

La phase d'absorption des médicaments

PLAN DU CHAPITRE

Absorption médiate	10
Modèles expérimentaux d'étude de l'absorption	17



Prérequis et objectifs

Prérequis

- Modalités de passage des molécules à travers les membranes biologiques.
- Équilibres chimiques acide/base.
- Histologie et physiologie du tube digestif, du système respiratoire et de la peau.

Objectifs

- Connaître les différentes voies d'absorption des médicaments.
- Comprendre les paramètres influençant chacune des principales voies.
- Comprendre les conséquences de compétition entre médicaments pour l'absorption.
- Connaître les modèles expérimentaux permettant d'étudier l'absorption d'un médicament.

La phase d'absorption est un processus qui consiste au passage d'une molécule dans les liquides circulants (circulation générale) à partir de son site d'administration.

L'absorption est réalisée par le passage de membranes épithéliales lipoprotéiques comme la muqueuse buccale, gastro-intestinale, pulmonaire ou la peau.

Généralement, le passage est transcellulaire, plus rarement paracellulaire, selon la difficulté de la molécule à traverser la barrière constituée de membranes cellulaires plus ou moins fluides et de jonctions cellulaires plus ou moins serrées.

Les processus d'absorption pourront être actifs ou passifs selon les caractéristiques de la molécule et de la membrane à traverser. Pour 95 % des médicaments, l'absorption sera réalisée par diffusion passive, c'est-à-dire par la bicouche lipidique, dans le sens du gradient de concentration.

De nombreuses voies d'absorption sont possibles (figure 2.1) :

- celles dites immédiates, où la substance se retrouve directement dans la circulation générale, comme la voie intraveineuse;
- celles dites médiatees ou extravasculaires, c'est-à-dire pour lesquelles la molécule doit traverser au moins deux barrières successives, comme les voies digestives, respiratoires, cutanées...).

L'absorption concerne toutes les voies d'administration, à l'exception de la voie intraveineuse.

Une même molécule médicamenteuse sera absorbée différemment selon la voie et la forme d'administration.

Absorption médiate

Dans le cas d'une absorption médiate (figure 2.2), le médicament doit traverser au moins deux barrières successives correspondant à deux étapes :

- **pénétration** : passage de la molécule du milieu extérieur dans le liquide interstitiel;
- **résorption** : passage de la même molécule du liquide interstitiel vers le liquide circulant.

L'absorption par les muqueuses digestives : la voie entérale

L'appareil digestif est principalement constitué d'un tube, ouvert sur le milieu extérieur à ses deux extrémités, par la bouche d'un côté et par l'anus de l'autre côté. Le tube digestif possède plusieurs fonctions, dont les principales sont impliquées dans la nutrition :

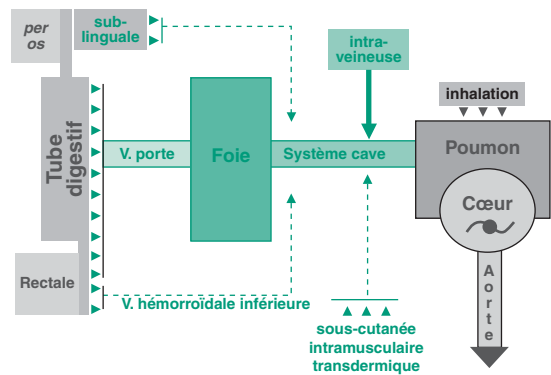


Figure 2.1

Les différentes voies d'administration des médicaments

Source : Touitou Y. Pharmacologie et thérapeutiques. Elsevier Masson SAS, 2013.

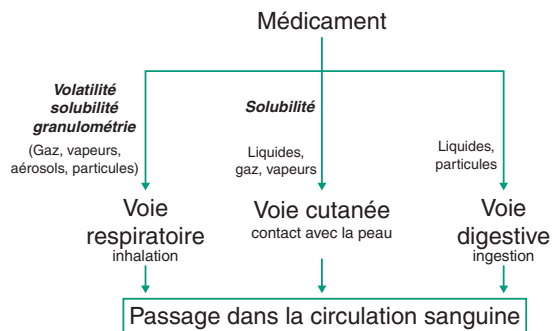


Figure 2.2

Les modes d'absorption médiate dans l'organisme

- ingestion des aliments;
- digestion mécanique : broyage (au moyen des dents) et « malaxage » gastrique et intestinal;
- digestion chimique par le biais d'enzymes selon les substrats ingérés des aliments;
- progression des produits de digestion sur toute sa longueur;
- absorption (d'unité de base);
- élimination des résidus non digérés ni absorbés et d'autres déchets.

En outre, le tube digestif est aussi capable d'absorber des xénobiotiques tels que des médicaments.

Dans la majorité des cas, avant d'arriver dans la circulation sanguine, le médicament doit franchir la barrière entérocytaire puis traverser le foie (hépatocytes et sécrétion biliaire), qui joue un rôle de filtre. Certaines voies digestives comme la voie sublinguale ou la voie rectale permettent d'éviter cet effet de premier passage hépatique (figure 2.1). Par ailleurs, le médicament peut être dégradé dans la lumière du tube digestif; c'est pourquoi il sera parfois nécessaire de protéger le principe actif par des formes galéniques particulières (comprimés ou gélules enrobées ou gastrorésistantes...).

Le tube digestif est histologiquement constitué d'une séreuse (péritoine), d'une musculuse, d'une sous-muqueuse et d'une muqueuse elle-même formée d'un épithélium et de sous-couches, sur toute sa longueur. Les épithéliums n'étant jamais vascularisés, les substances devront les traverser pour atteindre des couches plus profondes avant d'être absorbées. Au niveau du tube digestif, l'absorption peut avoir lieu à tous les niveaux. Elle sera de mécanisme et d'amplitude différents selon les caractéristiques histologiques et physiologiques spécifiques de chaque étage. On distingue ainsi la voie orale (voies sublinguale, buccale et gastro-intestinale) et la voie rectale.

Les voies sublinguales et buccales

La voie sublinguale ou perlinguale permet la diffusion passive d'une molécule à travers la paroi buccale (**pénétration**) puis sa **résorption** par les capillaires pour atteindre la circulation générale *via* les veines jugulaires externes puis la veine cave supérieure.

Les voies sublinguale et buccale permettent d'éviter aux molécules d'avoir à traverser la barrière digestive, accélérant donc l'arrivée dans la circulation générale et évitant une éventuelle dégradation. Ces voies présentent aussi l'intérêt d'éviter un effet de premier passage hépatique. Cependant, ces voies entraînent une absorption relativement lente et doivent être réservées aux substances non caustiques et

au goût supportable. Ces voies sont utilisées en pratique pour des médicaments pour lesquels est recherchée une action rapide, comme des vasodilatateurs coronaires indiqués dans le cas de douleurs thoraciques tels que la trinitrine (ex. : Natispray[®], Trinitrine simple Laleuf[®]), des antalgiques puissants efficaces dans les accès douloureux paroxystiques tels que le fentanyl (ex. : Actiq[®], Abstral[®], Effentora[®], Breakly[®]) ou des substituts nicotiniens utilisés dans le sevrage tabagique. Différentes formes galéniques permettent une absorption par voie sublinguale : comprimés gingivaux, pilules, liquides en sprays buccaux, ou par voie buccale : tablettes, comprimés buccoadhésifs, bâtonnets transmuqueux, films orodispersibles, pastilles, pâtes ou gommées... Dans tous les cas, la forme doit rester en contact étroit avec la muqueuse buccale pour permettre au principe actif de traverser la paroi buccale.

La voie gastro-intestinale dite « voie orale »

La voie gastro-intestinale implique que la forme galénique soit ingérée, c'est-à-dire déglutie.

Plusieurs formes galéniques permettent une administration *per os* : gélules ou capsules dures, capsules molles, comprimés secs, enrobés, pelliculés, gastrorésistants, solutions, émulsions ou suspensions buvables, gouttes buvables, ampoules buvables, sirops, gels... Le délai d'action sera en partie dépendant du temps nécessaire à la libération du principe actif contenu dans la forme galénique.

Au niveau gastrique

L'anatomie de l'estomac révélant un épithélium épais, une muqueuse mal vascularisée, une surface limitée (environ 1 m²), et un pH très acide (1,2 à 1,5), les conditions ne seront pas très favorables à une bonne absorption. Le pH gastrique implique que les acides faibles y seront peu ionisés donc peu dissociés; ceux traverseront donc facilement les membranes par diffusion passive et y seront ainsi relativement bien absorbés. Outre le pH, d'autres facteurs influencent l'absorption au niveau gastrique comme :

- la liposolubilité de la fraction non ionisée;
- l'état de vacuité de l'estomac sous la dépendance des prises alimentaires;
- le temps de contact (temps de vidange gastrique);
- le flux sanguin gastrique.

Au niveau intestinal

En règle générale, l'absorption *per os* sera supérieure à l'étage intestinal du fait de conditions plus favorables comme :

- une plus grande surface d'échanges au niveau de l'épithélium grâce aux nombreuses villosités et microvillosités (environ 200 m² soit l'équivalent d'un terrain de tennis);
- une importante vascularisation de la muqueuse (nécessaire à l'absorption des nutriments apportés par l'alimentation);
- un pH plus proche de la neutralité (5 au niveau des villosités et entre 6 et 7 dans l'espace luminale).

L'absorption orale est généralement majoritaire au niveau du pylore et de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon).

Là encore, l'absorption pourra être influencée par différents facteurs tels que :

- l'état de vacuité intestinale;
- le péristaltisme intestinal conditionnant le temps de transit et donc de contact entre le principe actif et la muqueuse intestinale;
- le flux sanguin intestinal;
- mais aussi des interactions médicamenteuses ou alimentaires pouvant par exemple générer des chélatons, empêchant toute absorption. C'est ce qui est observé avec les bisphosphonates, médicaments indiqués dans la prévention de l'ostéoporose qui devront donc être administrés par voie orale à jeun et à distance de toute prise alimentaire, en particulier de produits laitiers riches en calcium. Il en est de même pour d'autres médicaments chélateurs, mais aussi les antiacides ou le charbon activé qui peuvent réduire l'absorption de médicaments administrés conjointement.

L'absorption par voie orale permet un usage plus simple, plus sécuritaire et généralement bien accepté par rapport à d'autres voies. Il s'agit de la voie la plus compatible avec un usage ambulatoire chez l'adulte, qui par ailleurs, s'avère relativement peu coûteuse.

Cependant, les recours à la voie orale seront limités pour les substances au goût désagréable ou irritantes (anti-inflammatoires non stéroïdiens), même s'il est possible de pallier ces problèmes par un enrobage, pour les composés instables à pH gastrique ou sensibles aux enzymes gastriques. Là encore, un enrobage gastrorésistant sera nécessaire. De plus, la voie orale ne permet pas de dosage très précis dans la mesure où il n'est pas possible de contrôler la part du médicament administré qui atteint réellement la circulation générale. Enfin, l'absorption orale impose un effet de premier passage intestinal ou hépatique aux molécules médicamenteuses, pouvant en réduire l'efficacité si la substance est présente dans le médicament sous forme déjà active et est fortement dégradée au niveau des enzymes de l'intestin ou du foie mais étant indispensable lorsque les médicaments sont des prodrogues nécessitant un métabolisme pour générer les dérivés actifs.



À retenir

Un effet de premier passage peut-être considéré comme une « disparition » de médicament avant son arrivée dans la circulation générale par dégradation éventuelle (par exemple par des enzymes extra- ou intracellulaires). Selon la voie d'administration, l'effet de premier passage peut être hépatique (voie orale, voie rectale), intestinal (voie orale), pulmonaire (voie intraveineuse)...

La **biodisponibilité**, définie comme la part du médicament administrée qui atteint la circulation et la vitesse à laquelle elle l'atteint est fonction d'une part de la libération du principe actif (délitement ou désagrégation puis solubilisation) et d'autre part de l'absorption (passage intestinal et effet de premier passage). Pour une molécule donnée, la biodisponibilité est caractéristique d'une forme galénique et d'une voie d'administration. De plus, la biodisponibilité orale peut varier d'un sujet à l'autre selon la prise concomitante d'autres médicaments pouvant interférer avec l'absorption, l'effet des repas (vacuité du tube digestif, nutriments, pH...), l'existence de pathologies digestives (constipation, diarrhées, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin comme la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique, chez la femme enceinte, le nouveau-né, la personne âgée...

La voie rectale

La voie rectale permet également d'absorber des molécules médicamenteuses, généralement par l'intermédiaire de suppositoires. Cette voie permet d'éviter une potentielle dégradation par les enzymes digestives et en partie un éventuel effet de premier passage hépatique. Aussi cette voie est particulièrement intéressante chez les jeunes enfants qui ne peuvent déglutir, chez le patient présentant des nausées ou pour les substances au goût désagréable. Cependant, l'absorption au niveau du rectum ne sera pas très importante du fait d'un passage hépatique pour environ un tiers du principe actif administré (seule la part du médicament absorbée par les veines hémorroïdaires inférieures et moyennes échappe à la circulation hépatique en rejoignant directement la veine cave inférieure) (figure 2.3) et d'une surface d'échange limitée. Il est à noter toutefois que la pénétration y est toutefois relativement bonne de par la forte concentration du médicament dans l'ampoule rectale confinée. Les substances irritantes pour les muqueuses ne pourront pas être administrées par voie rectale.

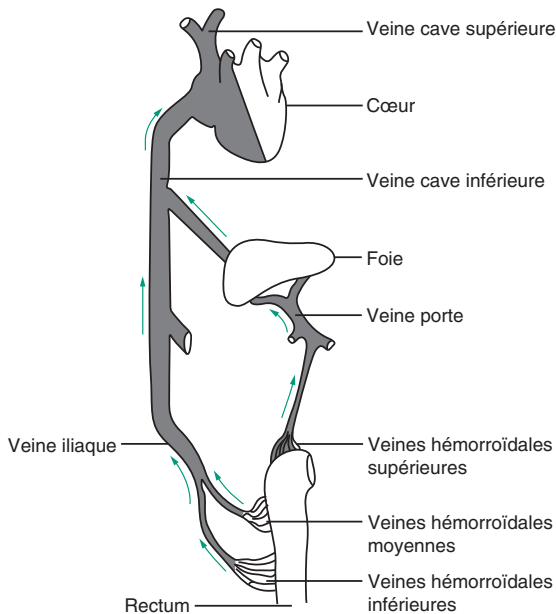


Figure 2.3

Absorption de principes actifs par la voie rectale

Absorption de principes actifs par la voie rectale. L'absorption par les muqueuses non digestives

Plusieurs muqueuses non digestives permettent l'absorption de médicaments.

La muqueuse aérobronchique et alvéolaire

Le système respiratoire constitue une voie d'absorption importante. Il comprend le tractus respiratoire, les poumons et le diaphragme. Sa fonction principale est d'assurer l'hématose, c'est-à-dire d'apporter l'oxygène au sang qui le distribue dans tout l'organisme et de rejeter le gaz carbonique. Mais il participe aussi à la défense de l'organisme, possède des vertus endocriniennes (sérotonine...) et intervient dans l'homéostasie de l'équilibre acidobasique.

Le système respiratoire dispose de deux systèmes circulatoires (figure 2.4) :

- une circulation systémique composée des veines caves supérieures et inférieures rapportant le sang désaturé au cœur et d'artères s'échappant de l'aorte amenant le sang saturé en oxygène aux tissus;
- une circulation pulmonaire avec les veines pulmonaires rapportant du sang saturé en O_2 au cœur puis à l'ensemble

des tissus de l'organisme et des artères pulmonaires conduisant du sang désaturé aux poumons de manière à éliminer le CO_2 . Le mécanisme des échanges gazeux est réalisé par les différences de pression; ainsi, les gaz diffusent de la pression la plus élevée vers la plus basse. Il en est de même pour les molécules médicamenteuses.

Différents niveaux d'atteinte des médicaments sont possibles au niveau du système respiratoire qui se divise en diminuant de diamètre (figure 2.5) :

- voies extrapulmonaires : fosses nasales, nasopharynx, larynx, trachée et début des deux bronches souches droite et gauche;
- voies intrapulmonaires : des bronches souches jusqu'aux bronchioles terminales en passant par les bronches lobaire (3 à droite et 2 à gauche), segmentaire et lobulaire;
- parenchyme respiratoire : des bronchioles se terminant par des sacs alvéolaires ou *acini* formant des millions d'alvéoles pulmonaires.

Des principes actifs sous forme liquide ou solide peuvent être administrés par voie aérienne, sachant que les molécules sous forme solide (inhalateur de poudre sèche) seront souvent plus longues à exercer leurs effets dans la mesure où le principe actif devra préalablement être dissout. La taille des particules de la préparation médicamenteuse conditionne le niveau de pénétration de la molécule dans l'architecture bronchique. Ainsi, les formes nébulisation constituée de particules de diamètre supérieur à $3\ \mu m$ n'atteindront que les bronches ne générant qu'un effet local, alors que les formes aérosol composées de particules de diamètre compris entre $0,2$ et $3\ \mu m$ pourront parvenir jusqu'aux alvéoles et permettre ainsi un effet général, intéressant dans la prise en charge de l'asthme par exemple.

Les bronches sont constituées de muscle lisse sous la dépendance du système nerveux végétatif (figure 2.6) permettant s'assurer une motricité bronchique. L'ensemble de la muqueuse respiratoire atteint une surface d'échanges de l'ordre de $200\ m^2$, qui, ajoutée à l'intense irrigation de la muqueuse bronchique, constituent des facteurs favorables à une bonne absorption par diffusion passive.

Cette absorption sera influencée par :

- la concentration de la substance dans l'air inspiré;
- la ventilation et perméabilité pulmonaires;
- la solubilité de la molécule médicamenteuse dans le plasma.

Certaines molécules pouvant générer une irritation locale pour la muqueuse bronchique, un véhicule huileux pourra être utilisé.

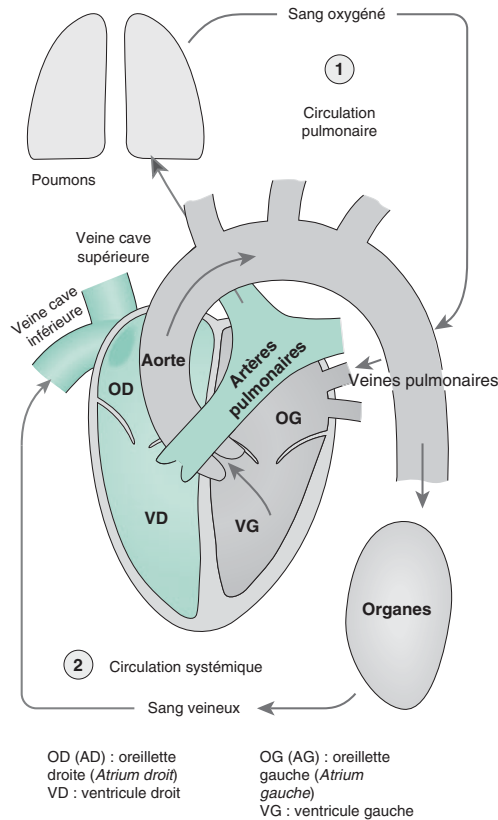


Figure 2.4

Pincipes d'oxygénation tissulaire

Source : Perlemuter L, Perlemuter, G. Cycles de la vie et grandes fonctions, « Cahiers des sciences infirmières ». Elsevier Masson SAS, 2010.

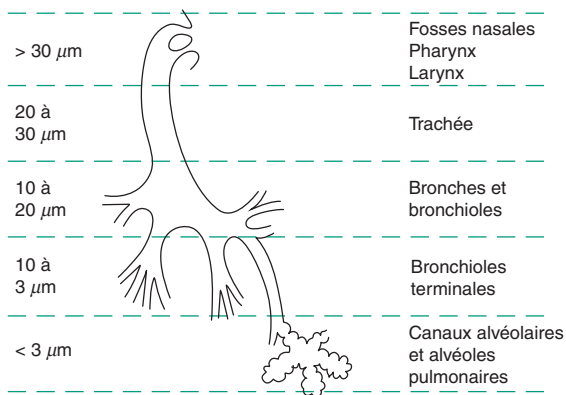


Figure 2.5

Niveaux de pénétration des particules en fonction de leur diamètre

Système nerveux périphérique (SNP)

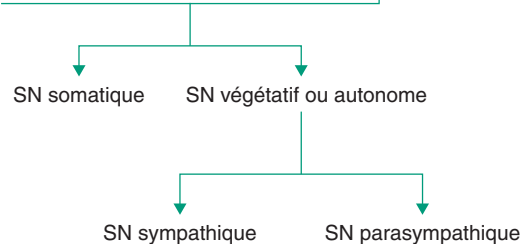


Figure 2.6

Pincipales fonctions du système nerveux périphérique
 Le système nerveux (SN) végétatif régule l'activité involontaire de nos organes internes; le système nerveux somatique permet le contrôle volontaire.

Les autres muqueuses

De nombreuses autres muqueuses permettent l'absorption de médicaments, comme les muqueuses rhinopharyngées, oculaire, urétrales ou vaginales.

Elles permettent le plus souvent de promouvoir des effets locaux pour administrer des médicaments tels que des antiseptiques, des antibiotiques ou des anesthésiques locaux afin de traiter des affections localisées.

Par la voie oculaire, peuvent être administrés des préparations à visée plus ou moins superficielle comme des collyres (solutions, suspensions, émulsions), des pommades ophtalmiques, des hydrogels ou des inserts permettant une libération prolongée du principe actif. Des injections intravitréennes peuvent également être pratiquées pour une action plus profonde.

L'absorption par la voie percutanée

L'absorption percutanée permet le passage de substances à travers les structures cutanées jusqu'à la circulation générale.

D'une épaisseur de 1,5 à 4 mm, la peau constitue le plus grand organe du corps. Elle est structurée en deux couches que sont l'**épiderme** (couche cornée superficielle kératinisée

et avasculaire à renouvellement rapide de 0,05 à 0,1 mm d'épaisseur) et le **derme** (tissu conjonctif de soutien formé de collagène de types I et III et richement vascularisé et innervé de 1 à 4 mm), recouvrant le tissu sous-cutané ou hypoderme (figure 2.7).

La peau a pour rôles :

- d'assurer une couverture protectrice et imperméable à l'ensemble de l'organisme;
- de permettre le toucher;
- de contrôler la régulation thermique du corps (transpiration);
- de stocker des réserves énergétiques (tissu adipeux);
- de synthétiser et métaboliser divers composés tels que la vitamine D.

L'absorption de médicaments au niveau de la peau est réalisée par diffusion passive pour les molécules de faible poids moléculaire (inférieur à 400 Daltons), la peau étant recouverte d'un film lipoprotéique riche en eau par sa couche cornée, la rendant peu perméable.

Cette absorption peut être variable selon des facteurs liés à la peau comme l'épaisseur de la couche cornée, l'état d'hydratation, la présence de lésions cutanées ou de variations individuelles. Des facteurs extérieurs peuvent également moduler l'absorption percutanée comme le temps de contact, la ionophorèse ou la présence d'adjuvants spécifiques.

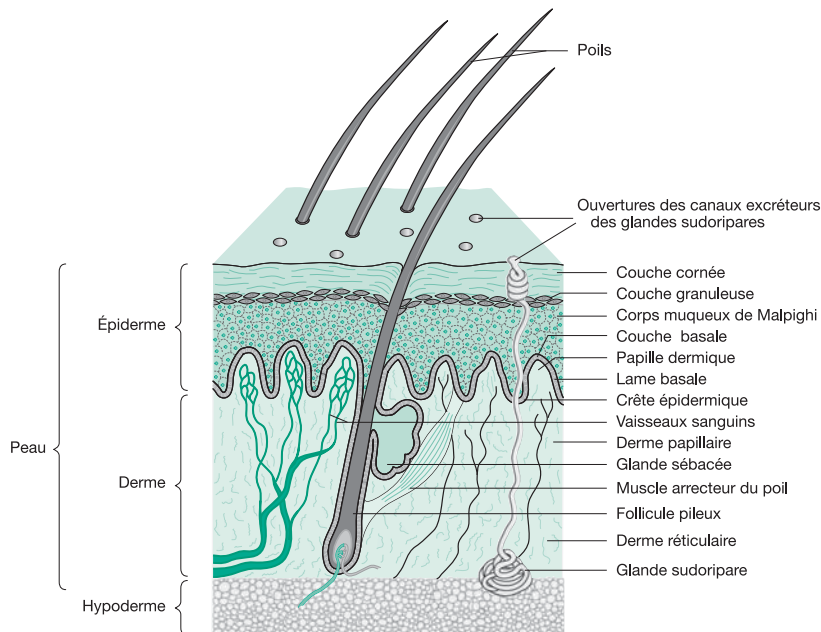


Figure 2.7

Coupe de la peau

Source : Perlemuter L, Perlemuter, G. Cycles de la vie et grandes fonctions, « Cahiers des sciences infirmières ». Elsevier Masson SAS, 2010.

Ainsi, selon l'effet recherché, différentes préparations seront utilisées :

- des solutions, émulsions, crèmes, suspensions, gels ou pommades antiseptiques ou antifongiques ne généreront qu'un effet purement local suite à un dépôt localisé;
- les pâtes, gels ou pommades anti-inflammatoires, antalgiques permettront un effet plus profond;
- enfin, des gels ou des dispositifs transdermiques (patches) à base d'oestradiol, de trinitrine, de scopolamine, de nicotine ou de fentanyl pourront entraîner un effet général mais aussi de possibles effets secondaires systémiques.

En revanche, il est parfois difficile de déterminer précisément la quantité de principe actif absorbée par la voie percutanée.

L'absorption immédiate : la voie parentérale

Pour permettre une absorption immédiate, le médicament doit être directement introduit par effraction dans le liquide extracellulaire. Sa vitesse d'absorption dépendra :

- de la perméabilité des capillaires par diffusion passive;
- du flux sanguin;
- de la viscosité des tissus au point d'injection;
- de la vitesse de libération du principe actif selon les formulations utilisées.

L'absorption médiate permet de traiter des malades inconscients ou refusant leur traitement. Elle est aussi intéressante pour les médicaments émetteurs ou pour lesquels une posologie précise est requise, entraînant une absorption totale et rapide, mais pas d'effet de premier passage hépatique.

Cependant, ce peut être une voie douloureuse, nécessitant du personnel qualifié avec des coûts d'administration élevés (matériel stérile à usage unique) et pouvant exposer le patient à un risque de réactions généralisées au principe actif.

Différentes voies d'absorption médiate sont possibles.

L'absorption par la voie sous-cutanée (SC)

Le tissu sous-cutané ou hypoderme est constitué de fibres de collagène lâches, il est peu vascularisé mais richement innervé, ce qui explique que l'absorption par cette voie sera relativement lente et douloureuse. Une absorption sous-cutanée continue peut-être réalisée au moyen d'implant (à visée contraceptive en particulier, efficace pendant 3 ans). Il s'agit d'une préparation solide et stérile introduite sous la peau.

L'absorption par la voie intramusculaire (IM)

Les muscles sont hautement vascularisés mais peu innervés, permettant une absorption rapide (en 10 à 30 minutes) et peu douloureuse (sauf pour certaines molécules en cas de précipitation moléculaire).

L'absorption par la voie intraveineuse (IV)

La voie intraveineuse permet d'apporter l'intégralité de la dose de principe actif directement dans la circulation générale, entraînant un effet immédiat et contrôlable en respectant la concentration active efficace. L'apport du principe actif peut être prolongé par un système de perfusion. Cette voie d'administration parentérale est également intéressante en cas d'injection douloureuse par les autres voies injectables.

Pourtant, le recours à cette voie doit être limité du fait de sa potentielle dangerosité par la stimulation ou dépression des centres nerveux et la possibilité de transmission virale, même si ce risque reste rare. Enfin, son coût important ne doit pas être négligé (personnel qualifié, matériel stérile à usage unique...).

Les voies parentérales à effets locaux

Différentes voies parentérales à effets locaux peuvent être utilisées selon les objectifs thérapeutiques :

- voie intracardiaque;
- voie intra-artérielle (angiographies, artériographies);
- voie intrarachidienne (injection dans le liquide céphalo-rachidien ou LCR) :
 - voie sous-arachnoïdienne (entre les vertèbres lombaires L2 et L4);
 - voie péri-durale ou épidurale (espace épidural entre les régions lombaires et sacrées) (figure 2.8);
 - voie intrathécale (région lombosacrée en position assise).

L'absorption par les séreuses

Les séreuses sont constituées d'épithéliums recouvrant des cavités internes de l'organisme et enveloppant certains organes. L'injection est généralement réalisée entre les deux foyers épithéliaux composant la séreuse. L'absorption par ces séreuses est intermédiaire entre absorption médiate et immédiate.

Plusieurs injections dans les séreuses peuvent être pratiquées :

- intrapleurale (plèvre enveloppant les poumons);
- intrapéritonéale (péritoine richement vascularisé, perméable et grande surface). Cette voie d'administration est classiquement utilisée en expérimentation animale;
- intra-articulaire (infiltration par des corticoïdes).

Modèles expérimentaux d'étude de l'absorption

Afin d'appréhender au mieux le devenir de molécules exogènes dans l'organisme, il convient de définir, à l'aide de modèles expérimentaux adaptés, les propriétés d'absorption des molécules médicamenteuses ou de certains toxiques. Ces études font partie intégrante du dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un médicament (AMM) et sont un préalable aux études cliniques réalisées sur l'homme.

Les modèles *in vitro*

Le modèle cellulaire Caco-2

La lignée cellulaire Caco-2, dérivée d'adénocarcinome colique, est un des modèles cellulaires le plus utilisé pour modéliser *in vitro* l'épithélium intestinal et donc étudier les propriétés d'absorption d'un grand nombre de molécules. En effet, la plupart des molécules qui rejoignent la circulation sanguine diffusent à travers la bordure en

brosse des membranes entérocytaires. Plusieurs possibilités de transport au travers de ces cellules ont été mises en évidence dans ce modèle cellulaire : le transport passif transcellulaire, le transport paracellulaire, le transport actif et la pinocytose.

Les cellules Caco-2 ont la particularité de pouvoir former une monocouche de cellules à morphologie et propriétés fonctionnelles identiques et proches de celles de l'épithélium intestinal humain. La perméabilité des molécules pour ces cellules Caco-2 peut être corrélée à l'absorption intestinale humaine *in vivo*. Cette corrélation présente l'avantage de permettre la classification des molécules d'intérêt thérapeutique selon les valeurs de perméabilité obtenue expérimentalement à l'aide du modèle Caco-2.

Pratiquement, ces cellules adhérentes se cultivent sur des inserts où elles vont pouvoir se multiplier pour atteindre la confluence et ensuite se polariser et se différencier en cellules épithéliales formant une monocouche de cellules épithéliales délimitant un pôle apical et un pôle basal. Les inserts sur lesquels se sont multipliées les cellules constituent des inserts disposés dans des puits de plaque de culture dans lesquels est ajouté du milieu de culture adéquat. La partie « haute » de ce dispositif constitue le pôle apical, tandis que la partie « basse » représente le pôle basal (la polarisation des cellules respecte l'orientation décrite pour le dispositif expérimental) (figure 2.9).

Lors de l'étude de passage de molécules d'intérêt pharmacologique à travers les cellules en culture, différents paramètres peuvent être déterminés :

1. Le coefficient de perméabilité apparenté (P_{app}), qui représente la capacité du principe actif à diffuser à travers la membrane cellulaire. Il est exprimé en cm/s et répond à la formule :

$$P_{app} = \frac{\Delta Q / \Delta t}{A \cdot C_0}$$

• Où $\Delta Q / \Delta t$ (mM/s) est la vitesse de passage de la molécule vers le compartiment basal; A est la surface de la

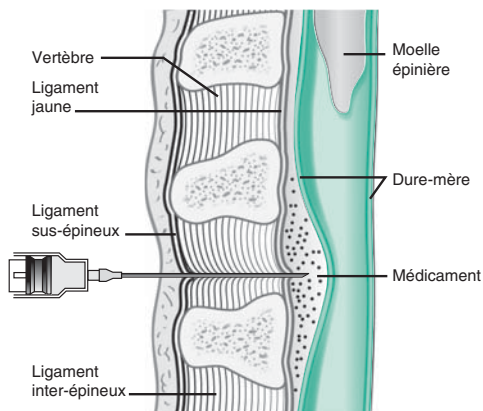


Figure 2.8

Principe de l'administration par voie péri-durale

Lansac J, Magnin G, Sentilhes L. *Obstétrique pour le praticien* (6^e édition). Elsevier Masson SAS, 2013.

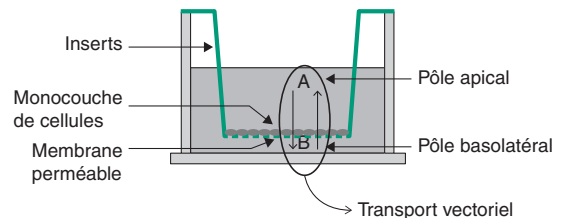


Figure 2.9

Représentation schématique du protocole expérimental utilisant des cellules Caco-2 en culture

membrane utilisée (cm²); C₀ est la concentration initiale de la molécule dans le compartiment apical (mM).

- Les valeurs de perméabilité sont comparées à des étalons établis expérimentalement avec des molécules comme le labétalol, le métoprolol ou le timolol (molécules possédant une forte perméabilité cellulaire) ou l'acébutolol ou l'aténolol (molécules de faible perméabilité cellulaire).

- De façon intéressante, ce dispositif expérimental permet d'évaluer la perméabilité bidirectionnelle. En effet, la perméabilité du pôle apical vers le pôle basal (P_{A>B}) renseigne sur l'absorption, la perméabilité du pôle basal vers le pôle apical (P_{B>A}) renseigne sur les modalités de diffusion. Dans ce dernier cas, si P_{A>B} est égale à P_{B>A}, on parle de diffusion passive et si P_{A>B} est différent de P_{B>A}, alors la diffusion mobilise des transporteurs spécifiques (figure 2.10).

2. Le coefficient de partage octanol/eau (P) quantifie la lipophilie de la molécule, c'est-à-dire son tropisme pour les milieux non aqueux. L'octanol est un solvant choisi pour ses propriétés lipophiles considérées comme proches de celles de la membrane cellulaire.

3. La résistance électrique transépithéliale (TEER) exprimée en Ω.cm² renseigne sur l'intégrité de la monocouche cellulaire formée par les cellules Caco-2 en culture (des valeurs de référence supérieures à 300 Ω.cm² sont prises comme référence). La valeur du TEER est déterminée par la relation :

$$TEER = (R_{\text{monocouche cellulaire}} - R_{\text{filtre}}) \cdot A$$

Avec R_{monocouche cellulaire} qui est la résistance de la monocouche cellulaire; R_{filtre} la résistance du filtre de la membrane de culture et A la surface de la membrane utilisée.

Bien que très utilisé, le modèle Caco-2 présente une série d'avantages mais aussi de limites qu'il convient de bien connaître afin d'obtenir une bonne interprétation des résultats (tableau 2.1).

Le modèle de cellules porcines IPEC-1

Sur le même principe que les cellules Caco-2, des cellules épithéliales intestinales porcines IPEC-1 peuvent être utilisées afin d'étudier les mécanismes d'absorption.

Le modèle PAMPA (Parallel Artificial Membrane Permeability Assay)

D'un point de vue technique, le modèle PAMPA est proche du modèle utilisant les cellules Caco-2 en culture. Toutefois, les membranes utilisées sont dans ce cas toujours artificielles et de nature lipidique (phosphatidylcholine, hexadécane...) et ce modèle permet d'évaluer exclusivement la perméabilité passive (absence de mesure de perméabilité bidirectionnelle). Le dosage du

Tableau 2.1. Les avantages et les inconvénients du modèle expérimental Caco-2

Avantages	Inconvénients
Lignée cellulaire établie donc facilement utilisable	Grande variabilité interlaboratoire et au-delà d'un grand nombre de passages en culture
Compréhension des mécanismes de passage passif vs actif ou para- vs transcellulaire	Épithélium formé souvent imperméable (TEER Caco-2 égal à 50 vs 100 <i>in vivo</i>)
Mise en évidence du rôle et de la caractérisation des transporteurs	Transporteurs souvent sous-exprimés dans le modèle Caco-2
Étude d'un grand nombre de principes actifs, y compris ceux solubles dans des solvants organiques (DMSO)	Corrélation limitée avec les mécanismes de dissolution aqueux <i>in vivo</i>

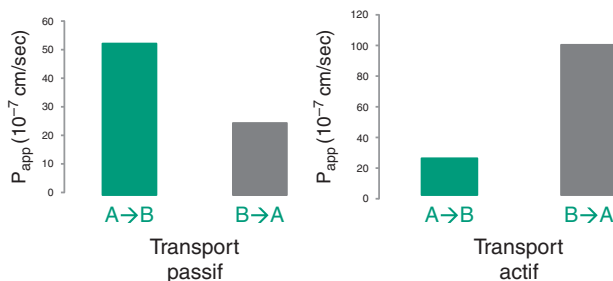


Figure 2.10

Exemple de valeurs de perméabilité suivant le type de transport

principe actif ayant diffusé à travers la membrane est réalisé par chromatographie liquide haute performance (HPLC) ou par lecteur de plaque ultraviolet. Les valeurs de perméabilité sont exprimées en cm/s et comparées à des étalons de référence (figure 2.11).

Les modèles *ex vivo*

Le modèle d'explant cutané

Ce modèle développé, notamment par Franz (1975) et Bronaugh (1982), est largement utilisé pour quantifier l'absorption percutanée de différents xénobiotiques. Un «explant cutané» est placé dans une cellule de diffusion en verre ou en Téflon®. La peau délimite ainsi deux compartiments : un compartiment donneur (ou épidermique) et un compartiment receveur (ou dermique). La face dermique de la peau est en contact avec un liquide thermostaté qui hydrate et assure le maintien de l'intégrité physiologique de l'explant cutané. La substance à étudier est déposée sur la face supérieure épidermique de la membrane. La substance qui diffuse à travers la peau pendant la durée de l'expérimentation est dosée dans le compartiment receveur.

Le modèle de sac intestinal retourné

Cette technique a été mise au point par Wilson et Wiseman en 1954, sur des rats et des hamsters, pour l'étude du transport de sucres et d'acides aminés de la muqueuse à la surface de la séreuse. L'intestin est prélevé de l'animal et est retourné sous forme de sac, la région étudiée est plongée dans un soluté physiologique salin contenant la molécule à étudier. Dans un premier temps, le fragment intestinal est retourné, ce qui permet d'éva-

luer l'absorption par un mécanisme de diffusion passive. Dans un second temps, le fragment intestinal est de nouveau retourné pour permettre l'évaluation de l'absorption par un mécanisme de transport actif.

Bien que ce modèle permette l'analyse de l'absorption bidirectionnelle, il présente des limites puisqu'il n'est pas innervé ni vascularisé et que l'éversion du tissu intestinal peut provoquer des lésions morphologiques modifiant les capacités d'absorption.

La chambre de Ussing

Ce modèle expérimental *ex vivo* a été mis au point par Ussing et Zerahn en 1951 pour l'étude du transport actif du sodium comme source de courant électrique dans un circuit isolé de peau de grenouille. Actuellement, ce modèle est utilisé pour l'étude d'absorption intestinale. À l'issue du prélèvement d'un fragment de tissu intestinal, ce dernier est placé entre deux compartiments à partir desquels on peut mesurer la diffusion d'une molécule d'intérêt pharmacologique. Les deux extrémités du fragment tissulaire plongent chacune dans des solutions osmotiques maintenues à 37 °C. La viabilité du tissu est observée grâce à deux paires d'électrodes dans chaque compartiment afin de mesurer la résistivité de la préparation (figure 2.12). Cette technique présente l'avantage de permettre l'étude des différences d'absorption en fonction des différents segments intestinaux, mais également d'identifier les effets de certains composés sur les paramètres électrophysiologies de la barrière intestinale. Cette technique nécessite une faible quantité de principe actif mais malheureusement, des modifications morphologiques et fonctionnelles du prélèvement intestinal peuvent être rencontrées au cours de l'expérience.

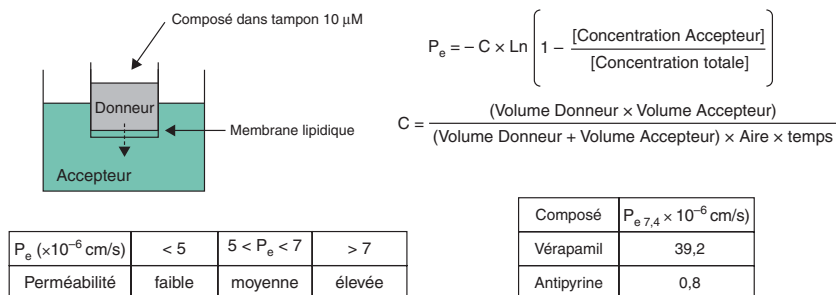


Figure 2.11

Représentation schématique du modèle PAMPA et calcul de la perméabilité effective

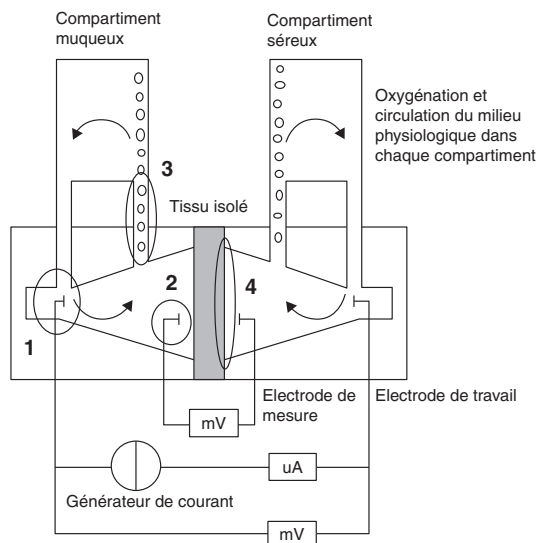


Figure 2.12

Représentation schématique du modèle expérimental de chambre de Ussing
 1. Interface métal-liquide ou liquide-liquide selon les électrodes de travail; 2. interface liquide-liquide pour les électrodes de mesure; 3. interface gaz-liquide pour le bullage de carbogène; 4. interface tissu biologique-solution.

Les méthodes *in vivo*

Le modèle d'intestin perfusé

Cette méthode expérimentale consiste à injecter un composé par perfusion dans un segment intestinal. Cette technique permet l'étude du transport et du métabolisme intestinal, l'étude de perméabilité et la cinétique de nouvelles molécules. Les études ne peuvent être envisagées que sur des modèles animaux anesthésiés à qui des solutions de concentrations connues en principe actif seront administrées dans un segment intestinal cathétérisé en boucle ouverte ou fermée (figure 2.13).

Le modèle sur rat entier

Les études *in vivo* doivent être réalisées sur deux espèces animales différentes incluant un rongeur et un non rongeur (chat, chien, mini-porc...). Le modèle de rongeur uti-

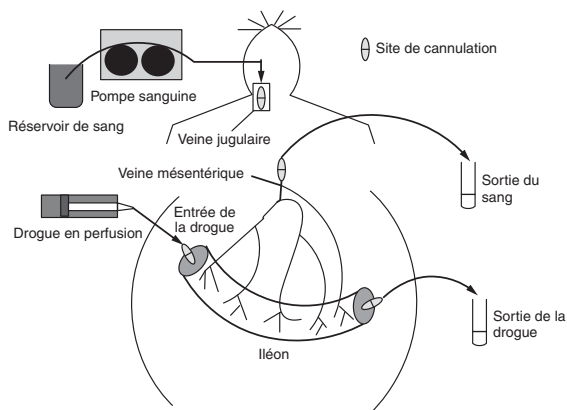


Figure 2.13

Modèle de perfusion intestinale chez le rat

Source : Zhang J, Huang M, Guan S et al. A Mechanistic Study of the Intestinal Absorption of Cryptotanshinone, the Major Active Constituent of *Salvia miltiorrhiza*. J Pharmacol Exp Ther 2006; 317 : 1285-94.

lisé pour les études d'absorption est le rat, qui reflète bien la physiologie humaine. Le principe de ces études consiste à administrer des doses de principe actif à des animaux par voie orale, intraveineuse ou d'autres voies d'intérêt. Le principal avantage de la technique est de pouvoir évaluer en conditions « réelles » les mécanismes d'absorption de principes actifs. Cependant, sur des modèles intégrés, il est beaucoup plus difficile de discriminer l'implication de tel ou tel intermédiaire impliqué dans ce processus physiologique.

Comme l'ensemble des études réalisées sur l'animal, ce modèle présente un inconvénient économique et éthique puisqu'en effet, il impose de travailler sur un nombre suffisant d'animaux de manière à obtenir des résultats significatifs. Toutefois, la réglementation relative à l'expérimentation animale impose de prouver que d'autres études *in vitro* ont permis d'apporter des conclusions insuffisantes et que seule l'analyse sur animaux entiers permettra d'apporter des données complémentaires indispensables; il convient également de limiter le nombre d'animaux inclus dans le protocole expérimental.

ENTRAÎNEMENT 2 QCM

QCM 1

La diffusion d'un médicament dans l'organisme :

- A Est possible par transport passif pour une molécule totalement sous forme ionisée.
- B Est dite « facilitée » si un transporteur est nécessaire sans apport d'énergie.
- C Est influencée par ses caractéristiques physico-chimiques.
- D Est un processus qui peut être mis en évidence sur les courbes concentration = f(temps).

QCM 2

Une absorption rapide d'un principe actif est obtenue par une administration par :

- A La voie sublinguale.
- B La voie auriculaire.
- C La voie orale.
- D La voie pulmonaire.

QCM 3

Parmi les propositions suivantes relatives à la voie rectale, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A La voie rectale permet un effet général ou local.
- B La voie rectale évite en partie le passage hépatique.

C Après administration d'un suppositoire, l'absorption du principe actif est très lente.

D La voie rectale ne peut pas être utilisée pour l'administration de composés au goût amer.

QCM 4

L'administration d'un médicament par voie orale :

- A Est la voie de référence en pharmacocinétique.
- B Permet de connaître exactement la dose absorbée.
- C Peut être une cause de mauvaise observance.
- D Permet d'éviter un effet de premier passage hépatique.
- E Est réservée aux formes à libération prolongée.

QCM 5

L'intérêt de l'administration d'un médicament par voie perlinguale est :

- A D'obtenir une absorption lente et progressive.
- B D'obtenir une absorption rapide.
- C D'éviter une inactivation par les enzymes digestives.
- D D'éviter le métabolisme de premier passage hépatique.
- E De diminuer la liaison aux protéines plasmatiques.



Continuez à vous entraîner en ligne



