

UNIVERSITE PAUL SABATIER
TOULOUSE III - SCIENCES

Année 1994

N° 1762

THESE

présentée en vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER

Spécialité : Chronopharmacologie

par

Imad Eddine HOUTI



CHRONOPHARMACOCINETIQUE DE LA CYCLOSPORINE A

Etude expérimentale chez le rat Wistar

Soutenue le 20 Juin 1994 devant :

M. J. Oustrin	Professeur (Université Paul Sabatier)	Président
Mlle J. Bres	Professeur (Université de Montpellier)	Rapporteur
M. B. Bruguerolle	Professeur (Université de Marseille)	Rapporteur
M. J. Cambar	Professeur (Université de Bordeaux)	Rapporteur
M. G. Houin	Professeur (Université Paul Sabatier)	
M. C. Labat	Maître de Conférences (Université Paul Sabatier)	
Mme M. F. Malmay *	Maître de Conférences (Université Paul Sabatier)	

* Directeur de recherche du candidat



Equipe «Chronobiologie des Xénobiotiques»
Service de Biophysique-Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35, Chemin des Maraîchers 31062 Toulouse Cedex

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
 CHAPITRE I	
PRINCIPES GENERAUX DE CHRONOBIOLOGIE ET DE CHRONO- PHARMACOLOGIE	3
I-1 Chronobiologie	3
I-2 Chronopharmacologie	5
1-2-1 Chronopharmacocinétique des médicaments	5
<i>Absorption</i>	7
<i>Distribution</i>	7
<i>Métabolisme</i>	7
<i>Excrétion rénale</i>	8
<i>Excrétion biliaire</i>	9
1-2-2 Chronesthésie des biosystèmes cibles	10
1-2-3 Chronergie	10
 CHAPITRE II	
PHARMACOLOGIE DE LA CYCLOSPORINE A	12
II-1 Généralités	12
2-1-1 Historique	12
2-1-2 Caractères et propriétés physico-chimiques de la CsA	12
2-1-3 Mécanismes d'action	13
II-2 Utilisations thérapeutiques de la CsA	15
2-2-1 Transplantations d'organes	15
2-2-2 Maladies autoimmunes	16
II-3 Effets indésirables attribués à la CsA	17
2-3-1 Toxicité rénale	17
2-3-2 Toxicité pancréatique	18
2-3-3 Autres effets toxiques	19
II-4 Pharmacocinétique de la CsA	19
2-4-1 Absorption de la CsA	20
2-4-2 Distribution de la CsA	21

<i>Distribution dans le sang</i>	21
<i>Distribution dans les tissus</i>	21
<i>Volume de distribution</i>	22
2-4-3 Métabolisation et élimination de la CsA	22
2-4-4 Profils pharmacocinétiques	24
II-5 Chronopharmacocinétique de la cyclosporine	26

CHAPITRE III

MATERIEL ET METHODES	29
III-1 Généralités	29
III-2 Protocole expérimental	29
3-2-1 Les animaux et les conditions de leur stabulation	29
3-2-2 Conditions d'administration de la CsA et de prélèvement d'échantillons biologiques	31
3-2-3 Préparation des échantillons biologiques	31
III-3 Le dosage de la CsA par HPLC	32
3-3-1 Procédure d'extraction	32
3-3-2 Description de la technique de dosage	33
<i>Dosage</i>	33
<i>Appareillage</i>	33
3-3-3 Validation de la méthode de dosage	37
III-4 Méthodes statistiques	41
III-5 Traitement des profils pharmacocinétiques	42
<i>a- Approche compartimentale</i>	43
<i>B- Approche non-compartimentale</i>	44

CHAPITRE IV

RÉSULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSION	46
IV-1 Administration par voie intra-veineuse	46
4-1-1 Traitement statistique global	46
4-1-2 Profils pharmacocinétiques et analyse compartimentale	47
4-1-3 Approche non-compartimentale	58
IV-2 Administration par voie orale	60
4-2-1 Traitement statistique global	65
4-2-2 Profils pharmacocinétiques	65

<i>a- Elimination</i>	65
<i>b- Analyse non-compartimentale</i>	69
CONCLUSION -----	76 77
BIBLIOGRAPHIE -----	80 81
ANNEXE -----	88 89

RESUME

La cyclosporine A (CsA) est un puissant immunodépresseur largement utilisé pour prévenir le rejet des organes transplantés. Du fait d'un index thérapeutique étroit et d'une très importante variabilité tant inter- qu'intraindividuelle de sa **biodisponibilité**, ce médicament reste d'un maniement délicat. Il s'agit en effet de garantir son efficacité en évitant tout rejet par sous-dosage et de parer à toute toxicité résultant d'un surdosage. Notre étude a eu pour objectif d'analyser l'influence du stade temporel d'administration de la CsA sur son devenir, chez le rat Wistar. Cette étude **chronopharmacocinétique** comporte deux volets complémentaires, selon la voie d'administration de la CsA : intra-veineuse i.v. (5 mg/kg) ou orale p.o. (20 mg/kg). Dans chaque cas, 4 groupes de rats sont constitués, différant par l'horaire de traitement (exprimé en Heure Après le Début de la Lumière) : 02, 08, 14 ou 20 HADL. La méthode de dosage par HPLC de la CsA dans le sang, le plasma, le foie et le rein a fait l'objet de validations statistiques. **Voie iv** : les profils pharmacocinétiques de concentration plasmatique ont été analysés selon 2 approches, dépendant ou non d'une modélisation. Un modèle tri-exponentiel a permis d'ajuster aux mieux les variations des concentrations en fonction du temps. Une analyse de variance à 2 facteurs a conclu à l'influence très significative ($S0.0001$) de l'horaire d'administration, qui se manifeste essentiellement au niveau de la **distribution** de la CsA puisque le temps de demi-vie d'élimination (22.5 ± 2.2 h) est indépendant de l'heure de traitement, contrairement à **l'aire sous la courbe de concentration** en fonction du temps ASC ($35275 \pm 1185 \mu\text{g.l}^{-1}.\text{h}$ à 08 HADL vs $29087 \pm 752 \mu\text{g.l}^{-1}.\text{h}$ à 20 HADL) et à la **clairance CL** (0.142 ± 0.005 l/h/kg à 08 HADL vs 0.172 ± 0.004 l/h/kg à 20 HADL). **Voie orale** : l'influence de l'horaire d'administration est dans ce cas encore plus marquée, car elle affecte essentiellement la phase d'**absorption**. Les ASC et la **biodisponibilité F** - déterminée à partir des concentrations plasmatiques iv et po - varient d'un facteur 4 à 5 selon l'horaire de traitement. C'est après administration à 08 ou 20 HADL que la biodisponibilité est la plus élevée (0.19 ± 0.03 en moyenne) elle est bien plus basse après administration à 02 ou 14 HADL (0.05 ± 0.009 en moyenne). Ces variations **ultradiennes** ($T = 12$ h) pourraient être attribuées en partie à des modifications de la capacité de métabolisation des enzymes. Les profils pharmacocinétiques obtenus pour le sang et les organes évoluent parallèlement à ceux du plasma. Le temps de demi-vie d'élimination ne diffère pas de celui déterminé à partir de la voie iv et ne dépend pas de l'horaire de traitement, à l'exception du rein pour lequel une variation circadienne est démontrée. Les plus fortes concentrations sont obtenues dans le foie, puis le rein, le sang et les plus faibles dans le plasma. Le rapport de concentration sang/plasma dépend significativement de l'horaire de traitement, c'est à 08 HADL qu'il est le plus bas. Ce fait est révélateur de variations circadiennes de la liaison de la CsA aux érythrocytes. Des pics secondaires décalés de 3 à 4 heures ont été observés dans tous les cas, très marqués après administration orale, plus ténus mais statistiquement significatifs après administration iv. Ils pourraient être attribués à une remise en circulation (voie iv) ou une solubilisation *de novo* (voie orale) par la bile. Les variations temporelles de la toxicité rénale induite par la CsA peuvent résulter en partie de ces modifications chronopharmacocinétiques.

Mots clés : Cyclosporine A - Chronopharmacocinétique - Rythmes circadiens - Rythmes ultradiens - Aire sous la courbe - Biodisponibilité - HPLC.