partielle (normalisation des transaminases sans séroconversion...) présentent rapidement des signes de reprise de l'infection.

⇒ L'émergence des virus mutants pose également un autre problème dans l'établissement d'une thérapie antivirale. En effet, le traitement étant instauré pour une durée relativement longue (minimum un an), il est fréquent de voir apparaître des mutations de l'ADN viral, responsables d'une résistance aux analogues nucléosidiques. Cette résistance apparaît après une moyenne de 6 à 7 mois de traitement par la lamivudine contre 20 mois environ pour le Famciclovir.

Les mutations retrouvées chez les virus résistants se localisent à plusieurs niveaux en fonction du traitement utilisé.
La lamivudine provoque au niveau de l'ADN polymérase du VHB, et notamment au niveau du motif YMDD.
Le Famciclovir est responsable de nombreuses mutations de l'ADN viral, notamment au niveau de l'ADN polymérase, mais non sur le site YMDD.

L'émergence de mutants lors de l'utilisation d'un seul analogue nucléosidique laisserait penser que des associations de différentes molécules éviteraient ou moins retarderaient l'apparition de ces résistances.

La parenté moléculaire entre le VHB et le VIH est à l'origine de la découverte de l'efficacité de la Lamivudine et du Famciclovir contre le VHB. En effet, ces deux molécules sont désormais utilisées dans le cadre d'autres infections virales. Cette parenté entre le VIH et VHB pourraient permettre de découvrir d'autres molécules efficaces, seules (ou en association avec l'Interféron ou avec d'autres analogues nucléosidiques).

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Grenoble, le 15. 05. 00

Monsieur le DOYEN
Professeur P. DEMENGE

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER - GRENOBLE 1 - FACULTÉ DE PHARMACIE

Professeur E. DROUET
Président de thèse

LABORATOIRE DE VIROLOGIE MOLÉCULAIRE ET STRUCTURALE
Emmanuel DROUET
Professeur des Universités

BIBLIOGRAPHIE

((1)). Virus de l'hépatite B .Virologie moléculaire et médicale . Edition JM Seigneurin, P Morand, p 237

((2)). Le virus de l'hépatite B .Virologie Médicale. Edition EM inter, p 270

((3)). Hepatitis B virus and carcenogenesis. Biomedecine and Pharmacotherapy , 1998, vol 1, p 34.

((4)). Jarvis et Faulds. Evaluation of Lamivudine, Drugs, 1999, vol 58, p 101.

((5)). Lauter. Lamivudine, Drugs of the Future, 1998, vol 23, n°4, p 452.

((6)). Nevens et al. Lamivudine therapy for chronic hepatits B : A six-month randomized dose-ranging study, Gastroenterology , 1997, vol 115, p 1258.

((7)). Tanikawa et al. A placebo controlled phase III study of Lamivudine in Japanese patients with chronic hepatits B infection. Hepatology, 1997, vol 26, p 259A

((8)). Lai et al. One year trial of Lamivudine for chronic hepatitis B. The New England Journal Of Medecine, 1998, vol 339, n°2, p 61.

((9)). Dienstag et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. The New England Journal Of Medecine, 1999, vol 341, n°17, p 1256.

((10)). Dienstag et al. A preliminary trial of Lamivudine for chronic hepatitis B infection, 1995, vol 333, n°25, p 1657.

((11)). Grellier et al. Lamivudine prophylaxis against reinfection in liver transplantation for hepatits B cirrhosis. The Lancet, 1996, vol 348, n°2, p 1212.

((12)). Tassopoulos et al. Efficacity of Lamivudine in patients with hepatits B e antigen-negative/hepatits B virus DNA - positive (precore mutant) chronic hepatits B. Hepatology, 1999 , vol 29, n°3, p 889.

((13)). Tipples et al. Mutation in HBV RNA-Dependant DNA Polymerase confers resistance to Lmaivudine *in vitro*. Hepatology, 1996, Septembre, p 714.

((14)). Honkoop et al. Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatits B. Journal Of Hepatology, 1997, p 1393.

((15)). Chayama et al. Emergence and takeover of YMDD motif mutant hepatits B virus during long-term Lamivudine therapy and re-takeover by xild type after cessation of therapy. Hepatology, 1998, vol 27, n°6, p 1711.

((16)). Ono-Nita et al. YMDD motif in hepatits B virus DNA polymerase influences on replication and Lamivudine resistance : A study by *in vitro* ful-length viral DNA transfection. Hepatology, 1999, vol 29, n°3, p 939.

((17)). Allen et al. Identification and characterization of mutations in hepatits B virus resistant to Lamivudine. Hepatology, 1998, vol 27, n°6, p 1670.

((18)). Fischer and Tyrrell. Generation of duck hepatits B virus polymerase through site-directed mutagenesis which demonstrate resistance to Lamivudine ((-)-β-L-2'-3'-Dideoxy-3'-Thiacytidine) in vitro. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1996, vol 40, n°8, p 1957.

((19)). Ladner, Miller et King, The M539V polymerase variant of human hepatitis B virus demonstrates resistant to 2'-Deoxy-3'-Thiacytidine and a reduced ability to synthesize viral DNA. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1998, vol 42, n°8, p 2128.

((20)). Fu et Cheng. Rôle of additional mutations outside the YMDD motif of hepatitis B virus polymerase in L(-)Sddc (3TC) resistance. Biochemical Pharmacology, 1998, vol 55, p 1567.

((21)). Hodge. Famiclovir and Pencilovir. The mode of action of famiclovir including its conversion to penciclovir. Antiviral Chemistry and Chemotherapy, 1993, vol 4, n°2, p 67.

((22)). Benner et al. Famiclovir treatment of decompensated HBV cirrhosis. Hepatology, 1996, vol 24, n°4, Pt 2, 622.

((23)). Trepo et al. Efficacy of Famiclovir in chronic hepatits B : Results of a dose finding study. Hepatology, 1996, vol 24, n°4, Pt 2, 247.

((24)). Krüger et al. Famciclovir treatment of hepatitis B virus recurrence after orthotopic liver transplantation. A pilot study. Hepatology, 1995, vol 22, n°4 Pt 2, 449.

((25)). Rabinovitz et al. Famiciclovir for recurrent hepatitis B (HBV) infection after liver transplantation. Hepatology, 1996, vol 24, n°4, Pt 2, 624.

((26)). Ghany et al. Hepatits B virus S mutants in liver transplant recipients who where reinfected despite hepatits B immune globulin prophylaxis. Hepatology, 1998, vol 27, n°1, p 213.

((27)). Walers, Honkoop et al. Efficacy of famiclovir treatment in chroni hepatitis B patients with different mutations at position 552 of the DNA polymerase gene. Journal of Heaptology, 1998, vol 28, p 909.

((28)). Pichoud et al. Transient selection of a hepatitis B virus polymerase gene mutant associated with a decreased replication capacity and famciclovir resistance. Hepatology, 1999, vol 29, n°1, p 230.

((29)). Aye et al. Hepatitis B virus polymerase mutations during antiviral therapy in a patient following liver transplantation. Journal of Hepatology, 1997, vol 26, p 1148.

Faculté de Pharmacie de Grenoble



Serment des Apothicaires

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les moeurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobe et méprisé de mes confrères si j'y manque.

imp commerot - Grenoble