

2011.2888.9

Université de Montréal

**PHARMACOCINÉTIQUE DU PROPOFOL CHEZ DES CHIENS**  
**EN CROISSANCE : SOURCES DE VARIABILITÉ**

Par

Kerrar Chérifa

Faculté de pharmacie

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maître ès sciences (M. Sc.)

en pharmacologie

Février 2001

Kerrar Chérifa, 2001



W  
H  
N58  
2001  
N. 086

Page d'identification du jury

Université de Montréal  
Faculté des Études Supérieures

Ce mémoire intitulé :

Pharmacocinétique du propofol chez des chiens en croissance: Sources de  
variabilité.

Présenté par :

Kerrar Chérifa

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

M. J.G, Besner, directeur de recherche

Mme S. Cuvelliez, co-directeur de recherche

Mme F. Varin, évaluateur

M. J.N Mc Mullen, évaluateur

Mémoire accepté le :

Je dédie ce mémoire à mon père Abdel Madjid Kerrar.

## Remerciements

Je tiens à remercier M. Besner mon directeur de recherche pour m'avoir accordé sa confiance, pour son soutien tout au long de ce projet, et surtout pour son grand humanisme. Merci à Mme Sophie Cuvelliez ma co-directrice, qui a pris en charge la partie clinique de ce projet et pour les corrections qu'elle a apportées à ce mémoire. Merci à Jérôme Del Castillo pour ses conseils avertis. Merci aussi à Mme Suzanne Leroux qui m'a apporté une aide technique précieuse en analyse HPLC. Enfin, merci à toutes les personnes que j'ai côtoyées pendant ces deux dernières années, ont su par leur présence et leur compagnie colorer mes journées.

## SOMMAIRE

Le propofol est un agent anesthésique intraveineux qui jouit d'une popularité grandissante dans la pratique vétérinaire. Dans le cadre clinique, il est avantageux de tenir compte de la variabilité de la pharmacocinétique des médicaments et d'ajuster la dose en fonction des caractéristiques du patient pour l'obtention d'un effet optimal. De nombreuses études ont été menées pour l'étude pharmacocinétique du propofol chez le chien, mais elles se sont déroulées dans un cadre contrôlé ne tenant pas compte de la variabilité rencontrée en pratique clinique. Cette étude a pour objectif de déterminer les facteurs de variation de la pharmacocinétique du propofol chez des chiens en croissance dans un cadre clinique.

Les chiens ayant participé à l'étude sont des chiens guides de travail et ont été anesthésiés à six mois (n = 34), douze mois (n = 24) et vingt quatre mois (n = 40) pour des procédures diagnostiques de dysplasie de la hanche. Deux types de prémédications ont été utilisés : Un groupe (prémédication 1) a reçu de l'acépromazine seule (0,05 mg/kg IM); et un deuxième groupe (prémédication 2) a reçu une combinaison d'acépromazine (0,05 mg/kg IM) et de butorphanol (0,1 mg/kg IM). L'anesthésie était induite via un cathéter céphalique par une dose bolus de propofol (5 mg/kg environ), puis maintenue par une perfusion (0,360 mg/kg/min initialement). Les doses étaient ajustées aux paramètres cliniques observés individuellement et des bolus supplémentaires étaient administrés si cela s'avérait nécessaire. Des échantillons sanguins ont été prélevés à t = 0, 2, 4, 6, 10, 15, 20, 30, temps de déglutition, temps sternal, temps debout, temps mobile, 120, 180, 240, 300 min. Le plasma a été analysé par une méthode chromatographique liquide à haute performance avec une détection fluorimétrique validée.

Les profils et les paramètres pharmacocinétiques obtenus démontrent une grande variabilité. Les clairances moyennes sont de 30.0 ml/min/kg à six mois, 21.0 ml/min/kg à douze mois et 25.5 ml/min/kg à vingt quatre mois. Les volumes de distribution se situent dans un intervalle compris entre 0.9 et 6.6 L/kg. La moyenne obtenue est de 2.35 L/kg, 2.02 L/kg et 2.02 L/kg à six, douze et vingt quatre mois respectivement. La moyenne des temps de demi-vie est de 115.87 min à six mois, de 150.50 à douze mois, et de 134.5 min à vingt quatre mois. Le temps moyen de déglutition est de 15 min, le

temps moyen de maintenance de la position sternale de 28.19 min et le temps de maintenance de la position debout de 61.45 min. Les concentrations au réveil obtenues sont les suivantes : Concentrations au temps de déglutition comprises entre 2.4 et 8.2 µg/ ml et concentrations au temps de mobilité comprises entre 1.3 et 2.2 µg/ ml.

La dose de maintien ainsi que les concentrations au moment du recouvrement de la position sternale sont diminuées dans le groupe ayant reçu la combinaison acépromazine et butorphanol ( $p < 0.05$ ) à six mois, douze mois et vingt quatre mois. Ce résultat démontre que la profondeur d'anesthésie est plus élevée avec cette prémédication. Les temps de réveil tendent à être plus longs avec la prémédication 2 mais sans atteindre une signification statistique.

L'âge s'est avéré affecter la concentration au réveil, la clairance et la dose de maintien. La clairance diminue entre six et douze mois de 30 % pour augmenter par la suite à vingt quatre mois de 15%. La clairance et la dose de maintien plus élevées à six mois sont attribuées au débit sanguin plus élevé dans ce groupe d'âge. Leur augmentation à vingt quatre mois de 15% est dû probablement au métabolisme basal plus élevé à cet âge.

D'autre part une interaction pharmacocinétique entre le butorphanol et le propofol a été observée chez les chiens mâles de six mois. Cette interaction est attribuée à une dépression respiratoire plus importante chez les mâles qui sont plus sensibles au butorphanol.

Aussi, les femelles tendent à montrer des temps et des concentrations de réveil plus importants que les mâles, mais la grande variabilité des résultats ne permet pas de conclure en un effet statistiquement significatif.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>CHAPITRE I : INTRODUCTION .....</b>	<b>15</b>
<b>A- PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES ET FORMULATION.....</b>	<b>4</b>
<b>B- MÉCANISME D'ACTION.....</b>	<b>4</b>
<b>C- EFFETS PHARMACOLOGIQUES DU PROPOFOL .....</b>	<b>5</b>
1- ACTION SUR LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL .....	5
2- ACTION SUR LE SYSTÈME CARDIOVASCULAIRE.....	6
3- ACTION SUR LE SYSTÈME RESPIRATOIRE.....	6
4- ACTION SUR LES AUTRES ORGANES.....	7
<b>D- RELATION CONCENTRATION - EFFET .....</b>	<b>7</b>
<b>E- INTÉRÊT DE LA PRÉMÉDICATION .....</b>	<b>8</b>
<b>F- PHARMACOCINÉTIQUE DU PROPOFOL .....</b>	<b>9</b>
1- DISTRIBUTION .....	9
2- MÉTABOLISME.....	11
3- ÉLIMINATION .....	13
 <b>CHAPITRE II : VALIDATION DE LA MÉTHODE D'ANALYSE DU PROPOFOL DANS LE PLASMA ET ÉTUDE DE COMPATIBILITÉ AVEC LES CONTENANTS.....</b>	 <b>15</b>
<b>A- INTRODUCTION.....</b>	<b>16</b>
1. ANALYSE QUANTITATIVE EN PHARMACOCINÉTIQUE .....	16
1.1 Lieu de prélèvement.....	16
1.2 Le milieu biologique.....	17
1.3 Préparation des échantillons.....	18
1.4 Méthodes d'analyse.....	19
2. STABILITÉ DE LA PRÉPARATION VÉTÉRINAIRE RAPINOVET®.....	28
2.1 Stabilité chimique du propofol.....	28
2.2 Stabilité physicochimique de l'intralipide®.....	28
2.3 Compatibilité avec le contenant .....	29

<b>B. MATÉRIEL ET MÉTHODE .....</b>	<b>31</b>
1. ANALYSE QUANTITATIVE DU PROPOFOL .....	31
1.1 Matériel .....	31
1.2 Préparation des solutions .....	31
1.3 Préparation des échantillons plasmatiques .....	31
1.4 Appareillage .....	32
1.5 Conditions HPLC .....	32
1.6 Courbes d'étalonnage .....	32
2. ÉTUDE DE COMPATIBILITÉ AVEC LE CONTENANT .....	33
2.1 Compatibilité du propofol avec le polypropylène .....	33
2.2 Propofol dans les échantillons sanguins .....	34
3. COMPATIBILITÉ DU PROPOFOL AVEC LES CIRCUITS EXTRACORPORELS. ....	35
3.1 Compatibilité avec le dispositif de perfusions. ....	35
3.2 Compatibilité avec le dispositif pour administration en bolus et en perfusion à l'aide de pousse-seringues .....	36
 <b>C. RÉSULTATS .....</b>	 <b>37</b>
1. ANALYSE QUANTITATIVE DU PROPOFOL .....	37
1.1 Courbe d'étalonnage .....	37
1.2 Exactitude et précision .....	38
1.3 Pourcentage de recouvrement .....	41
2. ÉTUDE DE COMPATIBILITÉ AVEC LE CONTENANT .....	42
2.1 Compatibilité du propofol en solution dans l'eau pure avec les contenants de polypropylène et de verre. ....	42
2.2 Diffusion du propofol à travers le contenant. ....	45
2.3 Propofol dans les échantillons sanguins .....	47
3. COMPATIBILITÉ DU PROPOFOL AVEC LES CIRCUITS EXTRACORPORELS. ....	49
3.1 Compatibilité avec le dispositif pour perfusions. ....	49
3.2 Compatibilité avec le dispositif pour administration en bolus et en perfusion à l'aide de pousse-seringues .....	51
 <b>D. DISCUSSION .....</b>	 <b>53</b>
 <b>E. CONCLUSION .....</b>	 <b>57</b>

## **CHAPITRE III : PHARMACOCINÉTIQUE DU PROPOFOL, EFFET DE L'ÂGE, DU SEXE ET DE LA PRÉMÉDICATION.....58**

### **A- FACTEURS AFFECTANT LA CINÉTIQUE ET LA DYNAMIE DES MÉDICAMENTS.....59**

1. LA DISTRIBUTION .....	59
1.1 Le pH .....	60
1.2 Le débit sanguin régional.....	61
1.3 Liaison protéique .....	65
2. BIOTRANSFORMATION.....	71
2.1 Facteur de variation du métabolisme :L'espèce .....	75
2.2 Facteur de variation du métabolisme : Le profil génétique.....	80
2.3 Facteur de variation du métabolisme :L'âge.....	82
3. EXCRETION.....	88
3.1 Excrétion rénale .....	89
3.2 Excrétion biliaire.....	90
4. FACTEURS AFFECTANT LA DYNAMIE DES MÉDICAMENTS.....	90
4.1 Facteur de variation de la dynamique : Le sexe .....	91
4.2 Facteur de variation de la dynamique : La co- médication.....	92
4.3 Facteur de variation de la dynamique : Le profil génétique.....	92

### **B. MATÉRIEL ET MÉTHODE .....94**

1. ANIMAUX.....	94
2. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.....	95
2.1 Prémédication .....	95
2.2 Induction de l'anesthésie .....	96
2.3 Maintien de l'anesthésie .....	96
2.5 Prélèvement des échantillons sanguins .....	97
3. LES PARAMÈTRES MESURÉS.....	98
3.1 Les temps et concentrations de réveil.....	98
3.2. Analyse pharmacocinétique.....	98
3.3. Analyse statistique.....	100

### **C. RÉSULTATS.....101**

1. DOSES ADMINISTRÉES .....	101
1.1 Chiens âgés de six mois.....	101
1.2 Chiens âgés de douze mois.....	102
1.3 Chiens âgés de vingt quatre mois.....	103
1.4 Effet de l'âge sur la dose de propofol requise.....	104

2. PHARMACOCINÉTIQUE.....	107
2.1 Effet de la prémédication et du sexe.....	107
2.2 Effet de l'âge sur la pharmacocinétique du propofol.....	119
3. CONCENTRATIONS ET TEMPS DE RÉVEIL.....	123
3.1 Effet de la prémédication et du sexe sur les concentrations et les temps de réveil.....	124
3.2 Effet de l'âge sur la pharmacodynamie du propofol.....	127
D. DISCUSSION.....	131
<b>CHAPITRE IV : CONCLUSION.....</b>	<b>139</b>
<b>RÉFÉRENCES.....</b>	<b>142</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Effet de la prémédication sur la dose nécessaire pour induire et maintenir l'anesthésie générale chez le chien <sup>57</sup> .....	8
Tableau II : Paramètres pharmacocinétiques du propofol chez le chien .....	10
Tableau III : Méthodes d'extraction du propofol à partir des milieux biologiques .....	20
Tableau IV : Domaine d'application des détecteurs couplés à la chromatographie gazeuse, utilisés pour la quantification des médicaments en milieux biologiques .....	22
Tableau V : Méthodes d'analyse pour la quantification du propofol publiées dans la littérature. ....	27
Tableau VI : Coefficients de corrélation, ordonnées à l'origine et pentes obtenues pour cinq courbes d'étalonnage du propofol dans le plasma canin. ....	38
Tableau VII : Précision et exactitude obtenues pour cinq séries d'analyse.....	39
Tableau VIII : Précision et exactitude de la méthode dans une même série d'analyse .....	40
Tableau IX : Pourcentage de recouvrement de la méthode d'extraction .....	41
Tableau X : Stabilité du propofol en solution dans l'eau et l'acétonitrile (50:50% v/v) après trois cycles de gel et dégel .....	42
Tableau XI : Stabilité à long terme du propofol dans l'eau et l'acétonitrile après gels et dégels. ....	43
Tableau XII : Stabilité du propofol en solution dans l'eau et l'acétonitrile ( 50:50 % v/v ). ....	44
Tableau XIII : Stabilité à long terme du propofol à 2000 ng/ml en solution dans l'eau et l'acétonitrile dans le polypropylène et dans le verre .....	45
Tableau XIV : Phénomène de diffusion à travers les parois des tubes de polypropylène. ....	46
Tableau XV : Distribution du propofol entre le plasma et les globules rouges après l'administration en bolus d'une dose de 2 mg/kg. ....	47
Tableau XVI : Compatibilité du propofol en solution dans le plasma avec les tubes de polypropylène à une température de 4 °C.....	48

Tableau XVII : Compatibilité du propofol en solution dans le plasma avec les tubes de polypropylène après trois cycles de gel et de dégel.....	48
Tableau XVIII : Compatibilité d'une solution de propofol à 2 mg/ml dans le dextrose 5%.....	49
Tableau XIX : Compatibilité du propofol avec le tuyau de PVC.....	50
Tableau XX : Compatibilité de l'émulsion de propofol avec les seringues de polypropylène à haute densité.....	51
Tableau XXI : Taux d'eau et débit sanguin de quelques organes humains .....	62
Tableau XXII : Influence de la liaison aux protéines plasmatiques sur le volume de distribution, la clairance et le temps de demi-vie .....	66
Tableau XXIIIa : Inhabilité de certaines espèces à conduire certaines réactions de conjugaison classiques.....	78
Tableau XXIIIb : Réactions de conjugaison classiques propres à des espèces particulières.....	79
Tableau XXIV : Effet de l'âge sur l'activité in vivo des isoformes du CYP450 .....	85
Tableau XXV : Données démographiques des chiens avec profil complet à l'âge de six mois, douze mois et vingt quatre mois.....	94
Tableau XXVI : Doses de prémédications administrée dans chacun des groupes de prémédication. ....	95
Tableau XXVII : Doses d'induction administrées dans les différents groupes de prémédication. ....	96
Tableau XXVIII : Temps de réveil mesurés .....	98
Tableau XXIX : Doses de propofol administrées pour l'induction et le maintien de l'anesthésie des chiens âgés de six mois.....	101
Tableau XXX : Doses de propofol administrées pour l'induction et le maintien de l'anesthésie des chiens âgés de douze mois.....	102
Tableau XXXI : Doses de propofol administrées pour l'induction et le maintien de l'anesthésie des chiens âgés de vingt quatre mois.....	103
Tableau XXXII : Paramètres pharmacocinétiques obtenus chez les chiens âgés de six mois. ....	108
Tableau XXXIII : Paramètres pharmacocinétiques obtenus chez les chiens âgés de douze mois .....	112
Tableau XXXIV : Paramètres pharmacocinétiques obtenus chez les chiens âgés de vingt quatre mois.....	116

**Tableau XXXV : Temps et concentrations de réveil observés chez les chiens âgés de six mois. .... 124**

**Tableau XXXVI : Temps et concentrations de réveil observés chez les chiens âgés de douze mois. .... 125**

**Tableau XXXVII : Temps et concentrations de réveil observés chez les chiens âgés de vingt quatre mois. .... 126**

## LISTE DES FIGURES

Figure1 : Structure chimique de quelques agents anesthésiques intraveineux .....	3
Figure 2 : Voies métaboliques du propofol chez le chien .....	12
Figure 3 : Domaine des concentrations mesurables par les techniques analytiques utilisées pour la quantification des médicaments en milieu biologique.....	21
Figure 4: Équilibres existant en chromatographie liquide et en chromatographie gazeuse.....	23
Figure 5 : Exemple de courbe d'étalonnage du propofol dans le plasma canin....	37
Figure 6: Stabilité d'une solution de propofol à 2000 ng/ml dans l'eau et l'acétonitrile (50:50 % v/v) dans le polypropylène et le verre.....	45
Figure 7 : Phénomène de diffusion à travers les parois des tubes de polypropylène. ....	46
Figure 8 : Mise en évidence de la source de la perte de propofol dans le dispositif pour perfusion.....	49
Figure 9 : Évaluation de la perte de propofol dans un tuyau de PVC.....	50
Figure 10 : Métabolisme du propofol chez différentes espèces <sup>63</sup> .....	76
Figure 12: Effet de l'âge sur la dose requise pour le maintien de l'anesthésie ....	105
Figure 13 : Effet de l'âge sur la dose requise pour l'induction de l'anesthésie....	106
Figure 14 : Effet de l'âge sur le taux de chiens ayant nécessité l'administration de bolus supplémentaires .....	106
Figure 15 : Profils pharmacocinétiques de tous les chiens âgés de six mois (n=33) .....	107
Figure 16a : Effet de la prémédication sur le profil pharmacocinétique du propofol chez les femelles âgées de six mois.....	109
Figure 16b: Effet de la prémédication sur la pharmacocinétique du propofol chez les mâles âgés de six mois. ....	109
Figure 17a : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine et de butorphanol.....	110

Figure 17b : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine seule.....	110
Figure 18 : Profils pharmacocinétiques de tous les chiens âgés de douze mois (n = 26). .....	111
Figure 19a : Effet de la prémédication sur la pharmacocinétique du propofol des femelles âgées de douze mois. ....	113
Figure 19b: Effet de la prémédication au butorphanol chez les chiens mâles âgés de douze mois. ....	113
Figure 20a : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine seule.....	114
Figure 20b : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine et de butorphanol. ....	114
Figure 21 : Profils pharmacocinétiques de tous les chiens âgés de vingt quatre mois (n=42). .....	115
Figure 22a : Effet de la prémédication au butorphanol chez les femelles âgées de vingt quatre mois. ....	117
Figure 22b: Effet de la prémédication au butorphanol chez les chiens mâles âgés de vingt quatre mois. ....	117
Figure 22c : Effet du sexe et de la prémédication sur les profils pharmacocinétiques des chiens âgés de vingt quatre mois.....	118
Figures 23a et 23b : Variation de la clairance ajustée au poids et de la clairance métabolique du propofol en fonction de l'âge, du sexe, et de la prémédication..	119
Figure 24 : Effet de l'âge, de la prémédication et du sexe sur le volume de distribution .....	120
Figure 25 : Effet de l'âge sur le temps de demi-vie.....	121
Figure 26a : Effet de l'âge sur les profils pharmacocinétiques des femelles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine.....	122
Figure 26b : Effet de l'âge sur les profils pharmacocinétiques des femelles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine et de butorphanol.....	122
Figure 26c : Effet de l'âge sur le profil pharmacocinétique des mâles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine seule. ....	123
Figure 26d : Effet de l'âge sur le profil pharmacocinétique des mâles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine et de butorphanol. ....	123
Figure 27 : Effet de l'âge sur les concentrations de déglutition .....	127

Figure 28 : Effet de l'âge sur les temps de déglutition .....	127
Figure 29 : Effet de l'âge sur les concentrations plasmatiques au moment de la capacité de l'animal à se maintenir en position sternale .....	128
Figure 30 : Effet de l'âge sur le temps nécessaire pour que l'animal recouvre la capacité de se maintenir en position sternale .....	128
Figure 31 : Effet de l'âge sur les concentrations plasmatiques au moment du recouvrement de la capacité à se maintenir debout.....	129
Figure 32 : Effet de l'âge sur le temps nécessaire pour le recouvrement de la faculté de se maintenir debout après l'arrêt de la perfusion .....	129
Figure 33 : Effet de l'âge sur les concentrations plasmatiques de propofol au moment du recouvrement des réflexes psychomoteurs après l'arrêt de la perfusion .....	130
Figure 34 : Effet de l'âge sur le temps nécessaire après l'arrêt de la perfusion pour le recouvrement des réflexes psychomoteurs .....	130

## LISTE DES ABBRÉVIATIONS

ASC :	Aire sous la courbe de la concentration plasmatique en fonction du temps zéro à l'infini après l'administration d'une dose de médicament.
ASMC :	Aire sous le premier moment de la courbe.
CL <sub>h</sub> :	Clairance hépatique.
CL :	Clairance totale.
CL <sub>int</sub> :	Clairance intrinsèque.
D :	Dose totale administrée.
E :	Coefficient d'extraction hépatique.
fu :	Fraction libre.
fut :	Fraction libre tissulaire.
ke :	Constante de vitesse d'élimination.
T <sub>1/2</sub> :	Temps de demi-vie d'élimination.
TMS :	Temps de séjour moyen.
Ve <sub>q</sub> :	Volume apparent de distribution à l'équilibre déterminé à partir des concentrations plasmatiques.
V <sub>T</sub> :	Volume tissulaire.

**CHAPITRE I : INTRODUCTION**

Un traumatisme infligé à l'organisme, qu'il soit provoqué par un accident ou par une opération chirurgicale, engendre toujours les mêmes réactions : Un signal de douleur (nociceptif) traverse la corde spinale pour déclencher une batterie de réactions développées à l'origine pour la protection de l'organisme : La sensation de douleur consiste en fait en un avertissement signalant qu'il faut poser une action pour arrêter le traumatisme, et la cause du traumatisme est mémorisée de manière à l'éviter dans le futur. Une réaction autonome est initiée par l'augmentation, entre autres, du rythme cardiaque afin de maintenir le débit sanguin ainsi que la pression sanguine à un niveau acceptable en cas de pertes sanguines. De plus, une réponse somatique est déclenchée par l'augmentation de la tension musculaire au niveau du site où a eu lieu le traumatisme. Les tissus sont ainsi protégés d'une pénétration plus importante de l'agent l'ayant provoqué et un mouvement de rétraction est initié pour expulser la source de la lésion, voire de la blessure<sup>1</sup>. Cette série de réactions est indésirable au cours d'une opération chirurgicale. Les agents anesthésiques sont de ce fait utilisés pour les contrôler ou les éliminer, et leur introduction en médecine au 19<sup>ème</sup> siècle a transformé les chirurgies initialement douloureuses et dans plusieurs cas aboutissant à un échec, en opérations sécuritaires et dont les résultats sont souvent prédictibles.

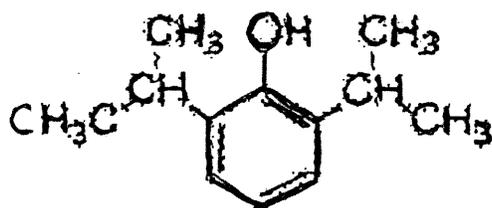
En pratique vétérinaire, l'anesthésie générale est nécessaire aussi bien pour des raisons humanitaires que pour faciliter l'intervention et protéger les opérateurs. Elle est utilisée pour l'immobilisation de l'animal pour réaliser des procédures contraignantes telles les radiographies ou le nettoyage dentaire, pour réaliser une opération chirurgicale, pour le contrôle de convulsions, ou pour l'euthanasie<sup>2</sup>.

L'anesthésie locale et régionale bloque le signal nocicepteur avant qu'il n'atteigne le système nerveux central. L'anesthésie générale, elle, contrôle la réponse du système nerveux central à différents niveaux. L'analgésie, l'inconscience, et la relaxation musculaire en sont les principaux éléments. Les analgésiques agissent au niveau de la corde spinale et des structures profondes du cerveau en supprimant le signal nociceptif avant que la conscience et que les réponses autonomes et somatiques ne soient activées. Les hypnotiques semblent agir au niveau de la réponse et en particulier de l'altération de l'état de conscience. Enfin, les relaxants musculaires contrôlent la réponse somatique des muscles striés au niveau de la jonction neuromusculaire.

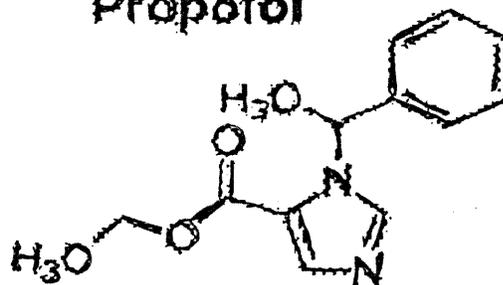
Les anesthésiques volatils tels l'éther ou le chloroforme produisent ces trois effets et ont largement été utilisés pendant plus d'une centaine d'années. Ils induisent une anesthésie générale rapidement et le réveil est tout aussi rapide. Il est apparu cependant que la profondeur de l'anesthésie produite n'est pas suffisante à des doses thérapeutiques ne provoquant pas de dépression respiratoire trop importante<sup>3</sup>. Les anesthésiques intraveineux alors existant procuraient une profondeur d'anesthésie adéquate mais leur durée d'action était trop longue. Une alternative à ce problème a été de les utiliser pour l'induction de l'anesthésie, tout en utilisant des anesthésiques volatils pour son maintien. Il demeurait cependant intéressant d'éviter l'utilisation de ces derniers en raison de la nécessité de disposer d'une installation coûteuse pour leur administration ainsi que du risque de pollution atmosphérique qu'ils engendrent. Des agents anesthésiques intraveineux puissants et dont la durée d'action est courte ont alors été développés pour permettre aussi bien l'induction que le maintien de l'anesthésie<sup>4</sup>. La **figure 1** présente la structure chimique d'agents anesthésiques intraveineux représentatifs. Ceux-ci, bien que possédant des structures chimiques très différentes, produisent leur effet pharmacologique par un mécanisme commun impliquant la modulation positive de la fonction inhibitrice du neurotransmetteur appelé acide  $\gamma$ -aminobutyrique via les récepteurs GABA<sub>A</sub><sup>8</sup>.

Le propofol (2,6-diisopropylphénol) est un agent anesthésique intraveineux qui gagne de plus en plus en popularité. L'induction de l'anesthésie au propofol est rapide et elle peut être maintenue par perfusion intraveineuse ou par administration de bolus itératifs. Il est devenu l'anesthésique de choix dans le cadre de la chirurgie ambulatoire<sup>4</sup>. Son avantage majeur réside dans le fait que les phénomènes d'accumulation sont très peu marqués, permettant un réveil rapide sans effets résiduels négatifs même après une perfusion de très longue durée<sup>5</sup>. Il est utilisé en Europe depuis quelques années pour induire et maintenir l'anesthésie en médecine humaine et vétérinaire ( pour l'anesthésie des chiens et des chats). Il a été commercialisé aux États Unis et au Canada en médecine humaine sous le nom commercial Diprivan depuis 1989 seulement, et en médecine vétérinaire sous le nom commercial Rapinovet, pour l'anesthésie des chiens en 1992 et des chats, depuis 1999.

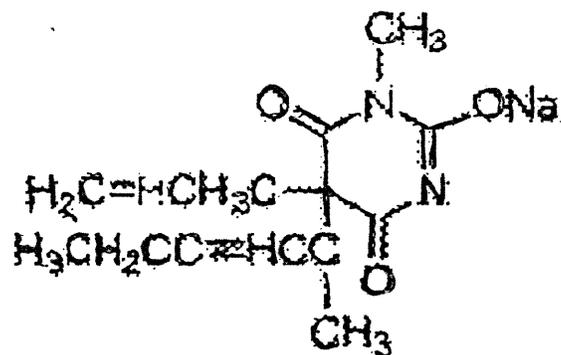
Figure1 : Structure chimique de quelques agents anesthésiques intraveineux



Propofol



Etomidate



Methohexital sodium  
(a barbiturate)

## A- PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES ET FORMULATION

Le Diprivan® et le Rapinovet® sont des émulsions injectables de propofol à 1% poids/volume. Le diisopropyl 2,6-phénol possède un pKa de 11 et il se trouve sous forme non ionisée au pH sanguin. Il est peu soluble dans l'eau au pH physiologique. En revanche, son coefficient de partage octanol - eau est élevé (15 à pH = 7,4)<sup>6</sup>. Cette propriété a orienté la mise en forme galénique vers une incorporation dans la phase huileuse d'une émulsion huile/eau (H/E), constituée d'huile de soja, de glycérol et de lécithines d'œuf et d'eau pour préparation injectable: L'intralipide® à 10% (Kabi Pharmacia).

## B- MÉCANISME D'ACTION

En 1980, suite à la découverte des propriétés anesthésiques du diéthyl 2,6-phénol chez la souris, James & Glen<sup>7</sup> ont étudié l'activité pharmacologique des alkyl phénol et ont découvert que la lipophilicité et le degré d'encombrement stérique engendré par les substituants en position ortho jouent un rôle majeur dans leur efficacité, leur cinétique et leur puissance en tant qu'hypnotiques.

Plusieurs études ont démontré pendant la dernière décennie, que la neurotransmission inhibitrice GABAergique représente le site majeur dans l'action hypnotique du propofol<sup>9</sup>. Le GABA est le neurotransmetteur le plus important dans le système nerveux central des vertébrés. Il agit sélectivement via deux récepteurs appelés GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>B</sub>. Les récepteurs GABA<sub>B</sub> sont couplés aux canaux Ca<sup>2+</sup> et K<sup>+</sup> alors que les récepteurs GABA<sub>A</sub> sont couplés aux canaux chlorure. Ce sont ces derniers récepteurs (GABA<sub>A</sub>) qui présentent l'affinité la plus grande avec le propofol. Il a été démontré qu'il module<sup>9, 10</sup> et qu'il active<sup>11</sup> directement ce récepteur. Les GABA<sub>A</sub> sont composés de sous-unités formant une structure pentamérique et contenant un canal chlorure au centre. Plusieurs classes d'anesthésiques (benzodiazépines, béta-carbolines, barbituriques, alcools) exercent leur effet en interagissant avec un site spécifique de ce récepteur. Le site d'action du propofol est différent de celui des benzodiazépines et des barbituriques<sup>10</sup>. De plus les sites via lesquels le propofol agit de manière allostérique sont différents de ceux via lesquels il agit directement sur les

canaux chlorure<sup>12, 13</sup>. Les sous-unités beta semblent participer à l'action GABA mimétique du propofol.

En dehors des récepteurs GABA, le propofol interagit avec plusieurs autres récepteurs<sup>8</sup>. Parmi eux on compte les récepteurs glycine qui sont aussi liés aux canaux chlorure<sup>10, 14</sup>, les récepteurs nicotiques<sup>15</sup>, les récepteurs glutamate<sup>16</sup>, les récepteurs muscariniques<sup>17</sup> et les canaux sodiques<sup>18</sup>. Tout comme les autres anesthésiques, le mécanisme d'action du propofol est complexe, car des interactions au niveau de différents sites d'action sont impliquées. Celles-ci s'exerçant à des concentrations thérapeutiques, il peut être déduit que l'anesthésie générale induite par le propofol est le résultat de la contribution de toutes ces interactions moléculaires individuelles<sup>19</sup>.

## **C- EFFETS PHARMACOLOGIQUES DU PROPOFOL**

### **1- ACTION SUR LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL**

Le propofol, par le mécanisme décrit précédemment, provoque une dépression dose dépendante du système nerveux central. Il réduit l'activité métabolique générale du cerveau<sup>20</sup>. Il diminue la pression intracrânienne, le débit sanguin cérébral de 26%<sup>21</sup> à 51%<sup>22</sup> et la pression de perfusion cérébrale de 25%<sup>23</sup>. Cependant, l'autorégulation du débit sanguin cérébral aux variations de pression artérielle est conservée ainsi que les réponses vasomotrices aux variations de PaCO<sub>2</sub>.<sup>22</sup>

Similairement aux barbituriques, le propofol peut réduire la pression intracrânienne, la pression intraoculaire et il diminue le besoin métabolique cérébral en oxygène. De ce fait, il a été démontré qu'il atténuerait ou préviendrait les lésions induites par l'ischémie cérébrale chez le chien<sup>22</sup>. En effet, au cours de l'ischémie cérébrale, la faillite énergétique cellulaire et la libération excessive de glutamate, le neuromédiateur excitateur le plus répandu dans le cerveau, induisent le développement des phénomènes d'excitotoxicité neuronale conduisant à la mort cellulaire; et il a été démontré que le propofol module négativement la transmission glutaminergique via les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA)<sup>24</sup>.

On a aussi pu montrer que de faibles doses de propofol, non hypnotiques, sont sédatives chez l'homme et l'animal<sup>25</sup>.

En plus de ses propriétés hypnotiques et sédatives, le propofol possède des effets anti-épileptiques. Ce dernier effet a été l'objet d'une controverse car d'une part, des mouvements anormaux et épileptiformes ont été rapportés<sup>26</sup> et d'autre part, des études systématiques ont démontré son activité anticonvulsivante<sup>27,28,29</sup>. Malgré cette controverse le propofol est recommandé pour les patients épileptiques.

Enfin, contrairement à plusieurs anesthésiques volatils comme l'isoflurane et l'halothane, le propofol ne potentialise pas les récepteurs de la sérotonine. Ces derniers contrôlant le vomissement, leur insensibilité au propofol serait la cause de la faible incidence de nausées et de vomissements au moment du réveil de l'anesthésie.

## **2- ACTION SUR LE SYSTÈME CARDIOVASCULAIRE**

Chez l'homme et chez le chien, le propofol diminue significativement la pression artérielle systémique et le débit sanguin. Les mécanismes sont en théorie soit cardiaques par diminution de la précharge et du débit cardiaque et par diminution de la contractilité myocardique, soit au contraire vasculaires par diminution de la post-charge et des résistances vasculaires systémiques. Alors que les effets cardiaques sont controversés<sup>30</sup>, la plupart des études ont montré que le propofol diminuait les résistances vasculaires systémiques, suggérant un effet vasodilatateur direct<sup>31,32</sup>. Cet effet serait dû à un mécanisme mettant en jeu l'inhibition de l'entrée de calcium dans la cellule musculaire lisse<sup>33</sup>. In vitro, le propofol a principalement un effet vasodilatateur sur le muscle vasculaire. Celui-ci est cependant modulé par la dépression endothéliale de l'activité du NO concomitante induite par le propofol. Malgré la dépression vasculaire induite, la fréquence cardiaque est peu modifiée<sup>34</sup>.

## **3- ACTION SUR LE SYSTÈME RESPIRATOIRE**

Le propofol produit une dépression respiratoire avec une baisse de la fréquence respiratoire et du volume courant. Lors de l'induction d'une anesthésie, une apnée concomitante à l'induction possiblement liée à l'apparition du pic plasmatique a été rapportée<sup>35, 36, 37</sup>. Pour une dose donnée, la vitesse de l'injection influence la dépression respiratoire induite. Chez le mouton, Zheng & coll<sup>38</sup> ont montré que cela est

dû au fait qu'une injection plus rapide engendre des concentrations artérielles plus élevées immédiatement après l'injection. Chez le chien, le maintien de l'anesthésie au propofol provoque une dépression respiratoire modérée et une intubation endotrachéale ainsi qu'une administration d'oxygène sont recommandées.

#### **4- ACTION SUR LES AUTRES ORGANES**

Le propofol ne ralentit pas le transit digestif chez le chien et n'est pas responsable d'altérations hépatiques<sup>39</sup>. Aux doses cliniques, il est dénué d'effets notables sur la fonction rénale et corticosurrénalienne. Il n'augmente pas non plus le taux d'histamine plasmatique, ni d'immunoglobulines. Il ne provoque pas de réaction anaphylactique.

Des études menées chez l'homme n'ont pas mis en évidence de coagulation sanguine due au propofol. D'autre part, il semble induire une broncho-dilatation chez l'homme, attribuée à un effet direct sur le muscle lisse des bronches.

Aussi, il a été montré que le propofol possède des propriétés antioxydantes similaires à celles de la vitamine E<sup>40, 41, 42</sup>. Cette propriété en fait un piègeur de radicaux libres.

#### **D- RELATION CONCENTRATION - EFFET**

La relation concentration – effet du propofol a été étudiée chez l'homme par Vuyck et coll<sup>202</sup>. Une courbe concentration – effet de forme sigmoïde a été établie en augmentant la dose par palier de 0,5 µg/ml toutes les 12 minutes. D'autre part une hystérèse a été observée due à l'équilibration lente entre les concentrations artérielles et cérébrales. Les concentrations plasmatiques nécessaires pour abolir la réponse et induire l'hypnose chez 50% sont de 3,4 µg/ml. La concentration plasmatique de propofol nécessaire pour abolir la réponse à l'intubation a été mise en évidence. En l'absence de toute prémédication, elle varie entre 5 à 7 µg/ml. Chez le chien, Nolan & Reid<sup>44</sup> ont évalué la concentration nécessaire pour abolir tout mouvement à une incision de la peau à 5,7 µg / ml. Une prémédication neuroleptanalgésique constituée de papaveretum et d'acépromazine avait cependant été administrée. La concentration artérielle produisant une hypnose, lorsque le propofol est administré seul a été

déterminée par plusieurs auteurs<sup>45, 46, 47</sup>. Elle varie entre 10 et 12 µg/ml. Les concentrations plasmatiques nécessaires sont dépendantes du type de chirurgie<sup>48</sup>.

La concentration plasmatique à laquelle survient l'ouverture des yeux chez l'homme varie entre 0,74 et 1,66 µg/ml après une perfusion. Chez le chien, le moment du réveil est plus difficile à déterminer. Il se rapproche du moment où l'animal parvient à se maintenir en position sternale (sur l'abdomen). Après une perfusion, les concentrations obtenues sont différentes selon les études. Elles varient entre 1µg et 4 µg<sup>49-53</sup>. Les limites de concentration plasmatique efficace de propofol sont cependant variables selon les agents anesthésiques associés et le type de prémédication.

## E- INTÉRÊT DE LA PRÉMÉDICATION

Lorsque l'administration de propofol est précédée d'une prémédication constituée d'un opioïde ou de médétomidine, la dose d'induction est diminuée significativement. La dose d'induction de propofol est d'environ 6 à 7 mg/kg IV pour un chien auquel aucune prémédication n'a été administrée. Une prémédication peut réduire cette dose de 25 à 75%<sup>54,55</sup> et réduire par conséquent les effets secondaires du propofol sur le système cardiovasculaire et respiratoire. Chez le chien, une dose d'acépromazine de 0,02 à 0,04 mg / kg IM permet de diminuer la dose de propofol nécessaire au maintien de l'anesthésie de 25 à 30 %. La xylazine (1 mg/kg ) et la médétomidine (5-10 µg/kg IV) diminuent la dose de propofol de 50 à 75 % mais elles provoquent une augmentation de la pression artérielle accompagnée d'une bradycardie. Les opioïdes permettent eux aussi de diminuer la dose requise pour l'induction de l'anesthésie chez les petits animaux<sup>56</sup>. De plus la combinaison d'un tranquillisant et d'un analgésique est courante en médecine vétérinaire. Elle induit une neuroleptanalgie et permet de réduire significativement la dose requise. Le tableau I présente les doses de propofol nécessaires pour induire et maintenir l'anesthésie selon le type de prémédication.

**Tableau I : Effet de la prémédication sur la dose nécessaire pour induire et maintenir l'anesthésie générale chez le chien<sup>57</sup>.**

Prémédication	aucune	acépromazine	Xylazine	Médétomidine	Opioïde	Neuroleptanalgie
Dose d'induction (mg/kg)	6 - 7	4 - 5	3 - 4	2 - 3	2 - 4	1 - 2
Dose de maintien (mg/kg/min)	0,4 - 0,5	0,3 - 0,4	0,2 - 0,3	0,2	0,1-0,2	0,1

## F- PHARMACOCINÉTIQUE DU PROPOFOL

La pharmacocinétique du propofol est décrite chez le chien par un modèle ouvert à deux compartiments<sup>53</sup>. Deux fonctions exponentielles constituent ce modèle : La distribution rapide du plasma vers les tissus, et la clairance métabolique rapide à partir du plasma. Chez l'homme, le modèle à trois compartiments est celui qui décrit le mieux sa pharmacocinétique. En plus des deux fonctions exponentielles décrites pour le modèle à deux compartiments, ce modèle en compte une troisième correspondant au retour lent du propofol des tissus faiblement perfusés vers le plasma.

L'induction rapide de l'anesthésie au propofol est due au passage rapide de cet agent très lipophile à travers la barrière hématoencéphalique. D'autre part, le réveil rapide après une administration d'un bolus ou d'une perfusion (même de longue durée) est le résultat de sa redistribution rapide du cerveau vers les tissus périphériques ainsi que de son métabolisme rapide<sup>53</sup>. Le propofol possède un volume de distribution et une clairance élevés

Il existe une relation linéaire entre la dose de propofol administrée (entre 1 et 4 mg/kg) et la concentration plasmatique ainsi que la durée de l'anesthésie<sup>58</sup>. Il existe cependant une grande variabilité interindividuelle dans les paramètres cinétiques et les concentrations plasmatiques à l'équilibre aussi bien chez l'homme<sup>58</sup> que chez le chien. Le tableau II présente les paramètres pharmacocinétiques du propofol publiés dans la littérature.

### 1- DISTRIBUTION

Chez le chien le propofol est lié à 98,1 à 98,9 % aux protéines plasmatiques. Ce taux de liaison est similaire à celui observé chez l'homme (97,7 à 98,2%)<sup>49</sup>. Une étude montrant que le taux réduit d'albumine chez des patients souffrant de déficience hépatique (35,39 g/l versus 50,85 g/l) n'altère pas la liaison aux protéines, suggère que le propofol peut se lier à différentes protéines : Dans le plasma, le propofol se lie fortement à l'albumine (95%) et à une moindre échelle, à l'acide alpha 1 glycoprotéique (54%)<sup>59</sup>. Zamacona & coll<sup>60</sup> ont rapporté qu'il se lie aussi aux lipoprotéines par solubilisation dans leur partie lipidique. Cette dernière observation a été remise en question par Mazoit & coll.<sup>61</sup>

Tableau II : Paramètres pharmacocinétiques du propofol chez le chien

Auteurs	Dose et modalité d'administration	Nombre de sujets et race	Cl (ml/min/kg)	V <sub>dss</sub> (l/kg)	Conc. réveil (µg/ml)	T <sub>1/2</sub> λ <sub>1</sub> (min)	T <sub>1/2</sub> λ <sub>2</sub> (min)	T <sub>1/2</sub> λ <sub>3</sub> (min)	MRT (min)
Cockshott & coll <sup>49</sup>	Bolus, (7 mg/kg)	3 Beagle	76	11,4	2,0	4,2	31	303	-
Cockshott & coll <sup>49</sup>	Bolus + perfusion, (7 mg/kg + 28 mg/kg/h)	3 beagles	34	6,6	4,1	7,4	53	725	-
Zoran & coll <sup>53</sup>	Bolus, (5,28 mg/kg)	10 greyhound	54,0	6,29	1,49	10,98	175,68	-	144,0
Zoran & coll <sup>53</sup>	Bolus, (5,44 mg/kg)	8 croisés	114,8	9,75	0,75	7,67	122,0	-	94,7
Nolan & Reids <sup>51</sup>	Bolus + perfusion, (4 mg/kg + 0,4 mg/kg/min)	3 beagles	50,1	6,510	2,1	322	-	-	131,6
Reid & Nolan <sup>52</sup>	Bolus (4 mg/kg) + Halothane et N <sub>2</sub> O Prém. :acépromazine	7 croisés	39,6	3,58	-	0,78	70,4	-	-
Hall & coll <sup>50</sup>	Bolus + perfusion (5,28 mg/kg + 0,2 mg/kg/min) Métédomidine 10 µg/kg	6 Croisés	36,2	3,38	1,03	136,9	-	-	215,1
Hall & coll <sup>50</sup>	Bolus + perfusion (6,29 mg/kg + 0,4 mg/kg/min)	6 croisés	34,4	6,04	2,2	486,2	-	-	301,8
Nolan & coll <sup>51</sup>	Bolus, (6,5 mg/kg) Halothane et N <sub>2</sub> O	6 croisés	-	-	-	-	-	-	-
Nolan & coll <sup>51</sup>	Bolus, (6,5 mg/kg)	6 croisés	58,6	4,89	-	-	90,9	-	-

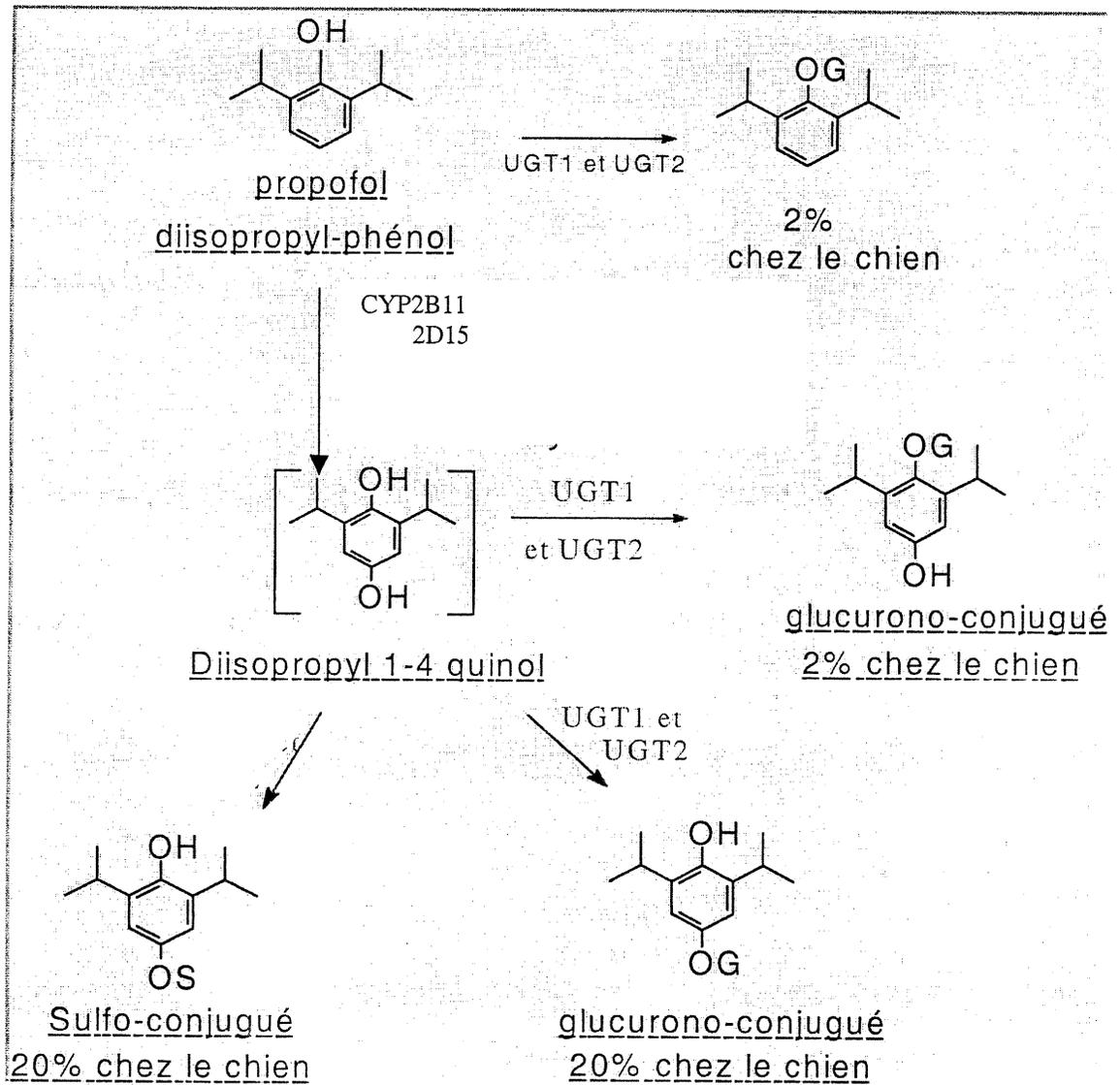
Selon son étude, l'albumine est la seule protéine plasmatique à laquelle le propofol se lie. La liaison aux lipoprotéines observée par Zamacona serait le résultat de la solubilisation du propofol dans les composants lipidiques entourant la partie lipidique des lipoprotéines. Le propofol se lie aussi fortement aux érythrocytes ( 50% ) au niveau de la membrane (40%) ainsi qu'à l'intérieur des cellules ( 60% ). Cette liaison jouerait le même rôle que les tissus faiblement perfusés, absorbant une grande quantité de propofol rapidement puis la libérant petit à petit par la suite <sup>62</sup>.

Le propofol étant un agent très lipophile, il se distribue rapidement et largement du compartiment sanguin vers les tissus périphériques. Son volume de distribution est de ce fait élevé. Il varie de 2,46 à 9,7 L/kg chez le chien. La capacité des sites de redistribution du propofol est élevée et la vitesse d'équilibration avec le compartiment central est lente. Il en résulte qu'après l'arrêt d'une perfusion, la concentration de propofol dans le compartiment central est plus élevée que celles des compartiments périphériques et la redistribution continue de se produire même après une perfusion de longue durée, compte tenu du volume de distribution élevé. La concentration plasmatique diminue donc très rapidement pour atteindre des valeurs en deçà de celles nécessaires pour induire l'hypnose ou la sédation.

## **2- MÉTABOLISME**

La **figure 2**, adaptée de la publication de Simon & coll<sup>63</sup>, présente les voies métaboliques du propofol chez le chien. Chez l'homme plus de 50% de la dose administrée est métabolisée par conjugaison à l'acide glucuronique et à l'ion sulfate pour former le propofol glucuronide et le propofol sulfate <sup>64,65</sup>. Chez le chien par contre, les métabolites majeurs sont les dérivés conjugués (glucuronides et sulfates) du 2,6-diisopropyl-1,4 quinol. Ce dernier intermédiaire n'a pas pu être caractérisé dans les fluides biologiques des espèces pour lesquelles le métabolisme du propofol a été étudié. La biotransformation du propofol en 4-hydroxypropofol est l'étape limitant la vitesse d'élimination du propofol. Les isoenzymes responsables du métabolisme de phase I ont été caractérisés chez l'homme. Plusieurs isoformes du CYP450 sont impliqués <sup>66</sup>. Par ordre d'activité ce sont les suivants : 2C9, 2A6, 1A1, 2C8, 2C18, 2C19, 1A2. Le 2C9 s'est révélé le plus important dans la biotransformation de phase I du propofol chez l'homme eu égard à son activité enzymatique et à son abondance relative.

Figure 2 : Voies métaboliques du propofol chez le chien



Récemment, Kraus & coll<sup>67</sup> ont utilisé des essais sur des microsomes hépatiques pour caractériser les isoformes responsables de l'hydroxylation du propofol. Le CYP 2B11 (équivalent au CYP 2B6 chez l'homme) a montré les meilleures corrélations dans les études d'inhibition, d'immuno-inhibition et d'activité enzymatique et jouerait par conséquent un rôle majeur dans la biotransformation du propofol. Le CYP 2D15 y participerait aussi mais à un degré moindre.

Chez l'homme, un métabolisme extrahépatique a été mis en évidence lors d'un pontage hépatique et d'une phase anhépatique<sup>68,69</sup>. De plus la clairance du propofol est supérieure au débit sanguin hépatique. Gray & coll<sup>70</sup> ont montré que le propofol glucuronide était le métabolite majeur lors d'une transplantation hépatique. D'après une étude *in vitro*<sup>71</sup>, l'intestin et le rein sont des sites de biotransformation extrahépatiques possibles. D'autre part, le métabolisme pulmonaire du propofol reste controversé.<sup>72, 73</sup> Aucune activité enzymatique responsable de la biotransformation du propofol n'a été identifiée jusqu'à présent<sup>74</sup>.

### 3- ÉLIMINATION

Les valeurs de clairance totale du propofol publiées dans la littérature sont très variables. Elles varient entre 34,4 et 114,8 ml/min/kg. Malgré cette grande variabilité, les auteurs s'accordent à dire qu'elle est élevée. Le coefficient d'extraction hépatique du propofol est très élevé (0,90)<sup>75</sup>. Bien que le réveil d'une anesthésie au propofol soit rapide, et que sa clairance soit élevée, son temps de demi-vie est long. Il correspond au retour lent du propofol des tissus adipeux vers le compartiment central. Sa valeur dépend de la durée de prélèvement<sup>76</sup>. Il varie entre 3 et 44 heures.

La pharmacocinétique du propofol peut varier considérablement selon le type de prémédication ainsi que la dose à laquelle elle est administrée, selon le mode d'administration (bolus ou perfusion), et enfin selon les caractéristiques individuelles des sujets. De nombreuses études pharmacocinétiques ont été menées chez le chien. La plupart ne comportaient qu'un nombre restreint d'animaux. De plus elles se sont déroulées dans un cadre contrôlé et rigide (administration de doses préétablies) qui n'est pas représentatif du cadre de la pratique clinique. Cette étude se propose donc de décrire la pharmacocinétique du propofol chez des chiens en croissance devant subir une procédure de diagnostic de la dysplasie de la hanche et de tenter de déterminer ses facteurs de variation.

**CHAPITRE II : VALIDATION DE LA MÉTHODE D'ANALYSE DU  
PROPOFOL DANS LE PLASMA ET ÉTUDE DE COMPATIBILITÉ  
AVEC LES CONTENANTS.**

## **A- INTRODUCTION**

Il y a environ une trentaine d'années, B.B. Brodie a suggéré qu'il est préférable de relier l'effet pharmacologique d'un médicament à sa concentration plasmatique plutôt qu'à la dose administrée<sup>77</sup>. Parallèlement, les techniques analytiques disponibles sont devenues plus sensibles et plus spécifiques. Par conséquent, l'analyse des médicaments dans les liquides biologiques s'est développée de façon importante. Pour décrire la pharmacocinétique d'un médicament il faut déterminer l'évolution des concentrations dans les liquides biologiques. Par conséquent, la mise au point d'une technique analytique fiable est primordiale, avant l'établissement de protocoles et le calcul des paramètres pharmacocinétiques.

## **1. ANALYSE QUANTITATIVE EN PHARMACOCINÉTIQUE**

### **1.1 LIEU DE PRÉLÈVEMENT**

Les échantillons analysés pour les études pharmacocinétiques, sont en général prélevés au niveau d'une veine périphérique<sup>78</sup>, car ce lieu de prélèvement est le plus commode et le moins invasif comparé une veine centrale ou une artère. Il existe cependant un délai de mélange du principe actif dans la biophase. Ce temps de latence est une source d'erreur dans le calcul des paramètres pharmacocinétiques. En effet les méthodes compartimentales supposent que le mélange du médicament dans les compartiments centraux et périphériques est instantané. Le volume de distribution, le temps de demi-vie et la clairance peuvent être sous-estimés si le médicament n'est pas encore mélangé à la biophase lors du prélèvement<sup>79,80</sup>. Le délai de mélange dans les veines périphériques étant prolongé par rapport aux veines centrales, cette erreur est plus grande lorsque les échantillons sanguins proviennent d'une veine périphérique plutôt que d'une veine centrale<sup>81</sup>.

Des différences dans la concentration sanguine de propofol, selon le lieu de prélèvement (sang artériel, périphérique et veineux central) ont été observées les 60 premières secondes après une administration en bolus IV (2 mg/kg en 60 s)<sup>82</sup>. De plus la méthode compartimentale ne permet pas de prédire les concentrations artérielles si le propofol est administré rapidement (100 mg en 30 s, 100 mg en 2 min et 100 mg en 5 min). Par contre l'écart entre les concentrations observées et prédites s'amointrit au fur et à mesure que le temps d'administration augmente, et disparaît pour une perfusion de

plus longue durée (450 mg en 45 min)<sup>80</sup>. Le sang veineux périphérique constitue donc une alternative acceptable au prélèvement artériel dans les études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, quand le propofol est administré en perfusion, et en bolus, à condition d'attendre la fin de la période d'équilibration (60 s).

## **1.2 LE MILIEU BIOLOGIQUE**

Les milieux biologiques constituent un mélange complexe de molécules endogènes. Peu de techniques analytiques sont suffisamment spécifiques pour y doser un médicament directement. La première étape à franchir est donc d'isoler le médicament des molécules susceptibles d'interférer avec son signal.

Les liquides biologiques les plus courants permettant de tracer le profil pharmacocinétique d'un médicament sont l'urine, le sang entier et le plasma. La salive est aussi utilisée pour effectuer le suivi thérapeutique des médicaments antiépileptiques. Malgré la simplicité de prélèvement de cette méthode, son utilisation reste restreinte à cause de difficultés rencontrées dans l'analyse : contamination potentielle, volume insuffisant, interférence possible avec l'acide citrique, faible résolution de la méthode chromatographique, et des facteurs multiples affectant la concentration des médicaments antiépileptiques dans ce milieu .

L'urine ne contient pas de protéines ni de lipides; l'isolation du principe actif en est simplifiée et son prélèvement n'est pas invasif. Elle présente cependant le désavantage d'engendrer des résultats pharmacocinétiques peu précis eu égard aux périodes de collectes, aux variations de pH et aux interférences. Le sang entier est le liquide biologique le plus complexe. C'est un liquide clair tamponné dans lequel des électrolytes, des protéines et des lipides sont en solution, et des solides et des cellules (érythrocytes) sont en suspension. La manipulation du sang entier est délicate. La rupture des globules rouges par une agitation mécanique, une hausse de température, un cycle de gel et dégel, ou un changement de la force ionique du milieu par l'addition d'eau, peut libérer des composants indésirables et rendre la séparation du principe actif plus difficile. Les ions ferriques libérés par les érythrocytes peuvent par exemple chélater le 2-hydroxydesimipramine et diminuer de ce fait le pourcentage de recouvrement<sup>83</sup>. Le dosage d'un principe actif dans le sang entier est particulièrement utile pour déterminer le coefficient d'extraction dans les organes d'élimination à partir de la clairance sanguine. Il est pertinent d'évaluer les paramètres de clairance et de volume de

distribution aussi bien à partir du sang entier que du plasma ou du sérum. Mais c'est en général les concentrations plasmatiques et sériques qui sont utilisées. En effet c'est à partir des concentrations obtenues de ces milieux biologiques qu'ont été effectuées les corrélations concentrations – effets thérapeutiques (à l'exception de la ciclosporine qui se dose dans le sang total); de plus leur manipulation pose moins de difficultés que le sang entier.

Il a été démontré qu'il est préférable d'observer la pharmacocinétique du propofol à partir d'échantillons plasmatiques que d'échantillons sanguins<sup>62, 84</sup>. En effet, un temps de latence dans la redistribution du propofol vers les globules rouges a été observé<sup>84</sup>, et il existe une meilleure corrélation entre la profondeur de l'anesthésie et les concentrations plasmatiques (les globules rouges agissant plutôt comme compartiment de réserve)<sup>62</sup>.

### **1.3 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS**

Le sérum ne diffère du plasma qu'en ce fait qu'il ne contient pas de fibrinogène et de facteurs de coagulation. Le plasma et le sérum contiennent une grande quantité de protéines qui sont chimiquement et physiquement différentes de la plupart des médicaments. Il existe cependant une grande affinité entre ces deux entités (liens de Van Der Waals ou électrostatiques) et il est nécessaire avant d'effectuer toute analyse de les séparer. Il existe trois techniques principales de séparation<sup>85</sup> : la déprotéinisation chimique, l'extraction liquide-liquide, et l'extraction solide-liquide. La méthode la plus simple est de précipiter les protéines et d'isoler le filtrat. Les protéines sont dénaturées par la précipitation et perdent leur capacité de lier le médicament. La déprotéinisation peut être réalisée soit par la modification de la force ionique du milieu (solution saturée de sulfate d'ammonium) ou la modification de la constante diélectrique (acétonitrile, méthanol..), soit par des enzymes protéolytiques, ou par la précipitation de sels insolubles (entre les anions et les groupes aminés chargés des protéines en milieu acide, et entre les cations et les groupements carboxylates des protéines en milieu basique). Cette dernière technique de déprotéinisation est peu courante car elle tend à former des savons difficiles à extraire, et les conditions du milieu favorise la dégradation des principes actifs.

L'extraction par un solvant consiste à ajuster le pH de manière à ce que le principe actif se trouve sous forme non-ionisée et de l'extraire avec un solvant organique

pour lequel son coefficient de partage est élevé. Cette méthode est efficace mais elle est parfois longue et fastidieuse.

L'extraction solide-liquide fait appel aux principes de la chromatographie d'adsorption, de partage ou d'échange d'ion. Les substances à doser sont dans un premier temps retenues par la phase stationnaire, alors que les protéines et les impuretés sont éliminées par lavage (avec un solvant plutôt polaire pour lequel elles ont beaucoup d'affinité et pour lequel le principe actif peu polaire a peu d'affinité). Dans un deuxième temps, l'élution des substances à doser s'effectue par un solvant pour lequel elles ont une grande affinité. Le passage des solutions au travers de ces colonnes s'effectue par gravité ou sous vide. Ces techniques présentent l'avantage d'être rapides et les possibilités d'automatisation les rendent de plus en plus populaires malgré leur coût élevé.

Ces trois méthodes ont été proposées pour le propofol dans la littérature. Le *tableau III* présente l'ensemble de ces méthodes, les conditions dans lesquelles elles sont réalisées, le nombre d'étapes qu'elles comportent ainsi que les pourcentages de recouvrement obtenus.

#### **1.4 MÉTHODES D'ANALYSE**

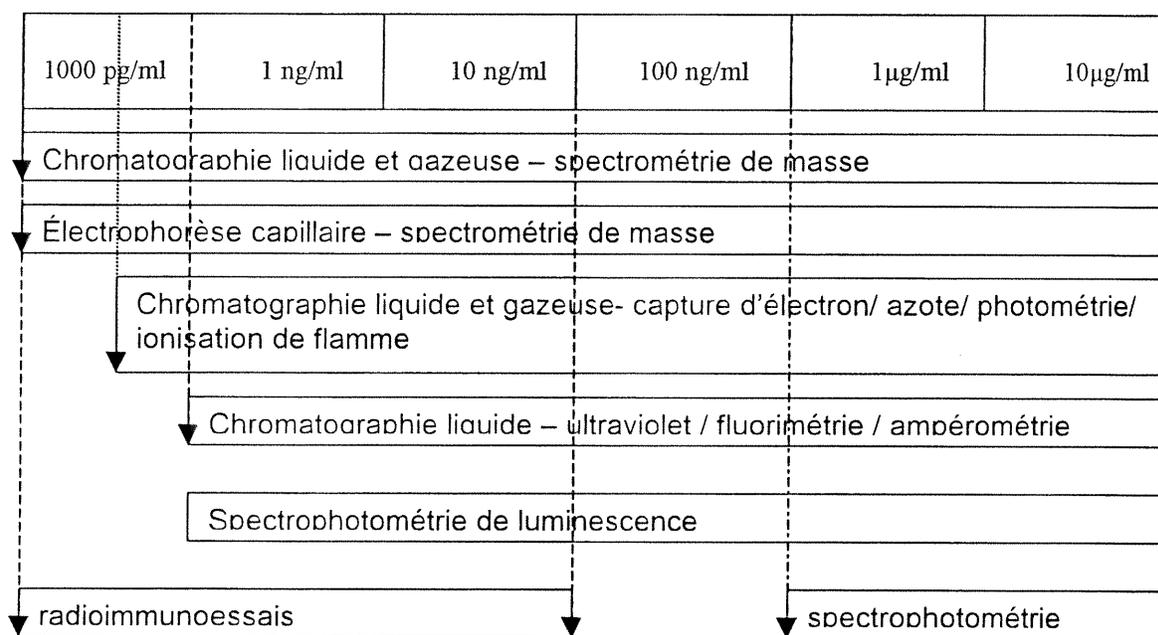
Les principaux facteurs à prendre en compte dans le dosage des échantillons préparés sont les suivants : les caractéristiques physico-chimiques du principe actif, la spécificité de la méthode d'analyse en raison de la présence de métabolites, de protéines résiduelles et d'autres substances endogènes dans le milieu, et sa sensibilité. La précision est importante mais elle est considérée comme acceptable jusqu'à environ 10%.

Auteur	Milieu	Méthode	Conditions	Étapes	Temps (min)	Taux de recouvrement
Adam & all, 1981 <sup>86</sup> Plummer & all, 1987 <sup>87</sup> Yu & all, 1996 <sup>88</sup> Elbast & all, 1996 <sup>89</sup>	Sang entier  Tissu hépatique	Extraction en phase liquide avec le cyclohexane ou chloroforme	T= 25°C Évaporation sous azote SI: thymol	1-Ajout du standard interne 2-Ajout du solvant d'extraction 3-Centrifugation 4-Prélèvement de la phase organique 5-Évaporation du solvant 6-Dissolution dans phase mobile	30	98-104 %  <u>Limite de détection:</u> 2 ng/ml
Vree & all, 1987 <sup>90</sup> Pavan & all, 1992 <sup>91</sup> Vree & all, 1999 <sup>92</sup>	plasma	Précipitation des protéines plasmatiques avec l'acétonitrile	T= 0°C SI:dibutylphtalate	1-Ajout du standard interne et du solvant de précipitation 2-Centrifugation 3-Prélèvement du surnageant	15	99,5 ± 0.5%  <u>Limite de détection:</u> 200 ng/ml
Pullen & all, 1988 <sup>93</sup>	Plasma ou sang entier	Extraction en phase solide (pré colonne greffée de tripeptides hydrophobes)	Colonne 5 µm Débit 1ml/min T= 25 °C	1-Injection de l'échantillon dans la colonne 2-Lavage de la colonne	Pas de préparation de l'échantillon	97-103%  <u>limite de détection</u> 1µg/ml
Mazzi & all, 1990 <sup>94</sup>	Sang entier	Extraction en phase solide	T= 25°C Colonne C <sub>18</sub> 1 ml Phase mobile: méthanol/eau Sous vide	1-Précipitation des protéines avec l'acétonitrile 2-Élution à travers la colonne 3-Lavage de la colonne 4-Séchage de la colonne	20	96%  <u>limite de détection</u> 20µg/ml
Altmayer & all, 1996 <sup>95</sup> El yazigi & all, 1996 <sup>97</sup>	Sang entier ou Urine ou Plasma	Extraction en phase solide	T= 25°C Colonne C <sub>18</sub> 37-50µm Phase mobile:tampon phosphate et acétonitrile Débit 1,3 ml/min	1-Injection de l'échantillon et élution avec solvant polaire 2-Élution avec phase mobile analytique automatique	Pas de préparation de l'échantillon  Résultats en 6mn	100%  <u>limite de détection</u> 5 ng/ml** 20 ng/ml***

Tableau III : Méthodes d'extraction du propofol à partir des milieux biologiques

Un diagramme présentant les domaines de concentrations mesurables par les différentes techniques d'analyse a été développé par de Silva<sup>97</sup>. La **figure 3** présente une adaptation de ce diagramme actualisée aux méthodes développées aujourd'hui. Le dosage des médicaments peut être réalisé par des techniques chromatographiques ou par des dosages immunologiques. Ceux-ci sont très sensibles<sup>97</sup> et plus rapides car ils ne nécessitent pas de préparation de l'échantillon au préalable, mais ils sont onéreux. Ils trouvent leur application dans la médecine légale, la détection des *substances d'abus* et ils sont peu utilisés pour la détermination de la pharmacocinétique des médicaments depuis le développement du couplage des méthodes de séparation avec la spectrométrie de masse ou la spectrométrie de résonance magnétique.

Ce sont les méthodes chromatographiques combinées à des méthodes de détection sélectives qui sont les plus utilisées en pharmacocinétique.



**Figure 3 : Domaine des concentrations mesurables par les techniques analytiques utilisées pour la quantification des médicaments en milieu biologique.**

## 1.4.1 Chromatographie en phase gazeuse

### 1.4.1.a Principe

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode de séparation sur colonne de substances volatiles véhiculées par un gaz inerte appelé gaz vecteur. Le type de colonne conditionne le type de chromatographie qui peut être une chromatographie de partage entre la phase stationnaire de la colonne et le gaz vecteur; ou une chromatographie d'adsorption sur phase stationnaire. La séparation des composés est réalisée en fonction de leur tension de vapeur et de leur interaction avec la phase stationnaire (forces de dispersion, liaisons hydrogènes, forces de Van der Waals..). Ainsi deux composés de même tension de vapeur peuvent être séparés si leur affinité pour la phase stationnaire est différente pour une température donnée. En CPG, la mise au point d'une séparation se résume ainsi au choix du type de colonne et d'une température. La phase mobile ne joue que le rôle de transporteur.

### 1.4.1.b Mode de détection

Le choix du détecteur est fonction de la nature physico-chimique du produit à analyser et de la sensibilité à atteindre. Le **tableau IV** présente les différents détecteurs existant ainsi que leur domaine d'application.

**Tableau IV : Domaine d'application des détecteurs couplés à la chromatographie gazeuse, utilisés pour la quantification des médicaments en milieux biologiques**

Détecteur	Domaine d'application
Détecteur à capture d'électrons (ECD)	Composés comportant des groupements ioniques
NPD	Interférences avec agent plastifiants au phosphate provenant des contenants en polypropylène
Spectrométrie de masse	Universel

## 1.4.2 Chromatographie en phase liquide

### 1.4.2.a Principe

En chromatographie en phase liquide, la séparation est fondée sur des différences de partage dynamique des composés contenus dans un échantillon, entre une phase stationnaire et une phase mobile. La phase stationnaire peut être composée de silice (phase normale), de silice greffée de longues chaînes carbonées (phase inverse) ou d'une matrice inerte greffée de deux groupements ionogéniques, l'un fixé de manière covalente et l'autre étant un contreion lié par interaction électrostatique. Trois acteurs participent à la séparation et ceci est représenté par la **figure 4**. Ainsi, contrairement à la CPG, la phase mobile n'est pas inerte vis à vis du soluté qu'elle solvate. Elle présente donc l'avantage d'avoir un paramètre supplémentaire d'optimisation de la séparation. Elle est utile pour des composés thermiquement instable et c'est la méthode la plus utilisée en pharmacocinétique.

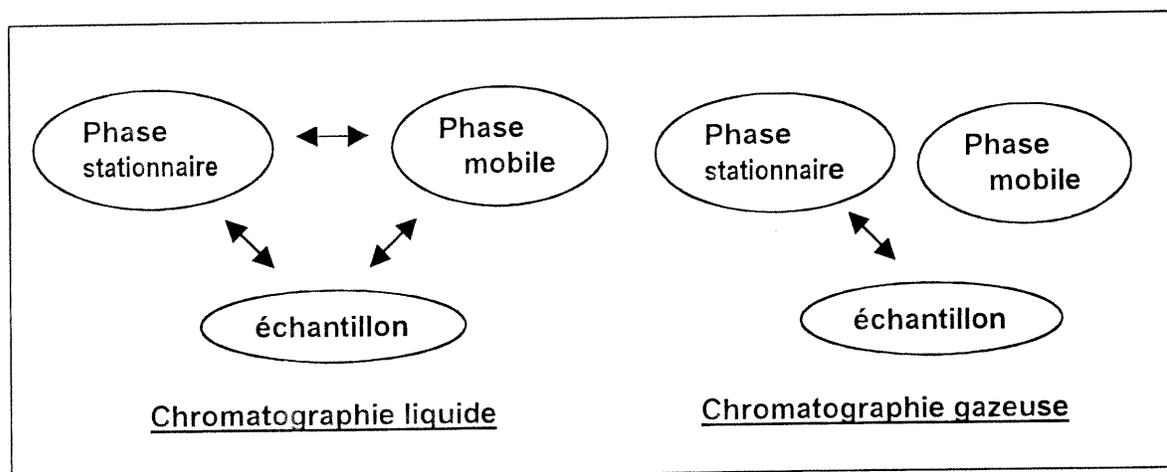


Figure 4: Équilibres existant en chromatographie liquide et en chromatographie gazeuse

### 1.4.2.b Mode de détection

La détection peut être réalisée par spectrométrie UV, par fluorimétrie, par détection électrochimique ou spectrométrie de masse.

### **i. Structure moléculaire et spectrométrie ultraviolette et fluorimétrie**

Les molécules qui absorbent dans le spectre UV-visible et qui ont la propriété d'émettre de la fluorescence, possèdent des électrons dans les orbitales pi (doubles ou triples liaison), dont la transition vers un état énergétique supérieur ( $\pi^*$ ) est facilitée car de plus faible énergie<sup>98</sup>. Les facteurs suivants influencent l'aromaticité (système riche en électrons- pi) d'une molécule et augmentent ses propriétés d'absorption et d'émission. La fusion de cycles benzéniques (naphtalène, anthracène), ou de cycles benzéniques avec des hétérocycles tels les quinolines, isoquinolines, indoles, et des groupements fonctionnels électro-donneurs (amine, alkyl, alcool) augmentent l'absorption de radiation ou leur émission en enrichissant le noyau aromatique. Par contre les groupements électro-attracteurs (carbonyles, nitrile, halogènes) tendent à délocaliser le nuage électronique pi et à diminuer l'absorption ultraviolette ou l'émission de radiation. La détection de molécules non absorbantes dans l'ultraviolet ou non fluorescentes est possible par couplage à des composés chromophores (réactif de Gibbs) ou fluorescents<sup>98</sup>.

Le propofol est un dérivé phénol comportant deux groupements phényles électrodonneurs en position ortho. Il absorbe les radiations ultraviolettes à 276 nm<sup>86</sup> et a la propriété d'émettre de la fluorescence à 313 nm<sup>53</sup>.

### **ii. Fluorimétrie et spectrométrie ultraviolette**

La fluorimétrie est une technique de détection plus sensible que la spectrométrie d'absorption UV. Dans les méthodes d'absorption c'est une différence entre deux signaux qui est mesurée (signal incident et signal de sortie). La sensibilité est alors gouvernée par la capacité à les distinguer, et pas seulement par la stabilité de l'appareil. En fluorimétrie, c'est une différence entre zéro et un nombre fini qui est mesuré. La limite de détection est dans ce cas, fonction de la stabilité et la sensibilité du détecteur, et de l'intensité de la source.

### iii. Détecteurs électrochimiques

Les détecteurs électrochimiques permettent de quantifier les substances oxydables ou réductibles en mesurant le flux d'électrons résultant de ces réactions. Dans la plupart des détecteurs électrochimiques le médicament est converti en sa forme oxydée, pour libérer un ou plusieurs électrons. Le courant instantané est proportionnel à la concentration de médicament dans la cellule. La sensibilité obtenue avec ces types de détecteurs rivalise avec celle des fluorimètres. Le propofol est phénol et par conséquent un donneur d'électrons qui en présence d'un accepteur peut s'oxyder. Son potentiel d'oxydoréduction est inférieur à +0,60 V et peut être détecté par électrochimie<sup>99</sup>.

### iv. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie gazeuse permet d'atteindre des limites de sensibilité très basses même s'il s'agit de matrices complexes. Il s'est cependant avéré nécessaire de développer une interface entre un système HPLC et un spectromètre de masse pour pouvoir effectuer l'analyse de métabolites peu volatils ainsi que des médicaments très polaires et labiles comme les polypeptides. La difficulté dans un tel couplage est que la phase mobile est liquide et qu'elle doit être à l'état gazeux pour pouvoir être introduite dans l'enceinte du spectromètre de masse. Or les volumes de vapeur produits sont trop importants : 18 ml d'eau produisent 22,4 L de vapeur dans les conditions standards de pression et de température. Plusieurs interfaces ont été conçues. La plus utilisées dans l'analyse des médicaments en milieu biologique l'utilisation d'un thermospray ou bien des techniques impliquant la nébulisation de l'échantillon avant son entrée dans le spectromètre de masse.

#### 1.4.3 Électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire est une méthode de séparation en développement et prometteuse car elle est rapide, avec un grand pouvoir de résolution et une grande sensibilité. Dans cette méthode d'analyse, les particules chargées sont entraînées par un champ électrique à travers le capillaire. Le tube capillaire est ouvert à ses extrémités, il est constitué de verre de silice, il est de très faible diamètre (30-100µm), sa longueur varie entre 0.3 et 1 mètre, et il est rempli d'une solution tampon. Les extrémités

plongent dans deux solutions électrolytiques, auxquels on applique une différence de potentiel. L'échauffement du capillaire est limité car l'intensité de ces conditions ne dépasse pas 100uA. Le tube est cependant maintenu dans une enceinte thermostatée. L'électrolyte est un mélange soigneusement filtré et dégazé. Le pH est maintenu constant grâce à une solution tampon. La plupart des médicaments sont des acides ou des bases et portent une charge résultante dont la grandeur dépend du pH. Cette charge provient de la fixation, à leur surface, d'ions contenus dans le milieu tampon. Pour des ions de taille comparable, les vitesses de migration sont plus grandes s'ils sont porteurs de charges plus importantes. Pour effectuer l'analyse d'un composé, le pH est en général ajusté au pKa car de légères modifications autour de cette valeur affectent de manière importante sa mobilité et par conséquent sa séparation permettant son optimisation<sup>100</sup>. Les protéines sont analysées par cette technique<sup>101</sup>; Des interfaces entre les colonnes capillaires et la spectrométrie de masse se développent augmentant ainsi la limite de détection<sup>102</sup>.

Plusieurs méthodes ont été développées pour l'analyse du propofol dans le plasma ou le sang entier. Le **tableau V** les décrit sommairement. La méthode utilisée pour la quantification du propofol dans le plasma dans la présente étude est celle de Plummer autrement dit, la chromatographie liquide à haute performance avec détection par fluorimétrie.

	Méthode de préparation de l'échantillon	Méthode chromatographique	Standard interne	Méthode de détection	Limite de détection
Adam & all, 1981 <sup>86</sup>	Extraction au cyclohexane	Liquide en phase inversée ;	Thymol	Spectrométrie en UV-visible ; couplage à un réactif de Gibbs.	25 ng/ml
Plummer & all, 1987 <sup>87</sup>	Extraction au cyclohexane	Liquide en phase inverse ; colonne C18.	Thymol	fluorimétrie	2 ng/ml
T.B. Vree <sup>90</sup>	Précipitation des protéines plasmatiques à l'acétonitrile	Liquide en phase inversée.		Spectrométrie en UV-visible	100 ng/ml
Pullen & all, 1988 <sup>93</sup>	Extraction solide-liquide	Liquide en phase inversée ; colonne C18.		Spectrométrie en UV-visible	1µg/ml
Mazzi & all, 1990 <sup>94</sup>	Extraction en phase solide ; colonne C18	Liquide en phase inversée ; colonne phényle.	Thymol	Électrochimique	20 ng/ml
Uebel & all, 1990 <sup>99</sup>	Extraction liquide-liquide avec acétate d'éthyle	Liquide en phase inversée ; colonne C8	chlorprothixene	Électrochimique	80 ng/ml
Yu & all, 1993 <sup>88</sup>	Extraction liquide-liquide avec le chloroforme	Gazeuse ; colonne de silice greffée	Pentadécane	Ionisation de flamme (FID)	10 ng/ml
Altmayer & all <sup>95</sup>	Extraction en phase solide ; colonne C18	Liquide en phase inverse ; colonne C18.		Fluorimétrie	5 ng/ml
El yazigi & all, 1996 <sup>96</sup>	Extraction en phase solide	Liquide en phase inverse ; colonne C18	Méthylidopa	Fluorimétrie	2 ng/ml
Elbast & all, 1996 <sup>89</sup>	Extraction liquide liquide avec chloroforme et acétate d'éthyle.	Gazeuse	Thymol	Émission atomique	0.3µM
				Spectrométrie de masse	0.1µM
Knibb & all, 1998 <sup>103</sup>	Précipitation des protéines avec l'acétonitrile	Liquide en phase inverse	Thymol	fluorimétrie	400 ng/l

**Tableau V: Méthodes d'analyse pour la quantification du propofol publiées dans la littérature.**

## **2. STABILITÉ DE LA PRÉPARATION VÉTÉRINAIRE RAPINOVET®**

### **2.1 STABILITÉ CHIMIQUE DU PROPOFOL**

Le propofol, comme il a été mentionné plus haut est un phénol et peut être oxydé en présence d'oxygène. Ce caractère réducteur du propofol a été mis en évidence par l'identification de deux produits de dégradation<sup>85</sup>.

Un dimère ou tetra-isopropyl 3,3',5,5' – dihydroxy-4, 4' biphényle ;

Une quinone ou diisopropyl 2,6 – quinone.

Le potentiel d'oxydoréduction du propofol est inférieur à 0.6 V<sup>99</sup>, ce qui évoque une probabilité non négligeable d'interaction avec des molécules oxydantes. Cette propriété exclut le recours à des conservateurs dans la formulation, dont la stérilité ne peut être maintenue que par l'intégrité du récipient final.

### **2.2 STABILITÉ PHYSICOCHIMIQUE DE L'INTRALIPIDE®**

L'intralipide® est une émulsion huile dans eau constituée d'huile de soja, de lécithine d'œuf, de glycérol et d'eau pour préparation injectable. La stabilité de l'émulsion est principalement obtenue grâce aux charges négatives apportées par les lécithines autour des gouttelettes lipidiques dispersées. Ces charges entretiennent des forces de répulsion entre les gouttelettes et s'opposent à la floculation, au crémage voire à la coalescence<sup>104</sup>. Il existe un risque de déstabilisation de l'émulsion en présence de cations minéraux, organiques (calcium, magnésium, acides aminés dibasiques), ou d'acides (acide citrique).

### **2.3 COMPATIBILITÉ AVEC LE CONTENANT**

Dans le flacon de verre dans lequel le Rapinovel® est commercialisé, on note une bonne stabilité et une absence d'adsorption sur le bouchon de bromobutyle.

Dans les seringues en polypropylène permettant une administration en bolus à l'aide d'une pousse seringue, dans un modèle statique (seringues de 20 et 50 ml pendant 24 h) et dans un modèle dynamique (seringue de 50 ml, 4 h de repos et 20 heures de perfusion), une perte de propofol inférieure à 5% a été observée sans présence de produits de dégradation, ce qui fait penser à un phénomène d'adsorption<sup>105</sup>.

Dans le nécessaire à perfusion il a été démontré que le passage de l'émulsion de propofol dilué 1/5 dans le glucose au travers d'un filtre 5 µm n'entraîne pas de modifications de la composition du médicament, ce qui autorise cette pratique pour la rétention de particules émanant du conditionnement<sup>106</sup>; d'autre part le propofol tapisse (phénomène d'adsorption et éventuellement pénètre (phénomène de diffusion) les tubulures en polychlorure de vinyle : une étude statique (ligne de 2 m pendant 2 h) met en évidence une perte de 31 à 35 % de propofol au bout de 2 h (sans apparition de produits de dégradation). Ce modèle favorise la perte de propofol puisque le modèle dynamique (débit de 1,75 ml/min) ne met pas en évidence des pertes quantifiables au bout d'une heure; une perte de 8 % est observée après deux heures. Ces résultats s'expliquent aisément par les caractéristiques hydrophobes du propofol et du PVC , et incitent à une grande prudence vis à vis de ces poches. En effet une autre étude visant à déterminer l'importance de la séquestration in vitro du propofol dans un circuit de circulation extracorporelle (oxygénateur à membrane, réservoir et tubulures) montre une perte de 35 % 5 minutes après le début de la perfusion et de 75 % 120 minutes après).

Ce phénomène n'est pas un phénomène isolé. Plusieurs médicaments (anesthésiques en particulier) sont absorbés ou adsorbés au niveau des dispositifs de perfusion. On compte parmi eux le diazépam, le fentanyl, la nitroglycérine et le thiopental<sup>107</sup>. Peu d'études ont été publiées à propos de la compatibilité du propofol avec le plastique.

La présente partie de ce mémoire a pour objectif, dans un premier lieu de présenter la validation de la méthode d'analyse utilisée pour la quantification du propofol dans des échantillons plasmatiques; et dans un second lieu de déterminer sa compatibilité avec les contenants de polypropylène et avec les dispositifs de perfusion.

## **B. MATÉRIEL ET MÉTHODE**

### **1. ANALYSE QUANTITATIVE DU PROPOFOL**

#### **1.1 MATÉRIEL**

Du propofol et du thymol de grade analytique (respectivement à 97% et 98 % de pureté) ont été achetés chez ICN biomedical. Tous les solvants utilisés étaient de grade analytique. L'acétonitrile et le méthanol de grade HPLC proviennent d'Anachemia Science, Montréal, Canada.

#### **1.2 PRÉPARATION DES SOLUTIONS**

Les solutions ont été conservées à 4 °C à l'abri de la lumière.

##### **1.2.1 Propofol**

Une solution étalon de propofol (10 mg/ml) dans l'acétonitrile a été préparée, puis diluée dans un mélange acétonitrile eau (50/50 % v/v) pour obtenir une solution de 100 µg/ml.

##### **1.2.2 Thymol**

Une solution étalon de thymol a été préparée en mettant en solution 20 mg de thymol dans 10 ml de méthanol. Une dilution 1/1000 a été effectuée dans le méthanol pour obtenir une solution étalon de thymol (2 µg/ml).

#### **1.3 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS PLASMATIQUES**

Toutes les manipulations ont été réalisées dans des tubes de verre et non de plastique. Les échantillons sont préparés par précipitation des protéines plasmatiques sur la glace à 0 °C : 100 µl d'étalon interne ( thymol 2µg/ml) et 650 µl d'acétonitrile ont été ajoutés à 250 µl de plasma. Le mélange est ensuite agité au vortex (5 s) placé dans un bain à ultrasons pendant 10 min, et centrifugé 10 min à 3200 rpm dans une centrifugeuse IEC centra – 7 centrifuge (International Equipment Compagny). Le surnageant est recueilli et transféré dans des fioles de verre pour une analyse HPLC.

#### **1.4 APPAREILLAGE**

Le système HPLC comporte une pompe Waters 501, un fluorimètre (Hitachi modèle F-1080), un injecteur automatique (shimadzu modèle SIL- 9A), un intégrateur (Shimadzu modèle CR 60), et une colonne chromatographique CSC Inertsil, 5 µm (15 x 0.46 cm) .

#### **1.5 CONDITIONS HPLC**

Les conditions chromatographiques sont les suivantes : 50 µl d'échantillon sont élués à un débit de 1,2 ml/mn, dans une phase mobile Acétonitrile :Eau:TFA (58:42:0.05 % v/v) ajustée à un pH compris entre 3.25 et 3.30. Dans ces conditions, les temps de rétention observés à des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de 276 nm et 313 nm, sont de 4.5 et 8 min pour le thymol et le propofol respectivement.

#### **1.6 COURBES D'ÉTALONNAGE**

Le domaine de linéarité de la courbe d'étalonnage est compris entre 35 et 2000 ng/ml. Les échantillons dont la concentration dépassait cette limite ( temps de prélèvement inférieurs au temps de position sternale ) étaient dilués par un facteur de 5.

Les courbes d'étalonnage (35–1600 ng/ml) ont été préparées à partir de plasma canin vierge et des solutions standard de propofol. La concentration de propofol a été déterminée à l'aide du ratio des surfaces sous les courbes des pics de thymol et de propofol.

## 2. ÉTUDE DE COMPATIBILITÉ AVEC LE CONTENANT.

La compatibilité du propofol avec les contenants suivants a été étudiée dans plusieurs conditions ( température, solvant, cycles de gels et dégels) :

- le polypropylène dans lequel les plasmas sont conservés,
- les poches de PVC utilisées pour l'administration du propofol en perfusion,
- les seringues en polypropylène à haute densité utilisée pour l'administration en Bolus,
- Les tubes de verre.

### 2.1 COMPATIBILITÉ DU PROPOFOL AVEC LE POLYPROPYLÈNE

Cette étude de compatibilité a été réalisée d'une part avec le propofol en solution dans l'eau pure et d'autre part avec le propofol en solution dans les échantillons plasmatiques.

#### 2.1.1 Compatibilité du propofol en solution dans l'eau pure, avec les contenants de polypropylène et de verre.

Trois séries de solution (20 ml à 200, 1000 et 2000 ng/ml) ont été préparées dans l'eau pure. Elles ont été divisées en quatre solutions de 5 ml et les essais suivants ont été réalisés dans des tubes de verre et des tubes de polypropylène:

- ***cycles de gels et dégels***

Une première série a été placée dans trois tubes de polypropylène et ont subi des cycles de gels à  $-10^{\circ}\text{C}$  et dégels à  $25^{\circ}\text{C}$ . La période de gel était de trois heures et la période allouée au dégel était d'une heure trente. Un volume de  $250\ \mu\text{l}$  a été prélevé à la suite de chacun des dégels et a été analysé selon le protocole expérimental décrit précédemment.

- **À une température de 25 °C**

Une deuxième série a été placée dans trois tubes de polypropylène et a été maintenue à une température de 25°C à l'abri de la lumière. Des échantillons de 250 µl ont été prélevés à des intervalles de 12 heures et ont été analysés.

### **2.1.2 Diffusion du propofol à travers le contenant.**

Ces essais ont été réalisés en duplicata, en utilisant des tubes de verre et de polypropylène

Une solution de propofol (0,5 mg/ml dans l'eau et l'acétonitrile 80:20 % v/v) a été placée dans un tube de polypropylène. La concentration de propofol était inférieure à sa solubilité dans le solvant utilisé d'au moins 10 %. Ce tube scellé de polypropylène contenant 3 ml de solution a été plongé dans le tube de verre contenant un mélange d'acétonitrile et d'eau (20:80 % v/v). Ce dispositif a été scellé. Deux dispositifs ainsi décrits ont été préparés : L'un a été maintenu à une température de 37°C dans l'étuve, et l'autre a été maintenu à une température de 25°C. La solution contenue dans le tube contenant initialement l'acétonitrile a été prélevée et analysée à des intervalles de 24 h. Deux témoins ont aussi été préparés et placés dans l'étuve : Il s'agit du même dispositif décrit ci-haut ; le tube intérieur contenant le propofol consistait en une ampoule de verre scellée manuellement.

### **2.2 PROPOFOL DANS LES ÉCHANTILLONS SANGUINS.**

Cet essai comportait deux objectifs : Le premier était de déterminer la distribution du propofol entre le plasma et les globules rouges, et de vérifier la concordance de ces résultats avec un hématoците ; le deuxième était de déterminer dans un intervalle d'une semaine, la stabilité du propofol dans le plasma quand il est conservé dans un tube de polypropylène ou de verre.

### **2.2.1 Distribution entre le plasma et les globules rouges après un bolus iv.**

Un bolus IV (2 mg/kg) a été administré à un chien de 30 kg. Des échantillons de 15 ml ont été prélevés au niveau d'une veine périphérique à 3, 5, 10, et 15 min après l'injection. A chaque prélèvement, une portion de 10 ml a été centrifugée et le plasma a été prélevé. Le reste du sang entier a été maintenu à une température de 4 °C. Une mesure de l'hématocrite et l'analyse de ces échantillons ont été réalisés selon le protocole décrit au paragraphe II.B.1.3.

### **2.2.2 Stabilité du propofol dans le plasma**

Une courbe d'étalonnage ainsi qu'une série de témoins (500, 1000 et 2000 ng/ml) ont été préparés, conservés à 4°C et analysés immédiatement, puis à des intervalles de 24 heures pendant une semaine selon le protocole décrit au paragraphe II.B.1.3. Cet essai a été effectué en duplicata, dans des tubes de verre et des tubes de polypropylène.

## **3. COMPATIBILITÉ DU PROPOFOL AVEC LES CIRCUITS EXTRACORPORELS.**

L'objectif de cet essai était d'évaluer la séquestration du propofol dans les dispositifs utilisés pour son administration en bolus et en perfusion.

### **3.1 COMPATIBILITÉ AVEC LE DISPOSITIF DE PERFUSSIONS.**

Deux dispositifs pour perfusion comportant un burétrol composé de polypropylène, un tuyau de PVC (chlorure de polyvinyle), et une pince permettant d'ajuster le débit. Une solution de propofol (10 mg/ml) a été diluée par un facteur de 5 dans une solution de glucose 5% dans l'eau tel que recommandé par le CPS (Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques). Un échantillon témoin (à T= 0 h) de la solution ainsi obtenu (2 mg/ml) a été prélevé. 100 ml de cette solution ont été placés dans le burétrol. Le tuyau de PVC a été raccordé et rempli. Le débit a été ajusté à 1ml/min et des échantillons de 2 ml ont été prélevés toutes les 15 min pendant 2 h , puis analysés selon le protocole décrit au paragraphe 1. L'hypothèse de départ est que la perte de propofol dans ce dispositif n'excède pas 5 % de la solution initiale.

### **3.2 COMPATIBILITÉ AVEC LE DISPOSITIF POUR ADMINISTRATION EN BOLUS ET EN PERFUSION À L'AIDE DE POUSSE-SERINGUES.**

Le dispositif pour l'administration du propofol en bolus consiste en une seringue de polypropylène à haute densité. L'émulsion de propofol (10 mg/ml) a été introduite dans une seringue. Des échantillons de 25 µl ont été prélevés à des intervalles de 24 h, et analysés après les avoir dilués par un facteur de 1000.

## C. RÉSULTATS

### 1. ANALYSE QUANTITATIVE DU PROPOFOL

#### 1.1 COURBE D'ÉTALONNAGE

Les concentrations des courbes d'étalonnage sont comprises entre 35 et 2000 ng/ml. La concentration de propofol a été déterminée à l'aide du ratio des surfaces sous les pics de thymol et de propofol. La linéarité des courbes d'étalonnage a été déterminée par la méthode des moindres carrés. Les coefficients de détermination étaient compris entre 0.991 et 0.999. L'équation moyenne des droites obtenues est :  $y = 0.0004224 x + 0.0011347$  et l'écart type des cinq pentes calculées est de 8 %. Un exemple de courbe d'étalonnage du propofol extrait de plasma canin est présenté à *la figure 5*.

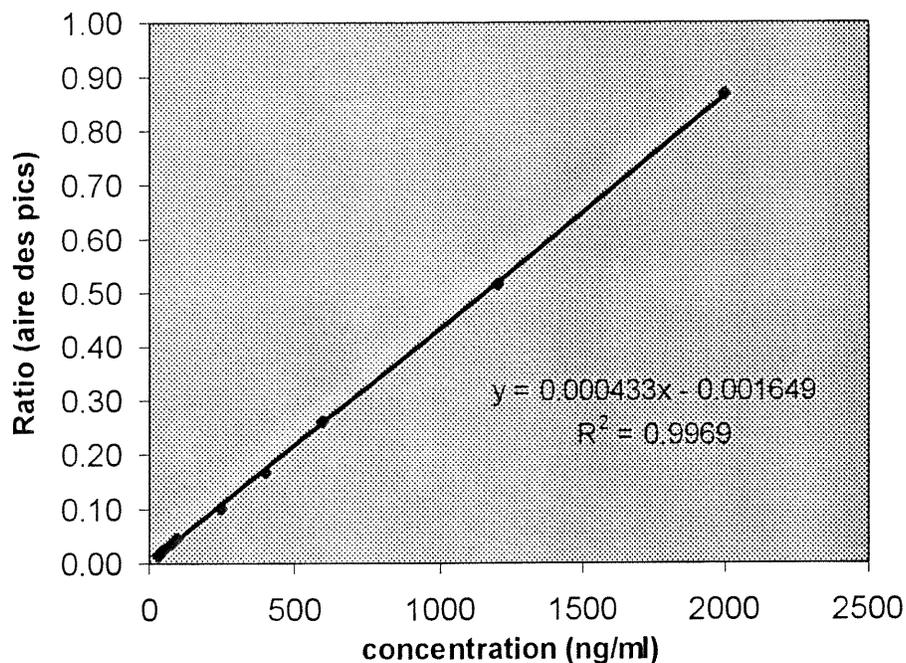


Figure 5 : Exemple de courbe d'étalonnage du propofol dans le plasma canin.

Le ratio représente le rapport de l'aire des pics correspondant au thymol ( temps de rétention de 4,5 min) et de l'aire des pics correspondant au propofol (temps de rétention de 8 min).

Le **tableau VI** présente les paramètres de cinq courbes d'étalonnage du propofol dans le plasma canin. **a** représente la pente de la droite d'étalonnage et **b**, l'ordonnée à l'origine et  $R^2$  est le coefficient de corrélation.

Courbe	$r^2$	a	b
1	0.9922	4.99E-04	1.20E-03
2	0.9925	4.66E-04	5.10E-03
3	0.9999	4.93E-04	3.07E-03
4	0.9915	4.81E-04	5.45E-03
5	0.9946	5.25E-04	7.99E-03
Moyenne	0.9941	4.93E-04	4.56E-03
Écart type		2.20E-05	
CV (%)		4.5	

Tableau VI : Coefficients de corrélation, ordonnées à l'origine et pentes obtenus pour cinq courbes d'étalonnage du propofol dans le plasma canin.

L'équation de la droite est la suivante :

$$\text{Rapport (aire du pic thymol / aire du pic propofol)} = a X (\text{concentration de propofol}) + b$$

## 1.2 EXACTITUDE ET PRÉCISION

### 1.2.1 Entre les séries d'analyse

L'exactitude et la précision ont été déterminées par la mesure de contrôles de qualité : Trois contrôles de qualité dont les concentrations étaient différentes de celles mesurées pour l'étalonnage, ont été préparés en duplicata et analysés avec chaque courbe d'étalonnage. Les concentrations utilisées étaient de 60, 150 et 1000 ng/ml pour les faibles, les moyennes et les fortes concentrations. L'exactitude est exprimée par le pourcentage de différence entre la concentration mesurée et la concentration prévue (biais) observée pour cinq différentes séries d'analyse. La précision est exprimée par le pourcentage de variation observé entre cinq différentes séries d'analyse. Le coefficient

de variation et le pourcentage de biais sont présentés dans le **tableau VII** : Le pourcentage de biais était compris entre 2,56 et 3,48, ce qui démontre que l'exactitude de la méthode d'analyse est bonne. Les coefficients de variation démontrent que la méthode d'analyse présente une précision acceptable, ces derniers étant tous inférieurs à 10% (entre 3,05 pour les concentrations de 1600 ng/ml et 9,48 pour les concentrations de 150 ng/ml).

**Tableau VII : Précision et exactitude obtenues pour 5 séries d'analyse.**

courbe	contrôles de qualité (ng/ml)			concentrations étalon (ng/ml)								
	60.00	150.00	1000.00	35.00	50.00	75.00	100.00	250.00	400.00	600.00	1200.00	1600.00
<b>1</b>	65.72	146.06	1017.33	37.87	46.09	66.12	106.59	250.63	416.11	619.06	1145.75	1630.77
	64.23	126.78	1019.53									
<b>2</b>	58.85	136.17	890.87	38.45	45.75	67.66	98.41	249.35	440.07	574.51	1226.76	1560.73
	63.75	160.09	1007.71									
<b>3</b>	62.76	128.70	877.19	34.35	50.58	81.02	89.13	263.63	440.15	561.89	1108.09	1632.78
	63.74	144.79	888.61									
<b>4</b>	50.87	160.11	962.03	35.68	49.41	69.60	102.47	282.46	413.13	525.49	1191.32	1613.51
	55.37	146.21	1020.56									
<b>5</b>	71.32	168.74	975.15	33.57	57.62	81.62	99.73	250.33	390.84	654.49	1121.18	1522.67
	58.72	155.63	993.14									
<b>moyenne</b>	61.53	147.33	965.21	35.99	49.89	73.20	99.27	259.28	420.06	587.09	1158.62	1592.09
<b>Écart-type</b>	5.76	13.97	58.28	2.13	4.80	7.51	6.47	14.22	20.75	50.38	49.58	48.51
<b>coefficient de variation</b>	9.36	9.48	6.04	5.93	9.61	10.26	6.52	5.49	4.94	8.58	4.28	3.05
<b>Biais</b>	2.56	-1.78	-3.48	2.82	-0.22	-2.40	-0.73	3.71	5.01	-2.15	-3.45	-0.49

### 1.2.2 À l'intérieur d'une même série d'analyse

La précision et l'exactitude observées à l'intérieur d'une même série d'analyse ont été déterminées de la même manière que celles déterminées entre les séries d'analyse à l'exception du fait que six contrôles de chaque concentration ont été préparés (*Tableau VIII*).

Tableau VIII : Précision et exactitude de la méthode dans une même série d'analyse

Courbe	Contrôles de qualité			Concentrations des étalons plasmatiques															
	60.0 0	150.0 0	1000.0 0	35.00	50.00	75.00	250.00	400.00	600.00	1200.00	1600.00								
1	56.89	155.46	978.34	34.39	51.15	73.49	104.21	417.00	615.29	1162.68	1589.98								
	58.44	140.48	1009.84																
	67.90	143.31	1115.20																
	53.94	146.10	936.46																
	67.59	144.92	966.62																
	70.46	164.97	972.26																
moyenne	62.54	149.21	996.45	Paramètres de la courbe d'étalonnage: Ratio = a x (concentration) + b															
Écart-type	6.92	9.24	62.74																
CV (%)	11.07	6.19	6.30																
				<table border="1"> <thead> <tr> <th>courbe</th> <th>r<sup>2</sup></th> <th>a</th> <th>b</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0.9979</td> <td>0.000358</td> <td>0.020686</td> </tr> </tbody> </table>								courbe	r <sup>2</sup>	a	b	1	0.9979	0.000358	0.020686
courbe	r <sup>2</sup>	a	b																
1	0.9979	0.000358	0.020686																

### **1.3 POURCENTAGE DE RECOUVREMENT**

Les aires des pics correspondant au propofol et au thymol extraits du plasma sont comparées aux aires des pics correspondant aux mêmes concentrations de propofol et de thymol non extraits. Six échantillons correspondant aux trois concentrations suivantes sont préparés dans le plasma ainsi que dans l'acétonitrile : 60, 150 et 1000 ng/ml. Le pourcentage de recouvrement moyen est exprimé par le rapport entre les aires observées des échantillons extraits et celles des échantillons non extraits. Le pourcentage de recouvrement était en moyenne de 99.3% et le coefficient de variation de 0.2%.

**Tableau IX : Pourcentage de recouvrement de la méthode d'extraction**

Contrôles de qualité (ng/ml)	Hauteur des pics correspondant au propofol		% de recouvrement
	contrôles de qualité extraits	contrôles de qualité non extraits	
60	16072	16155	99.5
	16818	16915	99.4
150	28351	28613	99.1
	25235	25476	99.1
1000	131833	132760	99.3
	131083	132202	99.2
moyenne (ng/ml)			99.3
Écart-type (ng/ml)			0.2
coefficient de Variation (%)			0.2

## 2. ÉTUDE DE COMPATIBILITÉ AVEC LE CONTENANT.

### 2.1 COMPATIBILITÉ DU PROPOFOL EN SOLUTION DANS L'EAU PURE AVEC LES CONTENANTS DE POLYPROPYLENE ET DE VERRE.

Trois courbes standard de propofol ont été construites. Les solvants de dilution étaient constitués d'un mélange acétonitrile/eau (50:50 % v/v). Lors de ces essais, le thymol a été ajouté quelques minutes avant l'analyse.

#### 2.1.1 Cycles de gels et dégels

Les coefficients de variation et les ratios des aires des pics de propofol et de thymol, observés pour cinq concentrations (250, 500, 1000, 1500, 2000 ng/ml), lors de trois cycles de gel et dégel consécutifs sont présentés dans **le tableau X**. On note une petite augmentation lors du premier et du deuxième dégel, puis une diminution de la concentration en propofol au troisième dégel. Le phénomène d'augmentation des concentrations est plus important pour les petites que les grandes concentrations (entre 10 et 19% pour les concentrations comprises entre 250 et 1500 ng/ml ; de 19% pour 1000 ng/ml). Au troisième dégel, on observe une diminution plus importante du taux de propofol pour les fortes concentrations que pour les petites concentrations (de 3% pour 250 ng/ml à 19% pour 2000 ng/ml).

**Tableau X : Stabilité du propofol en solution dans l'eau et l'acétonitrile (50:50 % v/v) après trois cycles de gel et dégel**

Nombre de dégel	250 ng/ml		500 ng/ml		1000 ng/ml		1500 ng/ml		2000 ng/ml	
	Ratio	Écart (%)	Ratio	Écart (%)	Ratio	Écart (%)	Ratio	Écart (%)	Ratio	Écart (%)
0	0.113	0	0.248	0	0.490	0	0.678	0	1.031	0
1	0.131	16	0.274	10	0.553	13	0.806	19	1.046	1
2	0.122	8	0.269	8	0.511	4	0.747	10	1.041	1
3	0.110	-3	0.214	-14	0.437	-11	0.597	-12	0.834	-19

**Le tableau XI** présente la variation pendant quinze jours des concentrations d'une solution de propofol à 2000 ng/ml dans le verre et dans le polypropylène. On observe une diminution graduelle de la quantité de propofol dans le tube de polypropylène, atteignant 56 et 70% le quinzième jour. Dans le verre, on note des variations en dent de scie de la quantité de propofol, entre une diminution de 27 % le huitième jour et de 0.3% le quinzième jour.

**Tableau XI : Stabilité à long terme du propofol dans l'eau et l'acétonitrile (50:50 % v/v) après gels et dégels.**

Temps (heure)	Écart (%)			
	Polypropylène		Verre	
	<i>essai 1</i>	<i>essai 2</i>	<i>essai 1</i>	<i>essai 2</i>
0	0	0	0	0
24	0	-19	0	-6
48	-26	-43	-1	-6
72	-45	-33	-15	-28
96	-41	-30	-13	-28
120	-38	-49	-20	-29
168	-38	-48	-28	-29
192	-40	-51	-28	-29
216	-44	-53	-23	-23
240	-46	-59	-23	-22
264	-50	-61	-16	-22
312	-55	-68	-15	2.2
336	-55	-69	-29	-19.4
360	-56	-71	-0.3	-14.9

### 2.1.2 À une température de 25 °C

Les ratios des aires des pics de propofol et de thymol, ajoutés quelques minutes avant l'analyse, et les coefficients de variation observés à des intervalles de 12 heures sont présentés dans le *tableau XII*. Les concentrations en propofol diminuent fortement après 60 heures pour les concentrations de 1000, 1500 et 2000 ng/ml (de 44, 51 et 53 % respectivement). Le coefficient de variation des concentrations plus faibles de 250 et 500 ng/ml démontrent une stabilité du propofol dans les tubes de polypropylène.

**Tableau XII : Stabilité du propofol en solution dans l'eau et l'acétonitrile (50:50 % v/v).**

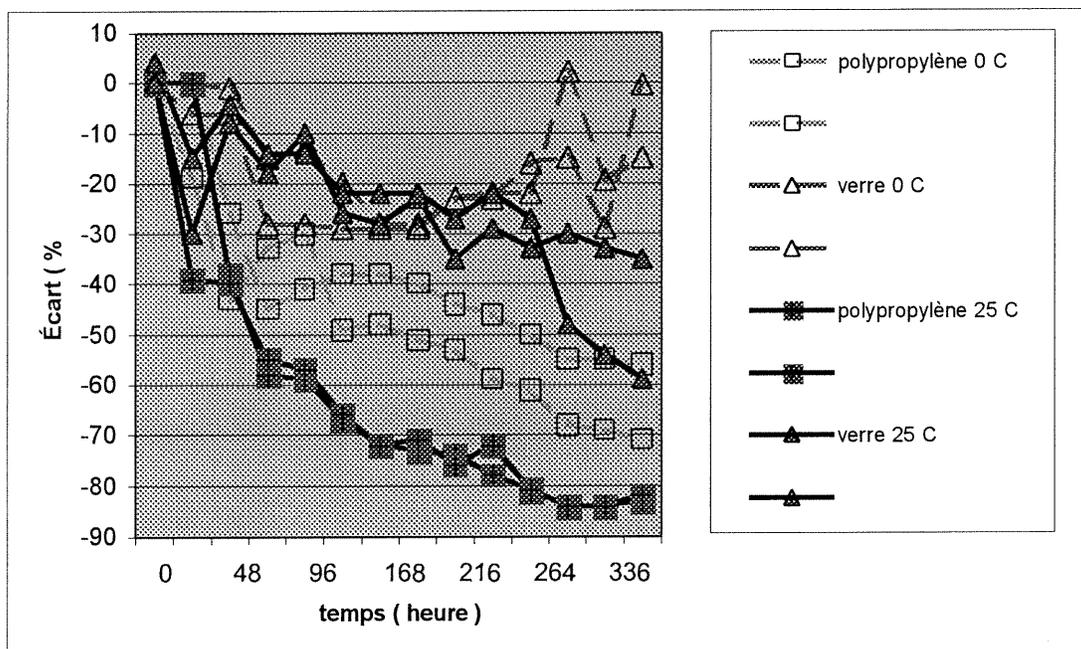
Temps (heure)	250 ng/ml		500 ng/ml		1000 ng/ml		1500 ng/ml		2000 ng/ml	
	ratio	Écart ( %)	ratio	Écart ( %)	ratio	écart ( %)	ratio	écart ( %)	ratio	écart ( %)
0	0.113	0	0.248	0	0.490	0	0.678	0	1.031	0
12	0.114	1	0.218	-12	0.416	-15	0.631	-7	0.863	-16
24	0.102	-10	0.200	-19	0.421	-14	0.586	-14	0.861	-16
60	0.100	-12	0.205	-17	0.276	-44	0.331	-51	0.482	-53

Le *tableau XIII* présente la variation pendant quinze jours des concentrations d'une solution de propofol à 2000 ng/ml dans le verre et dans le polypropylène. La perte de propofol est notable dans le polypropylène et dans le verre (82% dans le polypropylène et 42% dans le verre).

Temps (heure)	Écart (%)			
	Polypropylène		Verre	
	essai 1	essai 2	essai 1	essai 2
0	0	0	0	4
24	0	-39	-30	-15
48	-38	-40	-8	-4.3
72	-58	-55	-18	-14
96	-59	-57	-10	-14
120	-67	-66	-26	-22
168	-72	-72	-28	-22
192	-73	-71	-23	-22
216	-74	-76	-35	-27
240	-78	-72	-29	-22
264	-81	-81	-33	-27
312	-84	-84	-30	-48
336	-84	-84	-33	-54
360	-83	-82	-35	-59

**Tableau XIII: Stabilité à long terme du propofol à 2000 ng/ml en solution dans l'eau et l'acétonitrile dans le polypropylène et dans le verre.**

La **figure 6** présente la variation du taux de propofol dans des tubes de polypropylène et de verre maintenus à une température de 0°C ou de 25°C. On observe la perte en propofol la plus faible lorsque ce dernier est conservé dans le verre (10% à 0°C et 30% à 25°C en quinze jours). Dans le polypropylène cependant, on note une diminution plus importante du taux de propofol dans la solution eau:acétonitrile (50:50% v/v) (56 et 70% en quinze jours à 0°C et 83 et 82 % à 25 °C).



**Figure 6: Stabilité d'une solution de propofol à 2000 ng/ml dans l'eau et l'acétonitrile (50 :50) dans le polypropylène et le verre.**

## 2.2 DIFFUSION DU PROPOFOL À TRAVERS LE CONTENANT.

L'analyse de l'acétonitrile contenue dans le tube de polypropylène montre la présence de propofol et par conséquent, qu'un phénomène de diffusion à travers la paroi des tubes de polypropylène a eu lieu. Ce phénomène n'a été observé ni dans le verre, ni dans les dispositifs contrôles. Il est à noter qu'une coloration jaune des parois de verre et de polypropylène est apparue après 24 heures dans l'étuve à 35 °C. Le **tableau XIV** et la **figure 7** présentent les résultats obtenus.

de verre et de polypropylène est apparue après 24 heures dans l'étuve à 35 °C. Le *tableau XIV* et la *figure 7* présentent les résultats obtenus.

Tableau XIV: Phénomène de diffusion à travers les parois des tubes de polypropylène.

Temps (heure)	<u>Ratio</u>			
	Polypropylène		contrôle	
	Tube extérieur 1	Tube extérieur 2	Tube extérieur 1	Tube extérieur 2
0	0.000	0.000	< limite de détection	< limite de détection
24	0.075	0.000	< limite de détection	< limite de détection
48	0.074	0.015	< limite de détection	< limite de détection
72	0.147	0.092	< limite de détection	< limite de détection
96	1.255	2.055	< limite de détection	< limite de détection
120	1.480	2.472	< limite de détection	< limite de détection
168	2.566	3.678	< limite de détection	< limite de détection
192	2.380		< limite de détection	
216	5.935		< limite de détection	

La *figure 7* permet de visualiser les résultats présentés dans ce tableau. Le contrôle consiste en une ampoule de verre fabriquée manuellement dans laquelle une solution de propofol ( 2 mg/ml ) avait été placée au préalable.

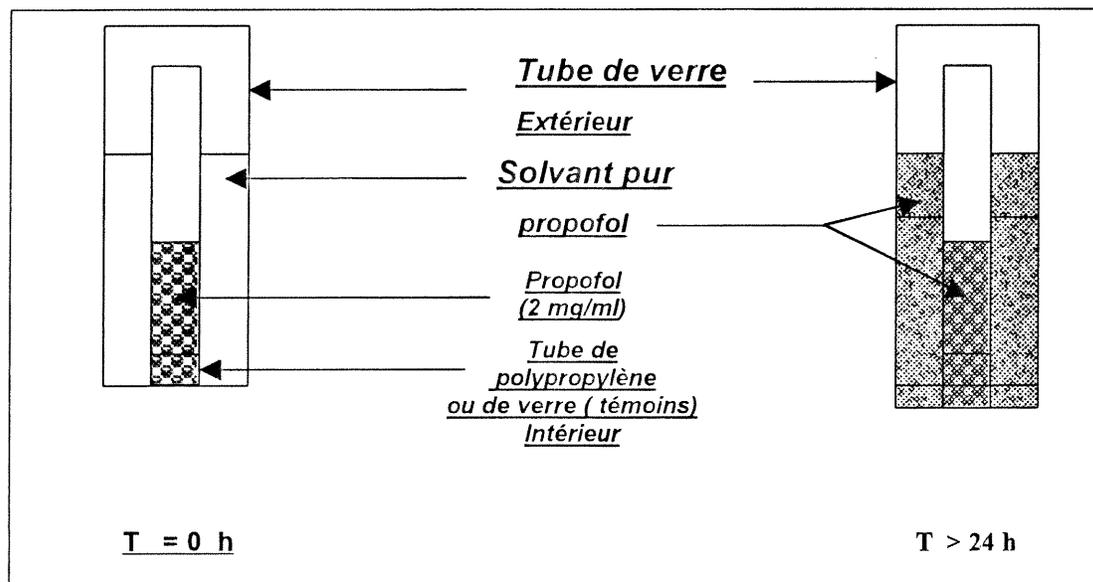


Figure 7 : Phénomène de diffusion à travers les parois des tubes de polypropylène.

## 2.3 PROPOFOL DANS LES ÉCHANTILLONS SANGUINS.

### 2.3.1 Distribution entre le plasma et les globules rouges après un bolus IV de 2 mg/kg.

La mesure de l'hématocrite et des concentrations de propofol dans le sang complet et le plasma a permis de déterminer la distribution du propofol entre les globules rouges et le plasma ; cette dernière est exprimée par le rapport entre la quantité de propofol présente dans le plasma et la quantité présente dans les globules rouges. Les résultats présentés au *tableau XV* montrent que la concentration est plus importante dans le plasma que dans les globules rouges 3 minutes après l'administration du bolus ; le rapport plasma /globules rouges est alors de 1.1. Ce rapport tend à décroître 2 minutes plus tard et atteint une valeur de 0.8.

Tableau XV : Distribution du propofol entre le plasma et les globules rouges après l'administration *en bolus d'une dose de 2 mg/kg.*

Temps (min)	concentration ( ng/ml )			hématocrite	distribution du propofol entre plasma et globules rouges
	plasma	globules rouges	sang complet		
3	751	682	573	50	1.1
5	358	463	408	50	0.8

### 2.3.2 Stabilité du propofol dans le plasma

La variation de la concentration en propofol dans le plasma a été déterminée à 4°C, dans un intervalle de 48 heures (*tableau XVI*), et après une série de trois gels et dégels (*tableau XVII*) consécutifs. Les coefficients de variation des concentrations plasmatiques de propofol étaient de 3 % à 4 °C et de 3 et 5% après des cycles de gel et dégel.

Tableau XVI : Compatibilité du propofol en solution dans le plasma avec les tubes de polypropylène à une température de 4 °C.

Temps	taux de propofol dans le plasma %	
	essai 1	essai 2
0	100	100
12	98	102
24	99	105
48	104	97
Moyenne	100	101
déviat ion standard	3	3
coefficient de variation (%)	3	3

Tableau XVII : Compatibilité du propofol en solution dans le plasma avec les tubes de polypropylène après trois cycles de gel et de dégel.

Nombre de dégels	taux de propofol dans le plasma %	
	essai 1	essai 2
0	100	100
1	102	106
2	101	109
3	107	112
Moyenne	102	107
déviat ion standard	3	5
coefficient de variation (%)	3	5

### 3. COMPATIBILITÉ DU PROPOFOL AVEC LES CIRCUITS EXTRACORPORELS.

L'objectif de ces essais était d'évaluer la séquestration du Rapinovet® dans les dispositifs utilisés pour son administration en bolus et en perfusion.

#### 3.1 COMPATIBILITÉ AVEC LE DISPOSITIF POUR PERFUSIONS.

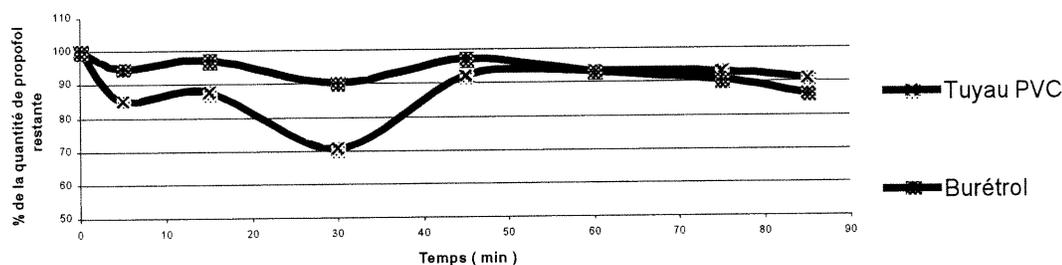
##### 3.1.1 Perte dans le burétrol et le tuyau de PVC

Les conditions de température et de pression étaient stables durant toute la durée de l'essai (85 min). Le débit était compris entre 1,0 et 1,8 ml/min. Les concentrations de propofol mesurées étaient inférieures à celles attendues, dès la première minute de l'expérience. Cette baisse de concentration a atteint un maximum de 29 %, 30 min après le début de l'expérience, et s'est ensuite amoindrie pour ne représenter que 6,8 à 9,4 % de la concentration initiale (*tableau XVIII* et *figure 8*). On peut constater d'après l'observation de la figure 6 que la perte de propofol ne provient pas du Burétrol ; Elle représente moins de 15% de la perte totale observée dans le dispositif de perfusion.

**Tableau XVIII : Compatibilité d'une solution de propofol à 2 mg/ ml dans le dextrose 5%**

Temps (min)	Taux de propofol Tuyau PVC (%)	Taux de propofol Burétrol (%)
0	100	100
5	85	95
15	88	97
30	70	90
45	92	97
60	93	93
75	93	90
85	91	86

**Figure 8 : Mise en évidence de la source de la perte de propofol dans le dispositif pour perfusion.**



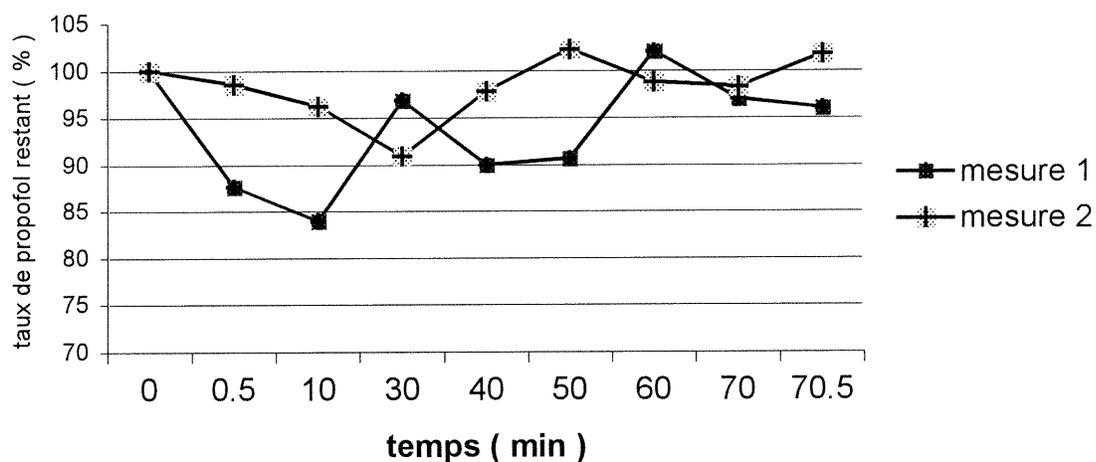
### 3.1.2 Évaluation de la perte dans le tuyau de PVC

La perte dans le tuyau de PVC de 170 cm a été déterminée en utilisant un décanteur en verre en guise de Burétrol. Une diminution de la concentration de 6.9% a été observée dès la première minute. Une perte maximale de 9.9 et 9.1% s'est produite 10 et 20 min après le début de l'expérience. Les concentrations sont revenues aux valeurs initiales (perte de 0.1 à 0.6%) à partir de 60 min après le début de l'expérience. Le *tableau XIX* et la *figure 9* présente les résultats décrits ci-haut.

Tableau XIX : Compatibilité du propofol avec le tuyau de PVC.

Temps (min)	Taux de propofol restant (%)	
	mesure 1	mesure 2
0	100	100
0.5	88	99
10	84	96
30	97	91
40	90	98
50	91	102
60	102	99
70	97	98
70.5	96	102

Figure 9 : Évaluation de la perte de propofol dans un tuyau de PVC.



### 3.1.3 Évaluation de la perte dans le burétrol

Des prélèvements à l'aide d'une seringue de verre ont été effectués dans le Burétrol, simultanément aux prélèvements au niveau du tuyau de PVC décrits en 3.1.1. Les résultats de cet essai sont présentés dans le **tableau XVIII** et la **figure 8**. Dès les cinq premières minutes, la concentration de propofol était inférieure à la concentration mesurée au temps 0. Cette perte demeurait cependant dans un intervalle de 10 % à l'exception de l'échantillon prélevé 90 min après le remplissage du Burétrol. Cette perte demeurait tout de même inférieure à 15 % ( 14% ).

### 3.2 COMPATIBILITÉ AVEC LE DISPOSITIF POUR ADMINISTRATION EN BOLUS EN PERFUSION À L'AIDE DE POUSSE-SERINGUES

Des prélèvements de 25 µl ont été effectués dans des intervalles de 24 h pendant une semaine. Aucune perte de propofol n'a été observée dans les seringues de polypropylène à haute densité, utilisées pour l'administration en bolus ou en perfusion à l'aide de pousse seringues. Le coefficient de variation était de 5 %. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant ( **tableau XX** ).

**Tableau XX : compatibilité de l'émulsion de propofol avec les seringues de polypropylène à haute densité.**

Temps (h)	Taux de propofol restant (%)	
	mesure 1	mesure 2
0	100	100
24	103	98
48	97	94
72	98	101
Moyenne	99.5	98.25
déviatiion standard	2.6	3.1
coefficient de corrélation	2.7	3.2

## D. DISCUSSION

Cette partie avait pour premier objectif de vérifier la validité de la méthode d'analyse choisie pour l'étude de la pharmacocinétique du propofol chez des chiens en croissance. La méthode d'analyse utilisée a été décrite par Plummer<sup>87</sup>. Il s'agit de la chromatographie liquide à haute performance couplée à un fluorimètre. Le choix de la méthode a tout d'abord été guidé par la disponibilité du matériel, sa sensibilité et sa spécificité. D'après les études pharmacocinétiques publiées précédemment les concentrations plasmatiques produisant un effet anesthésique sont comprises entre 1000 et 4000 ng/ml<sup>108</sup> et les concentrations correspondant à la phase terminale d'élimination sont de l'ordre de 100 ng/ml. Le critère de sensibilité est rencontré par la méthode de Plummer. La limite de quantification de celle-ci est de 35 ng/ml lorsque le volume injecté est de 50 µl, et permet de couvrir le domaine de concentrations rencontré dans les profils pharmacocinétiques. La méthode et les conditions chromatographiques doivent permettre de séparer les composés que l'on désire analyser (soit le propofol et le thymol), des métabolites ainsi que des protéines résiduelles présentes dans l'échantillon. Le temps de rétention du propofol est de 8 min et celui du thymol est de 4,5 min (*Annexe I*). Les métabolites du propofol sont des dérivés glucuronides et des dérivés sulfates<sup>63,64</sup> très polaires et par conséquent peu retenus par la colonne C18 (peu polaire). Ils sont rapidement élués et leur temps de rétention est inférieur à 2 min. Il en est de même pour les protéines résiduelles présentes dans l'échantillon. L'objectif n'étant pas de les quantifier, la résolution de ces pics est de moindre importance. Plusieurs séries d'analyses sont effectuées dans une étude pharmacocinétique. La reproductibilité de la méthode est un facteur déterminant dans la validité des résultats finaux. Chaque série d'analyse est donc accompagnée de la construction d'une courbe d'étalonnage et de contrôles de qualité ; et la reproductibilité de la méthode d'analyse a été vérifiée. Le coefficient de variation des concentrations d'étalonnage extrapolées est inférieur à 15 % pour les concentrations inférieures à 250 ng/ml et à 10 % pour les fortes concentrations (*Tableau VI*).

L'échantillon a été préparé par précipitation de protéines plasmatiques. Cette méthode présente l'avantage d'être simple ( 4 étapes ) ; rapide ( temps de préparation de deux heures pour une série d'analyse de 60 échantillons) et elle requiert un minimum de matériel. Les pourcentages de recouvrement n'affectent pas l'exactitude de la méthode mais plutôt la limite de détection. En effet, c'est le rapport entre le signal du

propofol et du thymol qui est mesuré. Une variation du pourcentage de recouvrement est donc pondérée par l'étalon interne. L'extraction est d'après Dawidowicz<sup>108</sup> plus performante que la précipitation des protéines en raison de la co-précipitation du propofol avec les protéines. Ce problème a été contré en partie par l'ajout de plus grands volumes d'acétonitrile (650 µl pour un volume de 250µl de plasma) et par la sonication de l'échantillon avant l'étape de centrifugation. Le pourcentage de recouvrement atteint par la méthode de précipitation des protéines plasmatiques est supérieur à 95% (**tableau IX**).

Le second objectif de cette partie du projet concernait la stabilité du propofol et sa compatibilité avec les contenants avec lesquels il est en contact. Les plasmas sont conservés dans des tubes de polypropylène. La compatibilité du propofol a d'abord été déterminée lorsqu'il était en solution dans un solvant constitué d'eau en majorité ( 80% d'eau et 20% d'acétonitrile). L'objectif de cette expérience était d'évaluer la tendance du propofol à être absorbé ou adsorbé par les contenants de polypropylène. Le propofol est très lipophile. Son coefficient de partage octanol – eau est de 3. Sa mise en solution dans un solvant polaire avec lequel il a peu d'affinité favorise sa migration dans un contenant de plastique apolaire. Cette hypothèse a été confirmée par l'expérience effectuée à 0°C et 25°C (**figure 6**) : Une diminution du taux de propofol a été observée aux trois températures avec un maximum de 80% à 25 °C pendant une durée de 15 jours. Le propofol a donc tendance à être absorbé ou adsorbé par la paroi des contenants de polypropylène. La caractérisation du phénomène a été possible par une expérience complémentaire : Un dispositif permettant de vérifier si le propofol était susceptible de diffuser à travers la paroi des tubes de polypropylène a été conçu. L'expérience ( **tableau XIV et figure 7** ) a montré l'existence d'un phénomène de diffusion . Or un tel phénomène implique une absorption ou une dissolution du propofol dans le polypropylène au préalable<sup>109</sup>.

La même étude a été réalisée lorsque le propofol était en solution dans le plasma. Aucune diminution significative du taux de propofol n'a alors été observée : Le coefficient de variation du taux de propofol dans le plasma à différentes températures n'excède pas 5% (**tableau XVI et XVII**). Les protéines plasmatiques avec lesquelles le propofol a une grande affinité (lié à 98%)<sup>49</sup> semblent retenir suffisamment le propofol et empêcher ainsi sa migration dans les parois de polypropylène. La préservation de leur intégrité physico-chimique est importante pour la compatibilité du propofol avec les

contenants de polypropylène. Leur manipulation doit de ce fait être délicate et des températures supérieures à 25 °C sont à éviter. Dans un second lieu, la compatibilité du propofol a été déterminée avec les dispositifs utilisés pour son administration en bolus (seringues de polypropylène haute densité), et en perfusion (burétrol). En effet plusieurs anesthésiques sont absorbés ou adsorbés par leur contenant car ce sont tous des agents lipophiles. Cette propriété est nécessaire pour pouvoir passer à travers la barrière hémato-encéphalique et exercer leur effet pharmacologique. Parmi ceux ci on compte le diazépam, le fentanyl et le thiopentone<sup>107</sup>. Ce phénomène peut avoir un impact important dans la détermination des paramètres pharmacocinétiques. La dose administrée peut être sous-estimée et la clairance surestimée par conséquent. Il a été rapporté que le propofol est éliminé en partie par un métabolisme extra-hépatique car la clairance calculée est supérieure au débit hépatique. La preuve de l'existence d'un métabolisme extrahépatiques a été donnée par la présence de métabolites chez des patients subissant *un pontage hépatique*. Il est cependant pertinent d'élucider la mesure dans laquelle la séquestration du propofol dans les circuits extracorporels contribue à la différence entre la clairance et le débit extrahépatique. Dans les résultats obtenus in vitro et présentés dans la **figure 8**, on observe que la concentration en propofol diminue de 30% les 15 premières minutes puis revient aux concentrations initiales, les tubulures et de le burétrole de PVC étant probablement saturés. La source de cette perte comme on peut l'observer dans la figure 6 est la tubulure de chlorure de polyvinyle et non le burétrol qui est à l'origine de moins de 10% dans la diminution totale du taux de propofol. Le chlorure de polyvinyle et le plastifiant utilisé dans les dispositifs pour perfusion (phtalate de dioctyle) sont des matériaux hydrophobes. La perte en propofol s'explique par leur affinité pour le propofol lui aussi hydrophobe. Ce phénomène a été observé par L. Bailey<sup>106</sup> et par Hynynen<sup>107</sup>. Leurs résultats sont cependant quelque peu différents : Bailey a observé une plus faible diminution du taux de propofol que celle que nous avons observée. La perte maximale observée par Bailey était de 16% . De plus, le profil schématique de la perte est différent ; Bailey a observé une diminution graduelle de la concentration pour atteindre un minimum à 120 min. À l'opposé nous avons observé une forte diminution les 30 premières minutes puis une stabilisation aux taux initiaux traduisant une saturation probable des parois de plastique. Cette différence est peut être due à une différence dans la longueur des tubulures ou dans l'ajustement du débit. La perte observée par Hynynen est, contrairement à Bailey, de beaucoup supérieure à celle que nous avons observée. Elle représente 75% de la concentration

initiale après 120 minutes. Cette perte est d'après leurs résultats, graduelle. Cette différence peut être expliquée par le fait que la température était ajustée à 37°C dans leur expérience et que le dispositif étudié dans cette expérience est un circuit de circulation extracorporel (CEC) comportant un réservoir, des tubulures plus longues et un oxygénateur. La surface totale des parois étant plus élevée leur saturation a été retardée. D'après les essais réalisés dans cette partie du projet, on constate une tendance du propofol à être absorbé par les parois des dispositifs à perfusion ; Cette perte n'est cependant pas comparable en proportion au midazolam qui atteint des valeurs de 80 %<sup>110</sup>. Le propofol est formulé en émulsion huile dans l'eau. Les micelles hydrophiles formées autour des molécules de propofol semblent les protéger, tout comme les protéines plasmatiques de leur absorption par les parois de chlorure de polyvinyle. La perte au total n'excède pas 10 % de la dose totale administrée. Il est important de diluer le propofol dans une solution isotonique (le dextrose 5%) afin de ne pas briser l'émulsion et d'éviter ainsi son passage dans les parois du dispositif à perfusion.

Les dispositifs pour l'administration en bolus n'affectent pas le taux de propofol mesuré. Le matériau les constituant est différent : Il s'agit du polypropylène à haute densité dont les mailles sont petites et ne permettent pas l'infiltration des molécules de propofol.

Dans un troisième lieu, nous avons étudié la distribution du propofol dans les globules rouges et le plasma après l'administration en bolus d'une dose de 2 mg/kg. Les trois premières minutes, la concentration dans le plasma est plus élevée puis ce rapport est inversé pour favoriser la distribution du propofol dans les globules rouges. Cela confirme l'expérience réalisée par Fan et ses collaborateurs<sup>84</sup> ainsi que l'hypothèse qu'il a formulée selon laquelle il existe un temps de latence dans la redistribution du propofol dans les globules rouges qui jouent un rôle de compartiment de réserve. Bien que la proportion de propofol soit supérieure dans les globules rouges, c'est le propofol présent dans le plasma qui est disponible pour agir au niveau des récepteurs ainsi que pour sa distribution, son métabolisme et son élimination.

## **E. CONCLUSION**

Cette partie du projet a permis dans un premier temps de vérifier que la méthode d'analyse du propofol par chromatographie liquide à haute performance avec détection par fluorimétrie est une méthode précise, reproductible, exacte et suffisamment sensible pour réaliser une étude pharmacocinétique.

Dans un deuxième temps l'étude de compatibilité du propofol a démontré une tendance de ce dernier à être absorbé par les contenants de polypropylène. Sa mise en solution dans le plasma et sa formulation en émulsion huile dans eau le protègent de ce phénomène et réduisent de manière importante son absorption dans le parois des tubes de polypropylène ou de chlorure de polyvinyle.

**CHAPITRE III : PHARMACOCINÉTIQUE DU PROPOFOL, EFFET  
DE L'ÂGE, DU SEXE ET DE LA PRÉMÉDICATION**

L'effet pharmacologique d'un médicament peut différer d'un individu à l'autre. La littérature abonde d'exemples illustrant ce phénomène : Une partie de la population est insensible à la codéine<sup>111</sup>; À cause de convulsions associées plus fréquentes, la dose recommandée de bupivacaine, un anesthésique local, est de 1,5 mg/kg chez les nouveau-nés et de 2,5 mg/kg chez les enfants de plus de 6 mois<sup>112</sup>. La dose d'imipramine requise pour la manifestation de l'effet antidépresseur est plus faible pour les hommes que pour les femmes<sup>113</sup>. Cette variabilité peut être attribuée à une différence de sensibilité des récepteurs pour le médicament (facteur pharmacodynamique) ou à une différence au niveau de son devenir dans l'organisme (facteur pharmacocinétique). On compte parmi les sources de variabilité de la pharmacocinétique, l'âge, la composition corporelle, la constitution génétique, certains états pathologiques, l'espèce concernée, l'exposition à des agents chimiques, la consommation d'alcool et de tabac, la grossesse, le cycle menstruel et le sexe<sup>114</sup>. Dans cette introduction, seuls les facteurs susceptibles d'influencer l'effet du propofol, administré par voie parentérale, chez un groupe de chiens en croissance et en bonne santé seront présentés. Nous ne nous attarderons donc pas sur les effets de certaines pathologies telles l'insuffisance rénale ou hépatique, ni sur l'effet de la grossesse ou de l'exposition à des agents chimiques.

## **A- FACTEURS AFFECTANT LA CINÉTIQUE ET LA DYNAMIE DES MÉDICAMENTS**

### **1. LA DISTRIBUTION**

La rapidité, l'intensité, et la durée de l'effet pharmacologique d'un médicament dépendent de la vitesse de son absorption et de son élimination mais aussi de la cinétique de sa distribution dans les tissus et les fluides biologiques. Les médicaments sont transportés à leur site d'action et d'élimination par la circulation sanguine. Certains xénobiotiques sont simplement dissous dans le sérum mais la majorité se lie de manière réversible aux protéines sanguines soit l'albumine, les globulines, les

lipoprotéines, les globules et l' $\alpha$ -1 glycoprotéine. Mesurer la distribution d'un médicament, c'est déterminer les compartiments où il se concentre en fonction du temps de séjour. Elle est donc directement reliée à la présence de l'agent au niveau des récepteurs pharmacologiques, des enzymes de biotransformation et des organes d'élimination.

La nature même du principe actif détermine tout d'abord l'étendue de sa distribution. S'il présente des caractéristiques physico-chimiques facilitant son passage à travers les membranes cellulaires (lipophile et de faible poids moléculaire), sa distribution est limitée par la perfusion et le débit sanguin des tissus. S'il s'agit d'un agent diffusant difficilement à travers les membranes cellulaires (hydrophile ou ionisé), sa distribution est limitée par sa vitesse de diffusion. En dehors de la nature physico-chimique du principe actif, trois facteurs interviennent dans la distribution et la diffusion tissulaire : le pH, la fixation protéique et le débit sanguin régional.

## **1.1 LE PH**

Dans la majorité des cas, les médicaments traversent les membranes cellulaires par diffusion passive. Le pH des différents tissus a une influence considérable car le degré d'ionisation du principe actif en dépend. Le pH des tissus est légèrement plus faible que celui du plasma. Les bases faibles se trouvent donc sous leur forme non ionisée dans le plasma et se distribuent rapidement vers les tissus dans lesquels ils deviennent ionisés et alors incapables de se redistribuer vers le plasma. On observe alors une accumulation du principe actif dans les tissus. L'inverse se produit avec les acides faibles.

### **1.1.1. facteur de variation du pH: l'âge**

Le pH sanguin est légèrement plus acide chez les nouveaux nés<sup>15</sup>. Il est de 7,32- 7,35. Ce facteur joue un rôle important dans la liaison aux protéines plasmatiques, particulièrement l'albumine, en participant à l'augmentation de la fraction libre des xénobiotiques et des substances endogènes comme la bilirubine.

## **1.2 LE DÉBIT SANGUIN RÉGIONAL**

Comme nous l'avons vu plus précédemment, l'importance du débit sanguin intervient pour les médicaments non ionisés et lipophiles qui diffusent rapidement et massivement à travers les parois capillaires et tissulaires. Le coefficient de partition octanol /eau du propofol est de 15 à pH 7.4<sup>6</sup>, et le place parmi les médicaments les plus lipophiles. La distribution de telles substances dépend du débit sanguin de l'organe qui lui peut varier considérablement selon les tissus ( **Tableau XXI** ). Ainsi, les poumons, le foie et les reins sont très perfusés alors que les tissus adipeux le sont moins. Une fois que le principe actif arrive dans la circulation systémique, il est distribué dans une grande proportion, pendant les premières minutes vers les tissus très vascularisés. La diffusion vers les tissus moins vascularisés est plus lente et l'atteinte de l'état d'équilibre peut nécessiter une période de temps comprise entre plusieurs minutes et quelques heures. Malgré sa grande lipophilicité, le propofol est d'abord distribué vers les tissus très vascularisés. C'est la rapidité de cette redistribution qui induit le réveil rapide caractéristique de cet anesthésique. Plusieurs auteurs ont suggéré de calculer la dose nécessaire à l'induction de l'anesthésie sur la base de la surface corporelle et non du poids<sup>116</sup>. Des cas de surdosage ont été rapportés chez des personnes obèses pour lesquelles la dose avait été calculée en fonction de leur poids<sup>117</sup>. À l'état d'équilibre cependant, le volume de distribution du propofol peut être affecté par la proportion de tissus adipeux.

### **1.2.1. Facteur de variation du débit hépatique : L'espèce**

Le débit hépatique augmente en fonction de la masse corporelle selon une fonction de puissance de  $1/4$ <sup>118</sup>. Pour les médicaments tels le méthotrexate ou le propofol, qui ont un coefficient d'extraction hépatique élevé, la clairance et le temps de demi-vie dépend du débit hépatique et par conséquent du poids de l'animal. La vie d'un homme est équivalente en général à sept ans de la vie d'un chien. Cela est dû au fait que par rapport à la durée de vie totale, le chien écoule 7,14 % de sa vie totale en 1 an alors l'homme l'écoule en 7 ans<sup>118</sup>. Les relations allométriques déterminées expérimentalement, relient la durée de vie d'un animal à sa taille, et à différents paramètres physiologiques comme le débit hépatique. La plupart se présentent sous la forme de fonctions puissance ( $Y = a \cdot M^b$  où Y est la variable physiologique, M est la masse corporelle, et a et b sont des constantes déterminées expérimentalement).

Tableau XXI : Taux d'eau et débit sanguin de quelques organes humains

	Organe	% du volume corporel	Pourcentage d'eau	Débit sanguin (ml/min)
<b>Groupe 1</b> Très vascularisés (75 % débit cardiaque)	Glandes endocrines	0,03	-	25
	Sang	7	83	5000
	Cœur	0,5	79	200
	Poumon	0,7	79	5000
	Foie			Portal : 1050 Artériel : 300
	Rein	0,4	83	1100
	Cerveau	2	75	700
<b>Groupe 2</b> Moins vascularisés (15% débit cardiaque)	Muscles	42	76	750
	Peau	18	72	300
<b>Groupe 3</b> peu vascularisés (2-5% débit cardiaque)	Tissus adipeux	10	10	200
<b>Groupe 4</b> Vascularisation négligeable	Os Tendons, ligaments etc...	16	22	250

La constante  $b$  équivaut à  $\frac{3}{4}$  lorsque le paramètre  $Y$  décrit un processus métabolique et à  $\frac{1}{4}$  lorsque  $Y$  décrit des paramètres reliés au temps comme le rythme cardiaque ou le débit hépatique. Boxennbaum et Campbell<sup>119</sup> ont utilisé l'exemple de la fréquence respiratoire et de la fréquence cardiaque pour illustrer ce fait. Le rapport entre ces deux paramètres est égal à quatre chez les mammifères, qu'il s'agisse d'une souris ou un éléphant. Les fréquences cardiaques et respiratoires peuvent être extrapolées grâce aux équations suivantes :

Fréquence respiratoire =  $0,169 \cdot B^{0,28}$  ; Fréquence cardiaque =  $0,0428 \cdot B^{0,28}$  ;  
 $B$  étant le poids corporel

Ces deux fonctions varient selon une puissance de 0,28. La durée de vie des mammifères varie selon la même fonction. On peut en déduire qu'au cours de leur vie, les mammifères ont le même nombre de battement cardiaque et de respirations. Lorsque ce nombre est atteint, l'animal meurt. La différence entre les espèces réside dans le fait que les plus petits animaux ont une fréquence cardiaque plus élevée et ont une durée de vie plus courte. Notons cependant que ces relations sont générales. Le chien est une des espèces qui montre le plus de variabilité entre les races au niveau des caractéristiques physiologiques (la morphologie, la composition corporelle etc..)

### **1.2.2 Facteur de variation du débit hépatique : l'âge**

Dans le même ordre d'idée, le métabolisme basal et le débit sanguin des nouveau-nés et des enfants dont la surface corporelle est plus faible que celle de l'adulte, est plus important. Les paramètres pharmacocinétiques ne sont cependant pas affectés par ce facteur ( la différence de débit hépatique), s'ils sont calculés par rapport à la surface corporelle et non au poids en kg. Plusieurs auteurs ont rapporté que la clairance des médicaments chez les enfants est plus élevée et attribuent cette différence au fait que la masse du foie par rapport au poids corporel est plus élevée chez ceux-ci et que la perfusion de ces tissus est par conséquent plus élevée. Il a été rapporté que la clairance absolue du propofol chez les enfants est supérieure à celle de l'adulte<sup>120</sup>. Pelkonen & Karki<sup>121</sup> ont soutenu que l'activité spécifique in vitro des enzymes hépatiques chez l'enfant se rapprochent de celle de l'adulte, lorsque la masse hépatique est prise en compte. Cette théorie est en fait faussée car les différences de débit hépatiques et de paramètres d'élimination peuvent être nivelées par le calcul des

paramètres sur la base de la surface corporelle et non du poids<sup>122</sup>. La prédiction du volume de distribution à partir des relations allométriques aboutit à de pauvres résultats pour les médicaments lipophiles<sup>123</sup>. La composition corporelle varie en fonction de l'âge. Le volume d'eau total passe de 80% à 60% entre le moment de la naissance et la première année chez l'homme. Cette diminution provient surtout de la diminution de la proportion d'eau extracellulaire. Celle-ci passe de 45% à 26% entre la naissance et la première année. Les taux d'eau intra- et extra-cellulaires atteignent des valeurs adultes (50% d'eau totale et 20% d'eau extracellulaire) à l'adolescence<sup>124</sup>. La dose ajustée au poids ou à la surface corporelle, nécessaire pour atteindre la concentration plasmatique thérapeutique, est donc plus importante pour les enfants que pour les adultes, leur volume de distribution étant plus important. Plusieurs études chez l'homme ont révélé que la dose nécessaire pour induire l'anesthésie au propofol est supérieure chez les enfants comparativement à l'adulte<sup>125</sup>. Aussi, dans le cadre d'une étude dont le but était d'évaluer différents protocoles d'anesthésie chez les chiots âgés de 1 à 3 mois<sup>127</sup>, on a rapporté que, la dose de propofol ajustée au poids, nécessaire pour induire l'anesthésie était plus forte. La cause de cet écart est d'ordre pharmacocinétique car il a été démontré chez l'homme que le volume de distribution du compartiment central est plus élevé chez les enfants que chez l'adulte.

À partir de 25 ans le débit sanguin hépatique diminue de 0,3 à 1,5% par année. À l'âge de 60 ans, il équivaut à 60% du débit hépatique d'un individu de 25 ans<sup>128</sup>. De ce fait, l'élimination observée chez les personnes âgées est plus faible que celle observée chez les sujets jeunes d'un facteur de 40%. D'une manière générale, les médicaments qui ont un coefficient d'extraction hépatique élevé, et dont la clairance est dépendante du débit hépatique, sont éliminés moins rapidement et présentent des concentrations plasmatiques plus élevées. La diminution de la perfusion tissulaire peut aussi retarder le temps d'atteinte de concentration maximale (Tmax).

### **1.2.3 Facteur de variation du débit hépatique : La médication**

Certains médicaments tels les anesthésiques causent des changements hémodynamiques de par leur propriété vasodilatatrice par exemple et peuvent diminuer le débit hépatique et la perfusion tissulaire. Lange & coll.<sup>68</sup> ont observé que le propofol diminuait de débit sanguin hépatique de 14% après une administration en bolus de 2,0 mg/kg. Ce phénomène a aussi été démontré chez le chien<sup>129</sup>. Les médicaments dont le

coefficient d'extraction hépatique est élevé (supérieur à 0,9) ont une clairance limitée par le débit hépatique et non par la clairance intrinsèque. Cette diminution du débit hépatique peut par conséquent engendrer une diminution de la clairance pour de tels médicaments (débit dépendant). Des études menées avec des pompes de perfusion contrôlées par ordinateur, ont permis de noter que le mode d'administration influence la pharmacocinétique du propofol. Coetzee & coll.<sup>130</sup> et Vuyk & coll.<sup>131</sup> ont suggéré que ceci était dû à une saturation enzymatique, et par conséquent que la pharmacocinétique du propofol est non linéaire. Mais la diminution soutenue du débit sanguin hépatique peut expliquer en partie le fait que les concentrations mesurées sont plus élevées que les concentrations calculées à l'aide de paramètres obtenus après une perfusion de courte durée ou l'administration d'un bolus<sup>132</sup>.

### **1.3 LIAISON PROTÉIQUE**

#### **1.3.1 Les protéines sanguines**

La liaison aux macromolécules est aussi un facteur qui influence la distribution des médicaments : La concentration des protéines plasmatiques (l'albumine pour les médicaments acides et l'alpha glycoprotéine pour les médicaments basiques) peut constituer une étape limitant la distribution. La liaison protéinique joue le rôle de réservoir et de régulateur. Une forte fixation peut retarder l'effet d'un médicament en limitant son accès aux sites d'action et, à l'inverse, le prolonger en limitant son accès aux organes d'élimination. Le pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques est aussi un autre facteur qui limite la diffusion tissulaire. Cependant si l'affinité du tissu est supérieure à celle des protéines, le passage du médicament s'effectue vers le tissu<sup>133</sup>.

L'effet de la variation de la liaison des médicaments aux protéines plasmatiques sur les paramètres pharmacocinétiques est résumé au **tableau XXII**. Il est à noter que ces conclusions sont valables si l'on formule l'hypothèse selon laquelle toutes les autres variables tel le débit hépatique ou la clairance intrinsèque sont constantes.

D'une manière générale, ce sont les médicaments qui sont fortement liés aux protéines plasmatiques qui sont sensibles à une variation dans leur liaison aux protéines de transport.

Tableau XXII : Influence de la liaison aux protéines plasmatiques sur le volume de distribution, la clairance et le temps de demi-vie

Paramètre	Formule	Effet d'une augmentation de liaison aux protéines plasmatiques
Volume de distribution	$V_{eq} = 7+8 \cdot f_u + V_T [f_u / f_{ur}]$	Petit volume de distribution: $V_{ss} \cong 7+$ 8 ; $f_u \uparrow$ ; $\nearrow V_{ss}$
Clairance totale	$CL = [Q \cdot f_u \cdot CLu_{int}] / [Q + f_{up} \cdot CLu_{int}]$	Grand volume de distribution : $V_T [f_u / f_{ur}]$ ; $f_u \uparrow$ ; $\uparrow V_{ss}$ Coefficient d'extraction hépatique faible : $CL = f_{up} \cdot CLu_{int}$ ; Coefficient d'extraction hépatique élevé: $f_u \uparrow$ ; $\rightarrow CL$
Temps de demi-vie	$T_{1/2} = 0,693 \cdot V_{ss} / CL$	Petit volume de distribution –Coefficient d'extraction hépatique faible : $f_u \uparrow$ ; $\searrow T_{1/2}$
		Petit volume de distribution- coefficient d'extraction élevé : $f_u \uparrow$ ; $\nearrow T_{1/2}$
		Grand volume de distribution – coefficient d'extraction faible : $f_u \uparrow$ ; $\rightarrow T_{1/2}$
		Grand volume de distribution – coefficient d'extraction élevé : $f_u \uparrow$ ; $\uparrow T_{1/2}$

$f_u$  est la fraction de médicament non liée aux protéines plasmatiques;  $f_{ur}$  est la fraction de médicament non liée aux protéines tissulaires;  $V_T$  est le volume tissulaire;  $Q$  est le débit hépatique;  $CLu_{int}$  est la clairance intrinsèque de la fraction de médicament non liée.

## **i. Facteurs de variation de la liaison aux protéines sanguines :**

### **L'espèce**

La composition sanguine en protéines de transport (albumine, lipoprotéines, glycoprotéine) diffère d'une espèce à l'autre<sup>134</sup>. Cette différence concerne aussi bien la concentration totale et les proportions relatives des différentes protéines plasmatiques, que la composition et la conformation de l'albumine présente dans le plasma des différentes espèces. Le sérum humain contient d'une manière générale un plus haut taux d'albumine par unité de protéines sériques totales par rapport aux autres mammifères. L'albumine de rat et de bovins par exemple se comportent différemment de l'albumine humaine. L'albumine de rat lie différemment l'isomère D de l'acide desméthyl- $\alpha$ -(4-chlorophenoxy)- $\alpha$ -propionique par rapport à l'isomère L alors que l'albumine humaine se lie indifféremment aux deux isomères. Ces différences sont dues en partie à une différence dans la structure et la composition en acides aminés des protéines plasmatiques<sup>135</sup>. Des variations importantes et statistiquement significatives dans la liaison de plusieurs médicaments aux protéines plasmatiques sont par conséquent souvent observées.

### **ii. Facteur de variation de la liaison aux protéines sanguines : L'âge**

Les concentrations d'albumine et de protéines totales sont plus faibles chez les enfants et atteignent des valeurs similaires à celles trouvées chez l'adulte à l'âge de 1 an chez l'homme<sup>136</sup>. Chez la personne âgée le taux d'albumine diminue de 12,5 % environ<sup>137</sup>. L'évolution des taux de  $\alpha$ 1-glycoprotéine est moins bien définie chez l'enfant. Chez la personne âgée elle tend à augmenter. C'est une protéine qui contrairement à l'albumine montre une grande variabilité interindividuelle. Son taux augmente lors d'un traumatisme ou d'une infection.

L'affinité des protéines plasmatiques pour les médicaments semble-t-elle aussi, différer en fonction de l'âge : chez le nouveau-né, le phénobarbital, la théophylline et la phénytoïne par exemple sont moins fortement liés<sup>138</sup>. Cette affinité est due aux plus fortes concentrations de substances endogènes entrant en compétition sur les sites de liaison, comme la bilirubine, et au pH plus acide chez les nouveau-nés. Ce dernier phénomène est cependant normalisé dès la première année. Selon Ecobichon et

Stephen<sup>139</sup>, la liaison aux protéines plasmatiques est comparable à celle de l'adulte à l'âge de 3 ans pour les médicaments acides et à l'âge de 7 à 12 ans pour les médicaments basiques.

### **iii. Facteur de variation de la liaison aux protéines sanguines : la médication**

Certains agents peuvent déplacer les médicaments de leurs sites de liaison aux protéines de transport. Ce sont les médicaments qui sont fortement liés aux protéines plasmatiques (plus de 80%), qui sont les plus sensibles à une telle interaction. Le déplacement d'une faible quantité d'un tel agent de son site de liaison par un autre médicament augmente de beaucoup la quantité de sa forme non liée. Par exemple, le déplacement de leur site de liaison, de 1% seulement d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (liés aux protéines plasmatiques à 99%), double la quantité de médicament non lié dans la circulation systémique. Un autre exemple : Les agents de contraste utilisés pour les radiographies prolongent la durée d'action des barbituriques chez le rat

140

### **iv. Facteur de variation de la liaison aux protéines sanguines : le sexe**

Le sexe influence peu la liaison des protéines plasmatiques. Le taux d'albumine n'est pas influencé par le sexe. Par contre la concentration plasmatique d'acide  $\alpha$ -glycoprotéine est diminuée par les oestrogènes et les femmes ont un plus faible taux de cette protéine que les hommes. Les autres protéines de transport telles les globulines et les lipoprotéines ne sont pas affectées par le sexe<sup>141</sup>. Une différence dans la liaison du diazépam aux protéines plasmatiques a été observée entre les sexes. Cette différence n'a cependant pas de conséquence clinique importante.

### **2.3.2 Les protéines tissulaires**

La liaison aux protéines tissulaires influence aussi la distribution : Les médicaments peuvent s'accumuler dans les tissus. La liaison s'effectue souvent avec des protéines, des nucléoprotéines ou des phospholipides et elle est en général réversible. Ces derniers jouent alors un rôle de réservoir tout comme les protéines plasmatiques et prolongent la durée d'action du principe actif. Les tissus adipeux jouent aussi ce rôle pour les médicaments très lipophiles comme le thiopental par simple solubilisation <sup>142</sup>.

Les médicaments peuvent être ainsi divisés : ceux qui diffusent plus facilement dans les tissus maigres où leur volume de distribution est proportionnel au pourcentage corporel de tels tissus. Pour ceux qui diffusent plus facilement dans les tissus adipeux, le volume de distribution est proportionnel au taux corporel de tissus adipeux.

#### **i. Facteurs de variation de la liaison aux protéines tissulaires :**

##### **l'espèce**

La liaison aux protéines tissulaires peut aussi différer d'une espèce à l'autre. Par exemple, le paraquat se fixe irréversiblement au niveau du poumon chez le chien et l'homme, mais pas chez le rat<sup>133</sup>. Il n'existe cependant pas de règle générale permettant de prévoir l'affinité d'un médicament aux protéines tissulaires ou plasmatiques des différentes espèces à l'exception des médicaments qui sont très lipophiles. Ces derniers s'accumulant dans les tissus adipeux, les espèces pourvues d'une masse grasseuse importante comme le mouton ou le cochon nécessitent en général une dose plus importante que les espèces pourvues de moins de masse grasseuse comme le chien ou l'homme<sup>133</sup>.

#### **ii. Facteur de variation de la liaison aux protéines tissulaires: l'âge**

La composition corporelle varie en fonction de l'âge. Chez le nouveau-né, le pourcentage de graisse représente 16 % du poids corporel et augmente à partir de l'âge de 5 à 10 ans chez l'homme. Un médicament très lipophile tel le diazépam voit son volume de distribution être bas chez les nouveau-nés et les enfants (1,3- 2,6 L/kg) et atteindre des valeurs plus élevées chez l'adulte (1,6 – 3,2 L/kg).

Chez les sujets âgés (plus de 60 ans chez l'homme et plus de 10 ans chez le chien), la masse musculaire diminue et la masse grasseuse tend à augmenter<sup>142</sup>. Les médicaments liposolubles comme le thiopental, la lidocaine et les antidépresseurs tricycliques sont distribués dans une plus grande proportion et voient leur volume de distribution augmenter chez les sujets âgés. Les médicaments hydrophiles voient au contraire leur volume de distribution diminuer.

Reid & Nolan<sup>143</sup> ont étudié la pharmacocinétique du propofol chez des chiens âgés (8,5 – 10,5 ans) auxquels aucune prémédication n'avait été administrée. La clairance s'est révélée plus faible que celle observée dans les études menées sur de jeunes chiens. Schnider et ses collaborateurs<sup>132</sup> ont noté des différences similaires chez l'homme. Ils ont comparé les paramètres pharmacocinétique du propofol chez trois groupes âgés de plus de 25 ans, de plus de 50 ans et de plus de 75 ans. L'âge affectait significativement le volume de distribution ainsi que la clairance du compartiment périphérique, démontrant ainsi que la distribution entre les compartiments est diminuée chez les sujets âgés dont l'eau intracellulaire est diminuée.

### **iii. Facteur de variation de la liaison aux protéines tissulaires: le sexe**

La composition corporelle varie aussi en fonction du sexe. Cette différence commence à apparaître au moment de la puberté<sup>144</sup>. La masse musculaire augmente pour les deux sexes en fonction de l'âge. Cette augmentation est cependant plus forte chez les individus de sexe masculin que chez les individus de sexe féminin à partir de la puberté, à cause probablement d'une sécrétion accrue de testostérone chez ces premiers. Il existe aussi des différences dans le taux de tissus adipeux : Les femmes tendent à accumuler des graisses lors de la puberté alors que les hommes tendent à les perdre. À la fin de la puberté le taux de graisse représente 12 % de la masse corporelle chez les hommes et 25 % chez les femmes. Ces différences ont quelquefois pour conséquence des différences dans le volume de distribution des médicaments lipophiles qui s'accumulent dans les tissus adipeux, comme la trazodone. Kay et ses collaborateurs<sup>145</sup> n'ont observé aucune différence entre les paramètres pharmacocinétiques du propofol chez les femmes et les hommes à l'exception du fait que le rapport entre le volume de distribution à l'état d'équilibre et que le volume de distribution dans le troisième compartiment (correspondant aux tissus adipeux) était plus élevé chez les hommes que chez les femmes, ces dernières ayant un pourcentage de

graisse plus important. Morgan & Legge<sup>146</sup> et Watkins SB & coll<sup>147</sup> ont cependant remarqué que chez le chien, la dose d'induction nécessaire était légèrement plus élevée pour les mâles que pour les femelles. Chez l'homme, des conclusions contraires ont été amenées : Gan et ses collaborateurs ont observé que les femmes se réveillaient d'une anesthésie au propofol plus rapidement que les hommes<sup>148</sup>. Cette différence a été attribuée à une différence de sensibilité des récepteurs, mais aussi, à des différences pharmacocinétiques. Il est à noter qu'il s'agissait d'une étude pharmacodynamique. Les concentrations plasmatiques n'avaient pas été mesurées, mais une simulation à partir des paramètres obtenus dans des études ayant incorporé l'effet du sexe dans le modèle comme covariable avait été effectuée. Les résultats de cette simulation ont révélé que le volume de distribution du propofol ainsi calculé est plus élevé chez les femmes que chez les hommes. La redistribution vers les compartiments périphériques plus important chez les femmes, serait la raison de cette différence. Une seconde étude portant sur le rat<sup>149</sup> a permis d'observer un dimorphisme sexuel dans la pharmacocinétique du propofol. Le temps de réveil était de 50% plus long chez les femelles que chez les mâles

#### **iv. Facteur de variation de la liaison aux protéines tissulaires : la race**

La composition corporelle varie aussi selon la race. Les chiens qui font partie des *sighthound* (scottish deerhound, levriers, whippet...) ont des caractéristiques particulières : Parmi ces dernières, on compte une composition corporelle faible en masse adipeuse et forte en masse musculaire. L'influence de cette caractéristique sur l'effet pharmacologique des médicaments n'a cependant pas été démontrée.

## **2. BIOTRANSFORMATION**

La biotransformation est une étape déterminante dans l'action des médicaments car c'est l'étape au cours de laquelle la structure chimique du médicament est modifiée de sorte qu'il devienne pharmacologiquement inactif, ou actif s'il s'agit d'un "pro-médicament"<sup>140</sup>.

La biotransformation des xénobiotiques est d'abord considérée comme un moyen de d'épuration des composés en général lipophiles. En effet les caractéristiques

lipophiles des médicaments permettant leur passage à travers les membranes biologiques et leur accès à leur site d'action, rendent difficile leur élimination. Peu de médicaments sont éliminés sous leur forme inchangée par excrétion rénale. Les composés lipophiles filtrés au niveau du glomérule, sont pour la plupart réabsorbés à travers les membranes tubulaires. Leur biotransformation en composés moins lipophiles est donc nécessaire pour l'arrêt de leur activité biologique et leur élimination de l'organisme. Différentes observations ont cependant permis de définir le rôle plus large de la biotransformation : Le second rôle que joue la biotransformation est l'activation de certains xénobiotiques en composés soit pharmacologiquement plus actifs, soit plus toxiques. Un exemple : les hydrocarbures polycycliques benzo (a) pyrènes. Leur époxydation par le cytochrome P450 les transforment en composés carcinogènes. Le troisième rôle de la biotransformation est le métabolisme des substances endogènes, en particulier les stéroïdes. Il a été démontré que le cytochrome P450 joue un rôle central dans la biotransformation du cholestérol en hormones stéroïdiennes<sup>140</sup>.

Les parties de la cellule dans lesquelles se tiennent les réactions de biotransformation sont principalement le réticulum endoplasmique et le cytosol, et à un degré moindre, dans les mitochondries, l'enveloppe nucléaire, et la membrane plasmique. On distingue deux grands types de réactions de biotransformation : Les réactions dites de phase I sont des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse. Ce sont des réactions de fonctionnalisation impliquant la modification ou la création de groupements fonctionnels. Les réactions dites de phase II sont des réactions de conjugaison avec un des composés endogènes suivants : l'acide glucuronique, glutathion, acides aminés, l'ion sulfate ou l'ion méthyl<sup>140</sup>.

### **Réactions de phase I**

Les réactions de phase I sont des réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de déshydratation ainsi que d'autres réactions plus rares telles l'isomérisation<sup>140</sup>. Elles ont la particularité de faire intervenir directement l'oxygène moléculaire. Elles sont conduites par les *mixed function oxydase* (MFO) ou d'autres enzymes telles que l'alcool déshydrogénase, l'aldéhyde déshydrogénase, la xanthine oxydase. Les *mixed function oxydase* (MFO) sont des enzymes qui conduisent un nombre important et dans une proportion importante les réactions de fonctionnalisation. Elles sont localisées dans les microsomes (réticulum endoplasmique) de plusieurs

cellules (surtout du foie mais aussi du rein, du poumon, et de l'intestin). Elles constituent le système enzymatique permettant la tenue des réactions de fonctionnalisation dites de phase I, soit, un système de transport d'électrons (NADPH cytochrome P450 b5 réductase et NADH cytochrome b5 réductase), un ou plusieurs isoenzymes catalysant la réaction (un ou plusieurs isoformes du cytochrome P450). Le cytochrome P450 est une famille d'isoenzymes catalysant une grande variété de réactions (hydroxylation aromatique, hydrogénation, aromatisation...). Elles siègent dans les microsomes hépatiques principalement mais aussi dans les tissus intestinaux, rénaux, pulmonaires, cérébraux et cutanés et plus spécifiquement, au niveau du réticulum endoplasmique et du cytosol. Le cytochrome P450 constitue une famille de protéines hémiques. Elles sont classifiées en familles, sous familles et isoenzymes. Selon la nomenclature établie, le premier chiffre indique la famille (plus de 40% des séquences d'acides aminés communes), la lettre qui suit indique la sous famille (plus de 59% des séquences d'acides aminés communes), et enfin le dernier chiffre identifie un isoforme en particulier. La majorité des CYPs présents chez les mammifères appartiennent aux familles 1, 2, 3, et ce sont les isoformes suivants : 1A1, 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4, 3A5, et 3A7<sup>140</sup>.

### **Réactions de phase II**

Les réactions de conjugaison sont des réactions dans lesquelles un xénobiotique ou un métabolite forme un lien covalent avec une molécule endogène<sup>150</sup>. Des molécules plus hydrosolubles sont formées ce qui facilite leur excrétion. La formation de conjugués résulte d'une réaction spontanée entre le xénobiotique ou le métabolite électrophile avec le centre nucléophile des macromolécules endogènes (glutathion, acide glucuronique). Ces réactions nécessitent la participation de transférases spécifiques à l'exception de la conjugaison à des acides aminés. Nous concentrerons notre attention sur la glucuronidation et la sulfatation car ce sont les seules voies de conjugaison du propofol<sup>63</sup>. La glucuronoconjugaison est une réaction très fréquente. Elle aboutit à la formation d'éthers ou d'ester selon que la substance est conjuguée à un alcool ou à un acide. Il existe des réactions de conjugaison sur des groupements aminés ou thiols. Le mécanisme de la réaction implique la formation d'acide glucuronique activé (uridine diphosphoglucuronique) à partir d'UDP-glucose par l'UDPG déshydrogénase. L'acide glucuronique activé se combine au substrat sous l'action d'une glucuronyl transférase

(UGT). Au moins 18 isoformes de cette enzyme ont été dénombrés chez l'homme. La nomenclature des uridines 5'-diphosphate glucuronosyltransférase (UGT) est basée sur l'évolution différente des gènes contrôlant leur expression. Les UGTs ayant au moins 50% d'homologie partagent le même premier chiffre arabe. La lettre qui suit décrit la sous famille commune et le dernier chiffre décrit un gène particulier (ex : UGT 1A1). Elles catalysent le métabolisme de substances endogènes (bilirubine, ethinylestradiol) et de substances exogènes (morphine, paracétamol). La spécificité de ces substrats n'a cependant pas encore été tout à fait caractérisée. Les UGT siègent dans les tissus hépatiques mais aussi dans les tissus rénaux, pulmonaires, intestinaux, cutanés et adrénaliens. Dans le foie, cette enzyme est plus précisément localisée dans les membranes du réticulum endoplasmique hépatique, permettant facilement la conjugaison des métabolites de phase I. La sulfoconjugaison est réalisée sous l'influence de sulfokinases présentes dans la fraction hydrosoluble de la cellule hépatique surtout mais aussi rénale et intestinale; Elle présente un spectre d'activité étroit. Les métabolites obtenus sont des dérivés sulfoniques ou sulfamates. Comme pour la glucuronoconjugaison, la réaction nécessite l'activation du groupement sulfate conjugué sous forme de 3-phosphoadénosine 5'-phosphosulfate. Par suite de la faible capacité du pool sulfate, cette réaction est moins fréquente. C'est une réaction dirigée vers des substrats comme les phénols, les alcools ou les hydroxylamines, produits en général par les réactions de phase I, pour produire à son tour des esters de sulfates facilement excrétables. Les sulfotransférases sont hydrosolubles et sont présentes dans divers tissus dont le foie, le rein, l'intestin. Il semble qu'il existe aussi des isoformes des sulfotransférases. En effet certaines d'entre elles métabolisent les stéroïdes et d'autres qui sulfatent les médicaments. Il est à noter que les réactions de sulfatation sont quantitativement de moindre importance par rapport à la glucuronoconjugaison. Cela est dû en partie à la biodisponibilité réduite des sulfates inorganiques. C'est une voie de biotransformation quelquefois saturable<sup>151</sup> Les voies de biotransformation peuvent varier de manière qualitative ou quantitative : Un médicament peut être biotransformé par une voie métabolique plutôt qu'une autre (qualitative); ou bien, une voie métabolique peut être favorisée par rapport à une autre (quantitative). Les facteurs influençant le métabolisme des médicaments sont nombreux. Nous exposerons dans ce chapitre les facteurs susceptibles d'influencer le métabolisme du propofol chez des chiens en croissance, soit le sexe, la race, l'âge, le génotype, l'espèce et la co-médication. Nous ne nous attarderons pas sur les facteurs physiologiques acquis (grossesse ou

pathologie), ni sur les facteurs environnementaux (exposition à des agents chimiques ou nutrition).

## **2.1 FACTEUR DE VARIATION DU MÉTABOLISME :L'ESPÈCE**

Comme nous l'avons vu plus haut, des corrélations allométriques permettant de prévoir les variables pharmacocinétiques de différentes espèces en fonction de leur poids aboutissent certaines fois (lorsque le coefficient d'extraction hépatique est élevé) à de bons résultats. Mais il arrive aussi qu'elles aboutissent à de faibles corrélations. La faiblesse des corrélations pour les médicaments à faible coefficient d'extraction hépatique peut être reliée non seulement à des différences de liaison aux protéines mais aussi à des différences dans leur métabolisme. Ces différences sont dues à trois facteurs : le premier réside dans le fait que certaines espèces sont dépourvues d'enzymes spécifiques nécessaires au métabolisme d'un composé donné : Le rat ne peut par exemple pas N-hydroxyler les amines aliphatiques; le chat ne peut glucuronider les acides aromatiques; le chien ne peut acétyler plusieurs amines primaires<sup>151</sup>. Dans un second lieu, certaines réactions métaboliques sont propres à certaines espèces particulières. Par exemple, seuls l'homme et le singe glucuronident la sulfadiméthoxine et conjuguent les acides aryles acétiques à la glutamine. Enfin en troisième lieu, bien que les différentes espèces aient la capacité de conduire les mêmes réactions métaboliques, il existe des différences considérables dans l'importance d'une voie métabolique par rapport à l'autre lorsque le xénobiotique est un substrat pour plus d'une réaction compétitive. La **figure 10** provient d'un article de Simon<sup>63</sup> et présente les différentes voies de biotransformation du propofol chez différentes espèces.

### **Réactions de phase I**

Des études *in vitro* des microsomes hépatiques ont permis d'évaluer l'activité des enzymes de biotransformation de différentes espèces. La fiabilité de ces études dépend de la méthode utilisée pour la détermination de l'activité enzymatique. La difficulté des méthodes utilisant des substrats spécifiques réside dans le fait que la spécificité enzymatique pour un substrat donné peut différer d'une espèce à l'autre mais être la même pour un autre substrat : L'activité de la N-déméthylase évaluée avec l'éthylmorphine est différente chez le mouton et les bovins mais elle est similaire chez ces

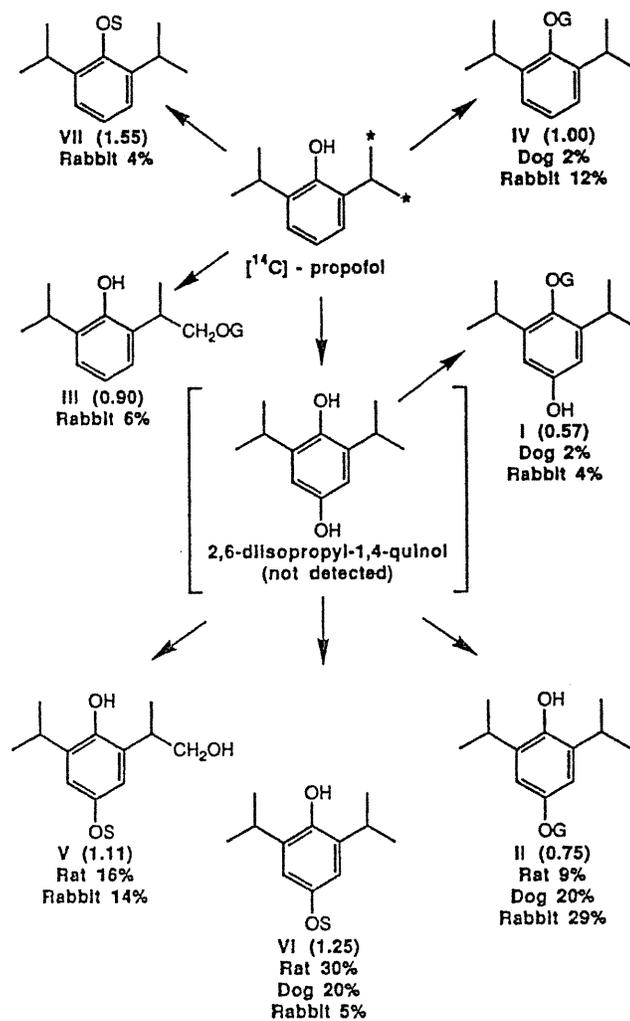
Figure 10 : Métabolisme du propofol chez différentes espèces<sup>63</sup>.

Figure 1. Assigned structures of the metabolites and approximate proportions of the dose eliminated in the urine (0–24 h) after a bolus dose of <sup>14</sup>C-propofol.

The positions of the isotopic C-atoms (\*) and h.p.l.c. elution times (in parentheses), relative to propofol glucuronide (IV), are also shown. Glucuronic acid and sulphate conjugation groups are indicated by G and S respectively.

deux espèces si l'activité de cette enzyme est déterminée avec la benzophétamine comme substrat. La méthode utilisant des anticorps monoclonaux permet de caractériser avec plus de certitude l'activité enzymatique des isoformes du CYP450. Cette méthode a été utilisée pour caractériser la sous famille 2A, 2C, 2D et 3A<sup>152</sup>.

L'activité des enzymes appartenant à la sous-famille des CYP1A est comparable chez le chien, l'homme, le cheval et le chat<sup>152</sup>.

L'activité de la famille d'isoenzymes CYP2A est plus élevée chez l'homme que chez les autres espèces avec un rapport de 8 fois pour le chat, de 6 fois chez le chien et de 4 fois chez le cheval<sup>162,163</sup>.

Les isoenzymes appartenant à la sous-famille des CYP3A ont été isolées chez le rat, le chien et l'homme. Chez ces trois espèces elles catalysent les mêmes réactions et elles sont inhibées par les mêmes composés. Chez ces trois espèces, ce sont des enzymes catalysant des réactions impliquant des substrats lipophiles, pouvant être volumineux. Les réactions dépendant des CYP3A sont inductibles par les stéroïdes, les barbituriques, les anticonvulsivants, et les antibiotiques macrolides. Chez le rat, il existe un recouvrement dans la spécificité des enzymes 3A et 2C : Chez ce dernier le CYP2C catalyse l'oxydation de la nifédipine et la déethylation de la lidocaïne et le CYP3A catalyse l'hydroxylation de la S-méphénytoïne. Par contre, chez l'homme, c'est le CYP3A qui catalyse l'oxydation de la nifédipine et la déethylation de la lidocaïne et le CYP2A qui catalyse l'hydroxylation de la S-méphénytoïne. Les substrats réagissant spécifiquement avec les CYP3A chez le chien et l'homme, réagissent aussi avec la sous famille des CYP2C.

Les enzymes appartenant à la sous familles des CYP2D présentent la même sélectivité et la même pour les substrats chez l'homme, le rat, le chien et le chat. Leur activité est cependant significativement plus élevée chez le cheval<sup>152</sup>. Ces enzymes comportent un site de liaison acide pour les groupements nitro des substrats, et catalysent les réactions d'hydroxylation à une distance de 5 Å de l'atome d'azote, sur le cycle aromatique ou sur un groupement alkyle. Le métabolisme catalysé par cette enzyme est saturable, il ne concerne pas seulement les médicaments lipophiles, et il n'est pas inductible. La clairance intrinsèque des médicaments éliminés par cette voie est en général plus élevée chez le rat que chez le chien et chez l'homme alors qu'elle est similaire chez les deux dernières espèces citées.

L'activité des CYP 2E1 est la même chez le chien, l'homme et le chat <sup>152,153</sup>. Cette enzyme est importante car elle est responsable de la formation de métabolites électrophiliques de l'acétaminophénol et de l'isoniazide. Elle est induite par l'alcool éthylique et la phénytoïne.

Les enzymes appartenant à la sous famille des CYP2C sont celles pour lesquelles il existe des différences importantes entre les espèces. Chez l'homme, leur site actif lie les molécules hydrophiles ou formant les ponts hydrogènes alors que ce n'est pas toujours le cas chez le chien et chez le rat. Il existe des différences stéréosélectives dans le métabolisme catalysé par le CYP2C19. La méphénytoïne est biotransformée en s-mephenitoïne par les microsomes humains et en R-mephenitoïne par les microsomes canins <sup>153, 155</sup>. L'activité de ces enzymes est plus élevée chez l'homme que chez le chat (20 fois plus élevée). Le taux d'activité chez le chien est très faible ce qui explique que ce dernier ne métabolise pas la tolbutamide alors que le rat et l'homme biotransforment ce "marqueur métabolique" par hydroxylation.

### **Réactions de phase II**

Les réactions de conjugaison varient selon les mêmes facteurs que les réactions de phase I. Certaines espèces n'ont pas la capacité de conduire certaines d'entre elles (*tableau XXIIIa*). Les données décrites au tableau XXIIIa et b ne peuvent être généralisées : les substrats affectés sont variables. Par exemple l'incapacité de conduire des réactions de glucuronidation par les félins s'applique pour beaucoup de substrats mais pas tous.

**Tableau XXIIIa : Incapacité de certaines espèces à conduire certaines réactions de conjugaison classiques**

<b>Espèce</b>	<b>Réaction non réalisée</b>
Chats et autres félins	Glucuronidation des acides de petite masse et des phénols.
Chiens et renards	N-acétylation pour tous les substrats connus sauf la S-aryl cystéine.
Cochon	Sulfatation
Chauve souris	Formation d'acide hippurique
Cochon indien	Formation d'acide mercapturique

Certaines réactions de conjugaison sont particulières à quelques espèces. Le **tableau XXIIIb** en présente quelques exemples.

**Tableau XXIIIb : Réactions de conjugaison classiques propres à des espèces particulières**

Réaction	Espèce
Conjugaison de l'acide phénylacétique à la glutamine	Homme et singe
N-glucuronidation de la sulfaméthoxine	Primates
O-méthylation de l'acide 4-hydroxy-3,5-ddisobenzoïque	Homme et singe
N-glucuronidation et quaternisation de la cyproheptamine	Hommes et singes
Conjugaison des acides arylacétique à la taurine	Toutes mais plus développée chez les carnivores
Fenclofenac ; acide clofibrique	Chien et carnivores

Les différences existant dans les réactions de conjugaison concernent aussi l'importance d'une voie métabolique en particulier lorsque plusieurs réactions compétitives sont possibles. Il existe beaucoup d'exemples illustrant cette différence. Un exemple important concerne le phénol. Il est métabolisé par glucurono-conjugaison ou sulfo-conjugaison et l'importance de l'une de ces voies varie en fonction des espèces. Chez l'homme, la sulfo-conjugaison prédomine, alors que chez les autres primates, les deux voies présentent la même activité. Chez le chien la sulfoconjugaison est un processus saturable.

## **2.2 FACTEUR DE VARIATION DU MÉTABOLISME : LE PROFIL GÉNÉTIQUE**

Le métabolisme des xénobiotiques peut varier en fonction du profil génétique. Un exemple classique de polymorphisme génétique est le métabolisme de l'hexobarbitone par des lignées différentes de souris. Il en résulte des différences importantes dans la durée de l'effet pharmacologique de cet anesthésique. Chez l'homme, ce ne sont pas toutes les voies de biotransformation qui sont sujettes à un polymorphisme génétique et la proportion de la population en présentant un, dépend de la race.

### **Réactions de phase I**

Dans la catégorie des réactions de phase I, les isoenzymes concernées sont le CYP2C19, 2D6, 1A1, 1A2. 20% des asiatiques et des afro-américains et 5-6% des caucasiens ne possèdent pas de CYP2C19. 5-10 % des caucasiens et 1-3% des asiatiques et des afro-américains ne possèdent pas d'isoforme 2D6 du cytochrome P450<sup>141</sup>. Il en résulte que la vitesse métabolique par l'une de ces voies est diminuée voire nulle. Il existe un polymorphisme aussi au niveau du récepteur Ah (hydrocarbure aromatique). Ce récepteur est un facteur de transcription ; il contrôle l'expression de gènes codant pour certaines isoenzymes du CYP et participe au mécanisme de l'induction de leur activité. Les isoformes induits par le récepteur Ah sont le CYP 1A1, 1A2 et 2E1. Il résulte de ce polymorphisme une différence dans l'affinité de ce récepteur pour les enzymes qu'il induit et ainsi une différence dans leur l'inductibilité. Les génotypes dont le récepteur Ah présentent une grande affinité et développent dans une plus grande proportion le cancer du poumon, dû à l'induction du CYP 1A provoqué par la fumée de cigarette<sup>156</sup>.

### **Réactions de phase II**

Dans la catégorie des réactions de phase II, un polymorphisme génétique a été observé pour l'isoenzyme de la N-acétyltransférase, la thiopurine S-méthyltransférase, l'UDP glucuronyltransférase, le glutathion S transférase et l'époxyde hydrolase<sup>155</sup>. Il existe des différences ethniques importantes pour l'enzyme catalysant les réactions de

N acétylation. Par exemple, moins de 10% de japonais, 50% des caucasiens et 92% d'égyptiens sont des acétylateurs lents<sup>150</sup>. Une déficience dans cette enzyme engendre l'accumulation de bilirubine dans le sang. Au niveau de la glucurono-conjugaison, un polymorphisme génétique a été observé et caractérisé pour l'UGT1A seulement. Ce sont des mutations génétiques qui semblent engendrer l'hyperbilirubinémie non conjuguée. 1% de la population souffre de cette déficience. Depuis que des isoformes de l'UGT sont disponibles, des mutations ont été observées au niveau des gènes de l'UGT1 et de l'UGT2. Cependant à cause du fait que l'on ne dispose pas encore de substrat spécifique pour chacun des isoformes, aucun autre polymorphisme n'a été caractérisé. Selon certains auteurs, la glucuronidation du paracétamol, est métabolisé différemment chez les Chinois et les Caucasiens. D'autres auteurs cependant restent sceptiques à de telles conclusions, car ce médicament est métabolisé par plusieurs isoformes<sup>156</sup>.

Il semble que le propofol soit métabolisé différemment selon le profil génétique des sujets. L'importance de l'hydroxylation en position para est peut être sujette à un polymorphisme, car ces voies métaboliques ont été démontrées inexistantes chez une patiente caucasienne. Les voies métaboliques pour le métabolisme du propofol étant nombreuses, une déficience dans une enzyme n'a pas affecté la clairance<sup>157</sup>. Le polymorphisme génétique d'occurrence naturelle a surtout été étudié chez l'homme. Récemment un polymorphisme génétique a été observé chez le chien. Le temps de réveil après une anesthésie aux barbituriques est plus long chez les greyhounds que chez les autres races. Il a été démontré que ce prolongement de l'action pharmacologique de cet agent est dû à la clairance intrinsèque hépatique plus faible chez cette race. L'induction des enzymes hépatiques avec le phénobarbital a eu pour effet de réduire leur temps de réveil pour correspondre aux temps de réveil observés chez les autres races de chiens croisés. D'autres agents anesthésiques dont le propofol et le méthohexital sont aussi éliminés plus lentement par les greyhounds<sup>158,159</sup>. Des différences dans l'activité enzymatique responsable de l'hydroxylation du propofol, déterminée *in vitro* ont permis de confirmer l'existence d'un polymorphisme génétique chez ce type de chiens. Cette observation suggère qu'un isoforme spécifique du CYP450 est impliqué. Il s'agit du CYP2 B 11 équivalent au CYP 2B6 chez l'homme<sup>67</sup>.

### 2.3 FACTEUR DE VARIATION DU MÉTABOLISME :L' ÂGE

La plupart des systèmes enzymatiques responsables de la dégradation des xénobiotiques sont présents à la naissance. Cependant leur concentration est considérablement plus faible chez les nouveau-nés que chez les adultes<sup>160</sup>. Une sensibilité accrue aux médicaments en découle chez ce groupe de sujets. La capacité de métaboliser les xénobiotiques se développe par la suite différemment selon le sexe, l'espèce ou d'autres facteurs, jusqu'à l'âge de la sénescence au cours duquel les fonctions hépatiques diminuent considérablement en raison de la diminution de la masse du foie.

#### Réactions de phase I

Chez l'homme, des études *in vitro* ont démontré que l'activité du CYP et du NADPH-cytochrome c réductase chez le nouveau-né représente la moitié de leur activité chez l'adulte. Des études *in vivo* corroborent cette observation<sup>161</sup>. De plus, les différents systèmes métaboliques responsables du métabolisme des médicaments ne sont pas matures au même moment et peuvent être influencés différemment au cours du développement ou par l'exposition à des agents inducteurs<sup>162</sup>. La **figure 11**<sup>150</sup> présente les différents schémas d'évolution possibles de quelques systèmes enzymatiques de phase I.

Chez l'homme, en général, les vitesses d'hydroxylation sont grandement diminuées à la naissance alors que la capacité de déalkylation l'est moins. Le métabolisme de médicaments tels la phénytoïne ou l'indométacine est de ce fait ralenti. La littérature comporte plusieurs études permettant d'observer les conséquences de la réduction de l'activité enzymatique chez les nouveaux nés<sup>160</sup>. Le **tableau XXIV** présente l'effet de l'âge sur l'activité métabolique *in vivo* du CYP450<sup>163</sup>. Peu d'études ont été conduites pour évaluer l'effet de la puberté sur les systèmes enzymatiques responsables du métabolisme. La seule étude portant sur une voie métabolique particulière est celle menée par Lambert & coll<sup>203</sup> par la mesure du dioxyde de carbone respiratoire. Cette étude suggère que la clairance de la caféine (métabolisée par déméthylation par le CYP1A2) diminue au moment de la puberté.

**Figure 11 : Schémas d'évolution de l'activité enzymatique métabolique en fonction de l'âge <sup>163</sup>.**

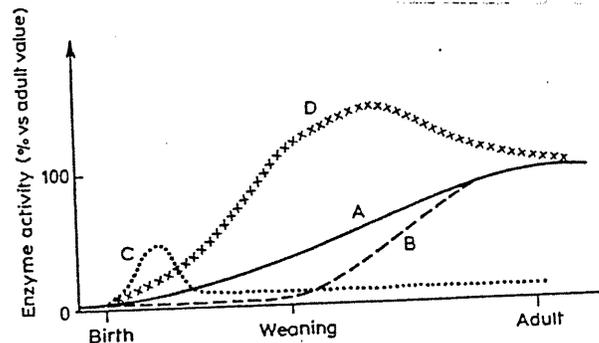


Figure 4.5 Developmental patterns for phase I metabolism.

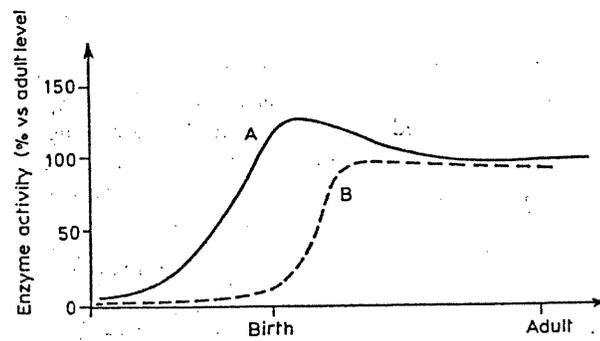


Figure 4.8 The developmental patterns of glucuronidation in the rat. Curve A is late foetal cluster (*p*-nitrophenol as substrate); B is neonatal cluster (bilirubin as substrate).

Cette diminution est dépendante du sexe : elle est observée chez les jeunes filles plus tôt que chez les jeunes garçons. Un autre exemple de variation du métabolisme chez les adolescents est celui de la triméthadione (TMO), utilisé en général pour évaluer l'activité hépatique. La TMO est métabolisé par le CYP2C, 2E1 et 3A. La clairance de ce composé augmente dès la naissance, atteint une valeur maximale à l'adolescence et diminue à l'âge adulte.

Chez le chien, peu d'études ont été publiées concernant le développement des enzymes métaboliques. Peters<sup>164</sup> a noté une variation de l'activité enzymatique entre des chiens croisés âgés de 7 à 10,5 mois, et des chiens adultes. Les protéines microsomales, les constituants du CYP450, le glucose -6-phosphatase, la glucuronyl transférase ont été mesurées en utilisant deux substrats. Ils n'ont cependant pas évalué l'activité enzymatique des isoenzymes du CYP450. Alt-Graham et Pegg<sup>165</sup> ont rapporté que la dose nécessaire pour induire l'anesthésie augmente jusqu'à l'âge de 2 mois et demi. Au-delà de cet âge, les doses requises sont équivalentes à celles de chiens adultes. Aucune indication ne permettait de déterminer l'origine de cette observation, à savoir si cela est dû à la plus grande proportion d'eau extracellulaire, à une perméabilité membranaire accrue, à une différence pharmacodynamique ou à une activité métabolique réduite. Kawalek et El Said<sup>166</sup> ont étudié *in vitro* l'évolution de l'activité et du taux d'enzymes responsables du métabolisme hépatique des médicaments chez des chiens Beagles âgés de 3 semaines à 10 ans. Peu de changements ont été observés après l'âge de 1 mois et 1 semaine. La capacité métabolique des chiens âgés de moins de 30 jours est grandement diminuée par rapport aux adultes. L'activité de NADPH-cytochrome P450 réductase augmente en fonction de l'âge de 2 mois à l'âge de 10 ans pour atteindre une valeur équivalente au double de celle mesurée chez les très jeunes chiens. De plus Vesell et coll et Alt-Graham et coll ont observé que l'activité des enzymes métabolisant l'antipyrine et des agents anesthésiques augmente en fonction de l'âge<sup>165, 167</sup>. Alberola et ses collaborateurs ont étudié l'effet de l'âge sur le métabolisme de la théophylline<sup>168</sup>. Il a lui aussi observé une augmentation de la clairance et une diminution du temps de demi-vie en fonction de l'âge jusqu'à l'âge de 1 mois puis une stabilisation de ces paramètres à des valeurs maximales jusqu'à l'âge de 4 mois et enfin, une diminution pour atteindre des valeurs stables après l'âge de 12 mois.

Tableau XXIV : Effet de l'âge sur l'activité in vivo des isoformes du CYP450

CYP	Nouveau-nés (moins d'un mois)	Enfants (moins de 1 an)	Adolescents (moins de 19 ans)	Personnes âgées	Substrats spécifiques
1A2	diminution	équivalent	augmentation	diminution	Caféine, théophylline
2C9	diminution	équivalent	équivalent	diminution	Tolbutamide, ibuprofène
2C19	diminution	équivalent	équivalent	diminution	Méphénitoïne, diazépam
2D6	inconnu		équivalent	équivalent	Débrisoquine, codéine
2E1	équivalent	équivalent	équivalent	diminution	Acétaminophène
3A3 / 4	diminution	équivalent	équivalent	diminution	Nifédipine, midazolam
Métabolisme non sélectif Plusieurs CYPs	diminution	équivalent	équivalent	diminution	Antipyrine

### **Réactions de phase II**

Les changements au niveau des réactions de phase II en fonction de l'âge ont un impact clinique important. Des effets indésirables importants chez le nouveau-né, dus au chloramphénicol leur sont attribués<sup>151</sup>. L'activité des enzymes catalysant les réactions de phase II varie considérablement en fonction de l'âge, surtout chez les enfants. À la naissance, la seule voie de biotransformation comparable à celle de l'adulte est la formation de conjugués sulfates<sup>169</sup>. Dutton et coll ont démontré qu'il existe deux types (A et B) de développement des réactions de glucuronidation (**figure 11**<sup>163</sup>)<sup>151</sup>. Selon le développement de type A (ex : salicylamide, acétaminophène) l'activité enzymatique augmente jusqu'à la naissance pour atteindre une valeur maximale, diminue légèrement, puis atteint des valeurs adultes. Selon le développement de type B (ex : bilirubine, chloramphénicol) l'activité enzymatique est très faible à la naissance puis elle augmente fortement pour atteindre des valeurs adultes très rapidement. Ces groupes commencent à être mieux caractérisés car différents isoformes de l'UDPG-

glucuronyl transférase ont été identifiés *in vitro* par la méthodes des anticorps monoclonaux. Les variations de l'activité de l'UGT responsables de la conjugaison de la morphine au cours du développement sont les seules données obtenues *in vivo*. L'extrapolation des données qui ont été obtenues *in vivo* est difficile. La spécificité des substrats et des isoformes, et les sites réactionnels ne sont pas encore bien caractérisés. De plus, des voies alternatives de biotransformation peuvent aussi exister. Le propofol est conjugué à l'acide glucuronique par l'UGT1A9<sup>74,170</sup> et a été proposé pour l'évaluation de l'activité de cette isoenzyme *in vivo*<sup>171</sup>. Mais c'est un anesthésique à coefficient d'extraction hépatique élevé. Sa clairance est par conséquent dépendante du débit hépatique et non de l'activité enzymatique. Aucune donnée sur l'impact du développement sur l'activité de cette enzyme n'est disponible.

Chez le chien, peu d'études ont été publiées sur la variation de l'activité des enzymes de conjugaison en fonction de l'âge. Celles qui ont été menées ont porté sur une race particulière (beagle) et les données ne peuvent être extrapolée aux autres races. On sait toutefois qu'à l'âge de 2 mois et demi, les fonctions métaboliques de phase II sont comparables à celles des adultes. Il semble que la capacité de former des dérivés glucuroniques et sulfate par les chiens nouveau-nés est comparable à celles des chiens adultes<sup>166, 171</sup>. La sulfatation de l'acétaminophène diminue pour laisser à deux mois, la glucuronoconjugaison devenir la voie de conjugaison majeure. Les études effectuées *in vitro*<sup>166</sup> n'ont pas permis de différencier l'activité des différents isoformes de l'UDPGA glucuronyl transférase. L'activité de la glutathion S- transférase est augmentée chez les chiens âgés.

#### **iv. Facteur de variation du métabolisme : Le sexe**

De nombreuses études ont été menées pour évaluer l'effet du sexe sur le métabolisme et l'élimination<sup>172</sup>. Les benzodiazépines illustrent bien le fait que le sexe affecte le métabolisme et la pharmacocinétique. Greenblatt et Ichs ont tous deux observé une clairance du diazepam plus faible chez les femmes<sup>204</sup>. De plus l'âge diminue significativement la clairance du diazepam chez l'homme mais pas chez la femme. Des différences semblables ont été observées pour plusieurs benzodiazépines<sup>173</sup>. Ces quelques exemples montrent d'une part, qu'il existe des différences entre les sexes au niveau du métabolisme systémique des xénobiotiques, et d'autre part que l'âge peut n'affecter que l'un des deux sexes. De plus des

médicaments faisant partie d'une même classe pharmacologique peuvent être affectés différemment par le sexe. Il existe des enzymes métaboliques spécifiques à chaque sexe.

Les androgènes endogènes agissent via l'hormone de croissance pituitaire sur le type de métabolisme (masculin ou féminin), et déterminent l'établissement de voies métaboliques masculines ou féminines en induisant, en inhibant ou en maintenant les isoenzymes spécifiques à chaque sexe<sup>174</sup>. Les hormones féminines de croissance engendrent une diminution du CYP 2C11 et une augmentation du CYP 2C12 en altérant la transcription du gène leur correspondant. L'activité de la 16  $\alpha$  hydrolase (associée au CYP2C11) en est diminuée alors que l'activité de la 15 $\alpha$  hydrolase en est augmentée (associée au CYP 2C12). Les différences entre les sexes dans le métabolisme des médicaments sont très importantes chez le rat, la souris ou certains animaux de ferme comme les chèvres mais chez l'homme elles sont moindres<sup>151</sup>.

Chez l'homme, les seules enzymes présentant une différence relativement significative sont le CYP3A4 et la dihydrouracil déshydrogénase. Bien que le CYP3A4 soit responsable de la catalyse de 50% des médicaments les différences entre femmes et hommes dans l'activité enzymatique n'excède pas 25%<sup>173</sup>. La dihydrouracil déshydrogénase est la seule autre enzyme dont l'activité est dépendante du sexe de manière évidente chez l'homme. C'est une enzyme hépatique catalysant le métabolisme de l'antinéoplasique fluorouracil<sup>173</sup>. Deux études ont rapporté que la clairance de ce médicament est beaucoup plus faible chez la femme que chez l'homme. Les réactions de phase II sont, elles aussi, influencées par le sexe. La glucurono-conjugaison est plus rapide chez les hommes que chez les femmes par exemple.

Chez le chien, peu d'études ont été menées pour évaluer l'effet du sexe sur les réactions métaboliques et elles ont abouti à des résultats contradictoires. Amacher et Smith<sup>250</sup> ont effectué une étude in vitro et ont évalué l'effet du sexe sur l'activité enzymatique de microsomes de chiens beagle. Ils ont noté des différences qualitatives et quantitatives dans les caractéristiques métaboliques des femelles et des mâles. Les isoenzymes n'ont pas été caractérisés lors de cette expérience. Trois isoenzymes ont été détectées chez les femelles en quantité importante et cinq chez les mâles, deux en grande quantité et trois en petite quantité. Ces données n'ont pas été vérifiées par d'autres publications. Les autres auteurs n'ont pas noté de différence significative entre les enzymes métaboliques des mâles et des femelles<sup>175</sup>

### **v. Facteur de variation du métabolisme :La co-médication**

Les enzymes de biotransformation peuvent être le siège d'interactions médicamenteuses. Un médicament peut altérer la biotransformation d'un autre médicament au niveau d'un isoforme du CYP, soit en l'induisant c'est à dire en augmentant l'activité de cette enzyme, soit en l'inhibant. L'induction enzymatique nécessite généralement une exposition répétée de l'isoenzyme à l'agent inducteur (ex : phénobarbital). Par contre un médicament peut être inhibé par l'administration d'une seule dose de l'inhibiteur. L'autre mécanisme d'interaction est la compétition entre deux médicaments pour un même site de liaison enzymatique, et ainsi la diminution de la vitesse de biotransformation pour celui qui présente la plus faible affinité pour l'isoenzyme. Le propofol semble inhiber le métabolisme du midazolam, à des concentrations supérieures aux concentrations cliniques, et de l'alfentanyl à des concentrations cliniques élevées. Le métabolisme de phase I du propofol ne semble pas être inhibé par d'autres médicaments car ses voies de biotransformation sont nombreuses<sup>66</sup>. D'après des études *in vitro*, certaines co-médications semblent toutefois avoir le potentiel d'inhiber la glucuroconjugaison du propofol. On compte parmi elles l'acide acétyl salicylique, le ketoprofène, l'oxazépam, le fentanyl, et le chloramphénicol<sup>74</sup>. Cette étude peut permettre d'expliquer en partie les rares interactions médicamenteuses rencontrées entre le propofol et le chloramphénicol ou le fentanyl, par exemple. Les concentrations utilisées pour cette étude étaient cependant supérieures à des concentrations rencontrées *in vivo*. *In vivo*, le fentanyl peut diminuer la clairance et le volume de distribution du propofol lorsque ce dernier est utilisé pour maintenir l'anesthésie (perfusion) mais pas lorsqu'il est utilisé en bolus pour induire seulement l'anesthésie<sup>176</sup>. Il est peu probable cependant que cette inhibition soit due à une interaction métabolique, et la diminution du débit hépatique semble plutôt en être la cause.

### **3. EXCRETION**

Les médicaments sont éliminés de l'organisme par trois voies. La voie majeure est l'excrétion rénale. Pour pouvoir être excrétés par cette voie, ils doivent avoir été biotransformés en métabolites hydrosolubles. Les fèces, et en particulier la bile

constitue la seconde voie d'excrétion importance. La troisième voie d'élimination s'applique aux composés volatils. Il s'agit de la voie pulmonaire.

### **3.1 EXCRÉTION RÉNALE**

Les médicaments et les métabolites suffisamment polaires et hydrosolubles sont éliminés de l'organisme par deux mécanismes majeurs<sup>140</sup> : La filtration glomérulaire et la sécrétion tubulaire. Au niveau de la filtration glomérulaire, seule la fraction libre de médicament est filtrée par un mécanisme passif. La vitesse de filtration glomérulaire est évaluée par la mesure de la créatinine, car c'est un composé endogène facilement mesurable dans les fluides biologiques qui permet d'éviter d'administrer des composés exogènes. La mesure de la clairance de la créatinine seule ne suffit cependant pas et nécessite de prendre en considération la concentration en créatinine, l'âge, le poids corporel et le sexe. En effet, la concentration de ce composé qui est un produit du métabolisme musculaire dépend de la masse musculaire, et par conséquent des facteurs cités plus haut. Une fois filtrée, une partie peut être réabsorbée par un processus de résorption tubulaire. La quantité ainsi réabsorbée dépend des propriétés physico-chimiques du médicament, de son pH et du gradient de concentration entre le filtrat et le plasma. La sécrétion tubulaire a lieu dans le tubule proximal. C'est un processus actif qui nécessite la participation de protéines de transport. Deux systèmes de transport ont été identifiés : un pour les cations et un pour les anions<sup>141</sup>.

Le rein subit des changements anatomiques et physiologiques en fonction de l'âge. À la naissance, la fonction rénale normalisée à la surface corporelle est plus faible chez l'enfant que chez l'adulte. Les fonctions tubulaires et glomérulaires deviennent matures entre l'âge de 6 à 8 mois chez l'homme<sup>160</sup>, et à l'âge de 1 mois chez le chien<sup>134</sup>. À partir de 40 ans, la masse du rein diminue. On observe souvent des différences entre les espèces au niveau de l'excrétion urinaire des acides faibles et des bases faibles car le pH de l'urine varie de façon importante selon l'espèce. La filtration glomérulaire est affectée par l'espèce car elle dépend de la liaison aux protéines plasmatiques. Il peut exister aussi des différences dans la sécrétion rénale. La co-médication peut aussi affecter l'excrétion rénale par modification du gradient de pH par acidification ou alcalinisation des urines

(action sur la réabsorption) ou par compétition au niveau des phénomènes de sécrétion tubulaire rénale.

### **3.2 EXCRÉTION BILIAIRE**

L'excrétion biliaire est la voie d'élimination fécale la plus importante des médicaments et de leurs métabolites. Les métabolites polaires formés dans les tissus hépatiques, dont le poids moléculaire est élevé (supérieur à 300 g/mol) peuvent être excrétés dans le tractus intestinal et dans la bile. Ces métabolites peuvent alors être excrétés dans les fèces, mais ils sont en général réabsorbés pour être éliminés par la voie urinaire. Les anions organiques, dont les dérivés glucuroniques, et les cations organiques sont filtrés dans la bile par deux systèmes de transport actif non sélectif et distincts. Les stéroïdes et leurs dérivés sont filtrés dans la bile par un troisième système de transport. L'élimination hépatique est peut être limitée par le cycle entéro-hépatique : Le contact des composés solubilisés dans la bile, avec les systèmes enzymatiques de la flore intestinale (dans l'intestin grêle) les conduit à subir des hydrolyses enzymatiques reformant ainsi des composés déconjugués plus lipophiles, réabsorbés dans l'organisme pour être finalement éliminés par voie rénale.

L'excrétion biliaire diffère selon l'espèce<sup>132</sup> pour les composés de poids moléculaires intermédiaires. Elle dépend des substrats. Une classification des espèces dans deux groupes, un regroupant les espèces qui excrètent les substrats dans la bile de manière importante et un autre regroupant les espèces ne présentant pas une excrétion biliaire importante, n'est pas possible. Il semble toutefois que le rat ait tendance à être un "excréteur biliaire" rapide. L'âge influence la fonction biliaire, chez le nouveau né<sup>160</sup>. Elle se développe dès le premier mois chez l'homme et dès la première semaine chez le chien<sup>134</sup>.

## **4. FACTEURS AFFECTANT LA DYNAMIE DES MÉDICAMENTS**

L'action biologique des médicaments résulte de leur liaison à un récepteur spécifique. Les récepteurs ont une conformation de surface spécialisée avec des charges électriques spécifiquement orientées. Les récepteurs sont par conséquent discriminatifs et ne se lient qu'avec avec les molécules de médicament spécifiquement orientées et qui peuvent s'adapter convenablement à la molécule de récepteur<sup>141</sup>. Les

types de liaison sont des liens électrovalents, soit ioniques dipolaires, soit hydrogènes, soit apolaires. Ils sont en général réversibles. Le degré de liaison d'un médicament avec un récepteur est en relation avec la capacité de liaison du médicament (affinité), et la concentration des molécules du médicament au niveau du site récepteur. Quelques modèles décrivent ce mode de relation de manière quantitative. Dans le modèle le plus simple, le rapport de la concentration du médicament et de l'occupation du récepteur se décrit par une courbe de saturation hyperbolique. Ce modèle montre que chaque récepteur se combine avec une seule molécule de médicament et que la liaison d'une molécule médicamenteuse à un récepteur n'influence pas la liaison du médicament à un récepteur voisin. Dans quelques systèmes cependant, on a montré qu'un récepteur peut avoir plus d'un site de combinaison pour la même ou pour différentes molécules, et que l'occupation d'un site du récepteur peut influencer l'occupation sur d'autres sites.

La liaison agoniste – récepteur produit une modification de la conformation de la macromolécule, d'un transfert de charge ou de radical. Ces modifications induisent à leur tour des réactions diverses : augmentation de l'AMP cyclique intracellulaire ou modification de la perméabilité ionique de la paroi cellulaire par exemple. La relation quantitative de la dose d'un médicament et de la réponse ( effet ) s'exprime par des courbes dose – réponse.

Il est en général plus simple de déterminer les facteurs affectant la pharmacocinétique que ceux qui affectent la pharmacodynamie, car cette dernière est difficile à mesurer précisément. La perception de la douleur est difficile par exemple à évaluer. Il a ce pendant été rapporté que la pharmacodynamie était entres autres affectée par l'âge, le sexe et l'espèce.

#### **4.1. FACTEUR DE VARIATION DE LA DYNAMIE : LE SEXE**

Les femmes montrent par exemple des signes d'effets secondaires plus sévères que les hommes pour les agents antipsychotiques comme la chlorpromazine. Il a été suggéré que les taux d'oestrogènes étaient responsables de cette différence<sup>177, 178</sup>. Il a été démontré que les oestrogènes agissaient comme antagonistes de la dopamine et pouvaient ainsi influencer l'effet des agents psychotiques. Aussi, l'affinité des récepteurs de la sérotonine est plus élevée chez les femmes que chez les hommes. Une étude a rapporté qu'il existe une différence entre les sexes dans la pharmacodynamie du

propofol. Les femmes semblent moins sensibles à l'effet du propofol car elles présentent des concentrations plasmatiques plus élevées au réveil<sup>131</sup>.

#### **4.2 FACTEUR DE VARIATION DE LA DYNAMIE : LA CO- MÉDICATION**

La co-médication peut engendrer des interactions au niveau de ces récepteurs pharmacologiques par potentialisation ou par inhibition. L'effet synergique de deux médicaments est le résultat soit de la protection de l'agent actif au niveau des sites récepteurs, soit de la sensibilisation de ces derniers au médicament ou de l'augmentation de l'affinité du récepteur pour le médicament.

L'effet antagoniste de deux médicaments est le résultat d'une compétition au niveau des récepteurs ou d'une diminution de la sensibilité du récepteur par l'antagoniste. Le propofol est doué de propriétés sédatives et hypnotiques mais pas de propriétés analgésiques<sup>179</sup>. Lorsque l'administration de propofol est précédée de prémédications telles des opioïdes ou la métédomidine, la dose nécessaire pour l'induction de l'anesthésie est diminuée de 25 à 75 %<sup>180</sup>. Il a été démontré que la métédomidine n'influençait pas la pharmacocinétique du propofol. La synergie observée est donc probablement d'origine pharmacodynamique<sup>181</sup>. Il existe aussi une synergie entre les benzodiazépines et le propofol dans la production d'un effet hypnotique. Et l'association d'une benzodiazépine et d'un opioïde potentialise encore plus l'effet du propofol et réduit la dose nécessaire à l'induction de l'anesthésie de 50%. Bien que la diminution du débit sanguin produise une interaction pharmacocinétique, un synergisme au niveau pharmacodynamique se produit également.

#### **4.3 FACTEUR DE VARIATION DE LA DYNAMIE : LE PROFIL GÉNÉTIQUE**

Le profil génétique affecte aussi la pharmacodynamie des médicaments. Deux lignées de souris ont été isolées et sélectionnées pour leur sensibilité à l'éthanol et au propofol (long réveil et réveil rapide). Le gène codant pour cette différence de sensibilité a été identifié<sup>182</sup>.

Le propofol a fait l'objet de nombreuses études pharmacocinétiques <sup>49-53</sup> mais elles se sont déroulées pour la plupart dans un environnement contrôlé. Par conséquent, la variabilité interindividuelle que l'on rencontre dans la pratique vétérinaire ne peut être déterminée dans ce genre de protocoles. Le but de cette étude est d'évaluer la pharmacocinétique et l'effet anesthésique du propofol dans un cadre clinique chez des chiens en croissance et de tenter d'identifier les sources physiologiques de variation de celles-ci.

## B. MATÉRIEL ET MÉTHODE

### 1. ANIMAUX

Les animaux utilisés au cours de ce projet sont des chiens de travail appartenant à la fondation Mira inc. Ils ont été amenés en consultation à l'hôpital vétérinaire d'enseignement de l'université de Montréal pour un examen radiographique servant au diagnostic précoce de la dysplasie de la hanche. Ces chiens ont été anesthésiés à 6, 12 et 24 mois pour ces procédures diagnostiques. Les chiens de chaque sexe étaient distribués équitablement entre deux groupes de prémédication (acépromazine 0.05 mg/kg avec ou sans butorphanol 0.1 mg/kg) selon une séquence aléatoire. Au cours de cette période de deux ans, plusieurs de ces chiens ont été castrés. Les animaux qui seront repris dans cette étude sont ceux dont un profil pharmacocinétique complet a pu être déterminé. Les données démographiques concernant les chiens ayant participé à cette étude sont présentées au *tableau XXV*.

**Tableau XXV : Données démographiques des chiens avec profil complet à l'âge de six mois, douze mois et vingt quatre mois.**

Prémédication		Acépromazine		Acépromazine et butorphanol		Nombre d'animaux avec profil complet	
		Mâle	femelle	Mâle	Femelle		
6 mois	Nombre de chiens		10	4	9	11	34
	Nombre de chiens castrés		0	0	0	0	0
	Race	Bouvier bernois	2	1	0	4	7
		Labernois	7	2	7	5	21
Labrador		1	1	2	2	6	
12 mois	Nombre de chiens		4	10	4	6	24
	Nombre de chiens castrés		3	1	4	0	8
	Race	Bouvier bernois	1	3	0	1	5
		Labernois	3	6	4	4	17
Labrador		0	1	0	1	2	
24 mois	Nombre d'animaux		8	12	8	12	40
	Nombre de chiens castrés		8	2	8	8	26
	Race	Bouvier bernois	4	3	1	3	11
		Labernois	4	4	5	7	20
Labrador		0	5	2	2	9	

## 2. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Le protocole expérimental était conforme aux directives du Canadian Council on Animal Care et a été approuvé par le comité de bioéthique de la faculté de médecine vétérinaire.

Un jeûne a été maintenu 12 heures avant l'anesthésie. Tous les chiens ont été pesés et soumis à un examen physique ainsi qu'à une prise de sang veineux le jour même avant la procédure. Cet examen consistait en la mesure de l'hématocrite, des solides totaux plasmatiques, de l'urée sanguine, de la fréquence cardiaque, respiratoire et de la température rectale.

### 2.1. PRÉMÉDICATION

De façon aveugle, chaque animal a été assigné dès la première anesthésie à un groupe de prémédication (groupe1 : acépromazine seule; groupe 2 : acépromazine et butorphanol). La même prémédication a été administrée par voie intra-musculaire à chacune des périodes. Le **tableau XXVI** présente les doses de prémédications administrées.

**Tableau XXVI : Dose de prémédication administrée dans chacun des groupes de prémédication.**

	Dose de prémédication (mg / kg )	Groupe 1		Groupe 2	
		Mâle	femelle	Mâle	femelle
6 mois	Acépromazine	0,05	0,050	0.050	0,050
	Butorphanol	0	0	0,100	0,100
12 mois	Acépromazine	0,050	0,050	0.050	0,050
	Butorphanol	0	0	0,100	0,100
24 mois	Acépromazine	0,050	0,050	0.050	0,050
	Butorphanol	0	0	0,100	0,100

## 2.2. INDUCTION DE L'ANESTHÉSIE

Vingt minutes après l'administration de la prémédication, des cathéters intraveineux ont été placés dans les veines céphaliques gauche et droite pour permettre l'administration du propofol et la prise d'échantillons sanguins. L'induction de l'anesthésie a été réalisée par l'administration de plusieurs doses de propofol en bolus à raison de 1.25 mg/kg toutes les 15 secondes pour totaliser une dose permettant l'intubation endotrachéale de l'animal. Ce tube était alors connecté par un circuit d'anesthésie à une source d'oxygène à 100%.

**Tableau XXVII : Doses d'induction administrées aux chiens des différents groupes de prémédication.**

			Groupe 1		Groupe 2	
			Mâle	Femelle	Mâle	femelle
Dose d'induction ( mg / kg )	6 mois	moyenne	4,4	4,3	4,1	4,2
		Écart type	0,7	0,9	0,2	0,5
		Valeurs extrêmes	[3,85 – 6,36]	[3,57 – 5,42]	[3,57 – 4,44]	[3,33 - 5,26]
	12 mois	moyenne	3,8	3,9	3,11	3,6
		Écart type	0,8	0,5	0,38	1,7
		Valeurs extrêmes	[3,0 - 5,0]	[3,21 – 4,52]	[2,73 –3,5]	[2,9 – 4,0]
	24 mois	moyenne	3,34	4,47	3,3	3,7
		Écart type	0,6	1,1	0,8	0,9
		Valeurs extrêmes	[2,44 – 3,82]	[2,7 – 5,0]	[2,4 – 4,7]	[2,3 – 5,15]

*Groupe 1 : acépromazine seule; groupe 2 : acépromazine et butorphanol*

## 2.3. MAINTIEN DE L'ANESTHÉSIE

Suite à son induction, l'anesthésie a été maintenue par l'administration de propofol en perfusion pendant la durée du protocole visant à diagnostiquer la dysplasie de la hanche. La vitesse de perfusion initiale était de 0,360 mg/ kg /min et était ajusté au poids de l'animal et aux paramètres cliniques observés chez chacun. Ces signes cliniques étaient la fréquence respiratoire, la fréquence cardiaque ainsi que les réactions et le comportement de chaque chien. Des doses de charge supplémentaires (1 mg/kg) ont été administrées au besoin en cas de signes de réveil. Les procédures

diagnostiques consistaient en une série de radiographie selon deux procédures standardisées (OFA et PennHIP ). Une ponction de l'articulation coxo-fémorale a été réalisée dans le but de prélever du liquide synovial. Une fois le protocole diagnostique achevé, la perfusion a été arrêtée et les animaux sont gardés sous observation jusqu'à 4 heures après le réveil.

### **2.5. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS SANGUINS**

Des échantillons veineux (2 mL) ont été prélevés avant et 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120, 150, 180, 240, 300 minutes après l'induction d'anesthésie, ainsi qu'aux temps d'arrêt de la perfusion, de la réapparition du réflexe de déglutition, des recouvrements des positions sternale et debout, ainsi que lorsque le chien redevient mobile. Le plasma a été récolté après centrifugation à 4 °C puis conservé à – 70 °C jusqu'au moment de leur analyse.

### **3. LES PARAMÈTRES MESURÉS**

Des paramètres pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, ainsi que la dose requise pour l'anesthésie ont été mesurés lors de cette étude.

#### **3.1 LES TEMPS ET CONCENTRATIONS DE RÉVEIL**

Les concentrations au moment du réveil de l'animal ont été mesurées (tableau XXVIII). Les signes de réveils sont tout d'abord le recouvrement du réflexe de déglutition, la capacité de se tenir en position sternale (couché sur le ventre), puis en position debout et en fin le recouvrement des réflexes psychomoteurs et la capacité d'être mobile.

**Tableau XXVIII : Temps de réveil mesurés**

Tdéglu	Moment de déglutition et l'extubation
Tsternal	Moment de position sternale
Tdebout	Moment de position debout
Tmobile	Moment où l'animal est mobile

#### **3.2. ANALYSE PHARMACOCINÉTIQUE**

##### **3.2.1. Profils des concentrations en fonction du temps**

La dose administrée et les temps d'arrêt sont propres à chaque animal. Ces paramètres étaient ajustés en fonction du comportement de l'animal et de la durée des examens diagnostiques. Les concentrations plasmatiques ont été exprimées par rapport à la dose totale individuelle administrée et sont exprimées en ng/ml.mg. Les temps correspondant à ces concentrations ont été ajustés au temps d'arrêt de la perfusion et sont exprimés en min. Le temps zéro correspond donc au moment de l'arrêt de la perfusion. À partir de ces profils, les paramètres suivant ont été déterminés :

**Concentrations à l'équilibre** : C'est la concentration plasmatique atteinte à l'état d'équilibre, lorsque la vitesse d'élimination égale la vitesse d'absorption. Elle a été déterminée par la mesure de la concentration plasmatique au temps d'arrêt de la perfusion ou quelques minutes avant.

**Phase de distribution** : C'est le temps au cours duquel le médicament est distribué dans les compartiments périphériques et éliminé. Elle a été déterminée graphiquement en convertissant l'échelle des ordonnées en échelle logarithmique.

### 3.2.2. Paramètres pharmacocinétiques

Les profils de concentration plasmatiques en fonction du temps ont été analysés par méthode non-compartimentale<sup>182</sup> avec le logiciel Winnonlin 1.6 (Pharsight Corp. Cary NC, USA). Les aires sous la courbe (AUC) et l'aire sous le premier moment de la courbe (AUMC) ont été déterminées en utilisant la méthode des trapèzes log-linéaires, puis extrapolées jusqu'à l'infini avec la pente terminale  $\lambda_z$ . Les paramètres suivants ont été calculés :

**Clairance**: constante de proportionnalité reliant la concentration de médicament au site

de prélèvement, à son élimination : 
$$CL = \frac{ASC}{D} \quad (\text{Equation 1})$$

Où D est la dose totale de propofol administrée

**Clairance métabolique** : La clairance métabolique est la clairance ajustée au poids

métabolique : 
$$CL_{\text{mét.}} = CL / M^{0,75} \quad (\text{Equation 2})$$

Où M est le poids de l'animal.

**Temps de séjour moyen (TSM):** Le temps moyen durant lequel les molécules de

médicament demeurent dans le système : 
$$TSM = \frac{ASMC}{ASC} + 0.5 \cdot TI \text{ (Equation 3)}$$

Où TI est la durée de la perfusion

**Volume de distribution:** Constante reliant la concentration de médicament au site de

prélèvement à la dose administrée : 
$$Veq = CL \cdot TSM \text{ (Equation 4)}$$

**Temps de demi-vie:** Le temps nécessaire pour l'élimination de la moitié de la dose lors

de la phase terminale d'élimination: 
$$t_{1/2}(ke) = \frac{\ln(2)}{ke} \text{ (Equation 5)}$$

### 3.3. ANALYSE STATISTIQUE

La signification statistique a été déterminée par des tests de t grâce au logiciel excel. Les valeurs de clairance, de volume de distribution ont été transformés en données logarithmiques<sup>205</sup>. Le seuil de détermination a été fixé à 0,05 ( $\alpha = 0,05$ ).

## C. RÉSULTATS

### 1. DOSES ADMINISTRÉES

#### 1.1 CHIENS ÂGÉS DE SIX MOIS

Cette partie de l'étude comportait 34 sujets au total, distribués aléatoirement entre deux groupes de prémédication et en fonction de leur sexe. Les poids des animaux étaient homogènes (25,4-26,8 kg). On constate que la prémédication influence la dose nécessaire pour maintenir l'anesthésie. Les doses requises de propofol sont inférieures lorsque la prémédication est composée de butorphanol et d'acépromazine ( $p < 0,05$ ). De plus, les chiens auxquels l'acépromazine seule a été administrée, ont nécessité plus fréquemment l'administration d'une dose de charge supplémentaire pour le maintien de l'anesthésie ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXIX : Doses de propofol administrées pour l'induction et le maintien de l'anesthésie des chiens âgés de six mois.**

	Prémédication sexe	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
		Mâle	femelle	Mâle	femelle
Poids (Kg)		26 ± 3 [22 – 33]	25 ± 2 [24 – 28]	25 ± 3 [20 – 29]	24 ± 4 [20 – 30]
Dose de maintien (mg/kg/min)		0,39 ± 0,07	0,38 ± 0,04	0,31 ± 0,05	0,32 ± 0,06
Dose d'induction (mg/kg)		4,4 ± 0,7	4,3 ± 0,9	4,1 ± 0,2	4,2 ± 0,5
Dose totale (mg/kg)*		30,2 ± 7,8	23,9 ± 1,2	23,5 ± 4,2	22,1 ± 2,2
% des chiens ayant reçu un bolus		70%	100%	20%	20%

- pour une anesthésie de 62 min en moyenne

## 1.2 CHIENS ÂGÉS DE DOUZE MOIS

Cette partie de l'étude comportait 24 sujets au total, distribués aléatoirement entre deux groupes de prémédication. Les poids des animaux était compris entre 26 et 46 kg. Le **tableau XXX** décrit les doses de propofol administrées pour induire et maintenir l'anesthésie. On observe aussi à l'âge de 12 mois que la dose nécessaire pour induire et maintenir l'anesthésie est plus faible lorsque la prémédication est composée de butorphanol et d'acépromazine. Cette différence n'est pas significative pour les doses d'induction. Elle ne l'est pas non plus pour les doses de maintien chez les mâles ( $p=0,06$ ). La dose de maintien est significativement plus élevée chez les femelles ( $0,005$ ). Aussi, les animaux qui ont reçu la prémédication avec butorphanol ont nécessité moins fréquemment l'administration de doses de charges supplémentaires ( $p<0,05$ ).

**Tableau XXX : Doses de propofol administrées pour l'induction et le maintien de l'anesthésie des chiens âgés de douze mois.**

Prémédication	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
	Mâle	Femelle	Mâle	femelle
Sexe				
Poids ( kg)	36 ± 6 [30 – 46]	33 ± 4 [28 – 38]	35 ± 2 [33 – 39]	32 ± 5 [26 – 39]
Dose de maintien (mg/kg/min)	0,36 ± 0,05	0,35 ± 0,09	0,21 ± 0,05	0,28 ± 0,03
Dose d'induction (mg/kg)	3,8 ± 0,6	3,9 ± 0,5	3,1 ± 0,2	3,6 ± 0,4
Dose totale * (mg/kg)	17,00 ± 3,58	19,50 ± 5,90	11,36 ± 3,59	16,00 ± 6,18
% des chiens ayant reçu un bolus	75%	50%	15%	15%

\*Pour une durée d'anesthésie de 43 minutes en moyenne.

### 1.3 CHIENS ÂGÉS DE VINGT QUATRE MOIS

Cette partie de l'étude comportait 40 sujets au total, distribués aléatoirement entre deux groupes de prémédication. Les poids des animaux était compris entre 25 et 55 kg. On observe au **tableau XXXI** que la dose de maintien et la dose totale administrées aux mâles ayant reçu la prémédication sans butorphanol, est plus élevée que celle des mâles ayant reçu la combinaison acépromazine et butorphanol ( $p < 0,05$ ). La dose requise pour l'induction de l'anesthésie n'est cependant pas affectée par la prémédication chez les mâles. Les femelles par contre, ont nécessité des doses de maintien sensiblement plus élevées avec la prémédication 2 ( $p = 0,38$ ); mais la dose administrée pour induire l'anesthésie était plus faible avec la prémédication 2 ( $p = 0,02$ ). La dose totale administrée aux femelles s'est révélée équivalente dans les deux groupes de prémédication. Le pourcentage de chiens qui ont nécessité des doses de charge supplémentaires est plus faible avec la prémédication 2 ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXXI : Doses de propofol administrées pour l'induction et le maintien de l'anesthésie des chiens âgés de vingt quatre mois.**

Prémédication sexe	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
	Mâle	Femelle	Mâle	femelle
Poids (kg)	42 ± 8 [ 33 – 55]	33 ± 5 [ 27 – 46]	37 ± 7 [ 24 – 39]	33 ± 6 [25 – 45]
Dose de maintien (mg/kg/min)	0,39 ± 0,02	0,36 ± 0,06	0,35 ± 0,03	0,41 ± 0,2
Dose d'induction (mg/kg)	3,3 ± 0,6	4,5 ± 1,1	3,3 ± 0,8	3,7 ± 0,9
Dose totale * (mg/kg)	20,18 ± 3,12	19,15 ± 4,50	15,30 ± 3,49	19,09 ± 4,30
% des chiens ayant reçu un bolus	25%	25%	0%	10%

\* Pour une durée d'anesthésie de 40 min en moyenne

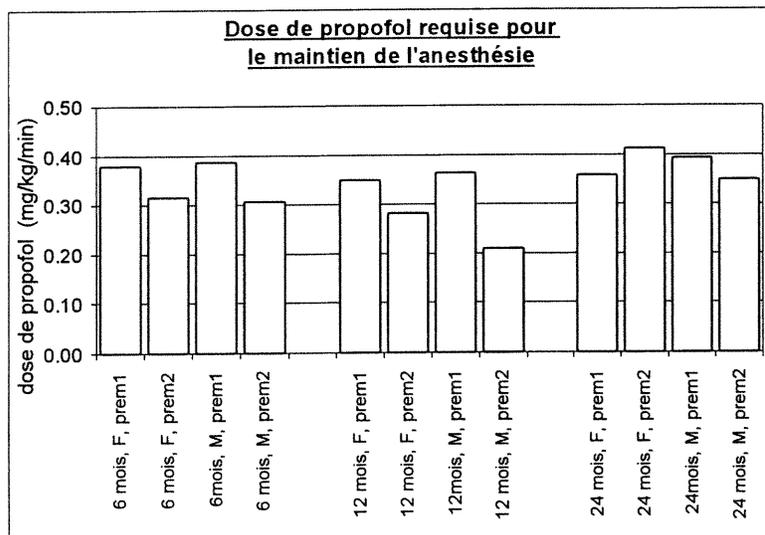
#### 1.4. EFFET DE L'ÂGE SUR LA DOSE DE PROPOFOL REQUISE

Tous groupes de sexe et de prémédication confondue, les doses pour l'induction de l'anesthésie sont significativement plus élevées à 6 mois qu'à 12 et 24 mois ( $p < 0,05$ ). La dose de maintien s'est avérée significativement plus élevée à 24 mois qu'à 12 mois. Elle est plus élevée à 6 mois qu'à 12 et 24 mois mais cette différence n'est pas statistiquement significative. De plus, les chiens âgés de 24 mois ont nécessité moins de dose de charge supplémentaire que ceux qui sont âgés de 6 mois et 12 mois (figure 14). Les différences observées entre les sexes diffèrent quelque peu en fonction de l'âge : On voit que la prémédication affecte la dose administrée chez les chiens âgés de six et douze mois de la même manière pour les mâles et les femelles. À l'âge de 24 mois cependant la prémédication affecte la dose requise différemment. Les femelles dont la prémédication était composée d'acépromazine seule ont nécessité de plus fortes doses pour le maintien de l'anesthésie contrairement à l'âge de six et douze mois. Les mâles par contre n'ont pas réagi de différemment par rapport à l'âge de six et douze mois. Ceux dont la prémédication était composée de butorphanol et d'acépromazine ont nécessité moins de propofol pour le maintien de l'anesthésie. La dose requise pour l'induction de l'anesthésie par contre était supérieure chez les femelles du groupe de prémédication avec butorphanol .

### Figure 12: Effet de l'âge sur la dose requise pour le maintien de l'anesthésie

La figure du haut présente les doses de propofol requises ajustées au poids de l'animal. La figure du bas présente les doses de propofol ajustées au poids métabolique de l'animal.

**Figure 12a :**



**Figure 12b :**

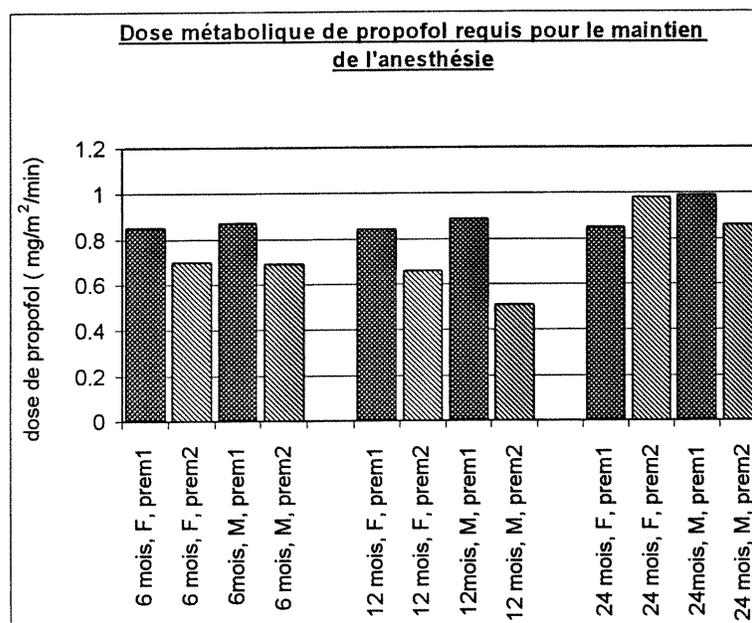


Figure 13 : Effet de l'âge sur la dose requise pour l'induction de l'anesthésie

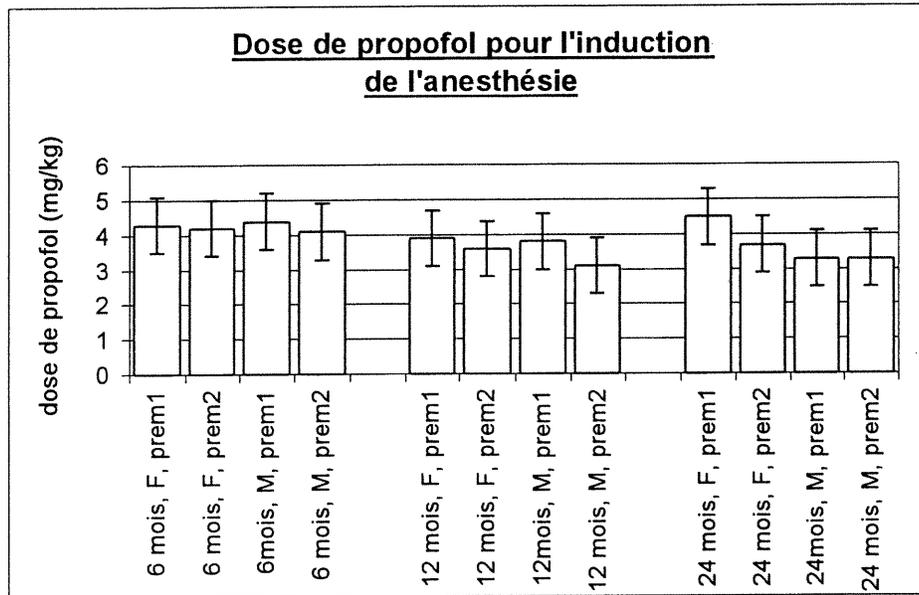
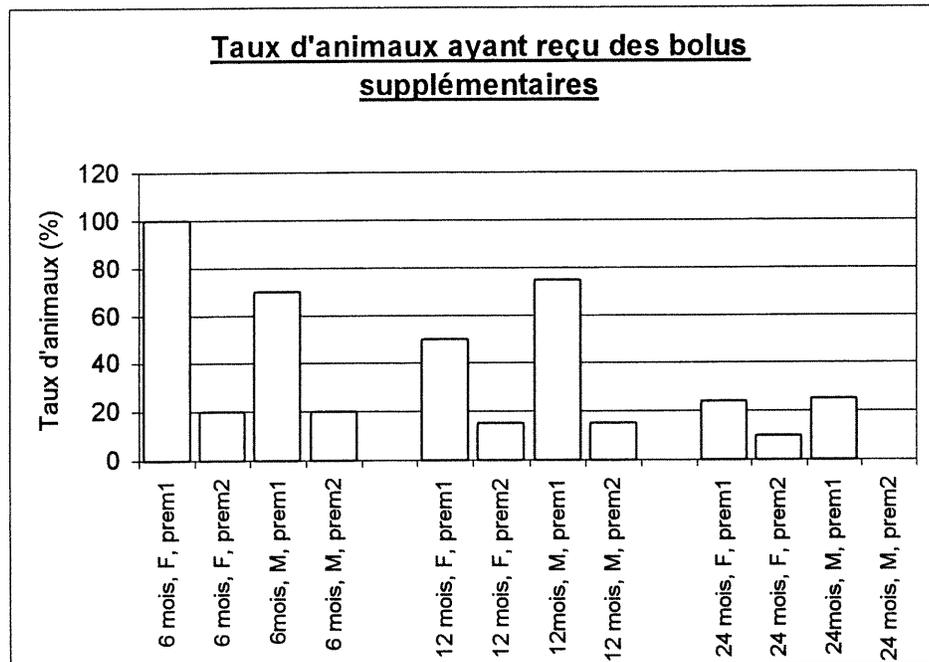


Figure 14 : Effet de l'âge sur le taux de chiens ayant nécessité des bolus supplémentaires



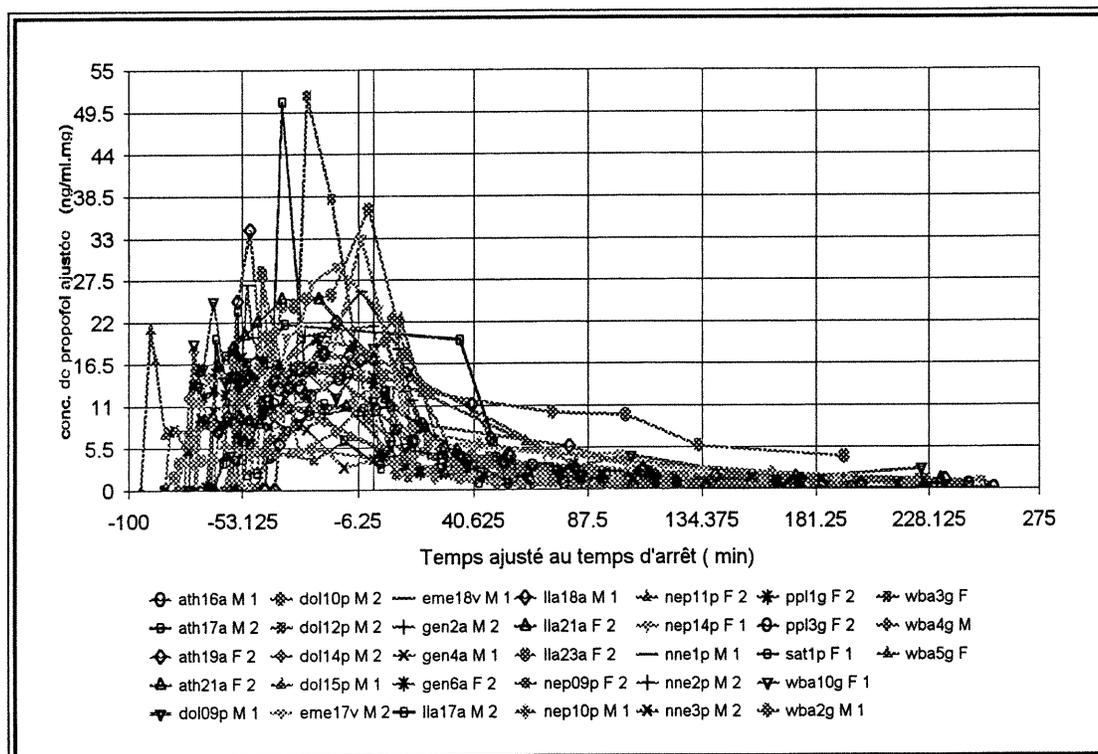
## 2. PHARMACOCINÉTIQUE

### 2.1 EFFET DE LA PRÉMÉDICATION ET DU SEXE

#### 2.1.1 Chiens âgés de six mois

Les chiens ont été séparés en fonction de la prémédication administrée (acépromazine avec ou sans butorphanol) et en fonction de leur sexe. La **figure 15** présente les profils de tous les animaux âgés de six mois ayant participé à l'étude. On peut noter la grande variabilité des profils pharmacocinétiques de ce groupe de chien âgés de six mois.

**Figure 15 : Profils pharmacocinétiques de tous les chiens âgés de six mois (n=33)**



*prémédication 1; 2 : prémédication 2.*

Le **tableau XXXII** présente un sommaire des paramètres pharmacocinétiques pour les chiens âgés de six mois et les figures 16a, 16b, 17a et 17b représentent les profils pharmacocinétiques moyens des animaux appartenant à un même groupe de prémédication et de sexe. Elles permettent de voir l'effet du sexe et de la prémédication sur la pharmacocinétique du propofol. La durée des prélèvements était comprise entre 240 et 300 min. La durée de la perfusion était comprise entre 40 et 95 min.

On constate que les paramètres pharmacocinétiques obtenus sont très variables. On voit aussi que le groupe des mâles ayant reçu la prémédication avec butorphanol a tendance à se démarquer des autres groupes par leur clairance plus faible ( $p < 0.05$ ), leur volume de distribution plus faible ( $p < 0.05$ ) et par la durée de la phase de distribution plus élevée. Cet effet de prémédication n'est pas observé chez les chiens de sexe féminin.

**Tableau XXXII : Paramètres pharmacocinétiques obtenus chez les chiens âgés de six mois.**

Prémédication	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
Clairance (ml/min.kg)	32 ± 14 [16 -59 ]	34 ± 11 [19 -44]	22 ± 14 [13 -23]	34 ± 19 [18 - 83]
T <sub>1/2</sub> (min)	119 ± 104 [30 -378]	124,50 ± 58,8 [83 -190]	81,44 ± 26,32 [42 -132]	139,50 ± 80,26 [34 -29]
V <sub>ss</sub> (L/kg)	2,0 ± 1,5 [0,8 - 5,2]	2,2 ± 2,5 [0,8 - 5,9]	1,4 ± 0,8 [0,5 -3,5]	2,5 ± 1,6 [0,9 - 6,6]
MRT (min)	76 ± 63 [9,33 - 223,72]	63 ± 56 [24 - 142]	64 ± 26 [33,99 - 109,46]	78 ± 35 [35,08 - 161,25]
Conc. À l'équilibre (ng/ml.mg)	7,02 ± 7,1	7,08 ± 8,0	9,12 ± 7,1	8,13 ± 7,5
Durée phase de distribution (min)	25 ± 17 [ 2 – 62 ]	25 ± 11 [ 13 – 38 ]	34 ± 14 [ 15 – 55 ]	27 ± 16 [ 9 – 60 ]

(moyenne ± EC; [valeurs extrêmes])

Figure 16a : Effet de la prémédication sur le profil pharmacocinétique du propofol chez les femelles âgées de six mois.

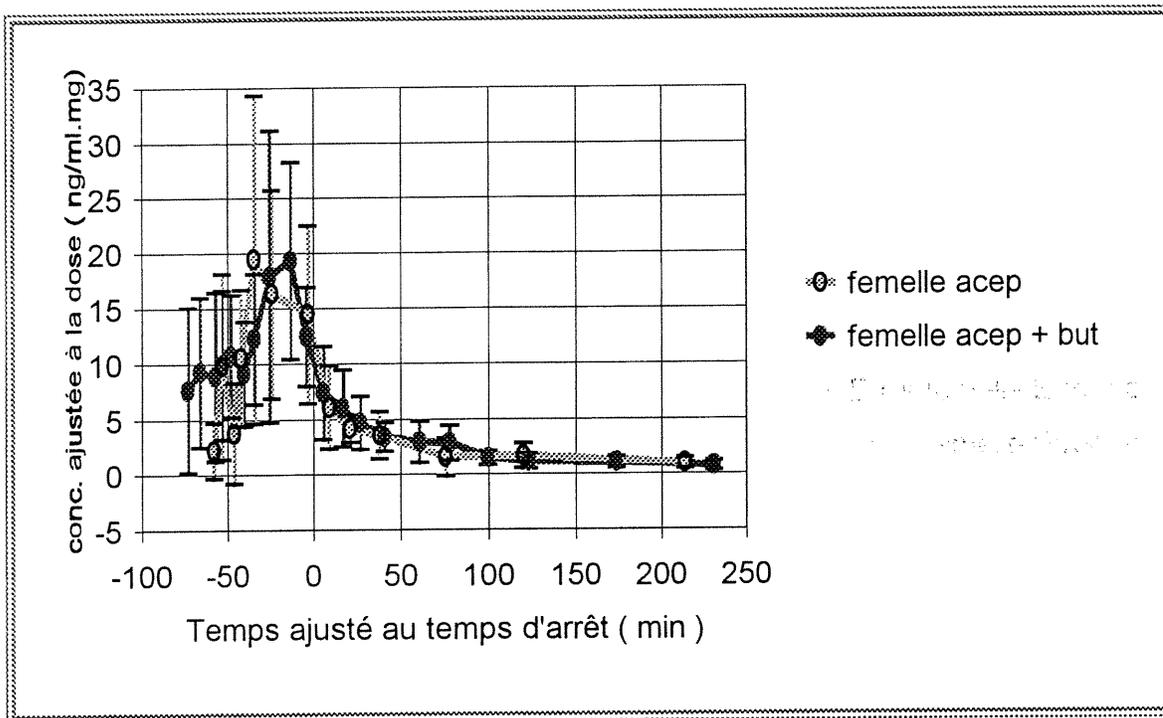


Figure 16b: Effet de la prémédication sur la pharmacocinétique du propofol chez les mâles âgés de six mois.

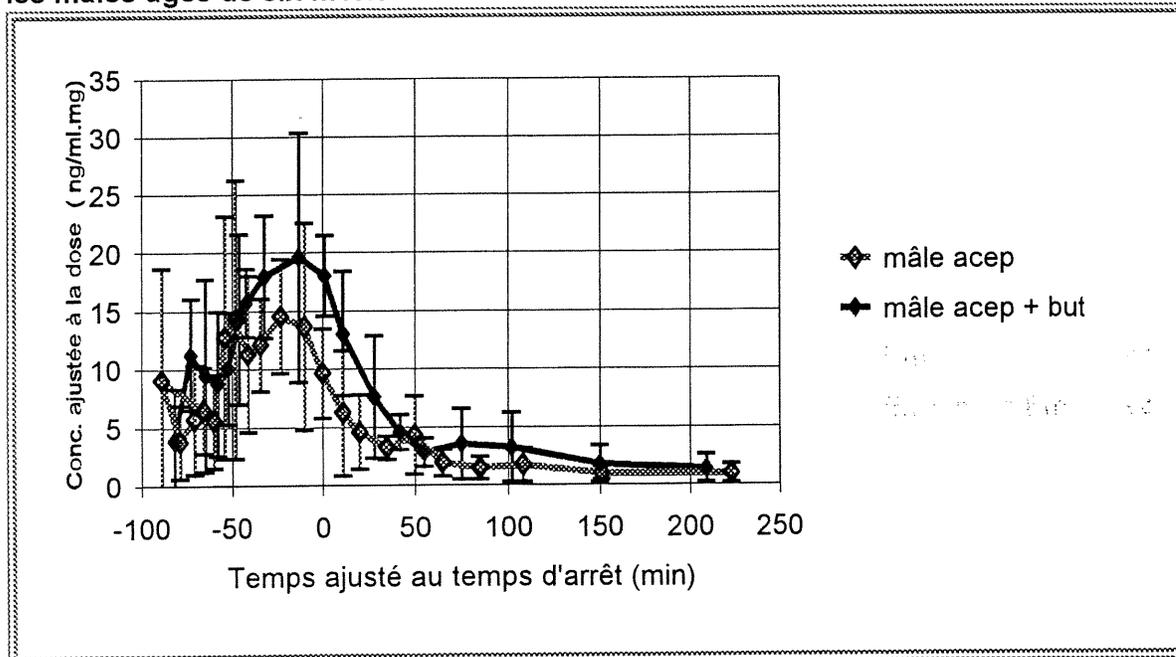
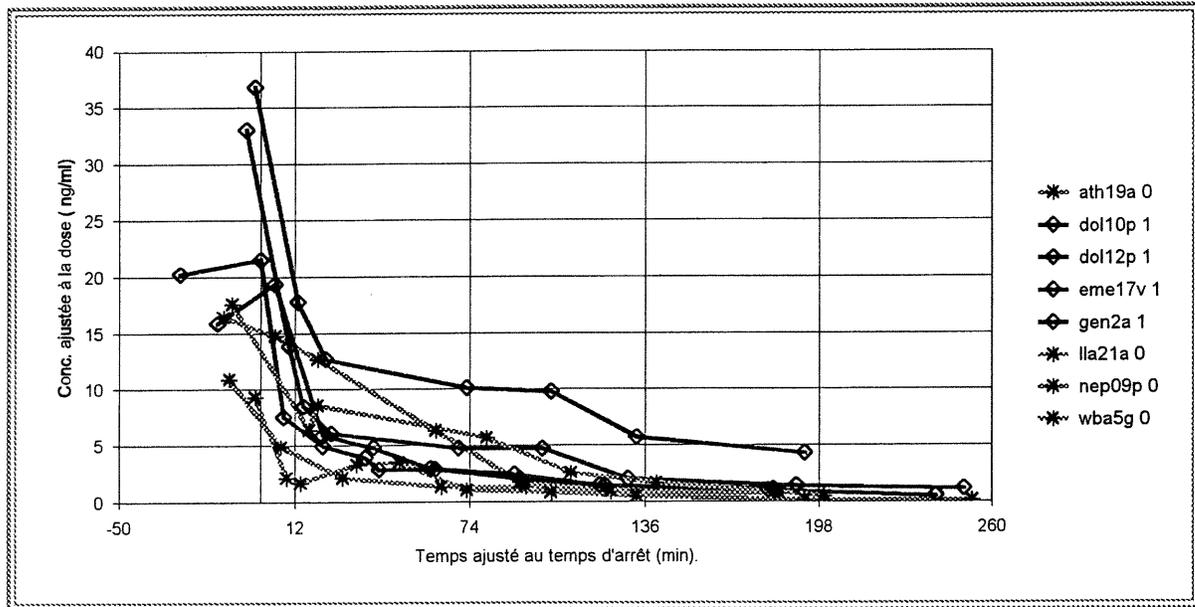
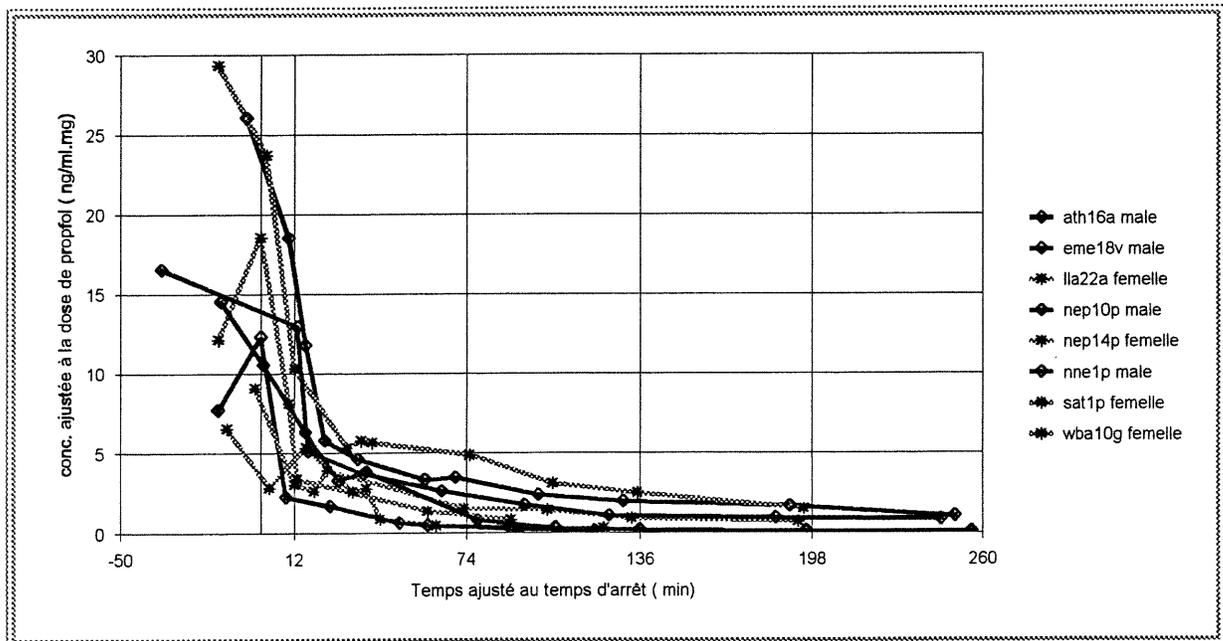


Figure 17a : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine et de butorphanol.



0 : femelle; 1 : mâle.

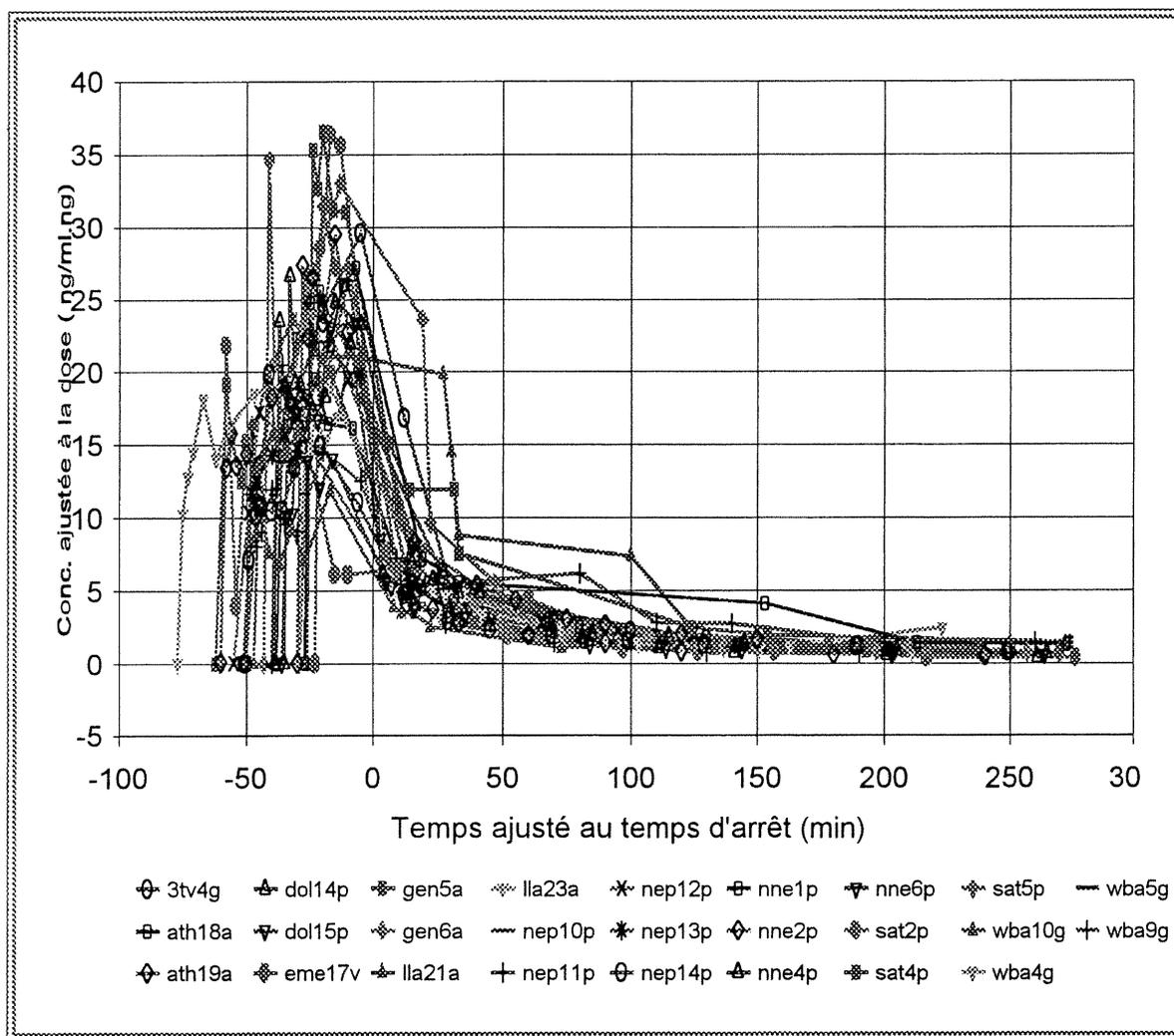
Figure 17b : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine seule.



### 2.1.2 chiens âgés de douze mois

L'effet de la prémédication et du sexe a été analysé chez les chiens âgés de 12 mois. Ce groupe de chiens comptait 16 femelles et 8 mâles. Les résultats obtenus montraient la même variabilité observée chez les chiots âgés de six mois ( **figure 18**).

**Figure 18 : Profils pharmacocinétiques de tous les chiens âgés de douze mois (n= 26).**



Le **tableau XXXIII** présente les paramètres pharmacocinétiques obtenus pour les chiens âgés de 12 mois. Les figures 19a, 19b, 20a, et 20b sont les profils des concentrations en fonction du temps et permettent de visualiser l'effet du sexe et de la prémédication sur la pharmacocinétique du propofol. La durée des prélèvements sont compris entre 180 et 300 min. Les durées de perfusion sont de 23 à 77 min.

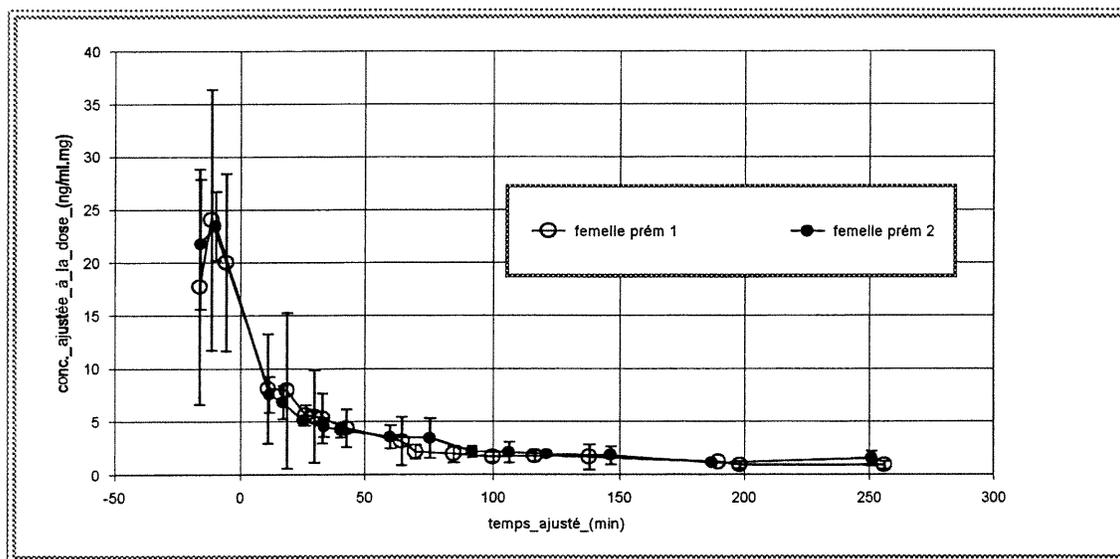
La grande variabilité des paramètres obtenus ne permet pas de conclure en un effet prémédication ou sexe significatif statistiquement. On observe que la prémédication a tendance à affecter le volume de distribution. La prémédication composée d'acépromazine et de butorphanol tend à diminuer le volume de distribution du propofol. Cette prémédication ne semble cependant pas affecter significativement les concentrations plasmatiques à l'équilibre ( **tableau XXXIII** et figure 19a, b,c et d). On peut noter tout de même que les concentrations à l'équilibre des mâles ayant reçu la prémédication 2 sont plus élevées que celles des autres groupes (**tableau XXXIII** et figure 19b).

**Tableau XXXIII : Paramètres pharmacocinétiques obtenus chez les chiens âgés de douze mois**

Prémédication	Acépromazine		Acépromazine et Butorphanol	
	Mâle	femelle	Mâle	Femelle
Clairance (ml/min.kg)	23 ± 7 [19 – 34 ]	20 ± 5 [11 – 30 ]	22 ± 3 [ 19- 28 ]	19 ± 2 [17 – 23 ]
T <sub>1/2</sub> (min)	181± 41 [140 – 239 ]	156 ± 75 [ 61 – 309 ]	134 ± 35 [108 –187 ]	131 ± 42 [83 –138 ]
V <sub>ss</sub> (L/kg)	2,9 ± 1,3 [1,3 – 4,3 ]	2,1 ± 0,9 [0,9 - 3,8 ]	1,5 ± 0,2 [ 1,4 - 1,7 ]	1,6 ± 0,2 [1,3 - 2,1 ]
MRT (min)	143 ± 46 [110 –176 ]	105 ± 46 [ 50 –192 ]	69 ±13 [ 58 –87 ]	87 ± 20 [ 79 –119 ]
Conc. à l'équilibre (ng/ml.mg)	16 ± 2	20 ± 9	24 ± 8	16 ± 2
T (phase de distribution) (min)	32 ± 17 [11 – 54 ]	31 ±12 [ 14 –60 ]	33 ± 43 [ 4 – 97 ]	38 ± 26 [ 14 – 74 ]

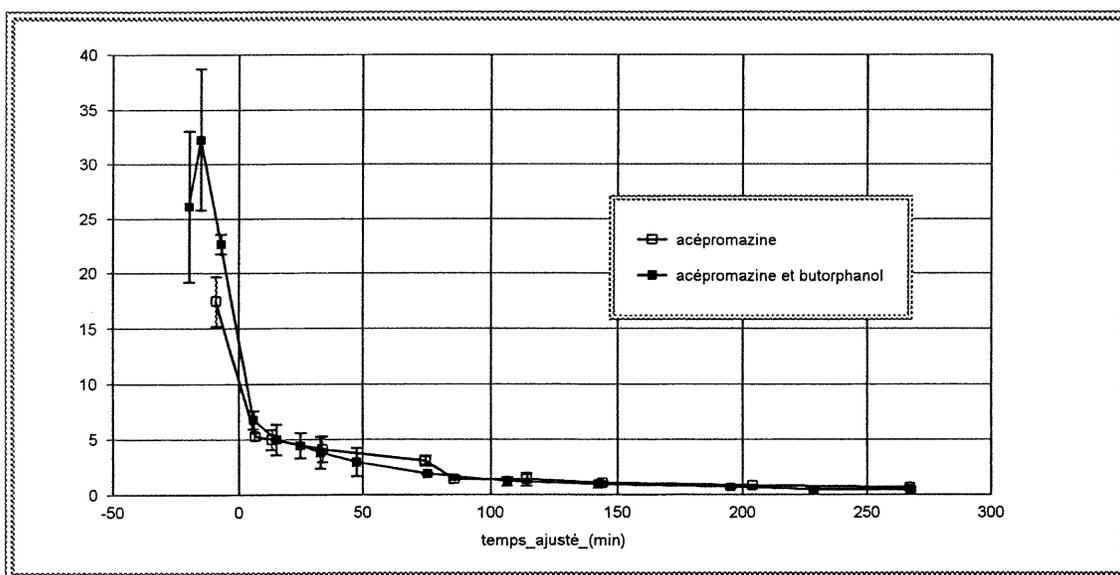
**Figure 19a : Effet de la prémédication sur la pharmacocinétique du propofol des femelles âgées de douze mois.**

Cette figure présente les profils pharmacocinétiques moyens des femelles âgées de douze mois, appartenant à chacun des groupes de prémédication. Ces profils ont été tracés pour les temps suivants l'arrêt de la perfusion.



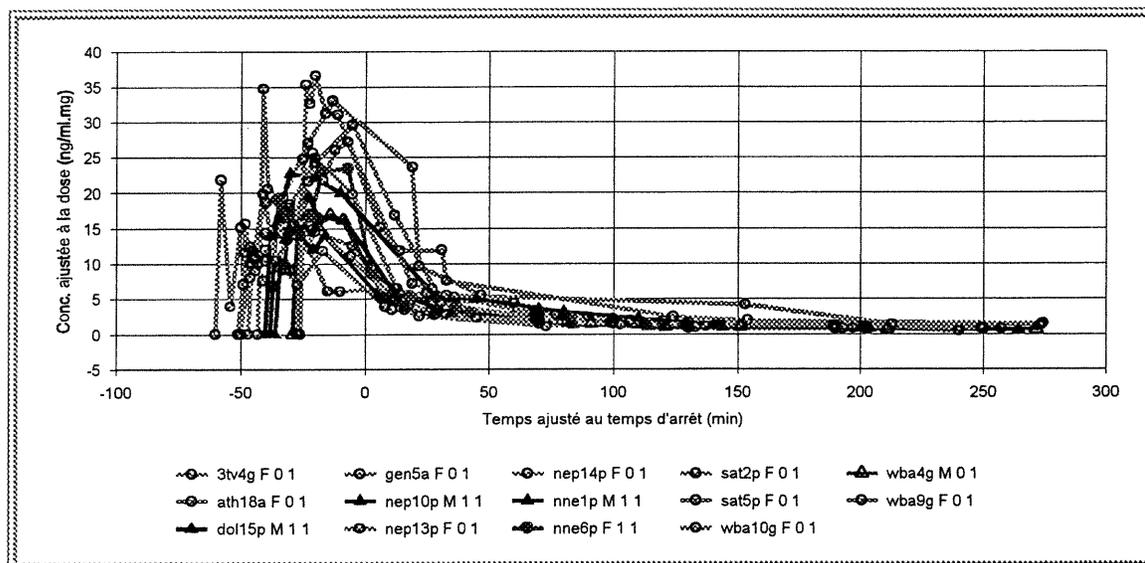
**Figure 19b: Effet de la prémédication au butorphanol chez les chiens mâles âgés de douze mois.**

On observe dans cette figure un léger effet de la prémédication sur les concentrations à l'équilibre des mâles. Ces dernières sont plus élevées chez ceux qui ont reçu la prémédication 2 (acépromazine et butorphanol).



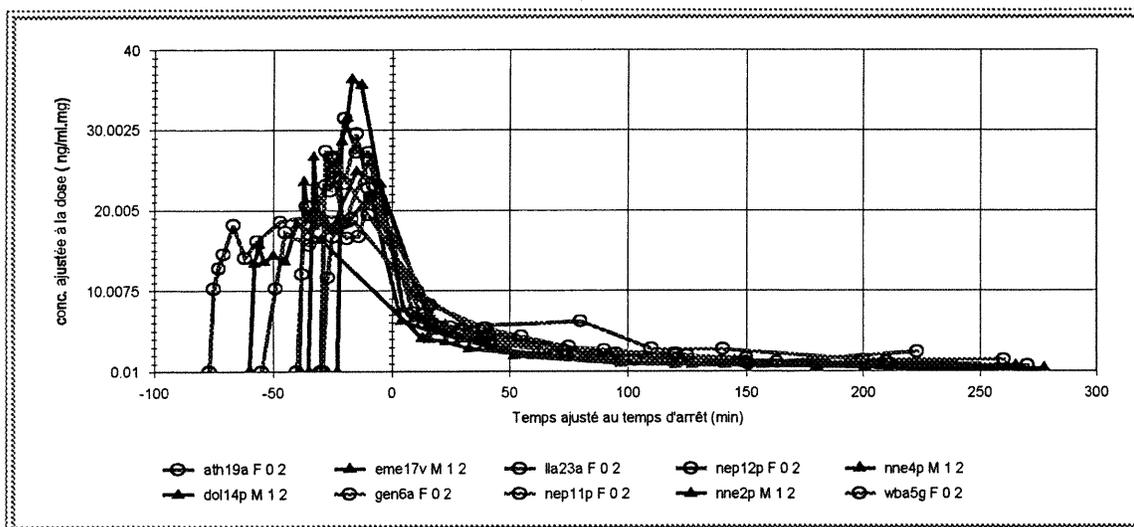
**Figure 20a : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine seule.**

Cette figure présente les profils des concentrations en fonction. On ne voit pas de différence significative entre les profils des mâles et des femelles . ( F : femelle; M :mâle; 01 : non castrée-acépromazine; 11 :castré-acépromazine)



**Figure 20b : Effet du sexe lorsque la prémédication est composée d'acépromazine et de butorphanol.**

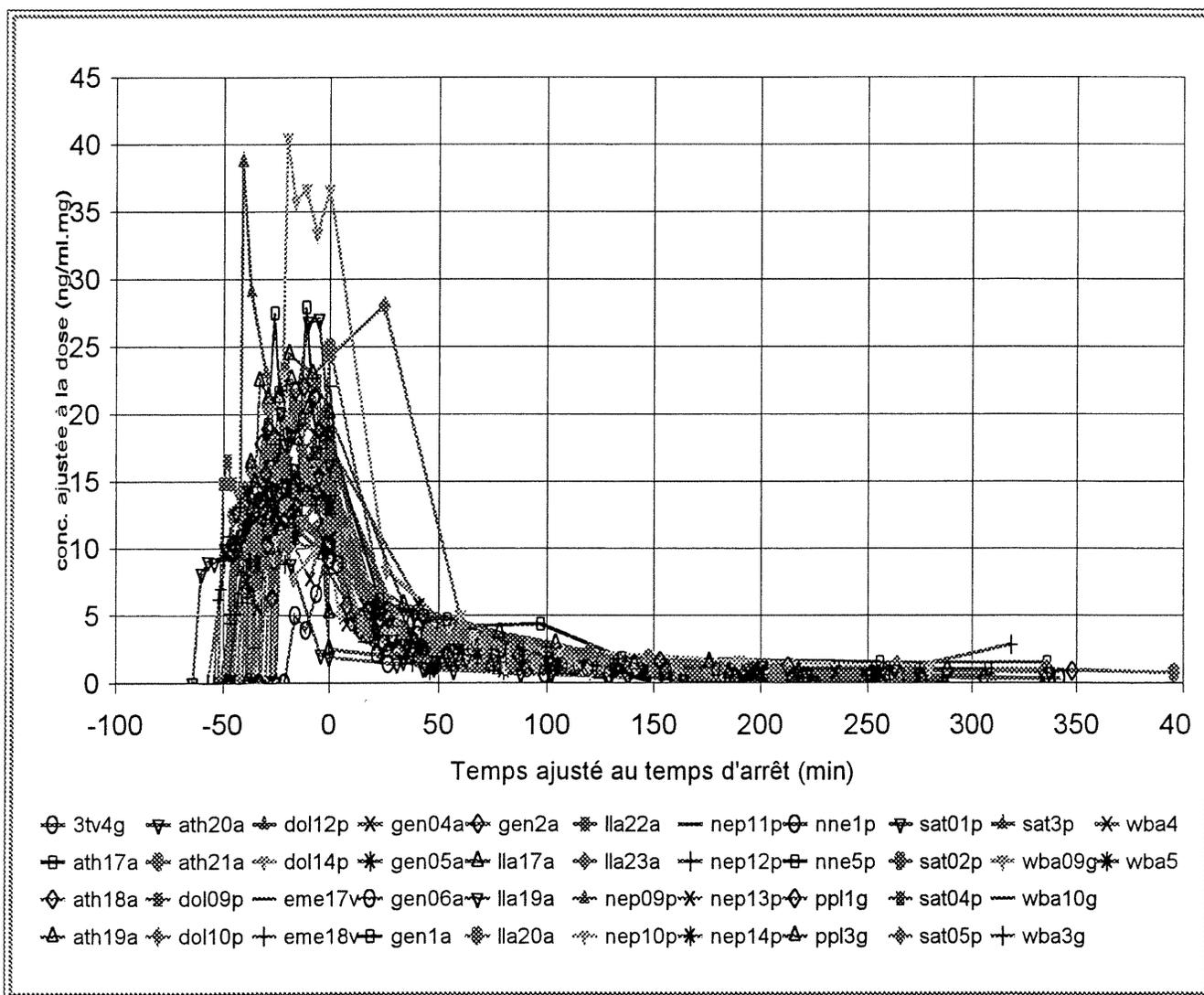
Cette figure présente les profils des concentrations en fonction du temps, observés chez les chiens âgés de 12 mois. On n'entrevoit pas de différence entre mâles et femelles. (F: femelle; M: mâle; 02: non castrée-prémédication 2; 12: castré-prémédication 2)



### 2.1.3 Chiens âgés de vingt quatre mois

Les chiens ont été séparés en fonction de la prémédication administrée (acépromazine avec ou sans butorphanol) et en fonction de leur sexe. La figure 21 présente les profils de tous les animaux âgés de vingt quatre mois qui ont participé à l'étude (n = 42). Les profils obtenus montrent encore une fois une grande variabilité.

Figure 21 : Profils pharmacocinétiques de tous les chiens âgés de vingt quatre mois (n=42).



Le **tableau XXXIV** présente les paramètres pharmacocinétiques obtenus pour les chiens âgés de 24 mois. Les figures 22a, 22b et 22c sont les profils des concentrations plasmatiques de propofol, en fonction du temps. Elles montrent l'effet du sexe et de la prémédication sur la pharmacocinétique du propofol. La durée des prélèvements sont compris entre 257 et 431 min. Les durées de perfusion sont de 16 à 64 min.

On observe que le sexe tend à affecter la pharmacocinétique du propofol. La clairance des mâles est en moyenne inférieure à celle des femelles et le volume de distribution de ces dernières est légèrement plus élevé. Il semble aussi exister une interaction entre la prémédication et le sexe. En effet, les femelles qui ont reçu la prémédication 2 (avec butorphanol) se démarquent des trois autres groupes et présentent un volume de distribution un peu plus élevé ainsi qu'une phase de distribution un peu plus longue. La moyenne des concentrations à l'équilibre des mâles ayant reçu du butorphanol est plus élevée que celle des trois autres groupes mais la grande variabilité des données ne permet pas de conclure que les différences observées soient statistiquement significatives.

**Tableau XXXIV : Paramètres pharmacocinétiques obtenus chez les chiens âgés de vingt quatre mois.**

Prémédication	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
	Mâle	femelle	Mâle	Femelle
Clairance (ml/min.kg)	22 ± 4 [ 17 -28 ]	28 ± 7 [ 19 - 42 ]	24 ± 7 [ 16 - 34 ]	28 ± 20 [17 - 23 ]
T <sub>1/2</sub> (min)	142 ± 42 [ 80 -183 ]	129 ± 46 [ 65 -221 ]	123 ± 95 [ 50 - 319 ]	144 ± 123 [ 63 -513 ]
V <sub>ss</sub> (L/kg)	2,1 ± 0,8 [ 1,1 - 2,9 ]	2,4 ± 0,8 [ 1,2 - 3,4 ]	1,9 ± 0,9 [ 0,9 - 3,9 ]	3,0 ± 2,2 [ 0,8 - 6,6 ]
MRT (min)	93 ± 25 [ 65 -135 ]	89 ± 39 [ 28 -172 ]	90 ± 71 [ 28 -241 ]	123 ± 112 [ 49 -455 ]
Conc. À l'équilibre (ng/ml.mg)	14,92 ± 2,77	13,43 ± 5,95	18,63 ± 8,34	14,92 ± 2,77
T(phase de distribution) (min)	19 ± 10 [ 8 - 38 ]	25 ± 15 [ 5 -50 ]	27 ± 12 [ 3 - 69 ]	30 ± 12 [ 15 - 55 ]

Figure 22a : Effet de la prémédication au butorphanol chez les femelles âgées de vingt quatre mois.

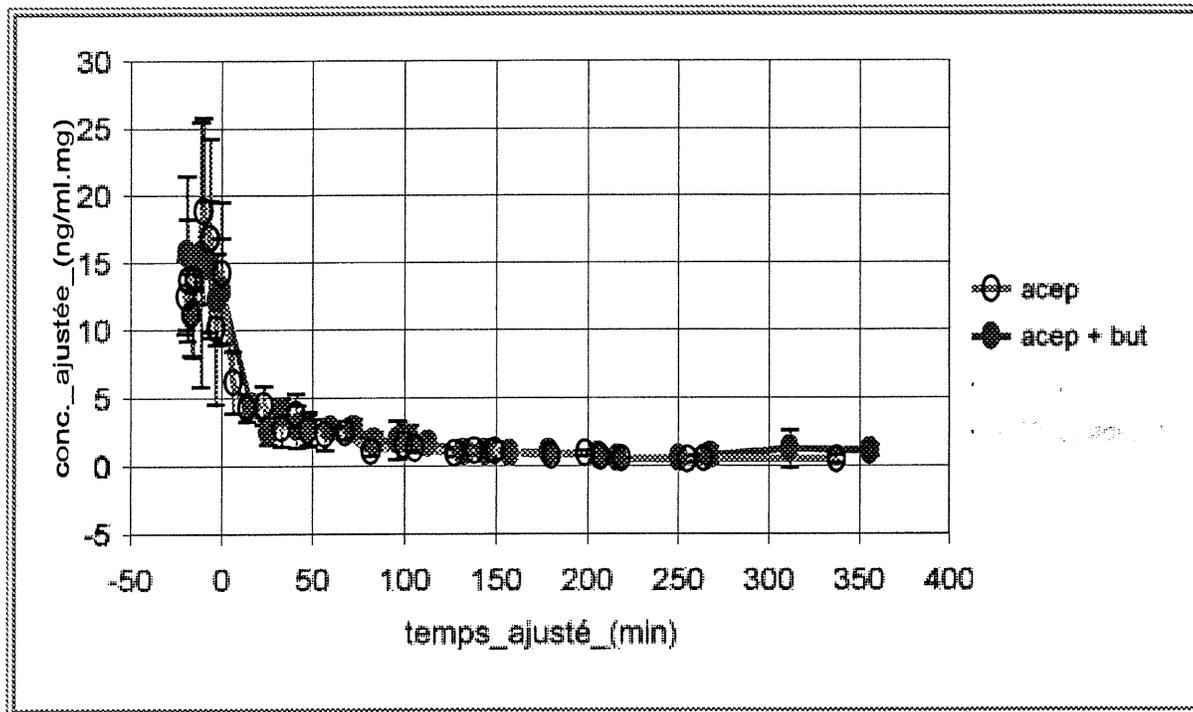


Figure 22b: Effet de la prémédication au butorphanol chez les chiens mâles âgés de vingt quatre mois.

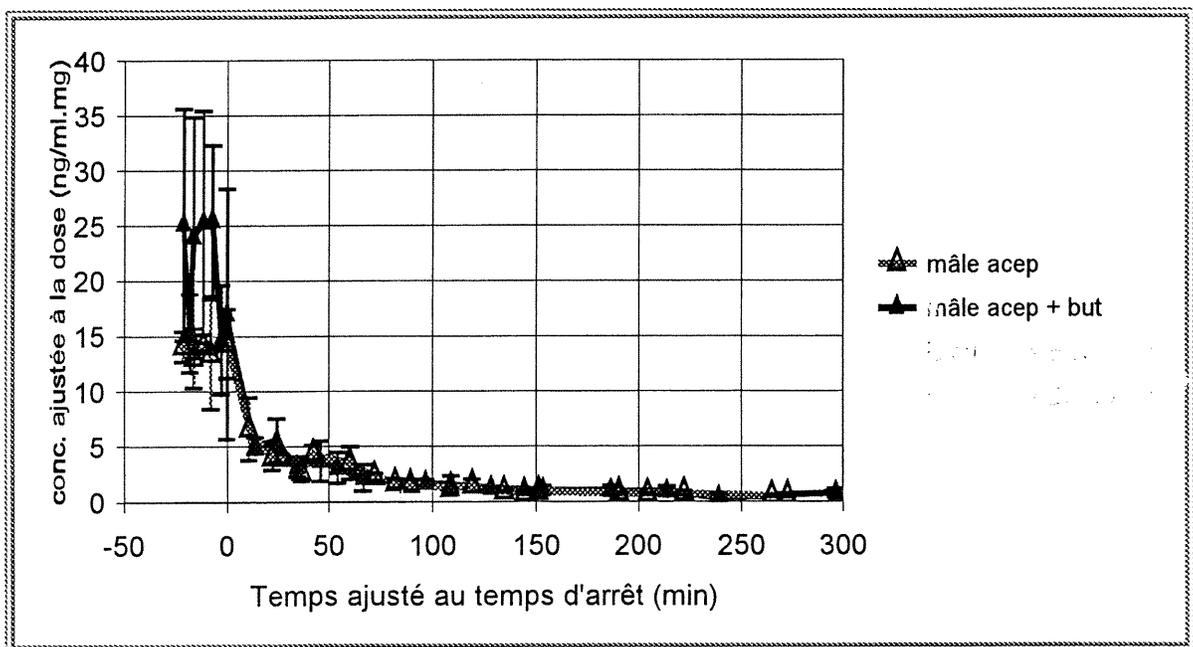
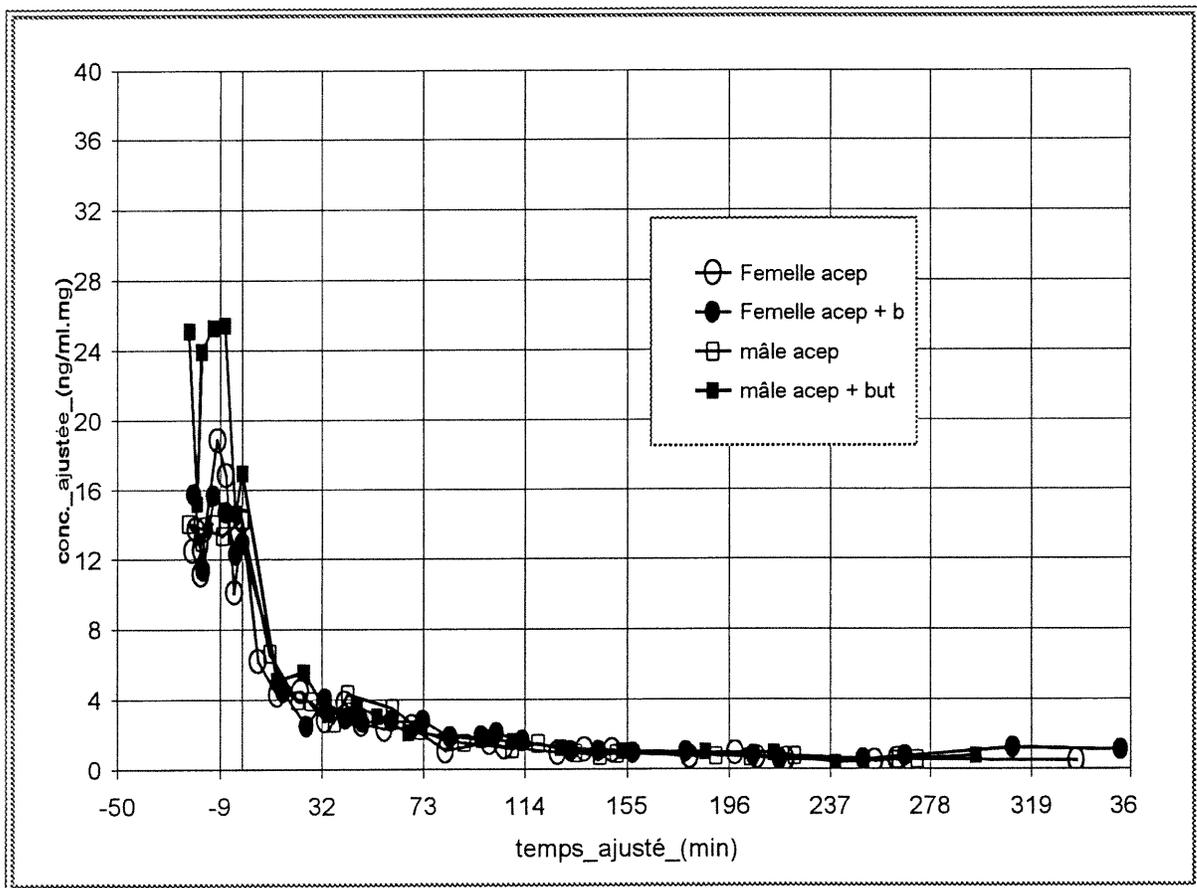


Figure 22c : Effet du sexe et de la prémédication sur les profils pharmacocinétiques des chiens âgés de vingt quatre mois.

À la figure suivante, on n'observe pas de différence entre les mâles et des femelles lorsque la prémédication est de l'acépromazine seule. Les concentrations plateau des mâles ayant reçu du butorphanol sont supérieures à celles des trois autres groupes. Cette différence est cependant moins marquée comparativement à la même différence observée lorsque les chiens sont âgés de six mois

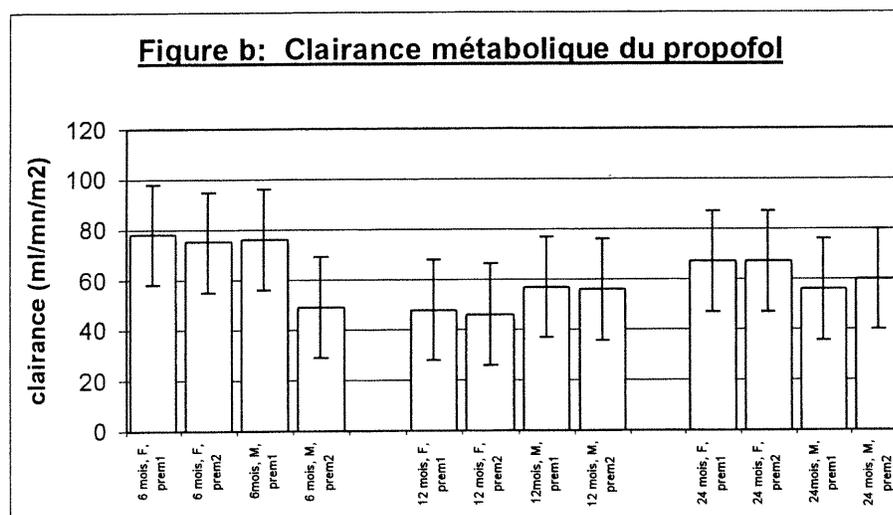
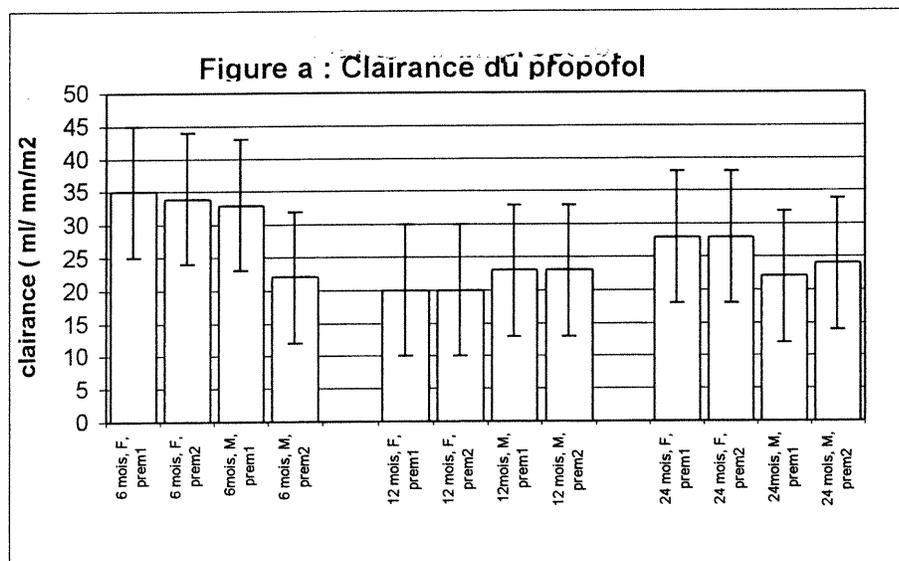


## 2.2 EFFET DE L'ÂGE SUR LA PHARMACOCINÉTIQUE DU PROPOFOL

### 2.2.1 Effet de l'âge sur la clairance

La clairance est significativement plus élevée à 6 mois qu'à 12 et 24 mois ( $p < 0,05$ ). On observe aussi une augmentation de 20% de la clairance entre 12 et 24 mois ( $p < 0,05$ ). D'autre part, l'interaction pharmacocinétique entre le butorphanol et le propofol n'est significative qu'à l'âge de 6 mois.

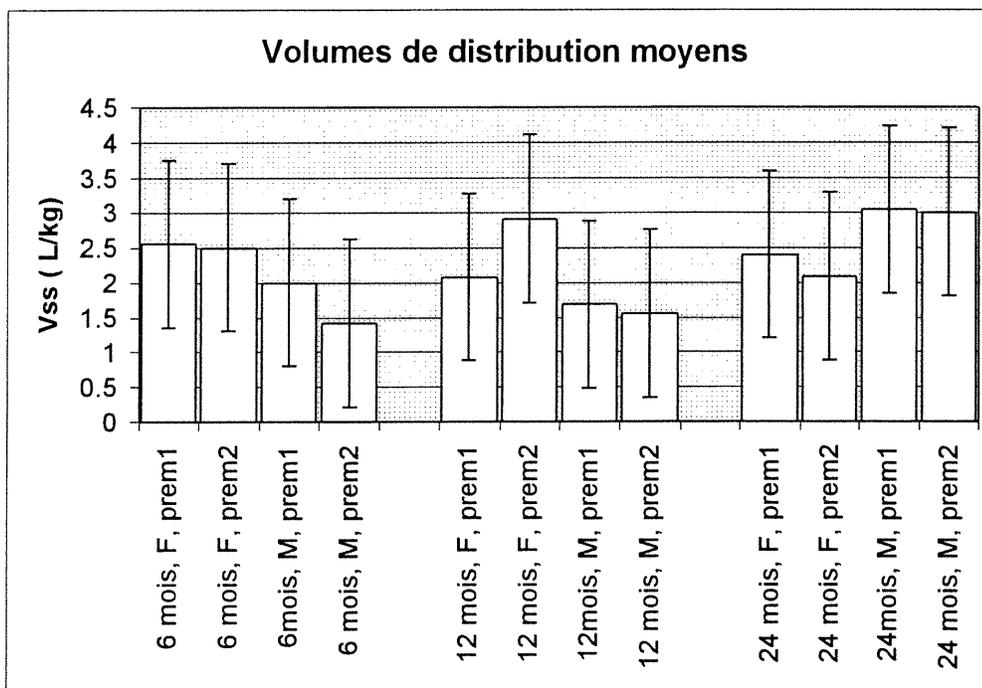
Figures 23a et 23b : Variation de la clairance ajustée au poids et de la clairance métabolique du propofol en fonction de l'âge, du sexe, et de la prémédication.



### 2.2.3. Effet de l'âge sur le volume de distribution

Tous groupes de sexe et de prémédication confondus, le volume de distribution augmente entre 6, 12 et 24 mois. Le volume de distribution des chiens âgés de 24 mois est significativement plus élevé que celui des chiens âgés de 6 mois ( $p=0,05$ ).

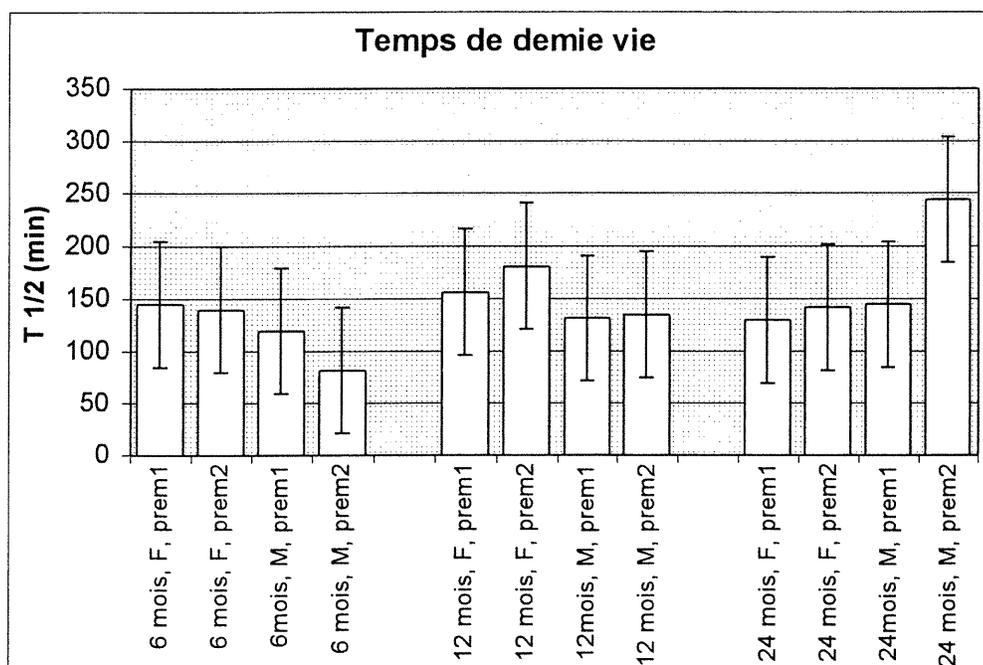
Figure 24 : Effet de l'âge, de la prémédication et du sexe sur le volume de distribution



### 2.2.4. Effet de l'âge sur le temps de demi-vie

Aucune différence significative n'a été notée au niveau du temps de demi-vie.

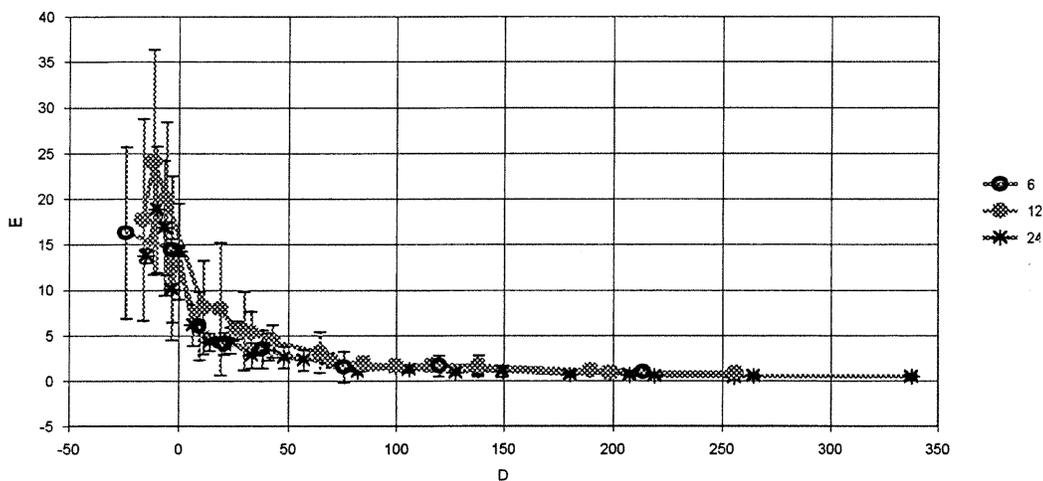
Figure 25 : Effet de l'âge sur le temps de demi-vie



## 2.2.5. Effet de l'âge sur les profils pharmacocinétiques

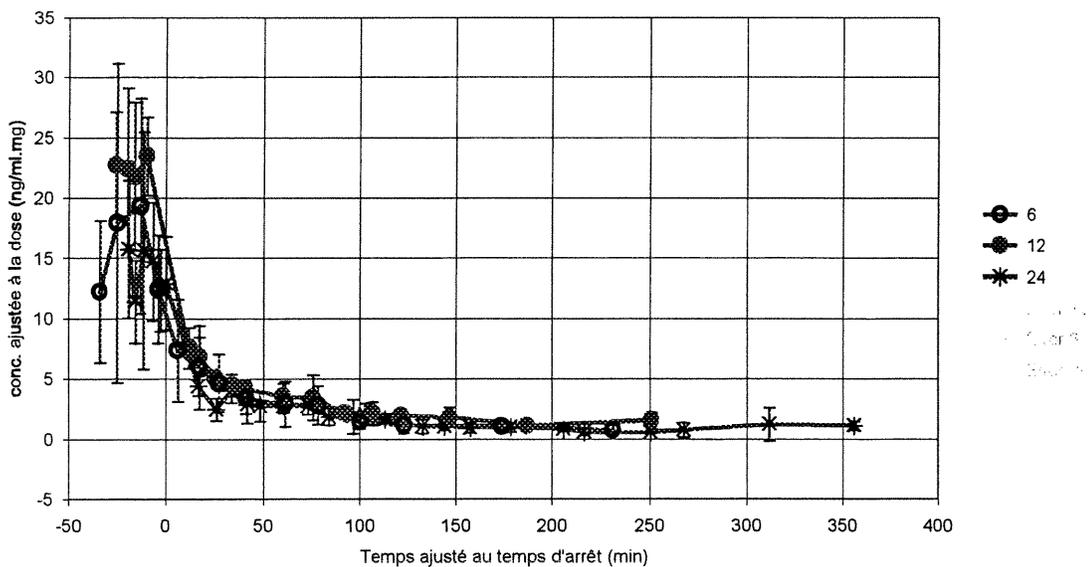
### 2.2.5.a. Femelles ayant reçu la prémédication 1

Figure 26a : Effet de l'âge sur les profils pharmacocinétiques des femelles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine.



### 2.2.5.b. Femelles ayant reçu la prémédication 2

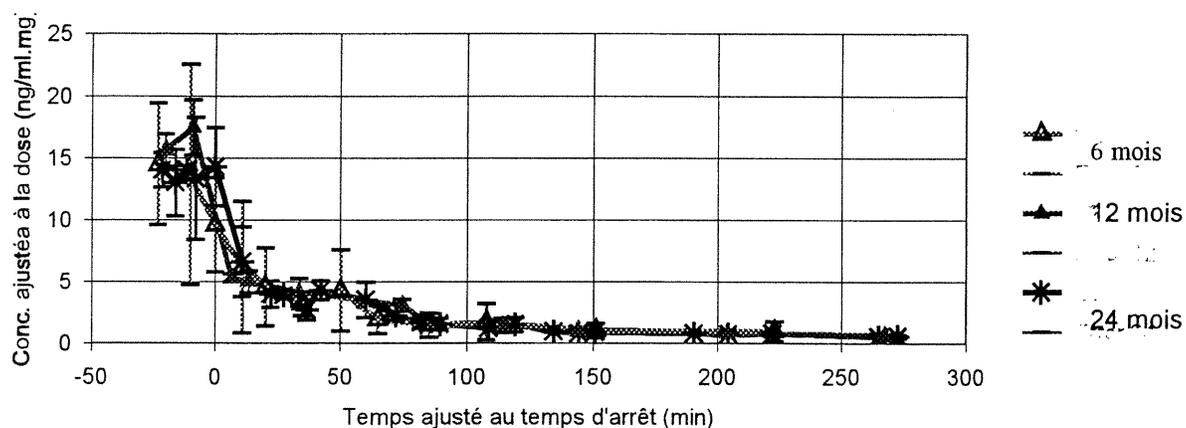
Figure 26b : Effet de l'âge sur les profils pharmacocinétiques des femelles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine et de butorphanol.



### 2.2.5.c. Mâles ayant reçu la prémédication 1

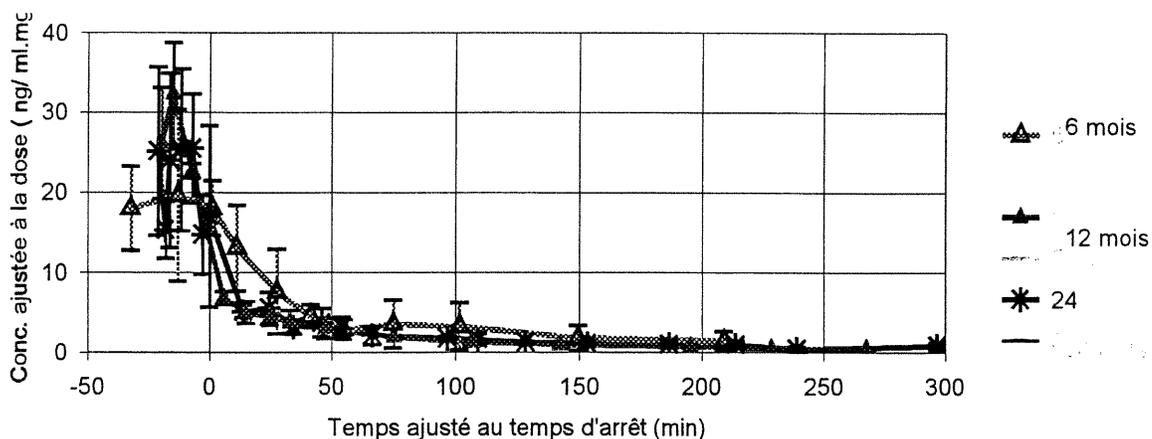
On observe que le profil cinétique des mâles âgés de six mois et ayant reçu une prémédication composée de butorphanol et d'acépromazine se démarque des profils des mâles âgés de 12 mois et de 24 mois. Les Concentrations maximales sont plus faibles pour les chiens âgés de six mois et la phase de distribution est plus lente.

Figure 26c : Effet de l'âge sur le profil pharmacocinétique des mâles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine seule.



### 2.2.5.d. Mâles ayant reçu la prémédication 2

Figure 26d : Effet de l'âge sur le profil pharmacocinétique des mâles ayant reçu une prémédication composée d'acépromazine et de butorphanol.



### 3.1 EFFET DE LA PRÉMÉDICATION ET DU SEXE SUR LES CONCENTRATIONS ET LES TEMPS DE RÉVEIL

#### 3.1.1. Chiens âgés de six mois

On observe au **tableau XXXV** que les temps de réveil tendent à être plus court chez les femelles que chez les mâles et cette différence s'est avérée significative ( $p < 0,05$ ) au temps de recouvrement des réflexes psychomoteurs. D'autre part, on remarque que les concentrations au temps de déglutition sont significativement plus élevées chez les mâles que chez les femelles, dans le groupe de prémédication avec butorphanol ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXXV : Temps et concentrations de réveil observés chez les chiens âgés de six mois.**

Prémédication	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
	Mâle	femelle	Mâle	femelle
T déglu (min)	14 ± 9	9,2 ± 4	16 ± 14	5 ± 3
C déglu (ng/ml)	4935 ± 467	3067 ± 742	8178 ± 523	4504 ± 973
T sternal (min)	22 ± 12	21 ± 7	22 ± 7	19 ± 7
C sternal (ng/ml)	3093 ± 1329	1857 ± 826	4251 ± 1300	3583 ± 2052
T debout (min)	35 ± 12	37 ± 1	40 ± 9	27 ± 6
C debout (ng/ml)	2595 ± 472	1862 ± 1041	2802 ± 756	2174 ± 634
T mobile (min)	57 ± 15	38 ± 10	42 ± 1	39 ± 11
C mobile (ng/ml)	1481 ± 1023	1609 ± 1258	1819 ± 1	1832 ± 523

### 3.1.2. Chiens âgés de douze mois

On observe à l'âge de 12 mois, que les concentrations au réveil tendent à être plus élevées chez les femelles que chez les mâles. Cette différence est significative dans le groupe de prémédication 1 seulement, pour les concentrations au temps de déglutition. De plus les concentrations de réveil tendent à être plus faibles lorsque la prémédication était composée de butorphanol et d'acépromazine. Cette différence est significative au niveau de la concentration de déglutition ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXXVI : Temps et concentrations de réveil observés chez les chiens âgés de douze mois.**

Prémédication	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
	Mâle	femelle	Mâle	femelle
T déglu (min)	13 ± 10	11 ± 6	9 ± 5	12 ± 8
C déglu (ng/ml.mg)	3200 ± 1196	6298 ± 853	2373 ± 720	3332 ± 843
T sternal (min)	24 ± 18	20 ± 7	16 ± 5	31 ± 11
C sternal (ng/ml.mg)	2885 ± 732	3520 ± 1008	2034 ± 516	2271 ± 874
T debout (min)	32 ± 31	29 ± 11	34 ± 11	38 ± 12
C debout (ng/ml.mg)	2352 ± 344	3066 ± 910	1336 ± 705	2119 ± 816
T mobile (min)	48 ± 31	35 ± 10	43 ± 8	51 ± 22
C mobile (ng/ml.mg)	2009 ± 429	2249 ± 595	1301 ± 746	1660 ± 773

### 3.1.3 Chiens âgés de vingt quatre mois

On voit au **tableau XXXVII** que les temps de déglutition sont plus élevés lorsque la prémédication est composée de butorphanol et d'acépromazine (  $p < 0,05$ ). On voit aussi que les concentrations de déglutition et de recouvrement de la position sternale sont plus élevées dans le groupe de prémédication1 ( $p < 0,05$ ).

**Tableau XXXVII : Temps et concentrations de réveil observés chez les chiens âgés de vingt quatre mois.**

Prémédication Sexe	Acépromazine		Acépromazine et butorphanol	
	Mâle	femelle	Mâle	femelle
T déglu ( min)	15 ± 6	17 ± 8	28 ± 7	27 ± 10
C déglu ( ng/ml.mg)	2370 ± 692	3110 ± 802	2709 ± 385	4709 ± 698
T sternal ( min)	37 ± 13	32 ± 11	42 ± 11	52 ± 22
C sternal ( ng/ml.mg)	2609 ± 945	2392 ± 737	1802 ± 531	1661 ± 400
T debout ( min)	56 ± 19	45 ± 15	60 ± 24	63 ± 26
C debout ( ng/ml.mg)	2247 ± 445	1803 ± 557	1437 ± 480	1609 ± 349
T mobile (min)	58 ± 19	57 ± 25	65 ± 22	64 ± 23
C mobile ( ng/ml.mg)	2269 ± 785	1446 ± 458	1266 ± 386	1401 ± 387

### 3.2. EFFET DE L'ÂGE SUR LA PHARMACODYNAMIE DU PROPOFOL

#### 3.2.1 Effet de l'âge sur les temps et les concentrations de position sternale

Figure 27 : Effet de l'âge sur les concentrations de déglutition

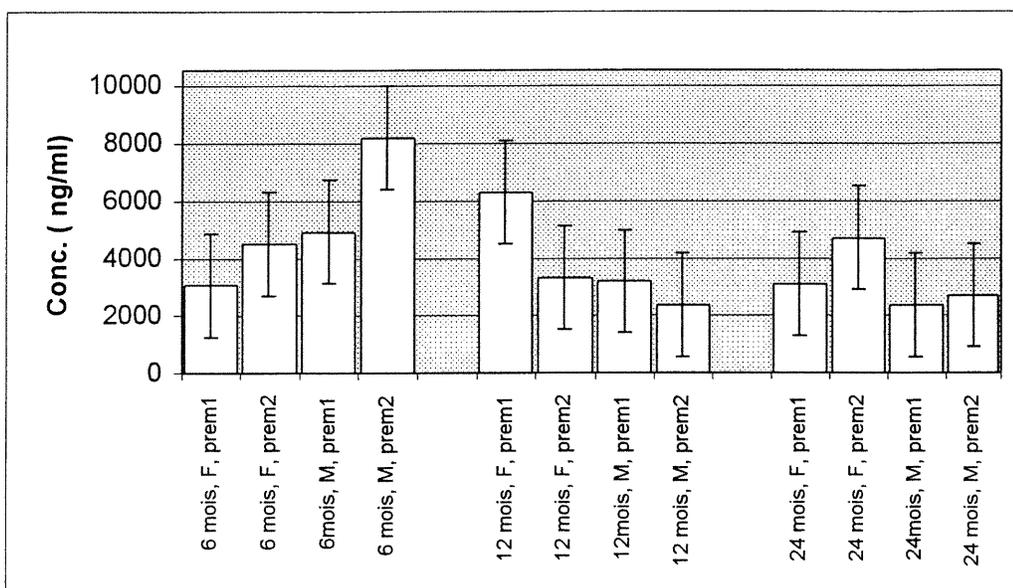
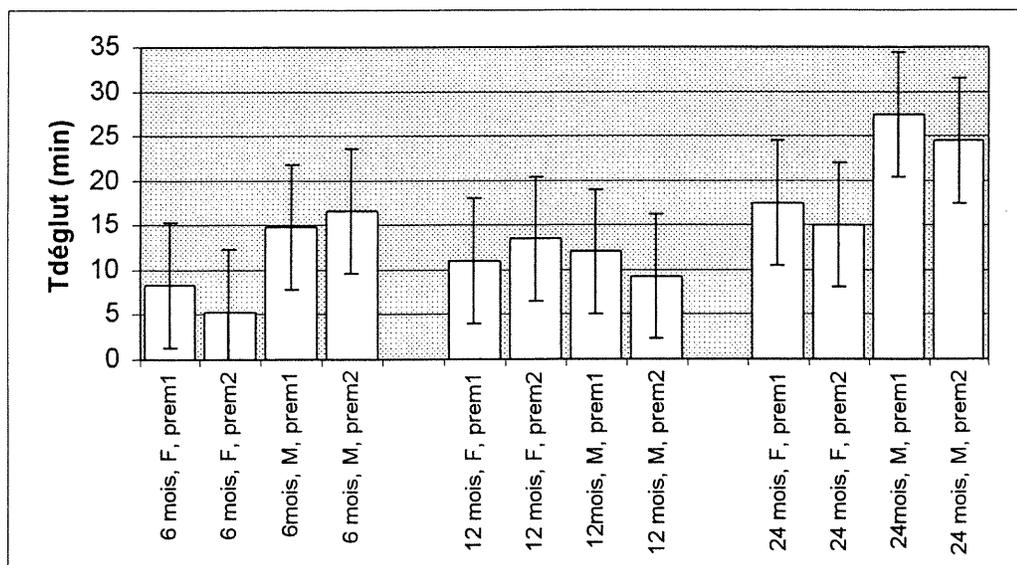


Figure 28 : Effet de l'âge sur les temps de déglutition



### 3.2.2 Effet de l'âge sur les temps et les concentrations au moment du recouvrement de la position sternale

Figure 29 : Effet de l'âge sur les concentrations plasmatiques au moment de la capacité de l'animal à se maintenir en position sternale

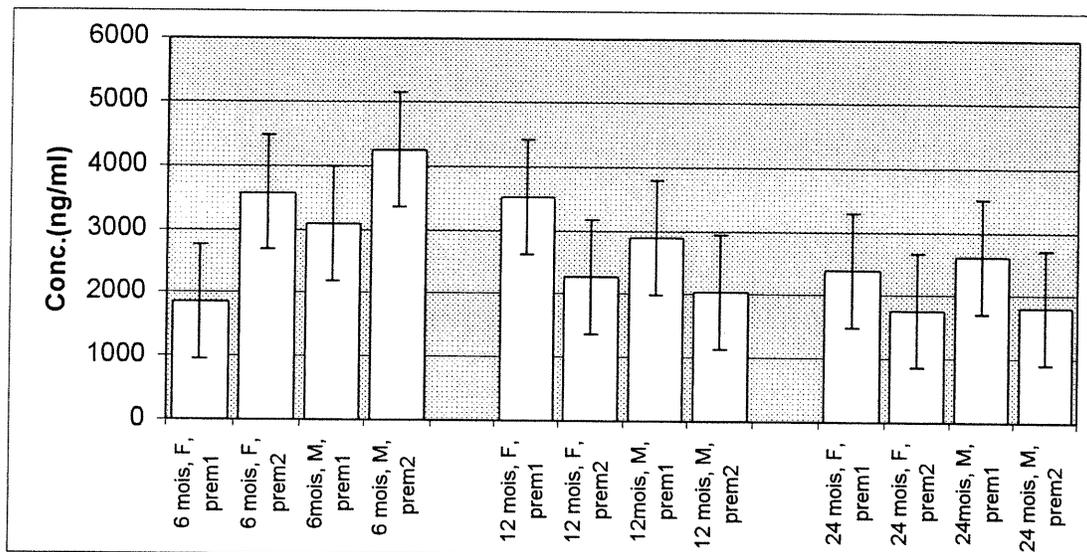
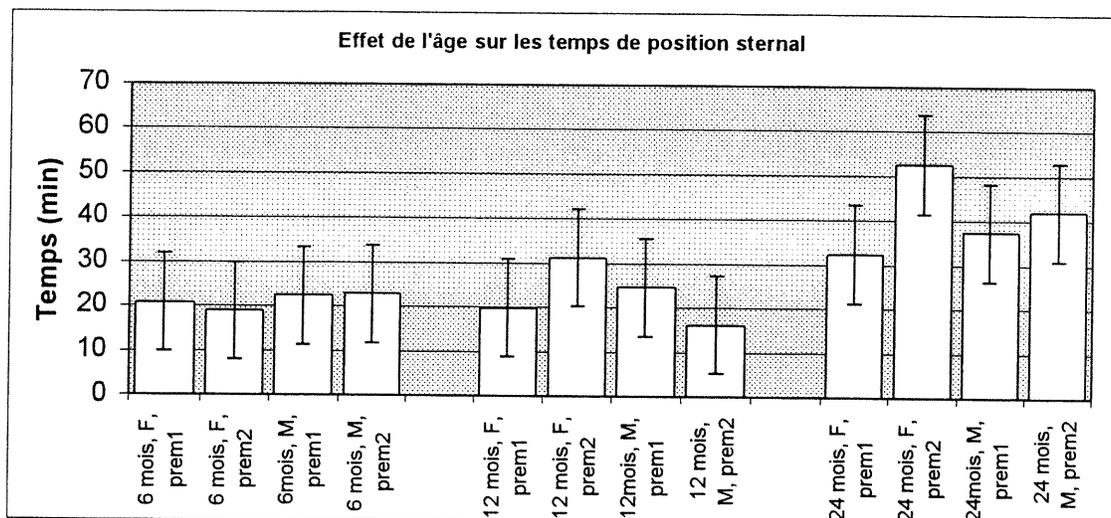


Figure 30 : Effet de l'âge sur le temps nécessaire pour que l'animal recouvre la capacité de se maintenir en position sternale



### 3.2.3. Effet de l'âge sur les temps et les concentrations de position debout

Figure 31 : Effet de l'âge sur les concentrations plasmatiques au moment du recouvrement de la capacité à se maintenir debout

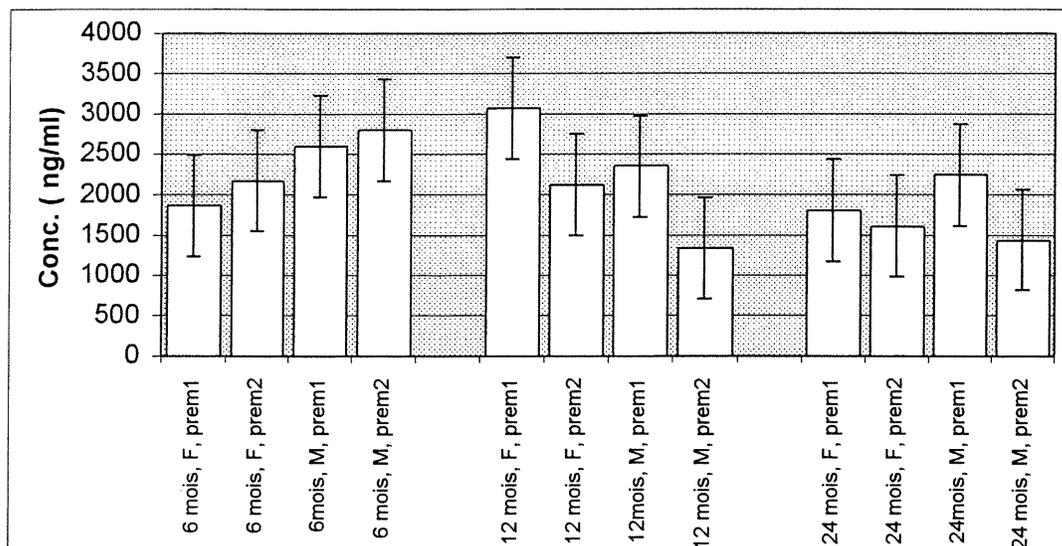
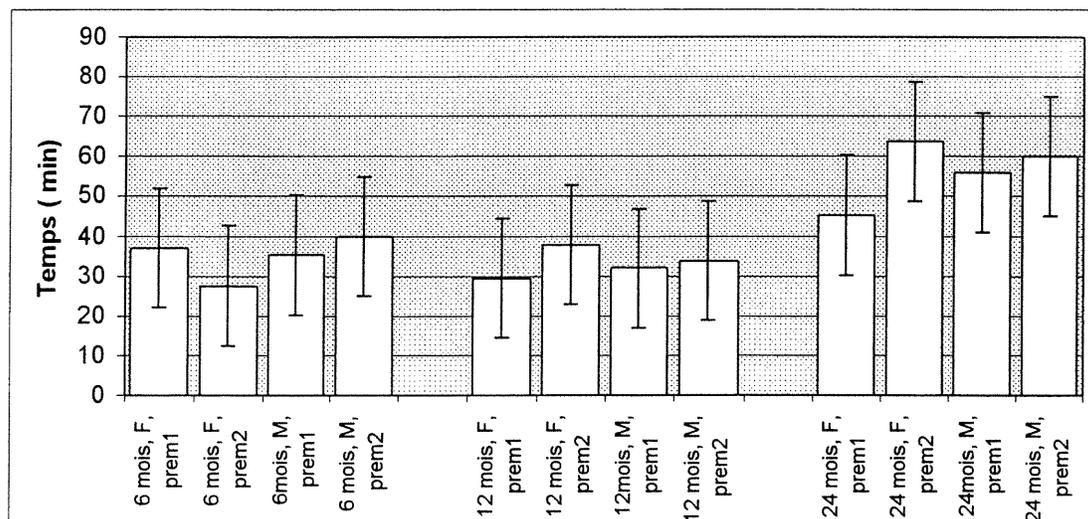


Figure 32 : Effet de l'âge sur le temps nécessaire pour le recouvrement de la faculté de se maintenir debout après l'arrêt de la perfusion



### 3.3.4. Effet de l'âge sur les temps et les concentrations de mobilité

Figure 33 : Effet de l'âge sur les concentrations plasmatiques de propofol au moment du recouvrement des réflexes psychomoteurs après l'arrêt de la perfusion

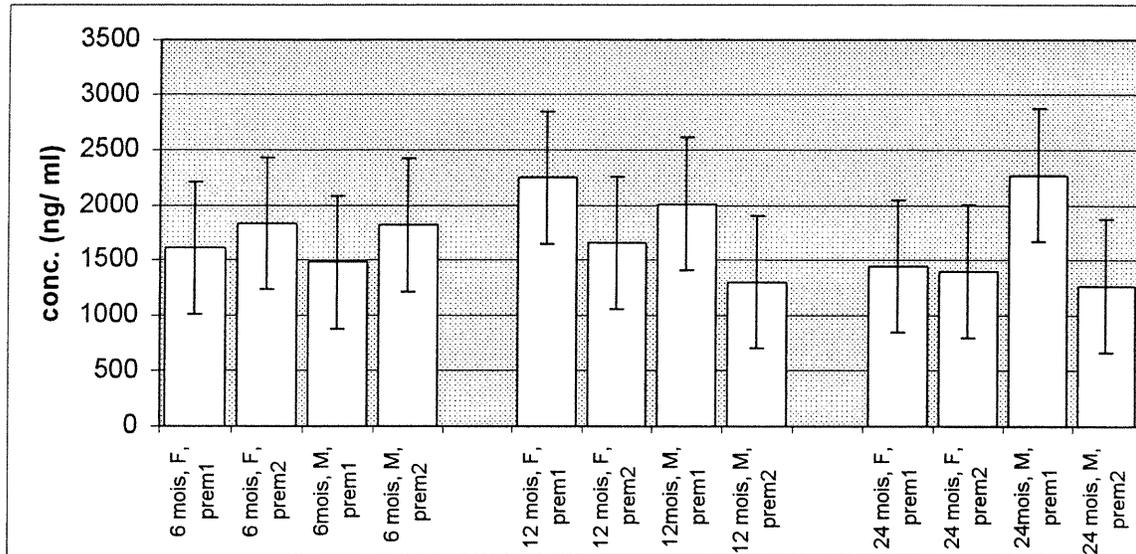
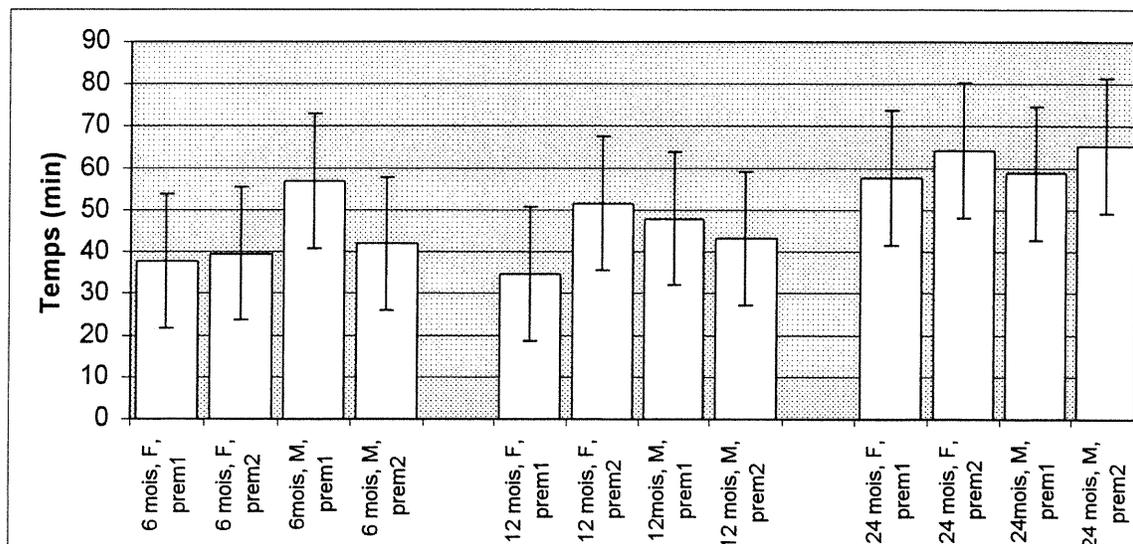


Figure 34 : Effet de l'âge sur le temps nécessaire après l'arrêt de la perfusion pour le recouvrement des réflexes psychomoteurs



## **D. DISCUSSION**

L'objectif de ce projet était de déterminer les sources de variabilité de la pharmacocinétique du propofol chez des chiens en croissance. Le protocole a été réalisé dans un cadre de pratique clinique. Les animaux qui ont participé à l'étude devaient subir un examen radiographique pour le diagnostic de la dysplasie de la hanche. Des positions contraignantes et douloureuses étaient imposées aux chiens lors de cette radiographie. Une anesthésie était par conséquent nécessaire. L'intérêt d'utiliser du propofol pour l'induction et le maintien de l'anesthésie réside dans le fait qu'étant très lipophile, son effet hypnotique et sédatif apparaît très rapidement car il passe facilement la barrière hémato-encéphalique, et disparaît tout aussi rapidement après l'arrêt de la perfusion, car il est largement distribué dans les tissus; et ce, sans laisser d'effets résiduels négatifs et sans phénomène d'accumulation, même après une perfusion de longue durée<sup>5</sup>. Il existe de plus une bonne corrélation dose effet permettant d'obtenir facilement un niveau d'anesthésie stable.

Les études déjà publiées portant sur la pharmacocinétique du propofol chez le chien se sont déroulées dans un environnement contrôlé, où les doses étaient pour la plupart préétablies et fixes pour tous les animaux participant à l'étude<sup>49-53</sup>. Ces schémas d'administration ne correspondent cependant pas à ceux pratiqués en milieu clinique où les doses administrées sont ajustées en fonction du comportement et des réactions individuelles de chaque animal pendant l'anesthésie. La vitesse de perfusion y est par conséquent modulée, et des bolus supplémentaires peuvent être administrés si cela s'avère nécessaire. La présente étude pharmacocinétique a été réalisée dans ce cadre.

Une telle étude présente l'avantage d'évaluer la pharmacocinétique dans un cadre pratique et non exclusivement expérimental. Elle présente cependant aussi l'inconvénient de contraintes que sont le nombre de prélèvements limité pour des raisons éthiques ainsi qu'un manque de précision quelques fois rencontré dans les temps de prélèvement. Ces inconvénients sont toutefois atténués par le nombre important de chiens ayant participé à cette étude ainsi que par l'approche choisie pour le calcul des paramètres pharmacocinétiques. Les paramètres pharmacocinétiques ont été calculés par une méthode non compartimentale, appliquée à un modèle de perfusion. Cette méthode basée sur le calcul de l'aire sous la courbe est robuste, simple et rapide. L'omission d'un point critique ou une erreur dans un temps de prélèvement

affecte très peu le calcul de l'aire totale sous la courbe et par conséquent la valeur des paramètres calculés.

La première remarque à apporter après l'observation des profils de concentrations plasmatiques en fonction du temps et des paramètres pharmacocinétiques obtenus est leur très grande variabilité. Cette variabilité n'est pas due à des doses d'administration différentes étant donné que les concentrations ont été divisées par la quantité de propofol administrée à chaque animal. Elle est caractéristique des médicaments, tels le propranolol très lipophile, et dont le coefficient d'extraction hépatique est élevé. Leur clairance hépatique et leur distribution dans les tissus sont dépendantes du débit sanguin. Or ce dernier montre une variabilité intra individuelle et interindividuelle qui se reflète sur la distribution et l'élimination<sup>183</sup>. Les clairances moyennes obtenues dans cette étude ( 30.0 ml/min/kg, 21.0 ml/min/kg et 25.5 ml/min/kg à 6, 12 et 24 mois respectivement ) sont élevées mais, contrairement à ce qui a été rapporté chez l'homme et le chien, elles demeurent inférieures au débit hépatique de 41 ml/min/kg estimé par Boxenbaum<sup>119</sup>. Elles sont plus faibles que la clairance moyenne de 50.1 ml/min/kg obtenue chez des chiens Beagles ayant reçu un bolus puis une perfusion, par Nolan & Reid<sup>51</sup> et sont comparables à celle obtenues par Hall et ses collaborateurs<sup>50</sup> chez des chiens croisés ( 34.4 ml/min/kg ) et à celle obtenue par Mandsager et ses collaborateurs<sup>184</sup> chez des Greyhound ( 29.8 ml/min/kg ). Ces différences peuvent être attribuées au fait que les races sélectionnées pour ces études sont différentes.

Le volume de distribution peut être évalué par trois méthodes. Le volume de distribution obtenu à partir des microconstantes est le plus exact car il se rapporte à la physiologie du modèle mais nécessite une modélisation. Or l'approche choisie dans cette étude est une approche non compartimentale. Le volume de distribution obtenu par l'extrapolation de la droite d'élimination terminale conduit à une surestimation de la valeur et ne permet pas de tenir compte de la phase de distribution. Le volume de distribution calculé à partir de l'aire sous la courbe tient compte de tous les phénomènes de distribution et d'élimination. Il surestime quelque peu le volume de distribution à l'équilibre mais cette surestimation reste sans importance clinique significative. C'est cette dernière valeur qui a été utilisée pour estimer le volume de distribution. Les valeurs obtenues dans cette étude montrent une grande variabilité inter animal. Les valeurs obtenues se situent dans un intervalle compris entre 0.9 et 6.6 L/kg. Les

moyennes sont de 2.35 L/kg, 2.02 L/kg et 2.02 L/kg à six, douze et vingt quatre mois respectivement. Elles reflètent la large distribution du propofol dans les tissus du fait de sa grande lipophilicité. Elles sont plus faibles que celles publiées dans la littérature pour des chiens beagle<sup>51</sup> ( 6.510 L/kg ), et pour des chiens croisés<sup>50</sup> ( 6.04 L/kg ) ayant reçu un bolus puis une perfusion de propofol. Mais elles sont comparables à celles obtenue pour des greyhound<sup>184</sup> (2.26 L/kg) ayant aussi reçu le propofol seul en bolus puis en perfusion. Tout comme les différences observées pour les clairances cette différence observée entre les volumes de distribution observés dans cette étude et ceux publiés par Nolan et al<sup>51</sup> et Hall et al<sup>50</sup> peut provenir des différentes races de chiens sélectionnées.

Plusieurs profils pharmacocinétiques laissaient apparaître un pic secondaire, après l'arrêt de la perfusion. Ces pics correspondent au temps de recouvrement de la position sternale ou mobile. De tels pics ont déjà été rapportés chez l'homme et chez le chien<sup>44,49,53,145</sup>. Ils sont probablement dus à un changement du débit sanguin et du rythme cardiaque au moment du réveil conduisant à la libération du propofol à partir de tissus réservoir tels les tissus adipeux<sup>185</sup>.

Le moment du réveil était déterminé par le recouvrement des réflexes de déglutition, de la capacité de maintenir une position sternale, debout puis mobile. Les temps de réveil observés dans cette étude sont un peu plus long mais toutefois comparables à ceux publiés par Nolan & Reid<sup>44</sup> chez des chiens beagle ayant reçu un bolus et une infusion de propofol (temps moyen de déglutition de 15 min versus 7.6 min, temps moyen de maintenance de la position sternale de 28.19 versus 20.8 et temps de maintenance de la position debout de 61.45 min versus 30.7 min). La prémédication qui avait été utilisée était un mélange d'acépromazine et de papaveretum produisant une neuroleptanalgie. Ces différences peuvent être dues à la différence des doses administrées. Une étude portant sur six chiens beagle ayant reçu des doses bolus de propofol, a démontré que les temps de réveil sont dépendants de la dose administrée. Une augmentation de la dose engendrait un prolongement du temps d'apparition des réflexes de déglutition<sup>35</sup>. T. Kazama et ses collaborateurs ont aussi montré chez l'homme que plus la durée de la perfusion est courte, plus rapide est la diminution de la concentration du propofol au site d'action, en raison du temps nécessaire pour l'équilibration entre les concentrations plasmatiques et cérébrales. Inversement, plus la durée de la perfusion est longue, plus les temps de réveil sont prolongés<sup>186</sup>. Les

concentrations au réveil dépendent de l'administration ou non de prémédication ainsi que du type de la co-médication ou de la prémédication administrée. Celles rapportées chez l'homme lorsque le propofol est administré en perfusion, sont comprises entre 0.74 et 1.66  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>187,188,189,190</sup>. La concentration au réveil chez le chien est plus élevée que chez l'homme. Les concentrations rapportées dans la littérature sont variables. Elles sont comprises entre 1.1 et 2.9  $\mu\text{g}/\text{ml}$  <sup>49-53</sup>. Dans notre étude, les concentrations au réveil observées sont plus élevées que celles rapportées dans la littérature (Concentration au temps de déglutition compris entre 2,4 et 8.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  et concentration au temps de mobilité compris entre 1.3 et 2.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

L'administration d'une prémédication avant l'administration de propofol est recommandée car elle permet de diminuer la dose requise pour l'induction et le maintien de l'anesthésie et diminuer de ce fait les effets secondaires, notamment la dépression respiratoire, reliés à de fortes doses de propofol. L'acépromazine est une phénothiazine douée de propriétés sédatives et tranquillisantes. Les conclusions quant à son aptitude à diminuer la dose nécessaire à l'induction de l'anesthésie sont contradictoires. Certains ont noté une diminution de 25 à 30 % de la dose de propofol nécessaire au maintien de l'anesthésie<sup>191</sup> alors que d'autres n'en ont pas noté<sup>192</sup>. Les morphiniques permettent de diminuer considérablement la dose d'induction et de maintien de l'anesthésie ( d'un facteur de 50 à 75 % ); et la combinaison d'un tranquillisant et d'un morphinique, souvent utilisée en médecine vétérinaire, produit une hypnose et une analgésie (neuleptanagésie) et permet de diminuer de manière importante la dose requise <sup>57</sup>. Dans notre étude, deux types de prémédication ont été utilisés. Un groupe de chien a reçu l'acépromazine seule par voie intra musculaire, et un second groupe a reçu une combinaison d'acépromazine et du morphinique butorphanol. Le groupe ayant reçu la prémédication composée d'acépromazine et de butorphanol a nécessité en effet moins de bolus supplémentaires au cours du diagnostique, et ce chez les mâles et les femelles ainsi que dans les trois groupes d'âge ( 6, 12 et 24 mois). La dose de maintien était diminuée d'un facteur de 25% dans le groupe ayant reçu la combinaison acépromazine et butorphanol (  $p < 0.05$ ). On pouvait observer la même tendance pour la dose d'induction mais la différence observée n'était pas significative cliniquement et statistiquement. La raison de cette diminution de la dose nécessaire engendrée par l'adjonction de butorphanol à la prémédication n'est pas pharmacocinétique, car aucune différence significative n'a été observée au niveau de la clairance, du volume de distribution, du temps de résidence moyen ou du temps de demi-vie. Une différence

significative pouvait cependant être observée au niveau des concentrations plasmatiques prélevées au moment du recouvrement de la position sternale, et mobile. Ces concentrations plasmatiques sont plus faibles dans le groupe ayant reçu l'acépromazine et le butorphanol. Cela implique que l'anesthésie au propofol est moins profonde lorsque la prémédication ne contient pas de butorphanol. De plus, les temps de réveil tendent à être plus longs dans le groupe ayant reçu le butorphanol, mais sans avoir de signification statistique ou clinique ( différence de 2 à 6 min ). Cette interaction synergique entre les opioïdes et les hypnotiques a déjà été démontrée et ces résultats permettent de la confirmer <sup>192,193</sup>.

Les concentrations plasmatiques aux temps de réveil se sont aussi avérées être influencées par l'âge. Elles sont plus élevées à 6 mois qu'à douze mois et à 24 mois. Très jeunes, les chiots semblent moins sensibles à l'effet hypnotique du propofol. Cette même observation a été notée par Vandermeersch et ses collaborateurs<sup>194</sup>. Cette observation contredit l'idée selon laquelle la barrière sang - cerveau est plus perméable à un très jeune âge. De plus, une expérience portant sur l'effet de l'âge sur la pharmacodynamie du propofol chez des rats a démontré les jeunes rats sont plus sensibles au propofol. Ces concentrations plasmatiques au réveil plus élevées peuvent cependant être expliquées par le "temps de délai d'entrée dans la biophase" requis pour l'action hypnotique du propofol. Les différences de concentration entre le sang et le cerveau sont en effet plus marquées chez les rats âgés de 23 jours que les rats adultes<sup>195</sup>. Le temps de mélange du propofol à la biophase est une étape limitante pour l'action hypnotique de ce dernier<sup>196,197</sup>. Ce temps de délai plus lent chez les jeunes animaux expliquerait que des concentrations plasmatiques plus élevées chez les jeunes chiots engendrent une même profondeur d'anesthésie.

L'âge influence aussi la pharmacocinétique du propofol. La clairance est plus élevée à 6 mois qu'à 12 et 24 mois ( 31.36 versus 20.70 et 26.68 ml/kg/min). On a pu observer qu'elle diminue à douze mois de 30 % pour augmenter par la suite à 24 mois de 15%. La forte clairance initiale est due au phénomène de "turnover", selon lequel le débit cardiaque des nouveau-nés et des jeunes chiots est plus important proportionnellement à leur surface corporelle. Cet effet est significatif statistiquement lorsque tous les chiens sont groupés en fonction de leur âge sans tenir compte de leur sexe ou du type de prémédication qui leur a été administrée. Lorsqu'il est étudié dans les différents groupes de sexe et de prémédication, on observe la même tendance sans

aboutir à une signification statistique. Les résultats obtenus montraient en effet une très grande variabilité interanimal, ce qui diminue de manière considérable la puissance du test statistique si le nombre de sujets n'est pas suffisamment grand. Cette grande variabilité ne permet pas non plus de conclure en un effet clinique significatif. Cette élimination plus rapide, ainsi que le délai de biophase plus long engendrent la nécessité d'administrer des doses qui ont tendance à être plus élevées pour l'induction de l'anesthésie chez les chiots de 6 mois par rapport aux chiots de 12 mois (différence de 10% ,  $p < 0.001$  tous groupes confondus). Tout comme précédemment la grande variabilité permet d'observer une tendance sans pour autant apporter de signification clinique et statistique. L'augmentation de la clairance entre 12 mois et 24 mois peut être attribuée à une augmentation du métabolisme basal observé à cet âge correspondant à l'âge de l'adolescence<sup>198</sup>. Elle est observée chez les femelles et non chez les mâles ( $p < 0.01$  chez les femelles et  $p = 0.99$  chez les mâles). Cette augmentation correspond à la maturation des animaux. Chez le chien, la maturation des femelles se produit en général un peu plus tard que celle des mâles mais cela varie en fonction de la race. Soulignons une fois de plus la variabilité importante des paramètres obtenus et la difficulté, par conséquent de conclure en un effet clinique perceptible et significatif.

Un effet combiné du sexe et de la prémédication a été observé chez les chiens âgés de six mois. La clairance du propofol est significativement plus faible et les concentrations plasmatiques à l'équilibre sont significativement plus élevées chez les mâles ayant reçu la prémédication composée d'acépromazine et de butorphanol. Cet effet s'estompe lorsque les chiens sont âgés de 12 et 24 mois. Une première hypothèse quant à l'origine de cette interaction pharmacocinétique est l'existence d'une interaction métabolique. Le butorphanol est métabolisé par hydroxylation ( 50% de la dose ) puis glucuroconjugaison et par N-déméthylation (5 à 10% de la dose)<sup>199</sup>. Chez le chien, la voie majeure de biotransformation du propofol est son hydroxylation en position para<sup>63</sup> par le CYP 2B11 en majeure partie, mais aussi par d'autres isoenzymes telles le CYP2D15<sup>72</sup>. Le 2 B11 est un isoenzyme exprimé de manière importante chez le chien et des études ont suggéré l'existence d'un dimorphisme sexuel dans leur expression. Une différence dans l'effet inhibiteur de l'hormone de croissance serait à l'origine de ce dimorphisme. Chez les mâles, l'hormone de croissance est sécrétée de manière pulsatile, alors que chez les femelles, elle est sécrétée de manière continue. Les mâles possèderaient de ce fait une quantité de 2B11 plus importante que les femelles. Ces différences d'expression du CYP2B11 entre les sexes pourraient dépendre de la race.

De telles différences ont été observées entre deux lignées de rat<sup>200</sup>. Ce facteur peut fournir une explication à cette interaction entre le butorphanol et le propofol chez les mâles. La présence d'une moindre quantité d'enzymes de biotransformation chez les mâles pourrait engendrer une compétition au niveau de ces dernières. Des expériences appropriées doivent être effectuées pour confirmer une telle hypothèse. Le fait que cet effet sexe sur la clairance du propofol soit estompé à 12 mois et à 24 mois peut être dû au fait que les mâles aient été castrés entre l'âge de 6 mois et 12 mois.

Néanmoins, aucune inhibition métabolique par le butorphanol n'a été rapportée dans la littérature; et les enzymes de biotransformation du propofol sont variés. Cet agent très lipophile possède un coefficient d'extraction hépatique élevé et son métabolisme dépend par conséquent du débit hépatique<sup>57</sup>. Ces faits font de la première hypothèse une hypothèse discutable. Une autre hypothèse apportant une explication à cette interaction entre le propofol et le butorphanol chez les mâles est l'existence d'un dimorphisme sexuel au niveau de la sensibilité des récepteurs opioïdes  $\mu$ . Ces récepteurs, en plus de produire un effet analgésique provoquent une dépression respiratoire. Or le butorphanol est un agent agissant au niveau des récepteurs kappa et des récepteurs  $\mu$ . C. Cook et ses collaborateurs ont trouvé que le butorphanol démontrait une puissance et une efficacité plus élevée chez les mâles que chez les femelles au niveau des récepteurs opioïdes  $\mu$ <sup>201</sup>. La raison de ce dimorphisme sexuel est peu clair. Des différences dans les systèmes neurologiques endogènes participant à la réponse analgésique seraient à l'origine de ces différences de sensibilité entre les sexes. Par exemple, l'activité des peptides opioïdes est arrêtée par plusieurs enzymes protéolytiques. L'inhibition de ces enképhalinases serait plus importante chez les mâles que chez les femelles<sup>202</sup>. Une plus grande efficacité du butorphanol au niveau des récepteurs  $\mu$  chez les mâles augmenterait la dépression respiratoire qu'il engendre. De plus les opioïdes potentialisent l'hypotension provoquée par l'acépromazine<sup>57</sup>. L'effet combiné du sexe et de la présence d'acépromazine engendrerait une plus forte hypotension et par conséquent une plus forte diminution du débit sanguin chez les mâles que chez les femelles. La clairance du propofol dépendant du débit hépatique, elle serait plus fortement diminuée chez les mâles que chez les femelles. L'altération de cette interaction à 12 et 24 mois serait alors expliquée par le fait qu'en raison du phénomène de turnover, le débit sanguin est plus important à 6 mois. L'effet du butorphanol sur serait donc plus marqué et visible à cet âge.

Il reste que les résultats obtenus étaient très variables et que la signification statistique et clinique des effets observés est faible. Cette variabilité est due d'une part à la grande lipophilicité du propofol, mais aussi au protocole lui-même qui s'est déroulé dans un cadre de pratique clinique. On n'a pu observer au cours de cette étude que des tendances. Les hypothèses émises sont à vérifier, et ce dans un cadre contrôlé.

## CHAPITRE IV : CONCLUSION

Les nombreuses études pharmacocinétiques dont a fait l'objet le propofol se sont déroulées pour la plupart dans un environnement contrôlé ne permettant pas de tenir compte de la variabilité interindividuelle que l'on rencontre dans la pratique vétérinaire. Le but cette étude était d'évaluer la pharmacocinétique et l'effet anesthésique du propofol dans un cadre clinique chez des chiens en croissance et de tenter d'identifier les sources physiologiques de variation de celles-ci.

Les profils et les paramètres pharmacocinétiques obtenus ont démontré une grande variabilité. Cette variabilité ne provient pas de l'analyse quantitative des plasmas, la méthode utilisée ayant été validée et étant reproductible et exacte.

Les valeurs de clairance (30.0 ml/min/kg à 6 mois, 21.0 ml/min/kg à 12 mois et 25.5 ml/min/kg à 24 mois) et de volume de distribution (2.35 L/kg, 2.02 L/kg et 2.02 L/kg à six, douze et vingt quatre mois respectivement) obtenus se situent dans la limite inférieure des valeurs déjà publiées. Le temps moyen de déglutition sont de 15 min, le temps moyen de maintenance de la position sternale de 28.19 et le temps de maintenance de la position debout de 61.45 min. Les concentrations au réveil obtenues sont les suivantes : Concentration au temps de déglutition compris entre 2,4 et 8.2 µg/ml et concentration au temps de mobilité compris entre 1.3 et 2.2 µg/ml .

Les facteurs affectant la pharmacocinétique et les doses requises de propofol sont l'âge et la prémédication. De plus la prémédication composée de butorphanol diminue la clairance du propofol chez les mâles âgés de six mois statistiquement significativement mais sans avoir de conséquence sur la dose requise ni sur les temps de réveil. D'autre part les femelles tendent à se réveiller plus tôt que les mâles. Mais cette différence n'était pas significative pour tous les temps de réveil ni à tous les âges

Cette étude a permis de déterminer quelques facteurs affectant la pharmacocinétique du propofol. La très grande variabilité due au protocole lui-même qui s'est déroulé dans un cadre de pratique clinique et à la nature lipophile du propofol n'a représentait une limite dans la signification statistique des résultats. Elle représente cependant aussi le point fort de ce protocole car elle est à l'image du cadre clinique de la pratique vétérinaire.

Il serait intéressant d'effectuer une étude pharmacocinétique supplémentaire, lorsque les chiens seront âgés de quatre ans par exemple, correspondant à l'âge adulte. Elle permettrait d'observer l'évolution de la clairance et de voir si son augmentation à 24

mois est un pic dû à l'âge de l'adolescence . Une étude dans un cadre plus contrôlée permettant de déterminer l'effet du sexe sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du propofol permettrait aussi de compléter les résultats obtenus.

## RÉFÉRENCES

1. Raeder J.C. (1996). Basis of anaesthesia – What do we know after 150 years. *Acta Anaesthesiologica Scandinavia*, Vol 40: 1068-1072.
2. Muir W.W., Hubbell J.A., Skarda R.T., Bednarski R.M. (2000). Handbook of veterinary anesthesia. 3ème edition Mosby.
3. Ilkiw J.E. (1999). Balanced anesthetic techniques in dogs and cats. *Clinical techniques in small animal practice*, Vol 14, No 1: pp 27-37.
4. Peskin R.M. (1992). Contemporary Intravenous Anesthetic Agents and delivery systems : propofol. *Anesth. Prog.*, Vol 39: pp 178-184.
5. Gronert G.A. & coll. (1998). Plasma Electrolyte and Metabolite Concentrations Associated with Pentobarbital or Propofol Anesthesia during Three Week's Mechanical Ventilation and Intensive Care in dogs. *Laboratory Animal Science*. Vol 48, No 5: pp513- 519.
6. Farinoti R. (1994). Interactions physicochimiques et modes de conservation du Diprivan®. *Annales d'anesthésie et de réanimation*. Vol 13 :pp 453-456.
7. James R.; Glen J.B. (1980). Synthesis, biological evaluation, and preliminary structure-activity considerations of a series of alkylphenols as intravenous anesthetic agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 23 No12 : pp 1350.
8. Franks N.P., Lieb W.R.(1994).Molecular and cellular mechanisms of general anesthesia. *Nature*. Vol 367: pp 607-614.
9. Collins G.G. (1988). Effects of the anaesthetic 2,6-diisopropylphenol on synaptic transmission in the rat olfactory cortex slice *British journal of pharmacology*. Vol 95: pp 939-949. *Br. J. Pharmacol.* 1988 95: 939-949
10. Hales T.G. & Lambert J.J., (1991).The action of propofol on inhibitory amino acid receptors of bovine adrenomedullary chromaffin cells and rodent central neurones. *British Journal of pharmacology*. Vol 104: pp 619 – 628.

11. Hara M. & coll. (1994). Propofol activates GABAA receptor-chloride ionophore complex in dissociated hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*. Vol 7: pp 781-788.
12. Krasowski M.D. & coll. (1997). Alpha subunit isoform influences GABAA receptor modulation by propofol. *Neuropharmacology*. Vol 36: pp 941 – 949.
13. Sanna E. & coll. (1995). Novel properties of homomeric beta 1 gamma-aminobutyric acid type A receptors: action of anesthetics propofol and pentobarbitone. *Molecular pharmacology*. Vol 47: 213-217.
14. Daniels S. & Roberts R.J.(1998). Post-synaptic inhibitory mechanisms of anaesthesia; glycine receptors. *Toxicol. Lett.* Vol 23 no 1000-101: :pp 71-76.
15. Violet & coll (1997). Differential sensitivities of mammalian neuronal and muscle nicotinic acetylcholine receptors to general anesthetics. *Anesthesiology*. Vol 86 No4: pp 866-874.
16. Yamakura T & coll. (1995). Effects of propofol on various AMPA-, kainate- and NMDA-selective glutamate receptor channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Neurosci. Lett.* Vol 188 No3 :p 187-190.
17. Nagase Y. & coll. (1999). Propofol inhibits muscarinic acetylcholine receptor-mediated signal transduction in *Xenopus* Oocytes expressing the rat M1 receptor. *Japanese Journal of pharmacology*. Vol 79 No3: pp 319-25.
18. Frenkel C. & Urban B. W.(1991). Human brain sodium channels as one of the molecular target sites for the new intravenous anaesthetic propofol (2,6-diisopropylphenol). *European Journal of pharmacology*. Vol 208 No1: pp 75-79.
19. Trapani G. & coll. (2000). Propofol in Anesthesia. Mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery. *Current Medicinal Chemistry*. Vol 7: pp 249-271.
20. Langley M.S. & Heel R.C.(1988). Propofol: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and use as an intravenous anesthetic. *Drugs*. Vol 35: pp 334 –372.

21. Vandesteene A. & coll. (1988). Effect of propofol on cerebral blood flow and metabolism in man. *Anaesthesia*. Vol 43: pp 42-43.
22. Stephan H. & coll. (1987). Effect of diprivan on cerebral blood flow, cerebral consumption, and cerebral vascular reactivity. *Anesthetist*. Vol 36: pp 60-65.
23. Kochs E. & coll (1992). The effect of propofol on brain electrical activity, neurologic outcome, and neuronal damage following incomplete ischemia in rats. *Anesthesiology*. Vol 67: pp 245-252.
24. Mihic SJ. Sanna E. Whiting PJ. Harris (1995) RAPharmacology of recombinant GABAA receptors. *Adv Biochem Psychopharmacol*. Vol 48:pp17-40.
25. Glowaski & Wetmore. (1999) Propofol: application in veterinary sedation and anesthesia. *Clin Tech Small Anim Pract*. Vol 14 No 1: 1-9.
26. Sneyd J.R. (1992). Excitatory events associated with propofol anesthesia- a review. *J. Royal Soc. Med*. Vol 85: pp 288-291.
27. MacKenzie & coll. (1990). Propofol infusion for control of status epilepticus. *Anaesthesia*. Vol 45 No12: pp 1043 –1045.
28. Yanny H.F. & ChristmasD. (1988). Propofol infusions for status epilepticus. *Anaesthesia*. Vol 43 No 6: pp 514..
29. De Riu P.L. & coll. (1992). Propofol anticonvulsant activity in experimental epileptic status. *British Journal of anaesthesia*. Vol 69:pp 177-181.
30. Lepage JYM & coll. (1991). Left ventricular function during propofol and fentanyl anesthesia in patients with coronary artery disease: Assessment with a radionuclide approach. *Anesthesia and analgesia*. Vol 67: pp 949-955.
31. Claeys M.A. & coll. (1988). Hemodynamic changes during anesthesia induced and maintained with propofol. *British Journal of anaesthesia*. Vol 60: pp 3-9.
32. Boer F.& coll (1991). Effect of thiopentone, etomidate and propofol on systemic vascular resistance during cardiopulmonary bypass. *British Journal of anaesthesia*. Vol 67: pp 69-72.

33. Chang & coll. (1993). Propofol induces endothelium-dependant vasodilatation and may act as a Ca<sup>2+</sup> channel blocker. *Anesthesia and analgesia*. Vol 76: pp 24-32.
34. Laxenaire & coll. (1988). Anaphylactic shock due to propofol. *Lancet*. Vol 2 (8613): pp 739-40
35. Muir W.W.W. & coll (1998). Respiratory depression and apnea induced by propofol in dogs. *Am. J. Vet. Res.* Vol 59: pp 157-161.
36. Smith J.A. & coll. (1993). Adverse effects of administration of propofol with various preanesthetic regimens in dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* Vol 202: pp 1111-1115.
37. Keegan R.D. & Green S.A. (1993). Cardiovascular effects of a continuous two-hour propofol infusion in dogs. Comparison with isoflurane anesthesia. *Vet. Surg.* Vol. 22: pp 537- 543.
38. Zheng Da & coll. (1998). The influence of bolus injection rate of propofol on its cardiovascular effects and peak blood concentrations in sheep. *Anesthesia and Analgesia*. Vol 86: pp 1109- 1115.
39. Glen J.B. (1980). Animal studies of anaesthetic activity of ICI35868. *British Journal of anaesthesia*. Vol 52: pp 731-742.
40. Aart L. & coll. (1995).The widely used anesthetic agent propofol can replace alpha-tocopherol as an antioxydant. *FEBS Lett.* Vol 357:pp 83-85.
41. Green T.R. & coll. (1994). Specificity and properties of propofol as an antioxydant free radical scavenger. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* Vol 129:pp 163-169.
42. Musacchio E. & coll. (1991). Antioxydant action of propofol on liver microsomes, mitochondria and brain synaptosomes in the rat. *Pharmacol. Toxicol.* Vol 69: 75-77.
43. Ludbrook & coll. (1996). Cerebral effects of propofol following bolus administration in sheep. *Anaesth Intensive Care*. 1996 Feb;24(1):26-31.

44. Nolan A.M. & Reid J. (1993). Pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs undergoing surgery. *Br. J. Anaesth.* Vol 70: pp 546-551.
45. Haberer & coll, (1993) Effect of propofol and thiopentone on regional blood flow in brain and peripheral tissues during normoxia and hypoxia in the dog. *Clin Physiol.* Vol 13 No 2: pp 197-207.
46. Gisvold & coll. (1984) Thiopental treatment after global brain ischemia in pigtailed monkeys. *Anesthesiology.* Vol 60 No 2: pp 88-96.
47. Goodchild CS, Serrao JM (1989) Cardiovascular effects of propofol in the anaesthetized dog. *Br J Anaesth.* Vol 63 No1: pp 87-92.
48. Glass P.S., Markham K., Ginberg B. & coll. (1988) Propofol concentration required for surgery. *Anesthesiology.* Vol 71 : pp A273.
49. Cockshott & coll.(1992). The pharmacokinetics of propofol in laboratory animals. *Xenobiotica.* Vol 22 No3: pp 369-75.
50. Hall LW, Lagerweij E, Nolan AM, Sear JW (1994) Effect of medetomidine on the pharmacokinetics of propofol in dogs. *Am J Vet Res.* Vol 55 No1: pp 116-20.
51. Nolan AM, Reid J, Grant S (1993) The effects of halothane and nitrous oxide on the pharmacokinetics of propofol in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* Vol 16 No3: pp 335-42.
52. Reid & Nolan. (1993) Pharmacokinetics of propofol in dogs premedicated with acepromazine and maintained with halothane and nitrous oxide. *J Vet Pharmacol Ther.* Vol 16 No4: pp 501-505.
53. Zoran DL, Riedesel DH, Dyer DC (1993) Pharmacokinetics of propofol in mixed-breed dogs and greyhounds. *Am J Vet Res.* Vol 54 No 5: pp 755-760.
54. Morgan DW, Legge K (1989) Clinical evaluation of propofol as an intravenous anaesthetic agent in cats and dogs. *Vet Rec.* Vol 124 No 2: pp 31-33.
55. Geel JK (1991) The effect of premedication on the induction dose of propofol in dogs and cats. *J S Afr Vet Assoc.* Vol 62 No 3: pp 118-123.

56. Langley MS, Heel RC (1988) Propofol. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and use as an intravenous anaesthetic. *Drugs*. Vol 35 No 4: pp 334-372.
57. Short CE, Bufalari A (1999) Propofol anesthesia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. Vol 29 No 3: pp 747-778.
58. Adam HK, Briggs LP, Bahar M, Douglas EJ, Dundee JW (1983) Pharmacokinetic evaluation of ICI 35 868 in man. Single induction doses with different rates of injection. *Br J Anaesth*. Vol 55 No 2: pp 97-103.
59. Garrido MJ, Jimenez RM, Rodriguez-Sasiain JM, Aguirre C, Aguilera L, Calvo R (1994) Characterization of propofol binding to plasma proteins and possible interactions. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. Vol 41 No 6: pp 308-312. (abstract).
60. Zamacona MK, Suarez E, Garcia E, Aguirre C, Calvo R (1998) The significance of lipoproteins in serum binding variations of propofol. *Anesth Analg*. Vol 87 No 5: pp 1147-1151.
61. Mazoit JX, Samii K (2000) Binding of propofol to blood components: implications for pharmacokinetics and for pharmacodynamics. *Br J Clin Pharmacol*. Vol 47 No 1: pp 35-42.
62. Riu PL, Riu G, Testa C, Mulas M, Caria MA, Mameli S, Mameli O (2000) Disposition of propofol between red blood cells, plasma, brain and cerebrospinal fluid in rabbits. *Eur J Anaesthesiol*. Vol 17 No 1: pp 18-22.
63. Simons PJ, Cockshott ID, Douglas EJ, Gordon EA, Knott S, Ruane RJ (1991) Species differences in blood profiles, metabolism and excretion of <sup>14</sup>C-propofol after intravenous dosing to rat, dog and rabbit. *Xenobiotica*. Vol 21 No 10: pp 1243-1256.
64. Simons PJ, Cockshott ID, Douglas EJ, Gordon EA, Hopkins K, Rowland M (1988); Disposition in male volunteers of a subanaesthetic intravenous dose of an oil in water emulsion of <sup>14</sup>C-propofol. *Xenobiotica*. Vol 18 No 4: pp 429-440.

65. Sneyd JR, Simons PJ, Wright B (1994) Use of proton nmr spectroscopy to measure propofol metabolites in the urine of the female Caucasian patient. *Xenobiotica*. Vol 24 No 10: pp 1021-1028.
66. Guitton J, Buronfosse T, Desage M, Flinois JP, Perdrix JP, Brazier JL, Beaune P. (1998) Possible involvement of multiple human cytochrome P450 isoforms in the liver metabolism of propofol. *Br J Anaesth*. Vol 80 No 6: pp 788-795.
67. Hay Kraus BL, Greenblatt DJ, Venkatakrisnan K, Court MH (2000) Evidence for propofol hydroxylation by cytochrome P4502B11 in canine liver microsomes: breed and gender differences. *Xenobiotica*. Vol 30 No 6: pp 575-588.
68. Lange H, Stephan H, Rieke H, Kellermann M, Sonntag H, Bircher J (1990) Hepatic and extrahepatic disposition of propofol in patients undergoing coronary bypass surgery. *Br J Anaesth*. Vol 64 No 5: pp 563-570.
69. Veroli P, O'Kelly B, Bertrand F, Trouvin JH, Farinotti R, Ecoffey C (1992) Extrahepatic metabolism of propofol in man during the anhepatic phase of orthotopic liver transplantation. *Br J Anaesth*. Vol 68 No 2: pp 183-186.
70. Gray PA, Park GR, Cockshott ID, Douglas EJ, Shuker B, Simons PJ (1992) Propofol metabolism in man during the anhepatic and reperfusion phases of liver transplantation. *Xenobiotica*. Vol 22 No 1: pp 105-114.
71. Raoof AA, van Obbergh LJ, de Ville de Goyet J, Verbeeck RK (1996) Extrahepatic glucuronidation of propofol in man: possible contribution of gut wall and kidney. *Eur J Clin Pharmacol*. Vol 50 No 1-2: pp 91-96.
72. Dawidowicz AL, Fornal E, Mardarowicz M, Fijalkowska A. The role of human lungs in the biotransformation of propofol. *Anesthesiology*. Vol 93 No 4: pp 992-997.
73. He YL, Ueyama H, Tashiro C, Mashimo T, Yoshiya I (2000) Pulmonary disposition of propofol in surgical patients. *Anesthesiology*. Vol 93 No 4: pp 986-991.

74. Le Guellec C, Lacarelle B, Villard PH, Point H, Catalin J, Durand A. (1995) Glucuronidation of propofol in microsomal fractions from various tissues and species including humans: effect of different drugs. *Anesth Analg*. Vol 81 No 4: pp 855-61.
75. Kanto J, Gepts E (1989) Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. *Clin Pharmacokinet*. Vol 17 No 5: pp 308-326.
76. Nolan A, Reid J (1993) Pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs undergoing surgery. *Br J Anaesth*. Vol 70 No 5: pp 546-51.
77. Brodie BB (1967) Physicochemical and biochemical aspects of pharmacology. *JAMA*. Vol 202 No 7: pp 600-609.
78. Morgan PP (1981) Clinical trials on trial: I. Must we always do a randomized trial? *Can Med Assoc J*. Vol 125 No 12: pp 1309-11.
79. Ducharme J, Varin F, Bevan DR, Donati F (1993) Importance of early blood sampling on vecuronium pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Clin Pharmacokinet*. Vol 24 No 6: pp 507-18.
80. Ludbrook GL, Upton RN, Grant C, Martinez A. A compartmental analysis of the pharmacokinetics of propofol in sheep. *J Pharmacokinet Biopharm*. Vol 27 No 3: pp 329-38.
81. Chiou WL (1979) Potential pitfalls in the conventional pharmacokinetic studies: effects of the initial mixing of drug in blood and the pulmonary first-pass elimination. *J Pharmacokinet Biopharm*. Vol 7 No 5: pp 527-36.
82. Major E, Aun C, Yate PM, Savege TM, Verniquet AJ, Adam H, Douglas EJ (1983) Influence of sample site on blood concentrations of ICI 35868. *Br J Anaesth*. Vol 55 No 5: pp 371-5.A
83. Sergenti & A. D'mello (1992), Chelation with ferric ions may prevent extraction of 2-hydroxydesipramine from the whole blood. *clinical chem*. Vol 38: pp 1195.

84. Fan SZ, Yu HY, Chen YL, Liu CC (1995) Propofol concentration monitoring in plasma or whole blood by gas chromatography and high-performance liquid chromatography. *Anesth Analg*. Vol 81 No 1: pp 175-8.
85. Farinoti R. & Dauphin A. Suivi thérapeutique : traitement préalable de l'échantillon biologique en vue d'une analyse par chromatographie en phase liquide. *J. Pharm. Clin*. Vol 1 No 3 : pp 257-286.
86. Adam HK, Douglas EJ, Plummer GF, Cosgrove MB (1981) Estimation of ICI 35,868 (Diprivan R) in blood by high-performance liquid chromatography, following coupling with Gibbs' reagent. *J Chromatogr*. Vol 223 no 1: pp 232-7.
87. Plummer GF (1987). Improved method for the determination of propofol in blood by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr*. Vol 421 Vol 1: pp 171-6.
88. Hsiu-Ying Yu & Jiun-Kai Liau. (1993). *J. Chromatography B (Biomedical applications)*. Vol 615: pp 77-88.
89. Elbast W, Guitton J, Desage M, Deruaz D, Manchon M, Brazier JL (1996). Comparison between gas chromatography-atomic emission detection and gas chromatography-mass spectrometry for the assay of propofol. *J Chromatogr B Biomed Appl*. Vol 686 No1: pp 97-102.
90. Vree TB, Baars AM, de Grood PM (1987). High-performance liquid chromatographic determination and preliminary pharmacokinetics of propofol and its metabolites in human plasma and urine. *J Chromatogr*. Vol 417 No 2: pp 458-64.
91. Pavan I, Buglione E, Massiccio M, Gregoretti C, Burbi L, Berardino M (1992) Monitoring propofol serum levels by rapid and sensitive reversed-phase high-performance liquid chromatography during prolonged sedation in ICU patients. *J Chromatogr Sci*. Vol 30 No 5: pp 164-6.
92. Vree TB, Lagerwerf AJ, Bleeker CP, de Grood PM (1999). Direct high-performance liquid chromatography determination of propofol and its metabolite quinol with their glucuronide conjugates and preliminary pharmacokinetics in

- plasma and urine of man. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* Vol 721 No 2: pp 217-28.
93. Pullen RH, Kennedy CM, Curtis MA (1988) Direct plasma injection using internal surface reversed-phase high-performance liquid chromatography: feasibility study using propofol as a model compound. *J Chromatogr.* Vol 434 No 1: pp 271-7.
  94. Mazzi G, Schinella M (1990) Simple and practical high-performance liquid chromatographic assay of propofol in human blood by phenyl column chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr.* Vol 528 No 2: pp 537-41.
  95. Altmeyer P. & Buch U. (1993). Rapid and sensitive pre-column extraction high-performance liquid chromatographic assay for propofol in biological fluids. analyse propofol. *J. chromatography B ( biomedical applications).* Vol 612: pp 326-330.
  96. el-Yazigi A, Hussein RF (1996). Microdetermination of propofol in plasma by a rapid and sensitive liquid chromatographic method. *J Pharm Biomed Anal.* Vol 15 No1: pp 99-104.
  97. de Silva JA (1985). Analytical strategies for therapeutic monitoring of drugs in biological fluids. *J Chromatogr.* Vol 340: pp 3-30.
  98. Christian G.D. (1986). Analytical Chemistry. John Wiley & son. Quatrième édition.
  99. Uebel RA, Wium CA, Hawtrey AO, Coetzee J (1990) Electrochemical determination of 2,6-diisopropylphenol after high-performance liquid chromatography of extracts from serum. *J Chromatogr.* Vol 526 No 1: pp 293-5.
  100. Terabe S. (1988), Separation of oxygen isotope benzoic acids by capillary zone electrophoresis based on isotope effects on the dissociation of the carboxyl group, *Analytical chemistry.* Vol 60 : pp 1673.
  101. Guzman N. A. & coll. (1992), assay of protéine drug substances present in solution mixtures by fluorescamine derivatization and capillary electrophoresis. *J. Chromatog.* Vol 598 : pp 123.

102. Parker CJ, Hunter JM Relationship of the train-of-four ratio to plasma atracurium concentration. *Br J Anaesth*. Vol 69 No 3: pp 274-80.
103. Knibbe CA, Koster VS, Deneer VH, Stuurman RM, Kuks PF, Lange R (1998). Determination of propofol in low-volume samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. Vol 706 No 2: pp 305-10.
104. JC Chaumel & D. Brossard (1993) stabilité des émulsions lipidiques utilisée en nutrition parentérale. *Nutr. Clin. Metabol*. Vol 7 : pp 54-64.
105. Chemin N, du Moulinet d'Hardemare A, Bouquillon S, Fagret D, Vidal M (1996). Synthesis and biological evaluation of new diisocyanide- and triisocyanide-99mTc complexes. *Appl Radiat Isot*. Vol 47 No 5-6: pp 479-87.
106. Bailey LC, Tang KT, Rogozinski BA (1991). Effect of syringe filter and i.v. administration set on delivery of propofol emulsion. *Am J Hosp Pharm*. Vol 48 No 12: pp 2627-30.
107. Hynynen M, Hammaren E, Rosenberg PH (1994). Propofol sequestration within the extracorporeal circuit. *Can J Anaesth*. Vol 41 No7: pp 583-8.
108. Dawidowicz AL, Fijalkowska A (1995). Determination of propofol in blood by HPLC. Comparison of the extraction and precipitation methods. *J Chromatogr Sci*. Vol 33 No7: pp 377-82.
109. Cooper J. R. (1974). *Réceptifs en matière plastique pour les préparations pharmaceutiques : essai et contrôle*. Genève : Organisation mondiale de la santé.
110. Walker MC, Howard RS, Smith SJ, Miller DH, Shorvon SD, Hirsch NP (1996). Diagnosis and treatment of status epilepticus on a neurological intensive care unit. *QJM*. Vol 89 No 12: pp 913-20.
111. Eichelbaum M, Evert B (1996). Influence of pharmacogenetics on drug disposition and response. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. Vol 23 No 10-11: pp 983-5.

112. Berde CB (1992) Convulsions associated with pediatric regional anesthesia. *Anesth Analg.* Vol 75 No 2: pp 164-6.
113. Rish SC & coll plasma levels of tricyclic antidepressants and clinical efficacy : review of the literature. Part II. *J. Clinical psychiatry* Vol 46 : pp 58-69.
114. Labaune J.P. ( 1988). *Pharmacocinétique: principes fondamentaux*. Deuxième édition. Masson.
115. Kearns GL, Reed MD (1989) . Clinical pharmacokinetics in infants and children. A reappraisal. *Clin Pharmacokinet.* Vol 17 Suppl 1: pp 29-67.
116. Chassard D. & coll. Influence of body compartments on propofol induction dose in female patients. *Acta Anaesthesiol. Scand.* Vol 40: pp 889-891.
117. Hirota K & coll. (1999) Is total body weight an appropriate predictor for propofol maintenance dose? *Acta anaesthesiolog. Scand.* Vol 43 : pp 842-844;
118. Smith DA. (1997) Pharmacokinetics and pharmacodynamics in toxicology. *Xenobiotica* Vol 27 No 5: pp 513-25.
119. Boxenbaum H. (1980). Interspecies variation in liver weight , hepatic blood flow , and antipyrine clearance : extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *Journal of pharmacokinetics and biopharmaceutics* . Vol 8: pp 165-76.
120. Gepts E, Cokshott ID, Douglas EJ, Disposition of propofol administered as constant rate intravenous infusions in human. *Anest. Analg.* Vol 66 : pp 1256-63.
121. Pelkonen O & Karki NT. (1973) Drug metabolism in human fetal tissues. *Life science* Vol 13: pp 1163-80.
122. Anderson et coll. (1997) Size, myths and the clinical pk of analgesia in paediatric patients. *Clinical pharmacokinetics* Vol 33 No5 : pp 313-327.
123. Labaune, J.P. (1989). *Handbook of pharmacokinetics : toxicity assessment of chemicals*. Chichester:New York; Toronto: E. Horwood ; Halsted Press, 1989.  
Vaissaire J.P. & Février A. Le chien, animal de laboratoire édition Vigot, Paris.

124. Murat I & coll. Pharmacokinetics of propofol after single dose in children aged 1-3 years with minor burns . *Anesthesiology* . Vol 84: pp 526-32;
125. Saint Maurice C, Cocshott ID & coll. Pharmacokinetics of propofol in young children after a single dose . *Br. J. Anaesth.* Vol 63 : pp 667-70
126. Flaggella AM & Aronsohn MG. Evaluation of anaesthesia protocols for neutering 6- to 14- week- old pups. *JAVMA*. Vol 205 :pp 308-314.
127. Sherlock R. (1979). Selective non-treatment of newborns. *J Med Ethics*. Vol 5 No 3: pp 139-42.
128. Sear JW & coll. (1994). Continuous infusions administered to dogs : effects of ICG and propofol disposition. *Br J. anaesth.* Vol 72 : pp 451-5.
129. Coetzee A, Fourie P, Coetzee J, Badenhorst E, Rebel A, Bolliger C, Uebel R, Wium C, Lombard C (1989). Effect of various propofol plasma concentrations on regional myocardial contractility and left ventricular afterload. *Anesth Analg*. Vol 69 No 4: pp 473-83.
130. Vuyk J. (1997). Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between opioids and propofol. *J Clin Anesth*. Vol 9 Suppl 6 : pp 23S-26S.
131. Schnider TW & coll.(1998). The influence of method of administration and covariates on the pharmacokinetics of propofol in adult volunteers. *Anesthesiology* . Vol 88: pp 1170-82.
132. Clayson, B.B., Krewski, D., Munro, I. *Toxicological risk assessment: Vol 1*. Boca Raton, Fla: CRC Press, 1985.
133. Garten S & Wolisait W.D. (1971). Comparative study of binding of coumarin anticoagulants and seven albumins. *Biochem. Pharm*, Vol 20 :pp 1661- 1668.
134. Ruckebusch, Y. *Physiologie, Pharmacologie thérapeutique animale*, Maloine. S. A. , Paris, 1977.
135. Oser, B.L., (1981). The rat as a model for human toxicological evaluation. *J. Toxicol. Environ. Hlth*. Vol 8: pp 521.

136. Evans W.E.(1992). *Applied pharmacokinetics : principles of therapeutic drug monitoring* . Wash, Vancouver,; Applied Therapeutics, troisième édition.
137. Ecobichon DJ (1973). Characterization of canine hepatic and renal esterases. *Can J Biochem.* 1973 May;51(5):506-13.
138. K.A. Mealley & N.S. Matthews; *veterinary clinics of north america : small animal practice; drug interactions during anesthesia*, vol 28 no3 : 629-643.
139. Routledge PA & coll, sex related differences in the plasma protein binding of lignocaine and diazepam. *Br J clin pharmacol* 1981;11; 245-250)
140. Goodman, L.S & Gilman, A. *The pharmacological basis of therapeutics*. Neuvième édition. New York: Montreal: McGraw-Hill, Health professions division, 1996.
141. Forbes GB, Reina JC (1970). Adult lean body mass declines with age: some longitudinal observations. *Metabolism*. Vol 19 No 9: pp 653-63.
142. Reid J, Nolan AM. Pharmacokinetics of propofol as an induction agent in geriatric dogs. *Res. Vet. Sci.* Vol 61 : pp 169-171.
143. J. W Finkelstein the effect of developmental changes in adolescence on drug disposition. *J adolescent health*. Vol 15 : pp 612-618.
144. Kay NH & coll. Disposition of propofol in patients undergoing surgery (1986). *Br J. Anaesth*. Vol 58: pp 1075-1079.
145. Morgan & Legge. (1989). Clinical evaluation of propofol as an intravenous anesthetic agent in cat and dogs. *Vet. Rec.* Vol 124 : pp 31-33.
146. Watkins SB. & coll. (1987) Propofol as an intravenous anesthetic agent in dogs. *Am. J. Vet. Rec.* Vol 120 : pp 326-329.
147. Tong J. Gan & coll. (1999) Women emergence from general anesthesia with propofol/ alfentanil/Nitrous Oxide faster than men. *Anesthesiology*. Vol 90 : pp 1283-1287.

148. Liu Y & coll. (1995) Behavioral effect and pharmacokinetics of propofol in rats selected for differential ethanol sensitivity. *Alcohol clin. Exp. Res.* Vol 19 No 4: pp 874- 8.
149. Caldwell J (1982). Conjugation reactions in foreign-compound metabolism: definition, consequences, and species variations. *Drug Metab Rev.* Vol 13 No 5: pp 745-77.
150. Gibson, G.G. Skett, P. *Introduction to drug metabolism.* London; New York: Blackie Academic & professional, 1994.( introduction to drug metabolism p 66-67) .
151. Sharer JE, Shipley LA, Vandenbranden MR, Binkley SN, Wrighton SA. (1995). Comparisons of phase I and phase II in vitro hepatic enzyme activities of human, dog, rhesus monkey, and cynomolgus monkey. *Drug Metab Dispos.* Vol 23 No 11: pp 1231-41.
152. Chauret N, Gauthier A, Martin J, Nicoll-Griffith DA (1997). In vitro comparison of cytochrome P450-mediated metabolic activities in human, dog, cat, and horse. *Drug Metab Dispos.* Vol 25 No 10: pp 1130-6.
153. Pearce R, Greenway D, Parkinson A (1992). Species differences and interindividual variation in liver microsomal cytochrome P450 2A enzymes: effects on coumarin, dicumarol, and testosterone oxidation. *Arch Biochem Biophys.* Vol 298 No 1: pp 211-25.
154. Yasumori T, Chen L, Nagata K, Yamazoe Y, Kato R. (1993). Species differences in stereoselective metabolism of mephénytoin by cytochrome P450 (CYP2C and CYP3A). *J Pharmacol Exp Ther.* Vol 264 No 1: pp 89-94.
155. Nebert DW, Ingelman-Sundberg M, Daly AK (1999). Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues. *Drug Metab Rev.* Vol 31No 2: pp 467-87.
156. Saskia N de Wildt & coll (1999). Glucuronidation in humans. *Clinical pharmacokinetics.* Vol 36 No 6 : pp 439-452.

157. Sneyd I.R, Simon PJ, Wright B, (1994) Use of proton nmr spectroscopy to measure propofol metabolites in urine of the female caucasian patient. *Xenobiotica*. Vol.24, No.10: pp 1021-1028.
158. Court M.H, Hay-Kraus B.L., Hill D.W. Kind A.J, Greenblatt D.J. (1999) Propofol hydroxylation by dog liver microsomes: assay development and dog breed differences. *Drug Metabolism Dispos*. Vol 27 No 11:1293-9
159. Zoran D.L. Riedesel D.H, Dyer D.C. (1993). Pharmacokinetics of propofol in mixed-breed dogs and greyhounds. *Am. J. Vet. Res*. Vol 54 No 5: 755-60.
160. Morselli PL, Franco-Morselli R, Bossi L. (1980) Clinical pharmacokinetics in newborns and infants. Age-related differences and therapeutic implications. *Clin Pharmacokinet*. Vol 5 No 6: pp 485-527.
161. Bianchetti G, Monin P, Marchal F, Dubruc C, Boutroy MJ, Morselli PL, Vert P. (1980) Pharmacokinetics of indomethacin in the premature infant. *Dev Pharmacol Ther*. Vol 1 No 2-3: pp 111-24.
162. Tanaka E. ( 1998) In vivo age related changes in hepatic drug-oxidising capacity in human. *J Clinical pharmacy and therapeutics* Vol 23 : pp 247- 255
163. Peters E.L., Farber T.M., Heider A. & coll. The development of drug-metabolising enzymes in the young dog. *Fed. Proc.* Vol 30: pp 560.
164. Alt-Graham J. & Pegg M.S. (1983) Potency changes of intravenous induction agents in the first ten week of life: an experience using beagle dogs. *Vet. Res. Commun*. Vol 7: pp 353-357.
165. Kawalek JC, el Said KR (1990) Maturation development of drug-metabolizing enzymes in dogs. *Am J Vet Res*. 1990 Nov;51(11):1742-5.
166. Jacob ST, Scharf MB, Vessel ES. (1974). Role of RNA in induction of hepatic microsomal mixed function oxidases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Vol 71 No 3: pp 704-707.
167. Alberola J, Perez Y, Puigdemont A, Arboix M. (1993). Effect of age on theophylline pharmacokinetics in dogs. *Am J Vet Res*. Vol 54 No 7: pp 1112-5.

168. Namkung MJ, Zachariah PK, Juchau MR. (1977) O-sulfonation of N-hydroxy-2-fluorenylacetamide and 7-hydroxy-N-2-fluorenylacetamide in fetal and placental tissues of humans and guinea pigs. *Drug Metab Dispos.* Vol 5 No 3: pp 288-94.
169. Sutherland & coll. (1992). Characterisation of a human bilirubin UDP-glucuronosyltransferase stably expressed in hamster lung fibroblast cell cultures. *FEBS Lett.* Vol 308 No 2: pp 161-164 ;
170. Burchell B & coll. (1997). Genetic and environmental factors associated with variation of human xenobiotic glucuronidation and sulfatation. *Environ health perspective* . Vol 105 suppl. 4 : 739- 47.
171. Ecobichon DJ. & coll. (1988) Drug disposition and biotransformation in the developing beagle dog; *fundamental and applied toxicology.* Vol 11 : pp 29-37.
172. Harris & coll. (1994) Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs* (1995); 50(2):222-239.
173. Hunt CM et coll. (1992) Effect of age and gender on the activity of human hepatic CYP3A. *Biochem. Pharmacol.* Vol 44 : pp 275-83.
174. Sonderfan AJ & Parkinson (1988). Species differences in the hydroxylation of testosterone by liver microsomes. *Toxicology* Vol 8: pp 226.
175. Cockshott ID & coll. Pharmacokinetics of propofol in female patients. *Br. J. Anaesth.* 1987; 59:1103-1110.
176. Dawkins K & coll. (1991) Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychotropics : a focus on women. *psychopharmacol. Bull.* Vol 27: pp 417-26.
177. Chouinard G & coll. (1986). A controlled clinical trial of fluspirilene, a long acting injectable neuroleptic, in schizophrenic patients with acute exacerbation. *J. clin. Psychopharmacol* Vol 6 : pp 21-26.
178. Zacny JP & coll. (1996) Subjective and psychomotor effects of subanesthetic doses of propofol in healthy volunteers. *Anesthesiology.* Vol 76 : pp 696-702.

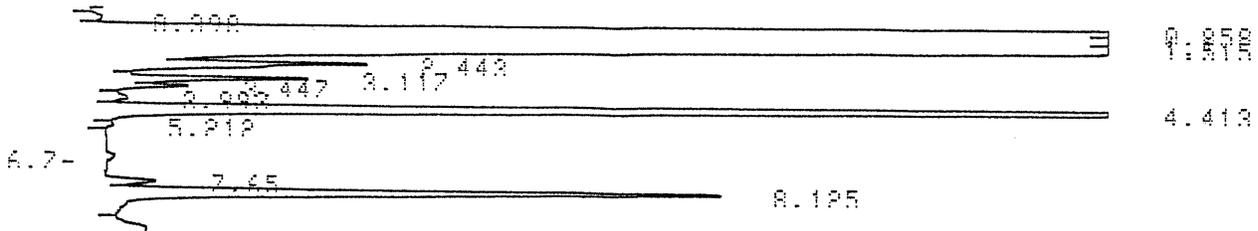
179. Geel JK. & coll. (1991) The effect of premedication on induction dose of propofol in dogs and cats. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* Vol 62: pp 118-123.
180. Hall & coll. (1994). Effect of metedomidine on the pharmacokinetics of propofol in dogs. *Am. J. Vet. Res.* Vol 55: pp 116-120.
181. Simpson V.J. & coll. (1998) Identification of a genetic region in mice that specifies sensitivity to propofol. *Anesthesiology*. Vol 88: pp 379-89.
182. Leblanc P.P. & coll. *Traité de biopharmacie et pharmacocinétique*. Éditions Vigot. Troisième édition.
183. Mandsager RE, Clarke CR, Shawley RV, Hague CM. (1995). Effects of chloramphenicol on infusion pharmacokinetics of propofol in greyhounds. *Am J Vet Res*. Vol 56 No 1: pp 95-99.
184. Kanto J, Gepts E (1989). Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. *Clin Pharmacokinet*. Vol 17 No 5: pp 308-26.
185. Kazama T. & coll. (1998). Awakening propofol concentrations with and without blood-effect site equilibration after short-term and long-term administration of propofol and fentanyl anesthesia. *Anesthesiology*. Vol 88: pp 928-34.
186. Cockshott ID, Briggs LP, Douglas EJ, White M, (1987). Pharmacokinetics of propofol in female patients. Studies using single bolus injections. *Br J Anaesth*. Vol 59 No 9: pp 1103-10.
187. Adam HK, Kay B, Douglas EJ (1982). Blood disopropofol levels in anesthetised patients. Correlation of concentrations after single or repeated doses with hypnotic activity. *Anaesthesia*. Vol 37 No 5: pp 536-40.
188. Adam HK, Briggs LP, Bahar M, Douglas EJ, Dundee JW (1983). Pharmacokinetic evaluation of ICI 35 868 in man. Single induction doses with different rates of injection. *Br J Anaesth*. Vol 55 No 2: pp 97-103.
189. Gepts E, Camu F, Cockshott ID, Douglas EJ (1987). Disposition of propofol administered as constant rate intravenous infusions in humans. *Anesth Analg*. Vol 66 No 12: pp 1256-63.

190. Morgan DW, Legge K. (1989). Clinical evaluation of propofol as an intravenous anaesthetic agent in cats and dogs. *Vet Rec.* Vol 124 No 2: pp 31-3.
191. Wheaver BMQ, Raptopoulos D. Induction of anaesthesia in dog and cat with propofol. *Vet Rec.* Vol 126 : p 617-620.
192. Short TG, Plummer JL, Chui PT. (1992). Hypnotic and anaesthetic interactions between midazolam, propofol and alfentanil. *Br J Anaesth.* Vol 69 No 2: pp 162-7.
193. Vandermeersch E, Van Hemelrijck J, Byttebier G, Van Aken H (1989). Pharmacokinetics of propofol during continuous infusion for pediatric anesthesia. *Acta Anaesthesiol Belg.* Vol 40 No 3: pp 161-5.
194. Larsson JE, Wahlstrom G (1998). The influence of age and administration rate on the brain sensitivity to propofol in rats. *Acta Anaesthesiol Scand.* Vol 42 No 8: pp 987-94.
195. Stokes DN, Hutton P (1991). Rate-dependent induction phenomena with propofol: implications for the relative potency of intravenous anesthetics. *Anesth Analg.* Vol 72 No 5: pp 578-83.
196. Larsson JE, Wahlstrom G (1994). Optimum rate of administration of propofol for induction of anaesthesia in rats. *Br J Anaesth.* Vol 73 No 5:pp 692-4.
197. B. Friis-Hansen, Body composition during growth. In vivo measurements and biochemical data correlated to differential anatomical growth. *Pediatrics* . Vol 47: pp 264- 274.
198. Gillis JC, Benfield P, Goa KL (1995). Transnasal butorphanol. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in acute pain management. *Drugs.* Vol 50 No 1:pp 157-75.
199. Gaver R.C. & coll. (1979). Disposition of parenteral butorphanol in manDrug metabolism and disposition. Vol 8 No 4: pp230-235.
200. Cook CD, Barrett AC, Roach EL, Bowman JR, Picker MJ (2000). Sex-related differences in the antinociceptive effects of opioids: importance of rat genotype,

nociceptive stimulus intensity, and efficacy at the mu opioid receptor. *Psychopharmacology*. Vol 150 No 4: pp 430-42.

201. Kest B, Sarton E, Dahan A (2000). Gender differences in opioid-mediated analgesia: animal and human studies. *Anesthesiology*. Vol 93 No 2: pp 539-47.
202. Vuyk J., Engbers F.H.M, Lemmens H.J.M., Burm A.G.L., Vletter A.A., Gladine M.P.R.R., Bovill J.G. (1992) Pharmacodynamics of propofol in female patients. *Anesthesiology*. Vol 77: pp 3-9.
203. Lambert GH, Scoeller DA, Katabe AN, Flores C, Hay D. (1986) The effect of age, gender, and sexual maturation on the caffeine breath test. *Dev Pharmacol Ther*. Vol 9 No 6: pp 375-88.
204. Greenblatt DJ, Allen MD, harmatz JS & coll. (1980). Diazepam disposition determinants. *Clin. Pharmacol. Ther*. Vol 27: pp 301-12.
205. Amacher DE, Smith DJ. (1987) Differences in the constitutive forms of hepatic cytochrome P-450 in male and female adult beagle dogs. *J Chromatogr*. Vol 7 No419: pp 61-73.

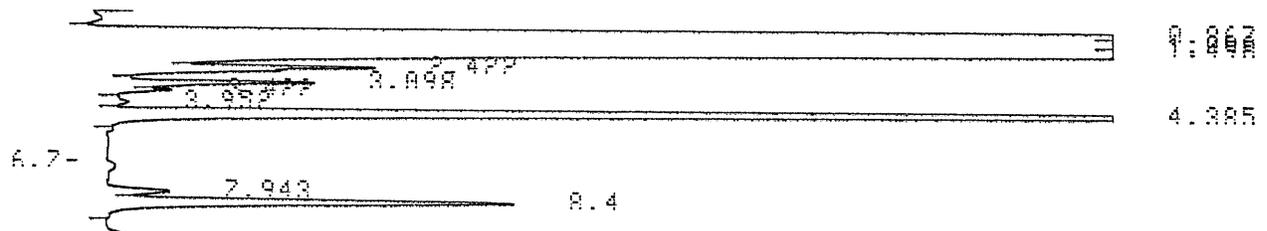
**ANNEXE I: EXEMPLE DE CHROMATOGRAMME**



13

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
9	4.413	4794739 389812hi	V	1		STD
11	7.65	77338 5660hi		2	0.0164	PROP
12	8.125	1318630 76466hi	V	2	0.2791	PROP
TOTAL		6120699			0.2955	

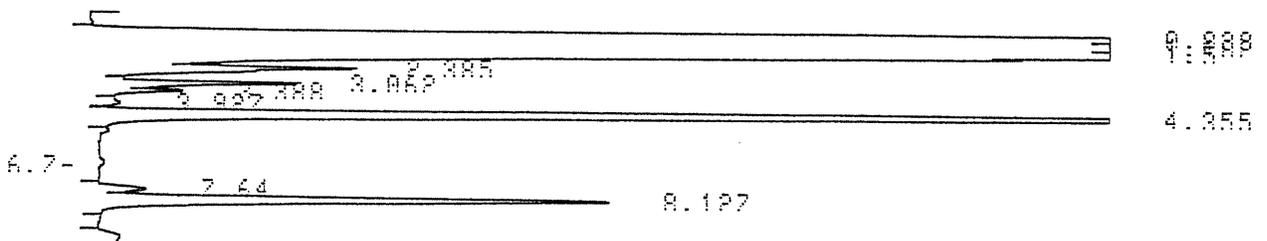
START



14

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
8	4.385	4982316 406906hi	V	1		STD
9	7.943	333653 8302hi	V	2	0.067	PROP
10	8.4	893157 51332hi	V	2	0.1793	PROP
TOTAL		6209126			0.2462	

START



15

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
8	4.355	4681709 386171hi	V	1		STD
9	7.64	92351 5849hi		2	0.0197	PROP
10	8.127	1112493 63777hi	V	2	0.2376	PROP
TOTAL		5886553			0.2574	