



HAL
open science

Etude de la répartition du disopyramide entre globules rouges et plasma : application à l'homme

Agnès Maire

► **To cite this version:**

Agnès Maire. Etude de la répartition du disopyramide entre globules rouges et plasma : application à l'homme. Médecine humaine et pathologie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1994. Français. NNT : 1994NAN10446 . tel-01747141

HAL Id: tel-01747141

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747141>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

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

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

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

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

DB 4418

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY I

1994

ECOLE DOCTORALE "BIOLIGIE ET SANTE"

THESE

Présentée et soutenue publiquement

le 09 novembre 1994

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE NANCY I

Mention Pharmacologie



par

Agnès MAIRE

Titulaire du Diplôme d'études approfondies

**ETUDE DE LA REPARTITION DU DISOPYRAMIDE ENTRE
GLOBULES ROUGES ET PLASMA :
APPLICATION A L'HOMME**

MEMBRES DU JURY

<u>Président</u>	Monsieur le Professeur R.J. ROYER	NANCY
<u>Membres du Jury</u>	Monsieur le Professeur J.P. TILLEMENT	PARIS
	Monsieur le Professeur A. ESCOUSSE	DIJON
	Madame M.J. ROYER MORROT	NANCY

V



104 027758 7

**FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES DE NANCY I**

Année universitaire 1993/1994

Membres du personnel enseignant

DOYEN.....C. VIGNERON

VICE DOYEN

G. CATAU

PROFESSEURS HONORAIRES

M.	BERNASOSE André	M.	MIRJOLET Marcel
Mle	BESSON Suzanne	M.	PIERFITTE Maurice
Mle	GIRARD Thérèse	M.	RICHARD Georges
M.	MEUNIER André	M.	SOLEIL Jean

MAITRE DE CONFERENCES HONORAIRE

Mme BALDO Suzanne

PROFESSEURS

M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacodynamie
M.	BAGREL Alain	Biochimie fondamentale et clinique, biotechnologies
Mle	BATT Anne Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean Claude	Santé et Environnement
M.	BONALY Roger	Biochimie microbienne
Mme	FINANCE Chantal	Microbiologie moléculaire
Mle	GALTEAU Marie Madeleine	Biochimie
M.	HOFFMAN Maurice	Pharmacie Clinique
M.	JACQUE Michel	Pharmacodynamie
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie
M.	LALLOZ Lucien	Chimie Organique
M.	LECTARD Pierre	Biologie végétale et Cryptogamie
M.	LEMAY René	Droit et économie pharmaceutique
M.	LOPPINET Vincent	Chimie thérapeutique
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MARTIN Jean Armand	Chimie minérale et Minéralogie
M.	MORTIER François	Pharmacognosie

M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique et Bromatologie
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie - Parasitologie
M.	SCHWARTZBROD Louis	Virologie - Immunologie
M.	SIEST Gérard	Chimie biologique
M.	VIGNERON Claude	Hématologie

PROFESSEURS ASSOCIES OU INVITES

M.	BODMEIER Roland
M.	ICHINO Kazuhiko
M.	LANDURON Pierre
Mme	STREIBLOVA Eva

MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ALBERT Monique	Bactériologie - Virologie
M.	BAUDOT Philippe	Toxicologie
Mme	BENOIT Emmanuelle	Chimie analytique
M.	BONNEAUX François	Chimie thérapeutique
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON Christine	Pharmacodynamie
M.	CATAU Gérard	Pharmacodynamie
M.	CHEVIN Jean Claude	Chimie minérale
Mme	COLLOMB Jocelyne	Parasitologie
M.	COULON Joël	Biochimie
M.	DECOLIN Dominique	Pharmacodynamie
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Biophysique et Mathématiques
Mme	FUZELIER Marie Claude	Pharmacognosie
M.	GHERMANI Nour-Eddine	Biophysique - Biomathématiques
Mle	HINZELIN Françoise	Biologie Végétale et Pharmacognosie
Mme	HOFFMAN Marie Antoinette	Pharmacie clinique
M.	HUMBERT Thierry	Interactions moléculaires
Mle	IMBS Marie Andrée	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
Mme	KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie galénique
Mle	LARTAUD Isabelle	Pharmacologie
Mme	LEININGER MULLER Brigitte	Biochimie
M.	LEROY Pierre	Chimie analytique
Mme	LETOT Michèle	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
Mme	LIVERTOUX Marie Hélène	Toxicologie
Mme	MARCHAND-ARVIER Monique	Immunologie - Hématologie
M.	MENU Patrick	Physiologie
M.	MIGNOT Bernard	Physique
M.	MONAL Jean Louis	Chimie thérapeutique
M.	NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme	PAULUS Francine	Informatique
Mme	PERDIAKIS Christine	Chimie organique
Mme	PICHON Virginie	Biophysique et Mathématiques
Mme	POCHON Marie France	Chimie analytique
Mme	ROVEL Anne	Immunologie - Hématologie
M.	VISVIKIS Athanase	Toxicologie
Mme	WELLMAN-ROUSSEAU Maria Monika	Biochimie

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES OU INVITES

M.	BOIS Yves
Mme	ARNAUD Françoise

PROFESSEUR AGREGE

M.	COCHAUD Christophe	Anglais
----	--------------------	---------

ASSISTANTS

Mme	BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
M.	DANGIEN Bernard	Botanique
Mme	MOREAU Blandine	Pharmacognosie
Mme	MOUREY Michèle	Cryptogamie
Mme	PAVIS Annie	Parasitologie
M.	TROCKLE Gabriel	Pharmacodynamie
Mme	ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mle	BOUHMAIDA Nouzha	Biophysique et Mathématiques : Physique
Mle	FAIVRE Béatrice	Hématologie et Biologie cellulaire
M.	FERRARI Luc	Biochimie
M.	THERY Vincent	Mathématiques et informatique pharmaceutique
Mle	UBRICH Nathalie	Biophysique et Mathématiques : Informatique
M.	VIARD Benoît	Biochimie

MONITEURS D'INITIATION A L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

Mle	EVRARD Anne	Biochimie clinique
M.	HELDER Rémi	Physiologie - Hématologie
Mle	LEONARD Isabelle	Chimie analytique
Mle	MAGDALINIUK Sandrine	Biologie cellulaire
Mle	MAURICE Marie Hélène	Toxicologie

DOCTEURS HONORIS CAUSA

M.	ANDERSON Norman G.	Illinois - USA
M.	BETTOLO Marini	Rome - ITALIE
M.	BLOCH Konrad E.	Massachussets - USA
M.	BOVET Daniel	Rome - ITALIE
M.	DUTTON Geoffrey J.	Dundee - ECOSSE
M.	GHUYSEN Jean Marie	Liège - BELGIQUE
M.	HEIDELBERGER	New Jersey - USA
M.	BOVET Daniel	Rome - ITALIE
M.	KOFOLD Helmer	Copenhague - DANEMARK
M.	PARRES FARRAS Ramon	Barcelone - ESPAGNE

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M.	AZRIA	Pharmacologie
M.	BARADEL	Conseils vétérinaires
Mme	BLOCH	Gynécologie
M.	CAMUZEAX	Hospitalisation à domicile
M.	CHARPIGNON	Gestion, commercialisation
M.	DANOUX	Comptabilité
M.	DEMANGE	Pharmacie clinique
M.	DOUCHE	Service de la distribution pharmaceutique
Mme	EVRARD	Service de la distribution pharmaceutique
M.	FRANCAIS	Service de la distribution pharmaceutique
M.	GABLE	Maintien à domicile
M.	GIESENFELD	Pharmacie clinique

Mme	GILGENKRANTZ	Génétique
M.	HACHET	Services de la distribution pharmaceutique
M.	JACQUOT	Assurance - qualité
M.	JOUAULT	Services de la distribution pharmaceutique
Mme	LABAEYE	Audiologie
M.	LAMOTTE	Physique (acoustique)
M.	LE FLOCH	Gestion, Droit du travail, Droit commercial
M.	LEVIN	Services de la distribution pharmaceutique
M.	LOUIS	Séméiologie
M.	MANGIN	Pharmacie clinique
M.	MAUARY	Séméiologie
M.	MAY	Maladies infectieuses
M.	NICOLAY	Anatomie
M.	PARDON	Services de la distribution pharmaceutique
M.	PICAUT	Pharmacie clinique
M.	RENAUX	Secourisme
M.	RETOURNARD	Electronique
M.	ROLLET	Secourisme
M.	ROUYER	Législation, Podologie, Orthopédie
M.	SIMON	Audiologie
M.	TRECHOT	Pharmacovigilance - Effets indésirables des médicaments
M.	TURKAWKA	Relations humaines, techniques de la communication
Mle	WOLF	Services de la distribution pharmaceutique

J'exprime ma plus vive reconnaissance

A Monsieur le Professeur ROYER, initiateur de ce travail, pour m'avoir permis de réaliser cette recherche, pour l'aide et les conseils très appréciés dont il m'a fait bénéficier, pour l'honneur qu'il m'a fait de présider le jury d'examen de cette thèse,

A Monsieur le Professeur TILLEMENT et Monsieur le Professeur ESCOUSSE, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail,

A Madame ROYER MORROT, pour les conseils précieux dont elle m'a fait bénéficier, et pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de juger ce travail,

A tous le personnel du laboratoire de Pharmacologie.

A mon époux et à mes parents qui m'ont encouragé et soutenu durant
cette thèse

A ma fille, Apolline

A tous ceux qui me sont chers

Avec toute mon affection et
ma sincère gratitude



TABLE DES MATIERES



GLOSSAIRE	2
INTRODUCTION	5
I ère partie : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	10
I.1.MECANISMES DE PASSAGE GLOBULAIRE DES MÉDICAMENTS	11
I.1.1. <u>Diffusion passive</u>	11
I.1.2. <u>Passage de certains ions par l'intermédiaire des ionophores</u>	12
I.1.3. <u>Diffusion facilitée</u>	13
I.1.4. <u>Filtration</u>	13
I.1.5. <u>Transport actif</u>	13
I.2.FACTEURS INFLUENCANT LE PASSAGE GLOBULAIRE DES MEDICAMENTS	14
I.2.1. <u>Dissociation ionique</u>	14
I.2.2. <u>Liposolubilité</u>	15
I.2.3. <u>Liaison aux protéines plasmatiques</u>	17
I.2.4. <u>Autres facteurs</u>	21
I.3.COMPORTEMENTS DES MEDICAMENTS A L'INTERIEUR DU GLOBULE ROUGE	21
I.4.CONSEQUENCES PHARMACOCINETIQUES	23
I.5.METHODES D'ETUDE IN VITRO DU PASSAGE GLOBULAIRE DES MÉDICAMENTS	25
I.5.1. <u>Dialyse à l'équilibre</u>	25
5.1.1. <u>Principe</u>	26
5.1.2. <u>Analyse des résultats</u>	26
5.1.3. <u>Limites</u>	28
I.5.2. <u>Méthode d'incubation</u>	28
5.2.1. <u>Principe</u>	28
5.2.2. <u>Analyse des résultats</u>	28

II ème partie : LE DISOPYRAMIDE	33
II.1.JUSTIFICATION DU CHOIX DU PRODUIT	34
II.2.FORMULES ET PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES	34
a- Absorption ultraviolette	36
b- Fluorescence	36
II.3.PHARMACOLOGIE	36
II.3.1. <u>Mode d'action</u>	36
II.3.2. <u>Propriétés pharmacocinétiques</u>	38
II.3.3. <u>Distribution du disopyramide dans les globule rouges</u>	42
II.4.MATERIELS ET METHODES	42
II.4.1. <u>Dosage du disopyramide en phase liquide</u>	42
4.1.1. <u>Introduction</u>	42
4.1.2. <u>Méthodologie</u>	43
4.1.2.1. <i>Appareillage</i>	43
4.1.2.2. <i>Réactifs</i>	44
4.1.2.3. <i>Solutions d'étalonnage</i>	44
4.1.2.4. <i>Gamme d'étalonnage</i>	45
4.1.2.5. <i>Préparation de l'échantillon</i>	45
a- Tampon	45
b- Plasma et sang total	45
4.1.2.6. <i>Chromatographie</i>	45
4.1.2.7. <i>Système de commutation de colonnes</i>	46
II.4.2. <u>Détermination des taux plasmatiques libres et liés par ultrafiltration</u>	48
4.2.1. <u>Introduction</u>	48
4.2.2. <u>Méthodologie de l'ultrafiltration</u>	49
4.2.2.1. <i>Réactifs</i>	49
4.2.2.2. <i>Appareillage</i>	49
4.2.2.3. <i>Protocole expérimental</i>	51
II.4.3. <u>Résultats</u>	51
4.3.1. <u>Dosage du disopyramide par chromatographie liquide</u>	51
4.3.2. <u>Détermination des taux plasmatiques libres et liés par ultrafiltration</u>	57

4.3.2.1. <u>Résultats de l'étude de l'adsorption sur membrane MPS-1 (Amicon)</u>	57
4.3.2.2. <u>Resultats de l'étude de la reproductibilité de la méthode d'ultrafiltration</u>	58
4.3.2.3. <u>Résultats de la détermination des taux plasmatiques libres et liés du disopyramide</u>	58

III ème partie : ETUDE IN VITRO DE LA REPARTITION 62 DU DISOPYRAMIDE ENTRE GLOBULES ROUGES ET PLASMA

III.1.INTRODUCTION	60
III.2.METHODE D'ETUDE DE LA DISTRIBUTION IN VITRO DU DISOPYRAMIDE	63
III.2.1. <u>Méthodologie</u>	65
2.1.1. <u>Sang</u>	66
2.1.2. <u>Matériels</u>	66
2.1.3. <u>Produits chimiques</u>	66
2.1.4. <u>Etude successive de différents tampons isotoniques pH 7,4</u>	66
2.1.5. <u>Protocole expérimental</u>	67
2.1.5.1. <i>Répartition du médicament entre les globules rouges et le tampon isotonique</i>	68 69
a- Préparation du sang reconstitué	69
b- Passage du médicament du tampon vers les globules rouges	71
c- Passage du médicament des globules rouges vers le tampon	71
2.1.5.2. <i>Répartition du médicament entre les globules rouges et le plasma</i>	74
a- Préparation du sang reconstitué	74
b- Passage du médicament du plasma vers les globules rouges	74
c- Passage du médicament des globules rouges vers le plasma	77
III.3.ANALYSE DES RESULTATS	79
III.4.ANALYSE STATISTIQUE	81
III.5.RESULTATS ET DISCUSSION	81
III.5.1. <u>Choix du tampon d'incubation</u>	81

III.5.2. <u>Reproductibilité de la méthode d'incubation dans les différents sens de passage</u>	82
III.5.3. <u>Etude de la répartition du disopyramide entre le tampon ou le plasma et les globules rouges</u>	84
5.3.1. <u>Equilibre de distribution</u>	85
5.3.2. <u>Coefficient de distribution réel</u>	90
5.3.2.1. <i>Variation du coefficient de distribution réel en fonction de la concentration totale dans le tampon à l'équilibre</i>	91
5.3.2.2. <i>Variation du coefficient de distribution réel en fonction de l'hématocrite</i>	93
5.3.2.3. <i>Comparaison des coefficients de distribution réels moyens du disopyramide obtenus dans les différents sens de passage</i>	94
5.3.1. <u>Coefficient de distribution apparent</u>	95
5.3.3.1. <i>Variation du coefficient de distribution apparent en fonction de la concentration plasmatique totale de disopyramide à l'équilibre</i>	95
5.3.3.2. <i>Variation du coefficient de distribution apparent en fonction de l'hématocrite</i>	97
5.3.1. <u>Fraction libre plasmatique</u>	99
5.3.3.1. <i>Variation de la fraction libre plasmatique en fonction de la concentration plasmatique totale à l'équilibre</i>	99
5.3.3.2. <i>Comparaison de la fraction libre obtenue par la méthode d'ultrafiltration à celle obtenue par le calcul</i>	102
5.3.1. <u>Fraction libre globulaire</u>	102
5.3.3.1. <i>Variation de la fraction libre globulaire du disopyramide en fonction de sa concentration globulaire totale à l'équilibre</i>	103
III.6. CONCLUSION	106
IV ème PARTIE : ETUDE IN VIVO DU PASSAGE GLOBULAIRE DU DISOPYRAMIDE CHEZ L'HOMME	110
IV.1. INTRODUCTION	111
IV.2. MATERIELS ET METHODES	111
IV.2.1. <u>Patients</u>	111
IV.2.2. <u>Bilan clinique et biologique</u>	112

IV.2.3. <u>Administration</u>	113
IV.2.4. <u>Prélèvement</u>	117
IV.2.5. <u>dosage</u>	117
IV.2.6. <u>Sortie d'essai en cours de protocole</u>	119
IV.3. ANALYSE DES RESULTATS	120
IV.4. RESULTATS	121
IV.4.1. <u>Evolution des concentrations dans le sang, le plasma et les globules rouges</u>	121
IV.4.2. <u>Concentration et temps maximaux moyens (Cmax et Tmax)</u>	123
IV.4.3. <u>Concentration moyenne à 12 heures</u>	125
IV.4.4. <u>Fraction libre plasmatique</u>	127
4.4.1. <u>Résultats moyens</u>	127
4.4.2. <u>Résultats individuels (12 heures)</u>	129
a- Variation en fonction de la dose administrée	129
b- Variation en fonction de la concentration plasmatique (12 heures)	130
c- Variation en fonction de l'âge	132
d- Variation en fonction du taux en protéines plasmatiques	134
IV.4.5. <u>Le coefficient de distribution réel</u>	135
4.5.1. <u>Moyenne à 12 heures</u>	135
4.5.2. <u>Résultats individuels (12 heures)</u>	136
a- Variation en fonction de la concentration plasmatique totale	137
b- Variation en fonction de l'hématocrite	138
IV.4.6. <u>Le coefficient de distribution apparent</u>	139
4.6.1. <u>Moyenne à 12 heures</u>	139
4.6.2. <u>Résultats individuels (12 heures)</u>	139
a- Variation en fonction de la concentration plasmatique totale	140
c- Variation en fonction de l'hématocrite	141
IV.4.7. <u>Etude de la variabilité interindividuelle observée pour un même paramètre</u>	142
IV.5. <u>DISCUSSION</u>	145
CONCLUSION GENERALE	151

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

160

ANNEXE I

ANNEXE II

GLOSSAIRE

Définitions

coefficient de distribution apparent

rapport des concentrations entre les globules rouges et le plasma

coefficient de distribution réel

rapport des concentrations entre les globules rouges et l'eau plasmatique ou le tampon isotonique

compartiment

espace virtuel de distribution dans lequel le médicament est instantanément réparti de manière homogène, puis s'élimine ou s'échange avec d'autres compartiments suivant une cinétique identique en tous les points du compartiment

temps d'équilibre de distribution entre plasma et globules rouges

temps au bout duquel les concentrations libres non ionisées de part et d'autre de la membrane du globule rouge sont égales

Abréviations

C_{12h}, concentration à 12 heures après la prise

C_{gr}, concentration dans les globules rouges

C_{max}, concentration maximale

C_p, concentration dans le plasma

C _{po} ,	concentration plasmatique initiale
C _{sg} ,	concentration dans le sang total
C _t ,	concentration dans le tampon
D apparent,	coefficient de distribution apparent
D réel,	coefficient de distribution réel
f,	fraction libre plasmatique
f',	fraction libre globulaire
H,	hématocrite
J0,	jour 0
J5,	jour 5
J32,	jour 32

INTRODUCTION

Introduction

Un médicament, administré à un patient, suit dans l'organisme différentes étapes : résorption, distribution, métabolisme et élimination. Son temps de séjour dépendra de ses propriétés physicochimiques ainsi que des caractéristiques biologiques, physiologiques et pathologiques de chaque sujet.

Dans la circulation générale, la molécule médicamenteuse se répartit entre les différents constituants du sang : le plasma (eau, protéines) et les éléments figurés (globules rouges, leucocytes, thrombocytes...).

Parallèlement à cette distribution intrasanguine, la fraction médicamenteuse libre passe à travers les différentes membranes cellulaires et pénètre en plus ou moins grandes quantités dans les tissus.

La mesure de la concentration plasmatique totale ne traduit pas directement la concentration au niveau des sites d'action compte tenu des variations inter et intraindividuelles de liaison des médicaments aux protéines plasmatiques et de distribution dans les cellules sanguines. La connaissance de la concentration plasmatique libre permettrait de pallier ce manque d'information, mais sa détermination pose souvent de nombreux problèmes analytiques [En effet, les méthodes dites classiques ne permettent pas toujours de mesurer avec précision les fractions liées de médicaments présentant des pourcentages de liaison très importants (supérieurs à 95 %)].

Néanmoins, les relations existant entre la concentration en forme libre dans le plasma et les concentrations totales dans le plasma et dans le sang permettent généralement l'utilisation des concentrations totales pour les contrôles thérapeutiques mais également pour les études pharmacocinétiques. La distribution, qui met en jeu certains facteurs physiologiques, tels que les volumes liquidiens de l'organisme et la fixation sur les protéines, n'est bien souvent qu'approchée globalement et théoriquement.

Ce mémoire se propose de comparer le passage intraérythrocytaire d'un antiarythmique, le disopyramide, in vitro et chez des malades traités, dans le but d'envisager la possibilité de proposer un modèle expérimental d'étude de distribution.

Nous commencerons tout d'abord par montrer les différents mécanismes de passage d'un médicament dans le globule rouge et les liaisons qu'il y forme, ainsi que les implications en pharmacocinétique. Nous retiendrons également les protocoles expérimentaux possibles pour l'étude de ce passage.

Puis, nous décrirons la méthode de dosage par chromatographie liquide du disopyramide et sa mise au point dans différents milieux (plasma, tampon isotonique, ultrafiltrat plasmatique).

Ensuite, nous étudierons, par la méthode d'incubation, d'une part, le passage du disopyramide dans les globules rouges à partir d'un tampon isotonique ou du plasma, et d'autre part, le passage inverse, c'est à dire à partir des globules rouges dans le tampon et le plasma. Nous

utiliserons cette technique pour déterminer de façon indirecte la fraction liée aux protéines plasmatiques; les résultats seront comparés à ceux obtenus par la méthode d'ultrafiltration.

Par cette méthode nous déterminerons également le temps nécessaire à l'équilibre de distribution entre le plasma ou le tampon et les globules rouges, et de façon indirecte, la fraction liée érythrocytaire.

Dans la dernière partie, à titre d'exemple en situation réelle, nous comparerons ces résultats in vitro à ceux obtenus lors d'une étude pharmacocinétique effectuée chez des malades traités, étude pour laquelle les dosages de disopyramide ont été effectués dans le plasma et dans le sang total.

Ière partie : ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.MECANISMES DE PASSAGE GLOBULAIRE DES MEDICAMENTS

I.2.FACTEURS INFLUENCANT LE PASSAGE GLOBULAIRE DES
MEDICAMENTS

I.3.COMPORTEMENTS DES MEDICAMENTS A L'INTERIEUR DU
GLOBULE ROUGE

I.4.CONSEQUENCES PHARMACOCINETIQUES

I.5.METHODES D'ETUDE IN VITRO DU PASSAGE GLOBULAIRE DES
MEDICAMENTS

Etude bibliographique

La répartition des médicaments dans les globules rouges a fait l'objet de nombreux articles ces 30 dernières années, comme si l'on venait de découvrir un nouveau compartiment. Son importance allait dépendre de la molécule étudiée : Maren (67) montrait lors de l'étude in vitro du passage érythrocytaire de 18 sulfanilamides, que leur concentration érythrocytaire représentait, selon la molécule étudiée, 4 à 55 % de leur concentration sanguine.

Nous essayerons à travers cet exposé de dégager les axes principaux de ces recherches.

I.1.MECANISMES DE PASSAGE GLOBULAIRE DES MEDICAMENTS

Parmi les mécanismes généraux de passage de molécules endogènes et exogènes à travers les membranes biologiques, cinq systèmes de transport se rapportent à la membrane du globule rouge (63, 75-78). Ces mécanismes seront très brièvement rappelés.

I.1.1.Diffusion passive

Elle concerne une grande majorité de médicaments. Le passage se fait toujours dans le sens du gradient de concentration existant de part et d'autre de la membrane du globule rouge : le transfert s'effectue de la région à forte concentration vers la région à faible concentration.

Elle ne nécessite pas d'apport d'énergie; sa vitesse est décrite par la Loi de FICK (46, 62) :

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{DSP}{a} \Delta C$$

où D est défini comme la quantité de soluté diffusant par seconde à travers une surface de 1 cm^2 pour un gradient unitaire. Il est fonction de la taille et de la forme de la molécule, mais aussi des résistances de frictions dues à la viscosité du solvant. S représente la surface de la membrane; P, le coefficient de partage entre la phase lipidique et la phase aqueuse; ΔC , la différence de concentration de part et d'autre de la membrane et a, l'épaisseur de la membrane.

I.1.2. Passage de certains ions par l'intermédiaire de ionophores

Un grand nombre de substances antibiotiques, appelées ionophores, sont capables de provoquer le passage à travers la membrane du globule rouge, de certains ions (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ ...). Par exemple, la valinomycine, la nigéricine (63) sont des composés ayant une structure annulaire avec une périphérie hydrophobe et une région centrale hydrophile, à l'intérieur de laquelle l'ion K^+ peut se loger grâce à des liaisons de coordinance. La périphérie hydrophobe de ces molécules permet au complexe antibiotique- K^+ de se dissoudre et ainsi de passer à travers la couche hydrocarbonée non polaire de la structure membranaire. La gramicidine, (63) ayant une structure linéaire, entoure le cation monovalent pour former une structure annulaire qui ressemble à celle de la valinomycine.

I.1.3. Diffusion facilitée

Elle se fait dans le sens du gradient de concentration et par conséquent ne nécessite pas d'apport d'énergie. On suppose qu'un composant membranaire spécifique sert de transporteur pour la molécule : il s'agit probablement d'une protéine qui contient un site de liaison complémentaire.

L'un des systèmes de diffusion facilitée le plus connu dans les érythrocytes humains est celui du transport du glucose (63, 75). Le transporteur du glucose fixerait le sucre par trois groupes hydroxyles équatoriaux. Il est capable de transporter d'autres sucres comme le D-mannose, le D-xylose, le D-arabinose et le D-ribose aussi bien que des dérivés non naturels comme le 2-désoxy-D-glucose et le 3-O-méthyl-D-glucose. Deux substances, la phlorétine et la trihydroxyacétophénone sont des inhibiteurs compétitifs du transport du glucose dans les érythrocytes.

I.1.4. Filtration

Les anions de petite taille (PM inférieur à 100) pénètrent à l'intérieur du globule rouge par les pores membranaires de 4Å, autour desquels une charge positive est répartie (76). Ce passage nécessite d'une part un courant d'eau résultant d'une différence de pression osmotique ou hydrostatique et d'autre part l'hydrosolubilité de la molécule.

I.1.5. Transport actif

Il assure le transfert à l'intérieur des globules rouges, contre un gradient de concentration, de molécules comme les cations (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ ...); il nécessite un apport d'énergie et la présence d'un transporteur

membranaire. Bien plus que l'énergie, c'est la quantité de transporteur disponible qui est le facteur limitant de ce phénomène. Ce processus de transport existe pour un certain nombre de substances naturelles, telles que les vitamines ou les acides aminés. Hagenfeldt (39) met en évidence 6 mécanismes différents de transport pour les acides aminés dans les globules rouges, par l'étude des corrélations entre les coefficients de distribution apparents obtenus et les caractéristiques chimiques de l'ensemble des acides aminés.

Pour qu'un médicament suive ce type de transport, il faut qu'il présente une structure tridimensionnelle proche de ces composés (76).

Pour le lithium, il a été décrit plusieurs mécanismes de passage associés assurant sa répartition entre les globules rouges et le plasma (33) :

- un transport actif faisant intervenir l'adénosine triphosphatase,
- un transport par diffusion passive,
- un mécanisme d'échange par diffusion entre le sodium et le lithium.

I.2.FACTEURS INFLUENCANT LE PASSAGE GLOBULAIRE DES MEDICAMENTS

L'intensité du passage d'une molécule à travers la membrane du globule rouge va dépendre de différents facteurs, dont les 3 principaux sont la dissociation ionique, la liposolubilité et la liaison plasmatique.

I.2.1.Dissociation ionique

La fraction de médicament sous la forme ionisée dépend de son pKa et du pH du milieu. L'équation d'HENDERSEN-HASSELBACH (62) permet de

déterminer la fraction non ionisée du composé en fonction de son pKa et du pH :

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{(\text{ionisée})}{(\text{non ionisée})} \quad (\text{pour un acide})$$

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{(\text{non ionisée})}{(\text{ionisée})} \quad (\text{pour une base})$$

Seule la fraction non ionisée peut passer à travers la membrane du globule rouge, comme l'ont souligné Shanker et Bres (12, 75-78).

Par exemple, le peu d'affinité pour le globule rouge de l'amiodarone (14, 66, 88) et l'ouabaine (1) peut en partie s'expliquer par le fait qu'ils soient principalement à pH 7,4 sous forme ionisée.

I.2.2. Liposolubilité

Elle est représentée par le coefficient de partage, mesuré in vitro entre une phase lipophile (chloroforme, acétate d'éthyle ou octanol) et une phase aqueuse. Plus il est élevé, plus la vitesse d'entrée, décrite par la Loi de FICK (62), de la molécule médicamenteuse à l'intérieur du globule rouge est rapide et plus le temps d'obtention de l'équilibre entre le globule rouge et le plasma est faible (Tableau Ia).

Tableau la : coefficient de partage et temps d'équilibre de quelques médicaments

composé	coefficient de partage chloroforme/eau	temps d'équilibre	réf
acide 5-nitrosalicylique	6,8	rapide	76
acide p-aminobenzoïque	4,0	rapide	76
acide salicylique	1,4	rapide	76
aniline	20,9	rapide	78
antipyrine	23,9	rapide	78
phénol	23,4	rapide	76
sulfadiazine	1,0	rapide	76
sulfathiazole	441,0	rapide	76
amiodarone	125*	5 minutes	88
indapamide	32*	10 minutes	87
phénytoïne	170,0*	10 minutes	60, 81
acide sulfanilique	0,194	1 heure	76
acide hippurique	0,217	1 heure	76
acide sulfosalicylique	0,052	2 heures	76
serotonine	0,0003	3 heures	78
acide p-aminohippurique	0,031	supérieur à 8 heures	76
tensilon	inférieur à 0,0001	supérieur à 8 heures	78

légende : * , coefficient de partage entre octanol et eau;
rapide, inférieur à 5 minutes.

La proportion de forme liposoluble (forme non ionisée) dépend de son degré d'ionisation, donc de son pKa et du pH du milieu.

Les globules rouges ont une membrane lipidique poreuse (pores chargés positivement) qui agit comme une barrière s'opposant à la pénétration des molécules.

Les petites molécules liposolubles pénètrent dans le globule rouge par dissolution dans la phase lipidique ou par passage par les pores de 4 Å.

Les molécules liposolubles plus grosses entrent seulement par dissolution dans la phase lipidique.

Les molécules hydrophiles et les anions ne dépassant pas une certaine taille (PM inférieur à 100) passent par les pores de 4 Å.

Les cations sont repoussés par les charges positives situées au niveau des pores et leur passage ne peut se faire que par transport actif.

I.2.3. Liaison aux protéines plasmatiques

Dans le plasma, les médicaments se fixent en majorité sur l'albumine. Les médicaments basiques se lient également à l'alpha 1-glycoprotéine acide. Enfin, une fixation sur les lipoprotéines (médicaments plus lipophiles; chlorpromazine, imipramine, propranolol, quinidine...) et sur les gammaglobulines (imipramine...) est parfois mise en évidence.

Par suite de sa liaison aux protéines , le médicament existe dans le plasma sous 2 formes en équilibre réversible : une forme libre et une forme liée. Seule la forme libre est considérée comme active, car elle seule en théorie peut diffuser vers les tissus et atteindre son site d'action (46, 62).

Maren (67) constate, dès 1960, que dans la série des sulfonamides, leur passage dans les globules rouges dépend de façon prépondérante de leur liaison aux protéines plasmatiques. Pour des molécules de même pKa, les coefficients de distribution apparents (rapport des concentrations globulaires et plasmatiques) augmentent avec la fraction libre plasmatique (f) :

	f	D apparent	pKa
sulfacétamide	0,84	0,50	5,4
sulfaéthylthiazole	0,14	0,05	5,4
sulfadiazine	0,83	0,40	6,5
sulfaméthoxy pyridazine	0,40	0,13	6,7

Un faible passage globulaire est également observé pour le dipyridamol (58), le Δ^9 -tétrahydrocannabinol (30), la digitoxine (1), l'indométacine (65), l'amiodarone (88), la phénytoïne (60), la propafénone (84), dont les concentrations libres plasmatiques sont inférieures à 10 % des concentrations plasmatiques totales. A l'inverse, le passage dans les globules rouges est important pour le sulpiride (12), le sultropide (12), l'imipramine (7) et la pentazocine (27) qui sont des médicaments faiblement liés aux protéines plasmatiques (tableau Ib).

Tableau Ib : Valeurs des coefficients de distribution réel et apparent et de la fraction libre plasmatique (f), de quelques médicaments.

composé	D réel	D apparent	f	réf
amiodarone		0,386	0,003	88
Δ^9 - tétrahydrocannabinol	12,500	0,370	0,030	30
digitoxine	1,370	0,090	0,130	60
dipyridamol	4,880	0,150	0,030	58
imipramine	4,000	1,000	0,850	7
indométacine	négligeable	négligeable	0,100	65
pentazocine	2,680	1,060	0,390	27
phénytoïne	4,330	0,220	0,030	60
sulpiride		1,000	0,860	12
sultropide		0,964	0,900	12

Des modifications dans les liaisons protéiques, soit d'origine pathologique, soit dues à des associations médicamenteuses, entraîneront des variations dans la distribution globulaire.

Le passage dans les globules rouges de la diphénylhydantoïne, paraît légèrement augmenté chez les malades cirrhotiques ou urémiques : cette augmentation est consécutive à une diminution du taux de protéines plasmatiques et donc de la fraction liée plasmatique (60). En effet, la fraction de médicament qui passe dans les globules rouges est reliée directement à la fraction libre dans le plasma et par conséquent à la concentration en protéines plasmatiques.

Le calcul des rapports des concentrations en diphénylhydantoïne dans le plasma et les globules rouges, pourrait servir de méthode rapide et simple permettant le dépistage de déficiences ou d'anomalies aux niveaux des protéines plasmatiques (méthode indirecte).

La fraction liée plasmatique de la pentazocine est en moyenne, de $61,1 \pm 3,0$ % ($n = 20$) chez les volontaires sains et de $65,8 \pm 6,0$ % ($n = 22$), chez les sujets malades (27).

Cette différence est due à la prise d'autres médicaments (diphénylhydantoïne, phénobarbital, sulfonamides et pénicilline), mais aussi à la variation de la concentration en protéines plasmatiques ou à l'altération de leur structure.

Lors d'associations médicamenteuses, la liaison d'un médicament aux protéines peut être modifiée par compétition sur les mêmes sites récepteurs avec un autre médicament. C'est ainsi que l'acétazolamide déplace à l'intérieur de l'érythrocyte la chlortalidone de sa liaison à

l'anhydrase carbonique (5). De même, la phénylbutazone déplace le dicoumarol de ses sites de liaison aux protéines plasmatiques, ce qui entraîne une forte augmentation de la forme libre dans le plasma et de sa concentration globulaire (16).

I.2.4. Autres facteurs

Le passage globulaire peut également dépendre de fixations additionnelles sur les leucocytes et les plaquettes [la chlorpromazine, le N hydroxyéthylprométazine, le sulfoxyde de la chlorpromazine (2) l'imipramine (7, 68, 79)] et de variations physiologiques ou pathologiques au niveau des globules rouges eux mêmes (anémies...) ou au niveau de la membrane érythrocytaire (maladies enzymatiques ou génétiques de la membrane). Une anomalie de la membrane du globule rouge a été décrite dans certains états dépressifs justiciables d'un traitement par le lithium (33).

I.3. COMPORTEMENTS DES MEDICAMENTS A L'INTERIEUR DU GLOBULE ROUGE

Les médicaments se retrouvent dans les globules rouges soit uniquement sous forme libre [l'indométacine (65), le pentobarbital (26), la sulfadiazine (67), la sulfaméthoxypyridazine (67), la sulethylthiadazole (67) et le sulfisoxazole (67)], soit sous une forme libre et une forme liée en équilibre réversible [la sulfanilamide (67), le phénobarbital (65), l'acétazolamide (5, 67, 89), la chlortalidone (23, 28), l'indapamide (87), la chlorpromazine (2, 7, 92), la digoxine (1, 42), la digitoxine (1), la quinidine (50), la pentozacine (27), la methazolamide (67)].

Dans le tableau Ic, sont regroupées les fractions libres globulaires de ces médicaments, quand cela est possible. En effet, les auteurs ont employé des termes semiquantitatifs pour traduire la liaison globulaire de certains médicaments.

Tableau Ic : fraction libre globulaire de quelques médicaments

composé	concentration dans le sang total ($\mu\text{g/ml}$)	fraction libre globulaire	réf
acétazolamide	4,4	négligeable	67
	11,1	0,14	
	44,4	0,31	
digitoxine	*69 ng/ml	0,93	1
méthazolamide	11,8	négligeable	67
	47,2	0,31	
pentazocine	0,1-1,4	0,3	27
phénobarbital	10,0-25,0	0,5	65
sulfanilamide	3,4	0,5	67
	8,6	0,46	
	34,4	0,62	
	68,8	0,62	
	344,0	0,76	

L'interaction entre le médicament et les hématies se produit aussi bien au niveau de la membrane cellulaire (4), [chlorpromazine (7), digoxine (42), propranolol (52)], qu'au niveau des constituants intracellulaires (4), telles que l'hémoglobine [digoxine (42), quinidine (50)] et l'anhydrase carbonique [acétazolamide (5, 88), chlortalidone (23, 28) et indapamide (87)].

I.4. CONSEQUENCES PHARMACOCINETIQUES

Une importante distribution globulaire a des implications sur la pharmacocinétique des médicaments.

Une forte liaison aux protéines érythrocytaires a pour conséquences :

-une diminution de la distribution du médicament dans l'organisme entraînant une modification de son volume apparent de distribution

-une mise en réserve provisoire du médicament, puisque le médicament capté par les globules rouges n'est ni métabolisé, ni filtré au niveau rénal.

-un ralentissement de la vitesse globale d'élimination à partir du sang total, puisque la fraction liée n'est ni métabolisée, ni filtrée au niveau du glomérule rénal. Plus le pourcentage de liaison aux protéines est élevé, plus la vitesse d'élimination est faible. Il en résulte un augmentation du temps de demi-vie biologique.

-une diminution des clairances métaboliques et rénales.

Dans la zone des concentrations thérapeutiques, lorsque les liaisons globulaires formées sont concentration dépendante, la cinétique de passage dans le globule rouge n'est pas linéaire, comme pour l'indapamide

(87), la digoxine (42), l'acétazolamide (59, 67, 89) et la chlortalidone (28). Du point de vue pharmacocinétique, une captation érythrocytaire saturable peut entraîner une non-linéarité des cinétiques (28). Ainsi, la pharmacocinétique de la chlortalidone (28) est compatible avec un modèle non linéaire à trois compartiments : un compartiment central, un compartiment tissulaire et un compartiment érythrocytaire. Dans ce dernier, la chlortalidone est pour une fraction en équilibre avec celle du compartiment central, les vitesses de transfert étant d'ordre 1; l'autre fraction, plus fortement liée, suit une cinétique de Michaelis-Menten.

Un dernier facteur important en pharmacocinétique est le temps au bout duquel l'équilibre de distribution d'un médicament entre les différents constituants du sang est atteint.

D'une part, un passage dans les érythrocytes ou un retour des érythrocytes vers le plasma particulièrement lent peut nécessiter l'introduction dans le modèle d'un compartiment supplémentaire (80); dans ce cas, la demi-vie d'élimination à partir des érythrocytes est plus longue que celle évaluée à partir du plasma (32).

D'autre part, l'importance de la cinétique de ces échanges sur le métabolisme hépatique des médicaments a également été souligné (73, 91); lorsque les échanges entre plasma et globules rouges sont rapides, la clairance métabolique hépatique n'est pas limitée par le débit plasmatique mais par le débit sanguin, alors que lorsque le médicament est réparti uniquement dans le plasma, c'est le débit plasmatique qui devient le facteur limitant.

En pharmacologie clinique, la connaissance de la concentration globulaire de certains médicaments permettrait l'ajustement de la

posologie pour chaque patient et ainsi éviterait les sous ou surdosages dont les conséquences peuvent s'avérer graves. Le rapport érythroplasmatique des concentrations de lithium, déterminé in vitro sur le sang du patient, permet de prévoir ses effets toxiques et d'en adapter la posologie (33). Dans le cas de la butaperazine, la réponse thérapeutique est mieux corrélée à sa concentration globulaire qu'à sa concentration plasmatique (32). De plus, le passage intraérythrocytaire des médicaments agissant au niveau du système nerveux central peut servir de modèle de distribution permettant d'évaluer un éventuel passage au niveau des neurones (1, 6) ou même dans le cerveau (74). Il est possible que les facteurs membranaires permettant le passage d'un médicament dans les globules rouges soient semblables à ceux déterminant sa diffusion dans un autre type de tissu.

I.5.METHODES D'ETUDE IN VITRO DU PASSAGE GLOBULAIRE DES MEDICAMENTS

Ces études ont été réalisées soit in vitro en utilisant les méthodes de dialyse à l'équilibre (7, 12, 16, 22, 27, 43, 50, 65, 67, 68, 79, 87) et d'incubation (1, 2, 5, 28, 39, 53, 59, 82, 88, 89), soit in vivo chez l'homme (26, 28, 32, 33, 66, 92) ou l'animal (2, 67).

I.5.1.Dialyse à l'équilibre

Cette méthode est la plus couramment utilisée pour déterminer les paramètres de liaisons plasmatiques et érythrocytaires. Elle est appliquée entre autres par Maren en 1960 (67) aux sulfonamides, par Mac Athur en 1971 (65) à l'indométacine, le phénobarbital et les salicylés,

par Bickel en 1975 (7) à l'imipramine et par Cruze en 1975 (18) à l'acide salicylique et au sulfathiazole..

Le pourcentage de liaison de la molécule aux différents constituants du sang, les constantes d'affinité et les capacités maximales de liaison sont ensuite déterminés par la méthode de SCATCHARD (46, 61, 83).

5.1.1. Principe

Un équilibre est réalisé entre un compartiment 1 contenant le sang total ou une suspension de globules dans un tampon isotonique pour éliminer la liaison aux protéines plasmatiques, et un compartiment 2 contenant un tampon isotonique surchargé en médicament, à une concentration $C_2(t=0)$; les deux milieux sont séparés par une membrane de dialyse. A l'équilibre, la fraction liée aux protéines du sang ou des globules rouges est déterminée par le calcul.

5.1.2. Analyse des résultats

Une fois l'équilibre atteint, les concentrations de part et d'autre de la membrane de dialyse C_1 (concentration dans le compartiment 1) et C_2 (concentration dans le compartiment 2) sont mesurées :

$$C_1 = \text{concentration libre} + \text{concentration liée} \quad (1)$$

$$C_2 = \text{concentration libre} \quad (2)$$

Si dans le compartiment 1, on place du sang total ou une suspension de globules rouges, la fraction liée $(1-f)$ aux protéines du sang total ou des globules rouges, est donnée par l'équation :

$$(1-f) = \frac{(C_1 - C_2)}{C_1} \quad (3)$$

Lorsque le dosage du principe actif ne peut se faire que dans le tampon (C_2), la quantité liée globulaire est calculée selon l'équation suivante :

$$C_2(t=0) \cdot V_2 = C_2 \cdot V_2 + C_1 \cdot V_1 \quad (4)$$

où V_1 , représente le volume du compartiment 1 et V_2 , le volume du compartiment 2.

De l'équation 3, on déduit que :

$$C_1 = \frac{C_2}{(f)} \quad (5)$$

où f représente la fraction libre dans le sang total ou les globules rouges.

ce qui donne en remplaçant C_2 par sa valeur dans l'équation 4 :

$$(C_2(t=0) \cdot V_2) = (C_2 \cdot V_2) + \frac{C_2 \cdot V_1}{(f)} \quad (6)$$

$$(C_2(t=0) \cdot V_2) \cdot (f) = (C_2 \cdot V_2) \cdot (f) + C_2 \cdot V_1 \quad (7)$$

$(1-f)$ est alors égale à :

$$1-f = \frac{C_2(t=0) \cdot V_2 - C_2 \cdot (V_2+V_1)}{(C_2(t=0) \cdot V_2 - C_2 \cdot V_2)} \quad (8)$$

5.1.3. Limites

Cette méthode, généralement considérée comme méthode de référence nécessite un temps d'équilibre assez long, de 24 heures à plusieurs jours le plus souvent, un volume d'échantillon important (plusieurs ml), l'achat d'un matériel coûteux. Elle n'est pas réalisée à 37°C car les risques de dégradation des milieux biologiques sont grands, le plus souvent, les dialyses sont réalisées à 4°C.

De plus, des variations de volume V_1 et V_2 peuvent être observées durant la dialyse. Il y a passage d'un certain volume de tampon vers le sang total, entraînant des erreurs de calcul de la concentration C_1 .

I.5.2. Méthode d'incubation

Cette méthode sera utilisée tout au long de ce travail.

5.2.1. Principe

Un équilibre entre des globules rouges et du plasma ou du tampon isotonique surchargés en médicament est réalisé, à 37° C, sous agitation constante.

La concentration en substance médicamenteuse est dosée dans le plasma ou le tampon isotonique avant l'incubation ($t=0$) , puis à différents temps pendant l'incubation, jusqu'à l'obtention d'un équilibre de distribution entre le plasma ou le tampon et les globules rouges. A l'équilibre, les fractions libres plasmatiques et globulaires sont déterminées par le calcul.

5.2.2. Analyse des résultats

Garrett (30,31) a développé, en détail, les équations permettant de calculer, à partir des concentrations plasmatiques déterminées

expérimentalement, les concentrations dans le sang total (Csg) et les globules rouges (Cgr). Cette approche que nous dénommerons classique, a été par la suite reprise par de nombreux auteurs, soit :

$$C_{sg} = C_p.(1 - H) + C_{gr}.(H) \quad (1)$$

$$C_{gr} = \frac{C_{sg} - C_p.(1 - H)}{H} \quad (2)$$

où Cp représente la concentration dans le plasma et H, l'hématocrite.

A l'équilibre de distribution, le coefficient de distribution réel est par définition le rapport de la concentration globulaire sur la concentration plasmatique libre et le coefficient de distribution apparent le rapport de la concentration globulaire sur la concentration plasmatique totale :

$$D_{réel} = \frac{C_{gr}}{C_p \text{ libre}} = \frac{C_{gr}}{C_t} = \frac{C_{gr}}{(C_p.f)} \quad (3)$$

$$D_{apparent} = \frac{C_{gr}}{C_p} \quad (4)$$

où Ct, la concentration dans le tampon; Cp libre, la concentration libre dans le plasma; f, la fraction libre plasmatique.

La fraction libre plasmatique est égale à :

$$f = \frac{D_{apparent}}{D_{réel}} \quad (5)$$

A l'équilibre de distribution, les concentrations libres non ionisées de part et d'autre de la membrane du globule rouge sont égales si on admet que seules les formes non ionisées libres sont transférables (45) :

$$\text{Cgr libre} = \text{Cp libre} = \text{Ct} \quad (6)$$

où Cgr libre représente la concentration libre dans les globules rouges.

La concentration globulaire libre (ou concentration dans l'eau globulaire) est calculée à partir de l'équation de distribution d'un médicament entre deux milieux séparés par une membrane (76, 78). Cette équation s'écrit :

pour une base

$$\frac{\text{C eau globulaire}}{\text{Ct}} = \frac{[1+10(\text{pKa}-\text{pH eau globulaire})]}{[1+10(\text{pKa}-\text{pH tampon})]} \quad (7)$$

pour un acide

$$\frac{\text{C eau globulaire}}{\text{Ct}} = \frac{[1+10(\text{pH eau globulaire}-\text{pKa})]}{[1+10(\text{pH tampon}-\text{pKa})]} \quad (8)$$

La fraction libre globulaire est alors donnée par :

$$f' = \frac{\text{Cgr libre}}{\text{Cgr totale}} \quad (9)$$

Au terme de cet exposé, on perçoit que la connaissance de la distribution d'un médicament dans les globules rouges et les liaisons qu'il y forme, peut avoir de l'importance en pharmacocinétique.

L'utilisation en pharmacologie clinique, de paramètres pharmacocinétiques calculés sans prendre en compte la liaison du médicament aux protéines globulaires est à éviter (51); sa fixation globulaire peut modifier la pharmacocinétique plasmatique et par la interférer sur les effets thérapeutique et toxicologique.

II ème partie : LE DISOPYRAMIDE

II.1.JUSTIFICATION DU CHOIX DU PRODUIT

II.2.FORMULE ET PROPRIETES PHYSICOCHEMIQUES

II.3.PHARMACOLOGIE

II.4.MATERIELS ET METHODES

LE DISOPYRAMIDE

II.1 JUSTIFICATION DU CHOIX DU PRODUIT

Ce principe actif a été retenu compte tenu de la complexité de sa cinétique en administrations répétées; en effet, cette molécule a une liaison aux protéines plasmatiques concentration-dépendante, à capacité limitée (86), son élimination est sensible à cette liaison. Globalement ceci se traduit, lors d'administrations répétées, par une relation non linéaire entre la dose administrée et la concentration plasmatique totale à l'équilibre des concentrations (24, 57).

II.2 FORMULE ET PROPRIETES PHYSICOCHEMIQUES

Le disopyramide ou 4-(diisopropylamino)-2-phényl-2-(2-pyridyl) butyramide, de formule brute, $C_{21}H_{29}N_3O$, possède la formule développée suivante (8) :

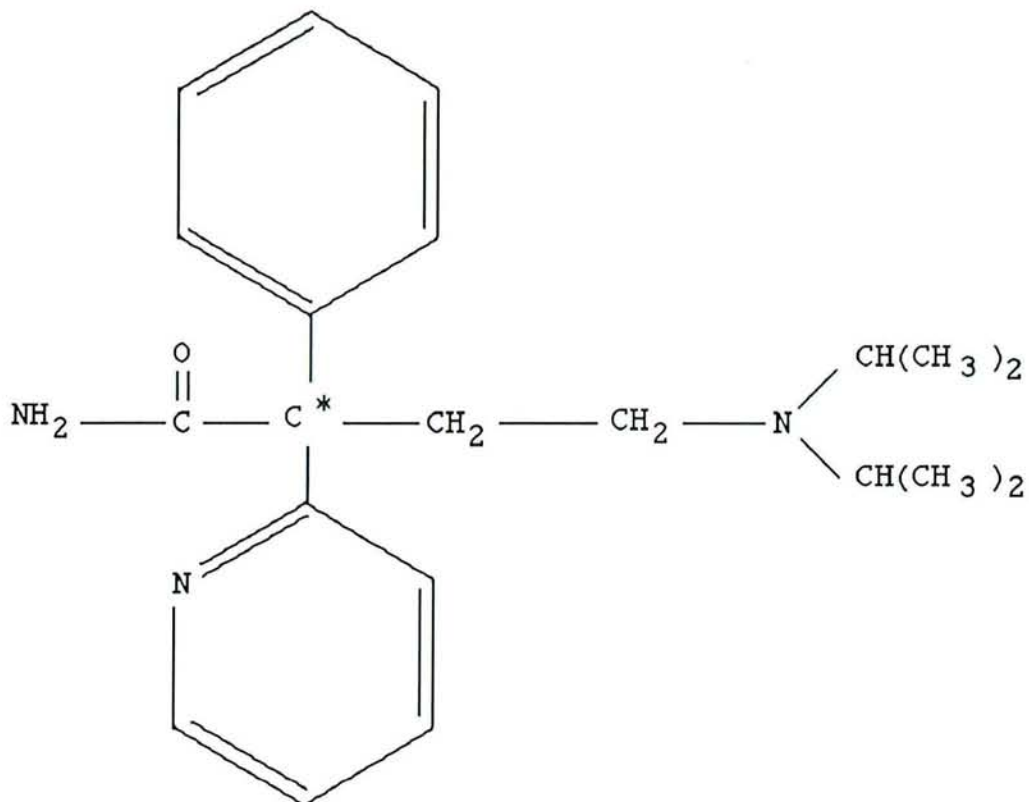


figure 1 : formule développée du disopyramide
*C**, carbone asymétrique

Il peut se trouver sous 2 formes :

-base

-phosphate

PM = 339,5

PM = 437,5

Le disopyramide se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche inodore à saveur amère. La forme base est soluble dans les solvants organiques et peu soluble dans l'eau. Le phosphate est insoluble dans les solvants organiques et très soluble dans l'eau.

Le pKa de la base est de 8,34 (35).

a- Absorption ultraviolette

Le disopyramide absorbe le rayonnement ultraviolet. Il présente une absorption maximale à 263 et 268 nm, avec un épaulement à 275 nm pour la base (35).

b- Fluorescence

Le disopyramide ne possède pas de fluorescence native; il présente une fluorescence induite, en solution dans de l'acide sulfurique avec des longueurs d'onde maximale d'excitation à 275 nm et d'émission à 410 nm.

II.3.PHARMACOLOGIE

Le disopyramide est un anti-arythmique à effet quinidinique (classe I de la classification de Vaughan-Williams).

II.3.1.Mode d'action

L'action anti-arythmique du disopyramide est liée à son effet stabilisant de membrane : altération de la physiologie de la membrane cellulaire qui perd son aptitude à permettre les échanges ioniques nécessaires à engendrer la dépolarisation. Par cette action, il entraîne au niveau du tissu conducteur cardiaque une prolongation de la période réfractaire, une élévation du potentiel liminaire (seuil à partir duquel une dépolarisation se déclenche) et un ralentissement de la conduction, notamment à l'étage ventriculaire. Au contraire, la conduction intra-auriculaire et auriculo-ventriculaire n'est que peu ralentie (36).

Le schéma du potentiel d'action d'une fibre de Purkinje (36) est représenté ci-dessous (figure 2) :

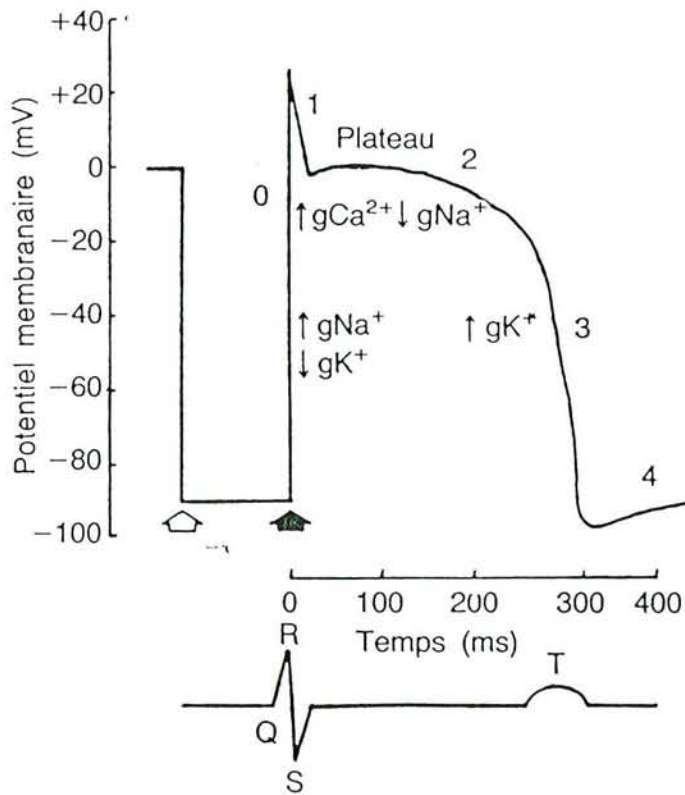


figure 2 : schéma du potentiel d'action d'une fibre de purkinje (36)

légende : Quand la microélectrode pénètre la fibre (flèche blanche), un potentiel de repos de -90 mV est mesuré. Au moment de la stimulation (flèche noire) se produit une ascension rapide (phase 0). Les phases suivantes sont indiquées par les chiffres 1, 2 (plateau) et 3.

Effet du disopyramide sur le potentiel d'action :

- dépression de la phase 0 du potentiel d'action
- prolongation de la repolarisation
- ralentissement de la conduction

Le disopyramide exerce un effet inotrope négatif (diminution de la contractilité myocardique) modéré pouvant entraîner une légère diminution du débit cardiaque.

Il existe indépendamment de l'effet stabilisant de membrane, un effet atropinique se manifestant essentiellement au niveau sinusal et pouvant entraîner une légère diminution du débit cardiaque.

Les taux thérapeutiques dans le plasma se situent entre 3 et 5 µg/ml.

II.3.2. Propriétés pharmacocinétiques

Le disopyramide, RYTHMODAN[®] (laboratoires Roussel, Paris) est commercialisé en France, sous deux formes orales : Les gélules sont dosées à 100 mg de disopyramide base. Les comprimés à libération prolongée, sous forme de phosphate, sont dosés à 250 mg de disopyramide bases. La forme à libération prolongée est utilisée surtout chez les malades soumis à une thérapie prolongée.

Une forme injectable, sous forme de phosphate, est réservée aux services hospitaliers et est dosée à 50 mg de disopyramide base.

L'absorption du disopyramide simple et à libération prolongée atteint 90% de la dose ingérée.

Après administration orale d'une dose unique à 100 mg de disopyramide base, la concentration plasmatique maximale est atteinte entre 2 et 4 heures et se situe entre 2 et 5 µg/ml (29). La demi-vie plasmatique varie entre 7 et 9 heures (29).

Avec le disopyramide à libération prolongée, le temps maximal est augmenté (3 à 5 heures), la concentration maximale est de 2 à 4 µg/ml et sa demi-vie d'élimination apparente, par suite d'un effet Flip Flop, est de 13 à 16 heures, selon les sujets (37). A l'état d'équilibre, après 3 ou 5 jours de traitement par disopyramide à libération prolongée (250 mg toutes les 12 heures), les concentrations plasmatiques sont maintenues dans le zone d'efficacité tout au long des 24 heures et sont équivalentes aux concentrations obtenues après administrations répétées toutes les 6 heures de disopyramide simple (85).

Après injection par voie intraveineuse, la concentration sanguine d'abord élevée, décroît rapidement (demi-vie de distribution : 2 à 4 minutes). La courbe des taux sériques est ensuite analogue à celle qui est obtenue après administrationn per os.

Chez le volontaire sain, le volume apparent de distribution est d'environ 1 l/kg de poids corporel (36).

La liaison aux protéines plasmatiques est dépendante de la concentration (19, 71). 2 classes de sites ont été déterminées : l'une à haute affinité - faible capacité est localisée sur l'alpha 1-glycoprotéine acide, l'autre à faible affinité - forte capacité est présente sur l'albumine (11, 40, 72). La fixation du disopyramide est saturable et est de 20 à 80 % pour les concentrations plasmatiques totales situées dans l'intervalle des concentrations thérapeutiques (3 à 5 µg/ml; 20, 64).

La distribution tissulaire du disopyramide est très mal connue chez l'homme. Chez le rat, 2 heures après injection du produit marqué, la

radioactivité est maximale dans le foie, la graisse et la rate (4 à 7 fois le taux plasmatique). Chez le chien, les concentrations myocardiques sont le double des concentrations plasmatiques (69).

Le produit est faiblement métabolisé lors de son premier passage hépatique. Sa clairance métabolique est de 117 ± 7 ml/min. Son principal métabolite, le N-monodealkyl disopyramide a une activité antiarythmique moindre (29).

L'élimination globale, de 90 à 100 % en 5 jours, est à la fois urinaire et fécale (37).

L'élimination urinaire est précoce, le maximum se situant vers la 4^{ème} heure; environ 60 à 75% de la dose administrée est excrétée en 12 heures (50 à 60% sous forme de disopyramide, 20 à 40% sous forme de métabolite; 37).

Le disopyramide est éliminé principalement par filtration glomérulaire (29) et par sécrétion tubulaire (41). Cette dernière voie est saturable pour des doses administrées supérieures à 600 mg/jour.

Sa clairance rénale est de 125 ± 17 ml/min, elle augmente proportionnellement avec la concentration plasmatique libre (19).

Lorsque la concentration maximale est atteinte, la décroissance des concentrations plasmatiques en fonction du temps est biphasique chez les sujets sains (19). La demi-vie terminale est comprise entre 7 et 9 heures (29).

L'élimination biliaire est pratiquement nulle.

Le disopyramide possède un carbone asymétrique (C*) en position 2 (figure 1). Le principe actif, actuellement utilisé en thérapeutique sous forme de base ou de phosphate, est un racémique constitué à parts égales de l'énantiomère 2 S et de l'énantiomère 2 R.

Chez l'homme, selon la configuration de l'énantiomère, 2S(+) disopyramide ou 2R(-)disopyramide, la liaison aux protéines plasmatiques est sélective : en effet, l'énantiomère 2S(+) a une affinité pour l'alpha 1-glycoprotéine deux fois plus élevée que l'énantiomère 2R(-) (54). De plus, l'énantiomère 2S(+) est métabolisé 40 fois plus que son énantiomère 2 R (-) (35).

Des modifications pharmacocinétiques sont observées dans différents états pathologiques :

-lors d'une insuffisance rénale, l'élimination du disopyramide est ralentie et va dépendre de la clairance à la créatinine. Un allongement de la demi-vie commence à apparaître pour des clairances de la créatinine inférieures à 60 ml/mn et devient nettement significatif en dessous de 40 ml/mn (53). Les variations sont cependant importantes d'un sujet à l'autre.

-lors d'une insuffisance hépatique, le nombre restreint des études ne permet pas de conclure (24).

-lors d'une insuffisance cardiaque, les modifications sont nombreuses. Les demi-vies d'absorption, de distribution et d'élimination sont augmentées; le volume apparent de distribution diminué (49).

-lors d'un infarctus du myocarde, plusieurs phénomènes sont observés : un ralentissement de l'absorption avec une diminution des concentrations maximales, une augmentation de la demi-vie de distribution, l'effet est variable sur le volume de distribution. Ces modifications sont

directement reliées aux variations de degré de liaison protéique. En effet, au cours de la phase aiguë de l'infarctus, le taux d'alpha 1-glycoprotéine est augmenté, le taux d'albumine diminué (49).

II.3.3. Distribution du disopyramide dans les globules rouges

L'étude de Hinderling en 1974 (43), de la distribution in vitro du disopyramide dans les globules rouges montre que l'équilibre des concentrations est atteint presque immédiatement après la surcharge. La répartition n'est pas influencée par la présence de N monodealkyl-disopyramide (NMD). Le rapport de la concentration globulaire à la concentration plasmatique libre est supérieur à 1 et est indépendant de la concentration de disopyramide et de son métabolite. De plus, le rapport de la concentration globulaire à la concentration plasmatique totale est fonction de la concentration de disopyramide, il augmente avec la fraction libre (f). Il augmente de 0,45 à 1,11 pour une fraction libre allant de 0,45 à 0,9.

II.4. MATERIELS ET METHODES

II.4.1. Dosage du disopyramide par chromatographie en phase liquide

4.1.1. Introduction

Les méthodes de dosage du disopyramide les plus fréquemment utilisées ces 10 dernières années sont les méthodes par chromatographie, en phase gazeuse (25, 47, 55) ou en phase liquide (15, 48, 70), et par immunologie par EMIT[®] et par FPIA[®].

La chromatographie en phase gazeuse, tend à être abandonnée, car elle nécessite une phase de dérivatisation, imposée par l'instabilité thermique du groupement amide.

Les méthodes immunologiques EMIT[®] (Syva, CA, USA) ou FPIA[®] (Abbott, CA, France) ont l'avantage d'être simples, automatisables et rapides d'utilisation, mais ne sont pas d'une grande sensibilité et ne permettent pas le dosage du métabolite.

Dans notre étude, le disopyramide sera dosé par chromatographie liquide haute performance en faisant intervenir un système de commutation de colonne (22).

Cette méthode ne comporte pas de phase d'extraction préalable. Une commutation automatique de colonne permet dans un premier temps, de purifier l'échantillon plasmatique déprotéinisé et de concentrer les composés à analyser avant la chromatographie proprement dite.

4.1.2.Méthodologie

4.1.2.1.Appareillage

L'appareillage utilisé est composé d'une chaîne HPLC Waters, (Millipore, Milford, MA, USA) comprenant : 2 pompes (M 501 et M 510), un injecteur automatique Wisp 712 et une vanne de commutation à 6 voies (P/N 600 57).

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre modèle 490 E programmable, à 265 nm. L'ensemble est couplé à un microordinateur Nec APC IV (Nec Information Systems, Boxborough, MA, USA), fonctionnant avec le logiciel d'acquisition et d'intégration (Baseline 810 de chez Millipore) (fig 3).

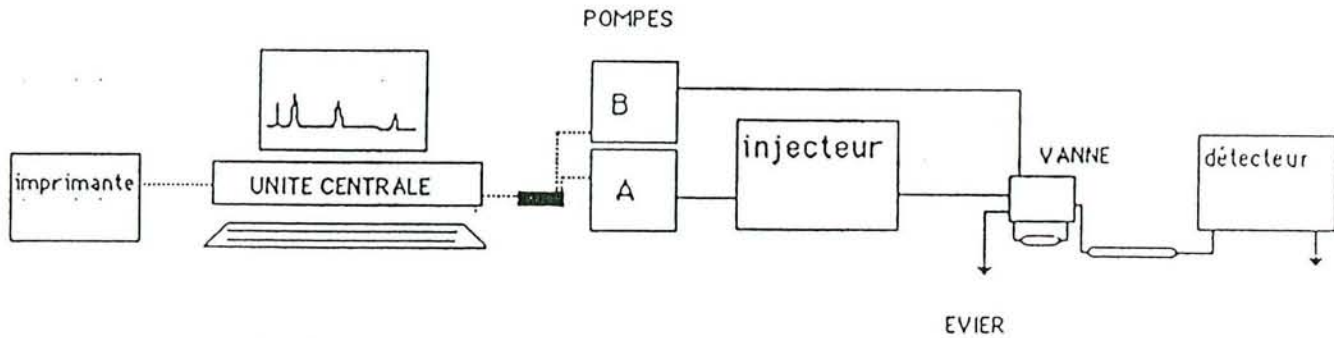


figure 3 : Chaîne chromatographique

4.1.2.2. Réactifs

Le disopyramide et le parachlorodisopyramide sont fournis par les laboratoires Roussel (Paris, France).

Les produits chimiques sont des produits Merck (Darmstadt, Germany) de qualité analytique : acide perchlorique (0,5 mol/l), carbonate de sodium (1,2 mol/l), solution aqueuse de triméthylamine à 100 mmol/l (le pH de cette solution est ajusté à 2,5 par de l'acide phosphorique).

Les solvants (méthanol, acétonitrile, tétrahydrofuranne) sont de qualité spectroscopique (SdS, Peypin, France).

4.1.2.3. Solutions d'étalonnage

Les solutions mères de disopyramide (D) et d'étalon interne (EI, parachlorodisopyramide) sont préparées avec du méthanol à une concentration de 1 mg/ml et stockées à +4°C. Ces solutions sont renouvelées tous les deux mois.

Les solutions filles sont obtenues par dilution au 1/10 ème des solutions mères, dans du plasma humain, du tampon d'incubation ou du sang total, en fonction du travail effectué et stockées à - 25°C par aliquots de 100 µl.

4.1.2.4. *Gamme d'étalonnage*

A partir de la solution de travail de disopyramide permettant d'obtenir des concentrations comprises entre 0,5 et 100 µg/ml, la gamme d'étalonnage sera réalisée avec du plasma, du tampon d'incubation ou du sang total, fonction matrice du travail expérimental réalisé.

4.1.2.5. *Préparation de l'échantillon*

a- Tampon

100 µl d'un tampon isotonique pH 7,4 sont additionnés d'étalon interne (EI, 50 µl). Le mélange ainsi obtenu sera injecté.

b- Plasma et sang total

100 µl de plasma ou de sang total sont additionnés d'étalon interne (50 µl) et d'acide perchlorique (150 µl).

Ce mélange est agité vigoureusement pendant 45 secondes. Après une centrifugation à 2000 g pendant 10 minutes, le surnageant (200 µl) est alcalinisé dans les limites de pH 7,5-8 par l'addition de carbonate de sodium (1,2 mmol/l). Le mélange ainsi obtenu sera injecté dans le chromatographe.

4.1.2.6. *Chromatographie*

La purification et la concentration des composés à analyser sont effectuées sur une précolonne XL cyano (7 cm x 4,6 mm, 5 µm) et la séparation analytique sur une colonne analytique ultrasphère cyano (7 cm x 4,6 mm, 3 µm) Beckmann (Beckmann Instruments, Altex Division, San Ramon, CA, USA).

La phase de lavage (pompe 501) est de l'eau distillée. La phase d'élution (pompe 510) est composée de triméthylamine, d'acétonitrile, de tétrahydrofurane (78/20/2; v/v/v).

4.1.2.7. Système de commutation de colonnes

Cette méthode de dosage comprend deux phases : une phase de concentration/purification et une phase d'éluion du produit à analyser. Ces phases sont déterminées par la position A ou B que prend la vanne de commutation à 6 voies. Un schéma explicatif est représenté ci dessous (figure 4).

La circulation des phases de lavage et éluante est indiquée par un trait plein.

Les débits des pompes sont ajustés à 2 ml/min pour la pompe 501 et à 1 ml/min pour la pompe 510.

Au temps $t=0$, la vanne est en **position A** :

-La phase de lavage draine la précolonne, la phase éluante passant dans la colonne.

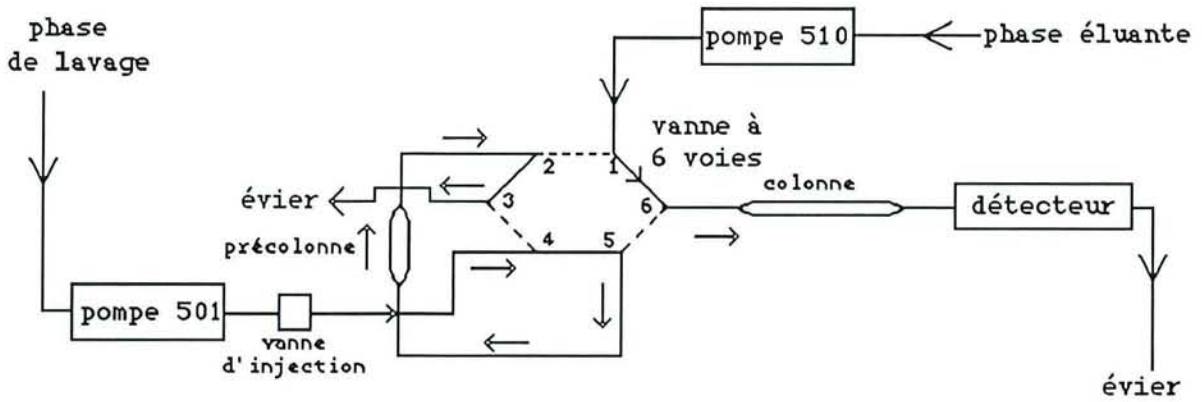
-L'échantillon est alors injecté. Il se dissout dans le solvant de lavage, passe dans un premier temps à travers la précolonne, où les composés D et EI sont retenus par la phase polaire CN, tandis que les composants apolaires de l'échantillon sont éliminés vers l'évier.

Au temps $t = 2$ minutes, après l'injection, la vanne bascule de 60° et se place alors en **position B** :

-La précolonne est mise en série avec la colonne analytique.

-La phase mobile analytique élue les analytes de la précolonne vers la colonne où s'effectue la séparation de D et EI.

Position A



Position B

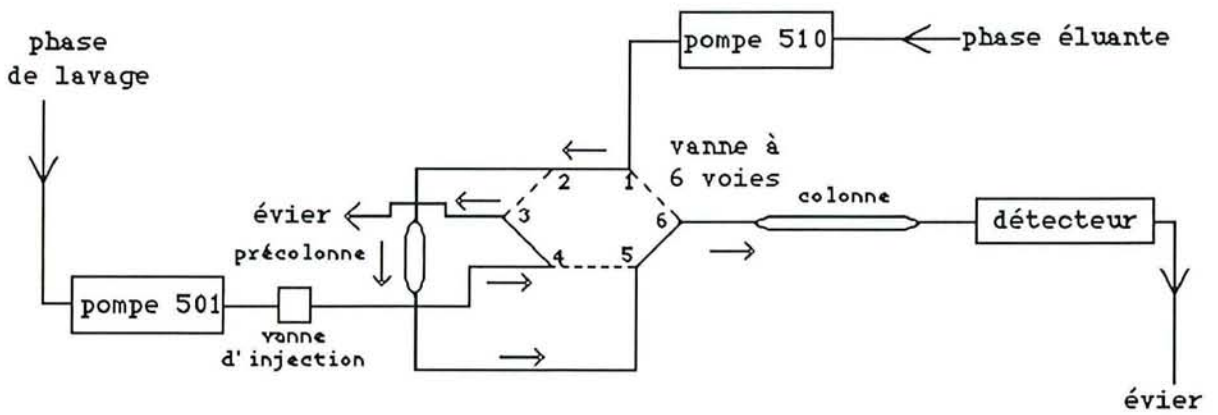


figure 4 : Principe du couplage précolonne/colonne pour le traitement et l'analyse du disopyramide et de son étalon interne.

Position A de la vanne de commutation : purification, concentration.

réten-tion des molécules à analyser et élimination des composés apolaires

Position B de la vanne de commutation : élution, séparation. *élution des molécules à analyser*

La circulation des phases de lavage et éluante est indiquée par un trait plein.

A t = 10 min après l'injection, la vanne rebascule en position A, la phase aqueuse draine à nouveau la précolonne ainsi en condition pour l'injection suivante, la phase mobile drainant la colonne jusqu'à la fin de l'acquisition. Le temps nécessaire à la remise en condition de la précolonne et de la colonne, avant l'injection suivante est de 1 minute.

II.4.2.Détermination des taux plasmatiques libres et liés par ultrafiltration

4.2.1.Introduction

Les techniques les plus couramment utilisées, pour la détermination des taux plasmatiques libres sont la dialyse à l'équilibre et l'ultrafiltration (61). Cette dernière sera utilisée dans notre travail.

Le principe de l'ultrafiltration repose sur le fait que seule la fraction libre en médicament peut traverser la membrane d'ultrafiltration sous pression.

La membrane ultrafiltrante joue un rôle essentiel dans cette séparation et doit :

-permettre le passage quantitatif du ligand libre (disopyramide), sans interaction notable (adsorption en particulier).

-s'opposer au passage des protéines généralement impliquées dans la fixation protéique plasmatique de la molécule active; une base faible, telle que le disopyramide, est liée à l'albumine (P.M. = 65000) et à l'alpha -1 glycoprotéine (P.M. = 41000).

A cet égard, les membranes ultrafiltrantes hydrophiles utilisées présentent un seuil de rétention égal à 30000. La rétention des protéines engagées dans une liaison avec le disopyramide est assurée par les seuils de rétention des membranes hydrophiles utilisées.

Bowers (9) conclue à l'équivalence voire même à la supériorité de la méthode d'ultrafiltration par rapport à la dialyse à l'équilibre, dans le cas de molécules à fixation protéique non linéaire, tel que le disopyramide. Dans le cas de la dialyse à l'équilibre, il y a passage d'un certain volume de tampon vers le plasma entraînant une dilution des protéines plasmatiques. Au contraire, pendant l'ultrafiltration, il y a passage d'un certain volume d'eau plasmatique contenant le médicament libre vers l'ultrafiltrat, entraînant une concentration des protéines plasmatiques et une possible modification de l'équilibre de liaison protéine-médicament.

4.2.2.Méthodologie de l'ultrafiltration

4.2.2.1.Réactifs

Du plasma frais, conservé entre +2° C et +8° C durant une période inférieure à 48 heures a été utilisé.

4.2.2.2.Appareillage

L'ultrafiltration du plasma a été effectué sur la membrane MPS-1 Amicon (Danvers, MA, USA).

Le dispositif retenu pour cette étude se compose d'un réservoir à échantillon, d'un support de membrane et d'une cupule permettant de recueillir l'ultrafiltrat (35, figure 5).

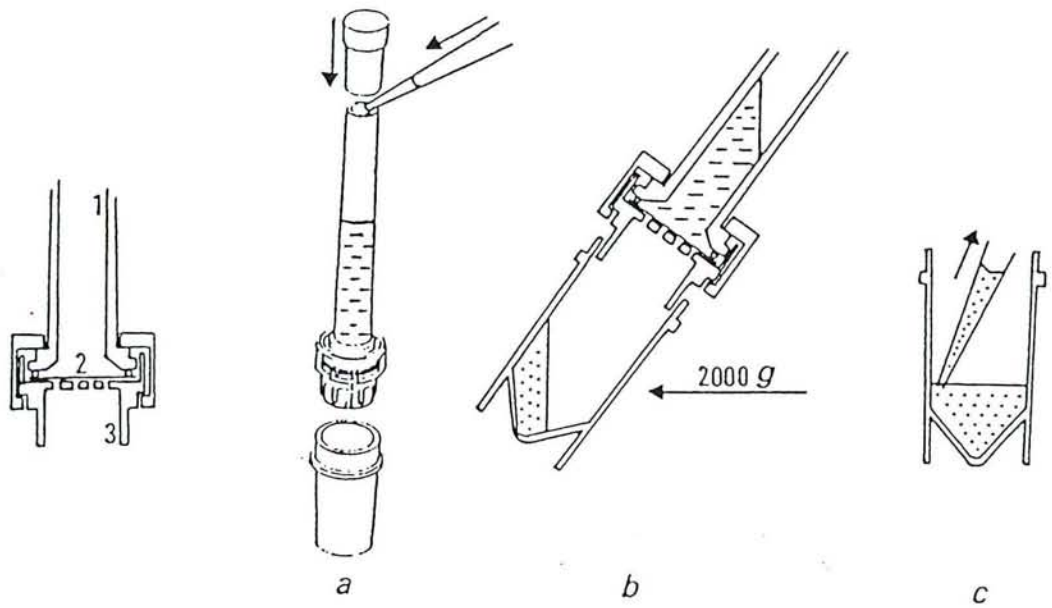


figure 5 : dispositif d'ultrafiltration (35)

détail de la cellule :

- 1-réservoir
- 2-membrane ultrafiltrante
- 3-support

Procédure

- a-remplissage
- b-ultrafiltration
- c-récupération

4.2.2.3. *Protocole expérimental*

2 ml de plasma surchargés en médicament (100 µl de ce plasma seront prélevés afin de déterminer la concentration totale en disopyramide à t=0) sont introduits dans un tube rodé de 10 ml et placés 30 minutes au bain marie à 37 °C (temps nécessaire pour assurer un équilibre entre la fraction de médicament liée aux protéines plasmatiques et la fraction libre). Après 30 minutes d'incubation, 1ml de ce plasma est introduit, à l'aide d'une pipette, dans le réservoir à échantillon du dispositif.

L'ensemble du dispositif est mis à centrifuger, à 2000 g, pendant 10 minutes, à 3° C.

100 µl de l'ultrafiltrat seront prélevés et la concentration libre en médicament dosée.

II.4.3. Résultats

4.3.1. Dosage du disopyramide par chromatographie en phase liquide

Dans ces conditions opératoires, les temps de rétention du disopyramide et de son étalon interne, sont respectivement 4,69 et 6,29 minutes. Des exemples de chromatogrammes obtenus à partir de plasma, de tampon ou de sang total blancs et surchargés (étalon interne, disopyramide) sont présentés figure 6. L'ajout du métabolite à la matrice nous permet de montrer l'absence d'interférence entre le pic du disopyramide et de son métabolite.

Les courbes d'étalonnage sur plasma, tampon et sang total sont linéaires sur une gamme large de concentrations (5 à 25 µg/ml; fig 7).

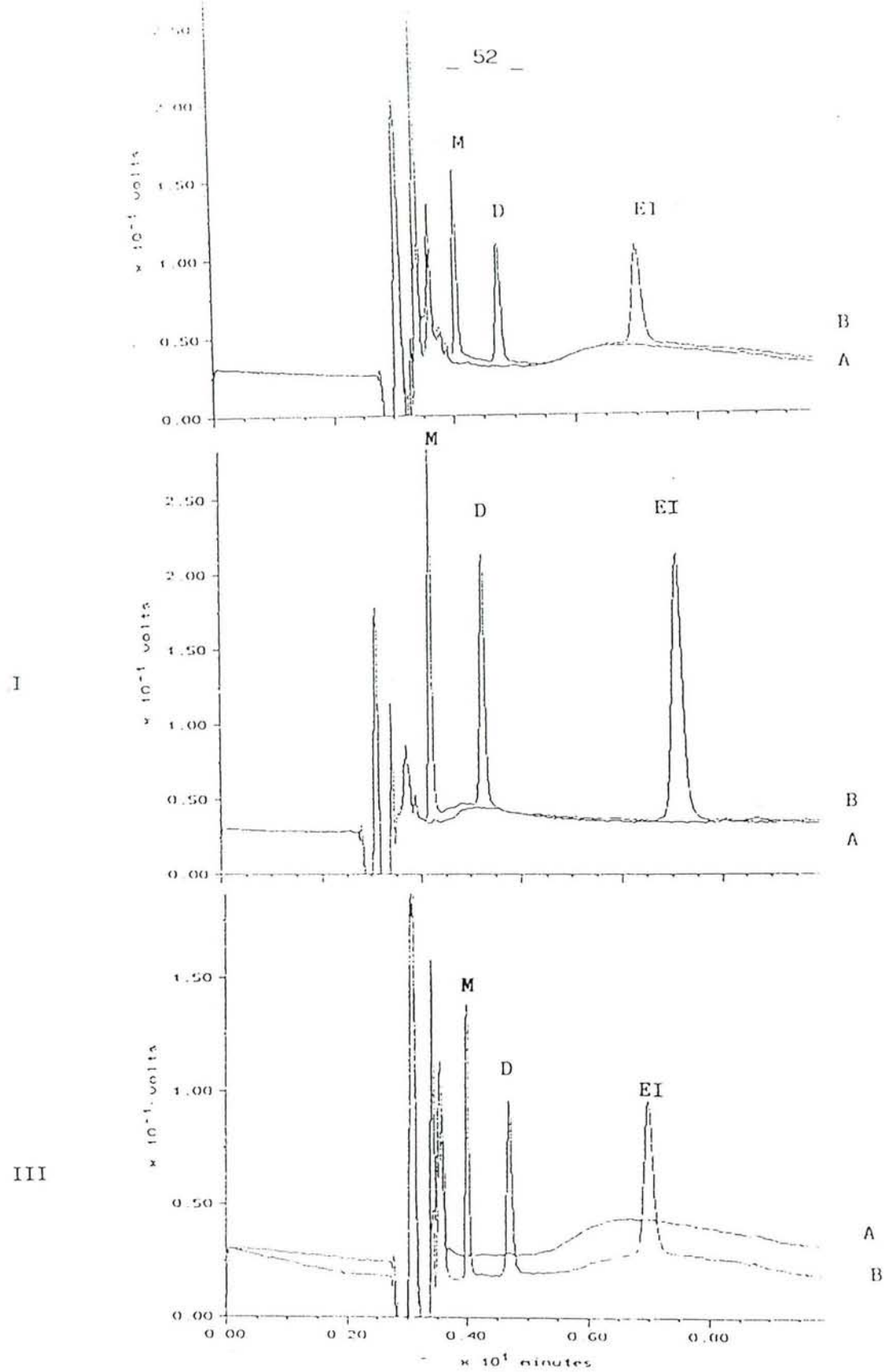


figure 6 : Exemples de chromatogrammes obtenus respectivement à partir de tampon (I), de plasma (II), et de sang total (III).
 , blanc; B, plasma surchargé en disopyramide (D), en étalon interne (EI) et en étabilite (M).

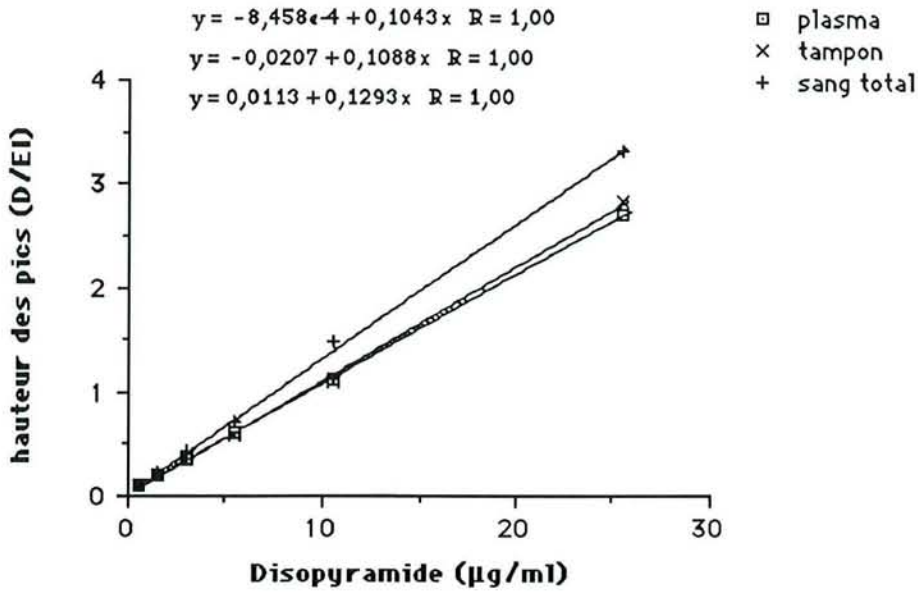


figure 7 : Exemple de courbes d'étalonnage sur plasma, tampon et sang total.

légende : D/EI, disopyramide/étalon interne

Le choix de la molarité du carbonate de sodium et la valeur du pH du surnageant dans les limites de 7,5-8 correspond à l'obtention d'une surface maximale des pics du disopyramide et de son étalon interne (figure 8).

La précision de la méthode a été évaluée à l'aide de 3 pools de plasma, tampon et sang total surchargés en disopyramide. La répétabilité réalisée en analysant 12 fois chacun des 3 pools dans la même série a des coefficients de variation compris entre 0,86 et 5,24 %. La reproductibilité déterminée en analysant ces mêmes 3 pools 12 fois au cours d'analyses différentes a des coefficients de variation compris entre 0,82 et 5,78 %. Les coefficients de variation sont donc inférieurs à 6 % et permettent de conclure à une reproductibilité satisfaisante de la méthode de dosage (Tableau II a et b).

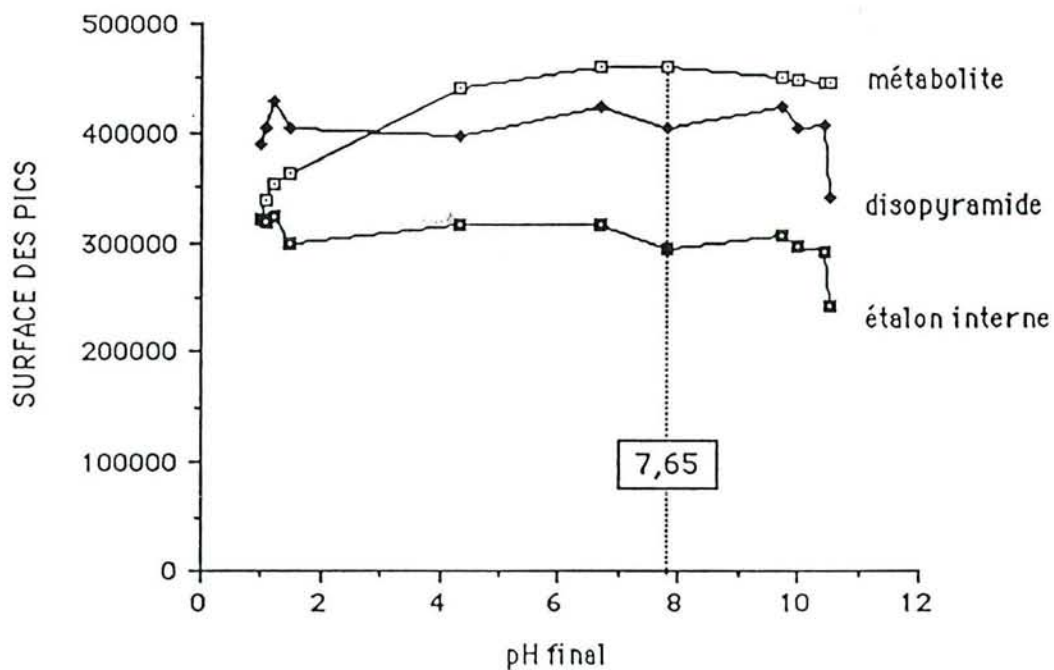
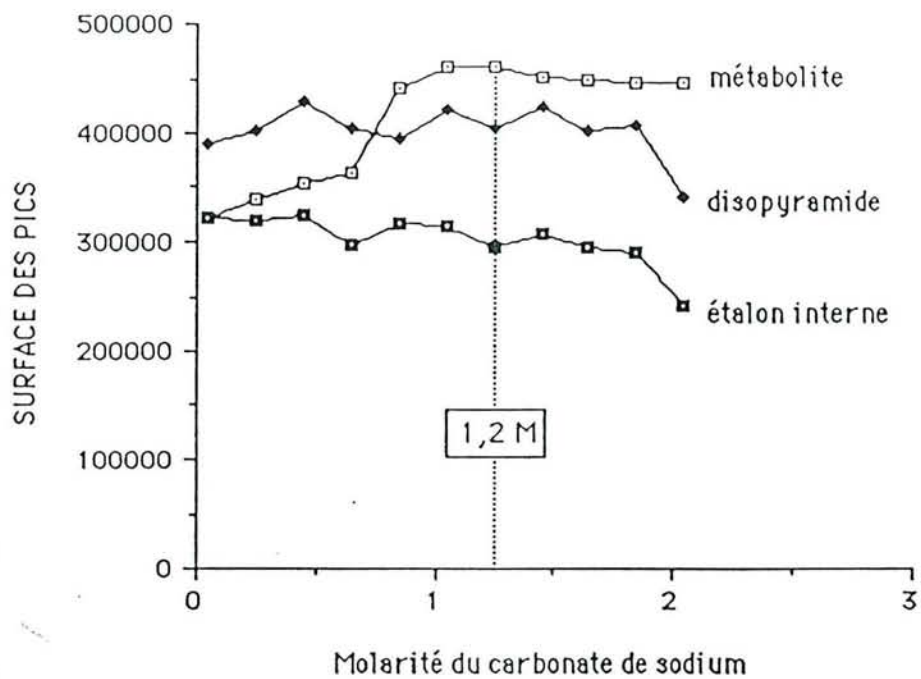


figure 8 : Choix de la molarité du carbonate de sodium et la valeur du pH surnageant.

Tableau II a - Répétabilité de la méthode de dosage du disopyramide
(n = 12)

	CONCENTRATION ($\mu\text{g/ml}$)		
	faible	moyenne	forte
PLASMA			
moyenne	1,74	6,55	13,2
extrêmes	(1,70-1,75)	(6,60-6,45)	(12,95-13,50)
écart type	0,03	0,06	0,18
CV (%)	1,78	1,01	1,40
TAMPON			
moyenne	1,74	6,48	13,85
extrêmes	(1,72-1,77)	(6,29-6,73)	(13,6-14,03)
écart type	0,02	0,12	0,11
CV (%)	0,99	1,85	0,86
SANG TOTAL			
moyenne	1,29	2,50	5,07
extrêmes	(1,18-1,65)	(2,43-2,63)	(5,02-5,40)
écart type	0,07	0,08	0,12
CV (%)	5,24	3,32	2,45

Tableau II b - Reproductibilité de la méthode de dosage du disopyramide

(n = 12)

	CONCENTRATION (µg/ml)		
	faible	moyenne	forte
PLASMA			
moyenne	1,89	6,49	12,86
extrêmes	(1,86-1,95)	(6,26-6,65)	(12,6-13,25)
écart type	0,03	0,14	0,18
CV (%)	1,54	2,13	1,70
TAMPON			
moyenne	1,84	6,55	13,45
extrêmes	(1,76-1,95)	(6,36-6,71)	(13,03-13,65)
écart type	0,03	0,08	0,11
CV (%)	1,59	1,22	0,82
SANG TOTAL			
moyenne	1,35	2,61	5,25
extrêmes	(1,09-1,53)	(2,34-2,76)	(5,09-5,55)
écart type	0,08	0,12	0,26
CV (%)	5,78	4,41	4,95

En conclusion, la méthode de dosage proposée est précise, sensible et reproductible. Elle a l'avantage d'être rapide et de se prêter à une automatisation. Le temps de préparation d'un échantillon, son analyse chromatographique sont inférieurs à 30 minutes. De plus, l'utilisation d'une comutation automatique de colonne et d'un système d'intégration des pics, nous a permis de traiter plus rapidement un grand nombre d'échantillons.

4.3.2. Détermination des taux plasmatiques libres et liés par ultrafiltration

4.3.2.1. Résultats de l'étude de l'adsorption sur membrane MPS-1 (Amicon)

L'adsorption de la membrane est testée en mesurant 6 fois la concentration en disopyramide de l'ultrafiltrat obtenu, à partir d'un tampon pH 7,4, surchargé à 1 µg/ml et 5 µg/ml.

Les membranes utilisées n'entraînent pas de phénomène d'adsorption. En effet, le pourcentage moyen de récupération du disopyramide dans l'ultrafiltrat est voisin de 100 % pour des concentrations de 1 à 5 µg/ml (Tableau II c).

Tableau II c : Pourcentage moyen de récupération du disopyramide après ultrafiltration sur membrane Amicon (n = 12)

Concentration dans le tampon (µg/ml)	Pourcentage moyen de disopyramide récupéré dans l'ultrafiltrat (± écart type)
5	101,3 ±0,6
1	102,5 ±8,7

4.3.2.2. Résultats de l'étude de la reproductibilité de la méthode d'ultrafiltration

La reproductibilité de la méthode d'ultrafiltration a été évaluée à l'aide d'un pool de plasma frais humain chargé à 5,6 µg/ml en disopyramide, incubé à 37 °C, pendant 30 minutes et fractionné en 12 aliquots.

La reproductibilité de la méthode d'ultrafiltration a un coefficient de variation de 1,75 % ($\bar{X} = 0,57 \mu\text{g/ml} \pm 0,01; 0,56-0,58$) et nous apparaît satisfaisante.

4.3.2.3. Résultats de la détermination des taux plasmatiques libres et liés du disopyramide

La concentration totale dans le plasma au temps $t=0$, ainsi que la concentration libre plasmatique sont déterminées expérimentalement.

La concentration liée aux protéines plasmatiques est calculée en soustrayant de la concentration totale plasmatique la concentration en forme libre.

Les valeurs obtenues, pour différentes concentrations en médicament dans le plasma sont regroupées dans le tableau II d.

La liaison aux protéines plasmatiques est concentration dépendante et saturable dans le domaine des concentrations étudiées; un plateau de saturation est obtenu pour des concentrations totales voisines de 10 µg/ml. La fraction libre varie de 0,20 à 0,90 pour des concentrations totales en disopyramide comprises entre 0,80 à 10 µg/ml, puis se stabilise (fig 9).

Tableau II.d.: Variation de la fraction libre plasmatique en fonction de la concentration en disopyramide.

échantillon	concentration totale ($\mu\text{g/ml}$)	fraction libre f
1	0,80	0,20
2	1,75	0,29
3	1,90	0,26
4	2,35	0,34
5	2,40	0,37
6	2,90	0,45
7	3,20	0,40
8	3,90	0,47
9	4,20	0,49
10	5,00	0,52
11	5,20	0,57
12	5,40	0,58
13	6,20	0,78
14	6,40	0,77
15	7,30	0,88
16	9,60	0,89
17	10,10	0,88
18	14,60	0,87
19	28,20	0,89
20	38,70	0,90
21	40,60	0,90

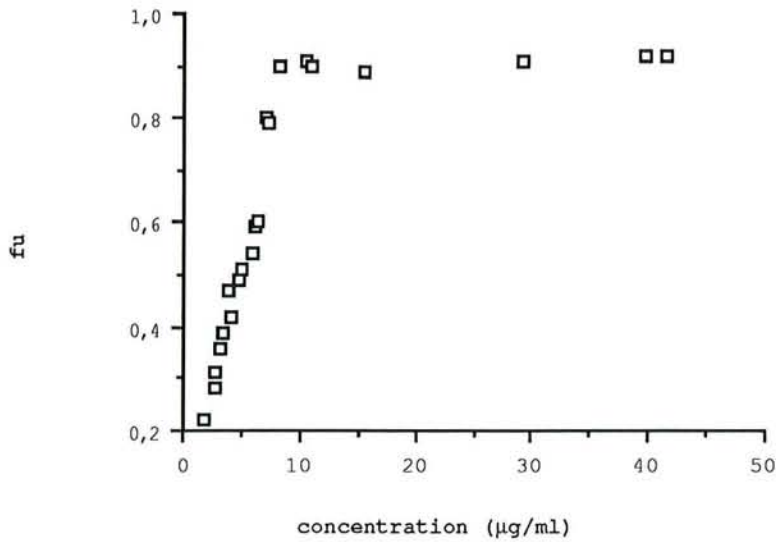


figure 9 : Evolution de la fraction libre plasmatique de disopyramide mesurée par ultrafiltration en fonction de la concentration totale plasmatique.

En conclusion, cette méthode a l'avantage d'être rapide, précise et reproductible. Elle ne nécessite l'achat d'aucun matériel lourd et requiert un petit volume d'échantillon (soit 1 ml au maximum).

Cette procédure permet d'étudier, *in vitro*, la liaison du disopyramide en chargeant un plasma frais humain avec des concentrations connues du ligand (de 0,5 à 41 µg/ml) et permettra de comparer la fraction libre ainsi obtenue à celle calculée lors de la méthode d'incubation développée en troisième partie de notre étude.

III ème partie : ETUDE IN VITRO DE LA REPARTITION DU DISOPYRAMIDE ENTRE GLOBULES ROUGES ET PLASMA

III.1. INTRODUCTION

III.2. METHODE D'ETUDE DE LA DISTRIBUTION IN VITRO DU
DISOPYRAMIDE DANS LES GLOBULES ROUGES

III.3. ANALYSE DES RESULTATS

III.4. ANALYSE STATISTIQUE

III.5. RESULTATS ET DISCUSSION

III.6. CONCLUSION

ETUDE IN VITRO DE LA REPARTITION DU DISOPYRAMIDE ENTRE GLOBULES ROUGES ET PLASMA

III.1. INTRODUCTION

Lors de son passage dans la circulation générale, le médicament se répartit entre les différents constituants du sang, en particulier, le plasma et les globules rouges. Un équilibre s'établit plus ou moins rapidement.

Le modèle schématique de la distribution in vitro d'un médicament dans le sang est un modèle fermé à deux compartiments non équivalents. Le compartiment I représente soit le plasma, soit le tampon isotonique. Le compartiment II représente les globules rouges. La membrane du globule rouge sépare les deux compartiments.

Une quantité d de principe actif est introduite dans le compartiment I. Des échanges réversibles s'effectuent entre les deux compartiments (figure 10).

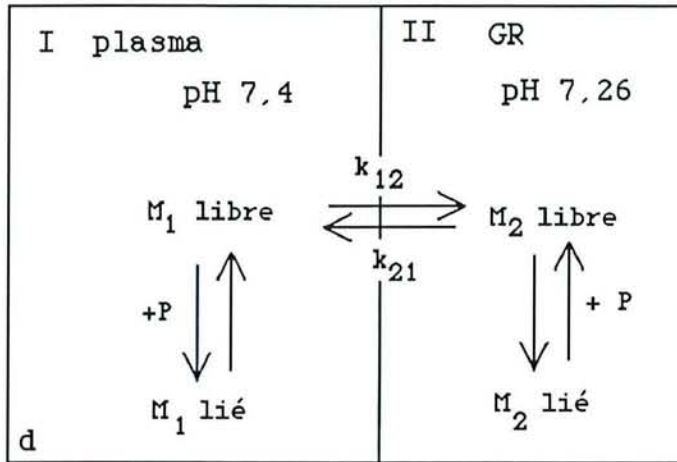


figure 10 : distribution du médicament entre le plasma et les globules rouges.

légende : M_1 , représente le médicament dans le compartiment I; M_2 , le médicament dans le compartiment II et P, les protéines.

L'étude de la cinétique du passage d'un médicament d'un compartiment à l'autre, se fait en suivant l'évolution dans le temps de la quantité de médicament dans le compartiment I.

Si on prend l'hypothèse, d'un échange entre les compartiments par diffusion passive, l'intensité du passage d'un médicament dépend de plusieurs facteurs dont : sa constante d'ionisation, son coefficient de partage, sa fixation protéique (12, 76, 78).

Seule, la fraction non ionisée d'un médicament peut traverser la membrane par diffusion passive. La proportion de la forme non ionisée d'une molécule est fonction de son pKa et du pH du milieu, où elle se trouve (17, 46, 62).

A l'équilibre, la concentration en médicament non ionisé, seule diffusible, sera égale de part et d'autre de la membrane, mais par suite de la différence de pH, les fractions ionisées seront différentes.

Dans le cas d'une base faible, il y aura accumulation dans le milieu où le pH est le plus faible (A pH faible, une base se trouve en majorité sous sa forme ionisée).

Pour un acide, c'est le phénomène inverse.

L'étude in vitro du passage du disopyramide dans les globules rouges, sera effectuée par la méthode d'incubation.

III.2.METHODE D'ETUDE DE LA DISTRIBUTION IN VITRO DU DISOPYRAMIDE

L'étude in vitro, du passage à travers la membrane érythrocytaire du disopyramide, base faible, a été réalisée sur du sang humain, par la méthode d'incubation adaptée de Wallace et Riegelman (89).

L'étude a été réalisée uniquement sur du sang humain, car Soebito-Saleh (81) a montré une variabilité interespèce de la distribution in vitro de la vincamine dans les globules rouges humains, de chien et de boeuf, avec des coefficients de distribution respectivement de 2,30; 2,52 et 1,30.

Dans un premier temps, le passage du médicament d'une solution de tampon isotonique vers les globules rouges puis du plasma vers les globules a été étudié. L'étude en sens inverse a été également effectuée.

III.2.1.Méthodologie

2.1.1.Sang

Le sang provient de donneurs sains. L'absence de composé exogène dans ces prélèvements a été confirmé par HPLC.

2.1.2.Matériels

Comme matériels courants de laboratoire, nous avons utilisé :

- une centrifugeuse Jouan E96 (Searle),
- une microcentrifugeuse pour hématocrite Sigma 88494 Bioblock Scientific,
- un bain-marie agitateur électrique Salvis SBK 25D; la température d'utilisation est comprise entre 10°C et 100°C,
- un agitateur vibrant Heidolph Top Mix 94323 Bioblock Scientific,
- des tubes à microhématocrite héparinés (7,5 mm x 1,1 mm-0,20 mm) Bioblock Scientific,
- des tubes pyrex rodés à fond rond de 25 ml,
- des tubes pyrex rodés à fond rond de 10 ml.

2.1.3.Produits chimiques

Les chlorures de sodium et de potassium (NaCl, KCl), le glucose (C₆H₁₂O₆), les phosphates de sodium (Na₂HPO₄, NaH₂PO₄) et le carbonate de sodium (NaHCO₃), sont tous des produits Merck, de qualité analytique.

2.1.4. Etude successive de différents tampons isotoniques pH 7,4

Le lavage des globules rouges s'effectue à l'aide d'une solution de NaCl à 8,5 g/l.

Nous avons testé différents tampons isotoniques pH 7,4 (conditions voisines des conditions physiologiques), utilisés pour la remise en suspension des globules rouges.

Tampon 1 selon Kurata (60)

-K₂HPO₄ (1 M)

-KH₂PO₄ (1 M)

-NaCl (1,54 M)

Tampon 2 selon Woo (90)

-K₂HPO₄ (103 mM)

-KH₂PO₄ (15 mM)

-NaCl (34 mM)

Tampon 3 selon Isaacs (50)

-Na₂HPO₄ (7,2 mM)

-KH₂PO₄ (1,8 mM)

-MgCl₂ (5 mM)

-NaCl (8,8 mM)

-KCl (130 mM)

Tampon 4 selon Tillement (82)

- NaCl (115 mM)
- KCl (5,4 mM)
- CaCl₂ (1,8 mM)
- MgCl₂ (0,8 mM)
- glucose (5mM)
- HEPES (25 mM)

Tampon 5 selon Green (38)

- Na₂HPO₄ (23 mM)
- NaH₂PO₄ (1,59 mM)
- NaHCO₃ (24 mM)
- NaCl (104 mM)
- KCl (5 mM)
- glucose (9,4 mM)

2.1.5. Protocole expérimental

Pour chaque équilibre de distribution réalisé avec du sang total, ou du sang reconstitué, l'hématocrite est mesuré. La concentration en disopyramide, dans le tampon isotonique pH 7,4 ou le plasma, est déterminée expérimentalement par HPLC.

La méthode d'incubation est réalisée à 37° C

L'étude de la distribution du médicament dans les globules rouges se fait sur une période de temps de 0 à 20 minutes.

La répartition du médicament, entre le tampon ou le plasma et les globules rouges, a été effectuée sur une gamme large de concentrations comprise entre 0,7 et 27 µg/ml de milieu reconstitué.

Lors de l'étude du passage du médicament des globules rouges vers le plasma ou le tampon (fonction du travail effectué), une surcharge préalable des globules rouges est effectuée.

2.1.5.1. Répartition du médicament entre les globules rouges et le tampon isotonique

a- Préparation du sang reconstitué utilisé lors de l'étude du passage du médicament entre le tampon et les globules rouges

4 ml de sang, d'hématocrite (H_{ST}), sont introduits dans un tube rodé de 25 ml et centrifugé 10 min à 2500 g; le plasma est éliminé.

Les érythrocytes sont resuspendus dans 10 ml de NaCl (8,5 g/l).

La suspension de globules rouges est centrifugée 10 min à 2500 g. Les globules rouges sont ainsi lavés trois fois.

Au dernier lavage, le NaCl est remplacé par un volume de tampon isotonique pH 7,4 surchargé en disopyramide, égal au volume de plasma de départ. 100 µl de ce tampon sont immédiatement prélevés afin de doser le médicament dans le tampon au temps 0.

Ces différentes étapes de manipulation sont schématisées figure 11.

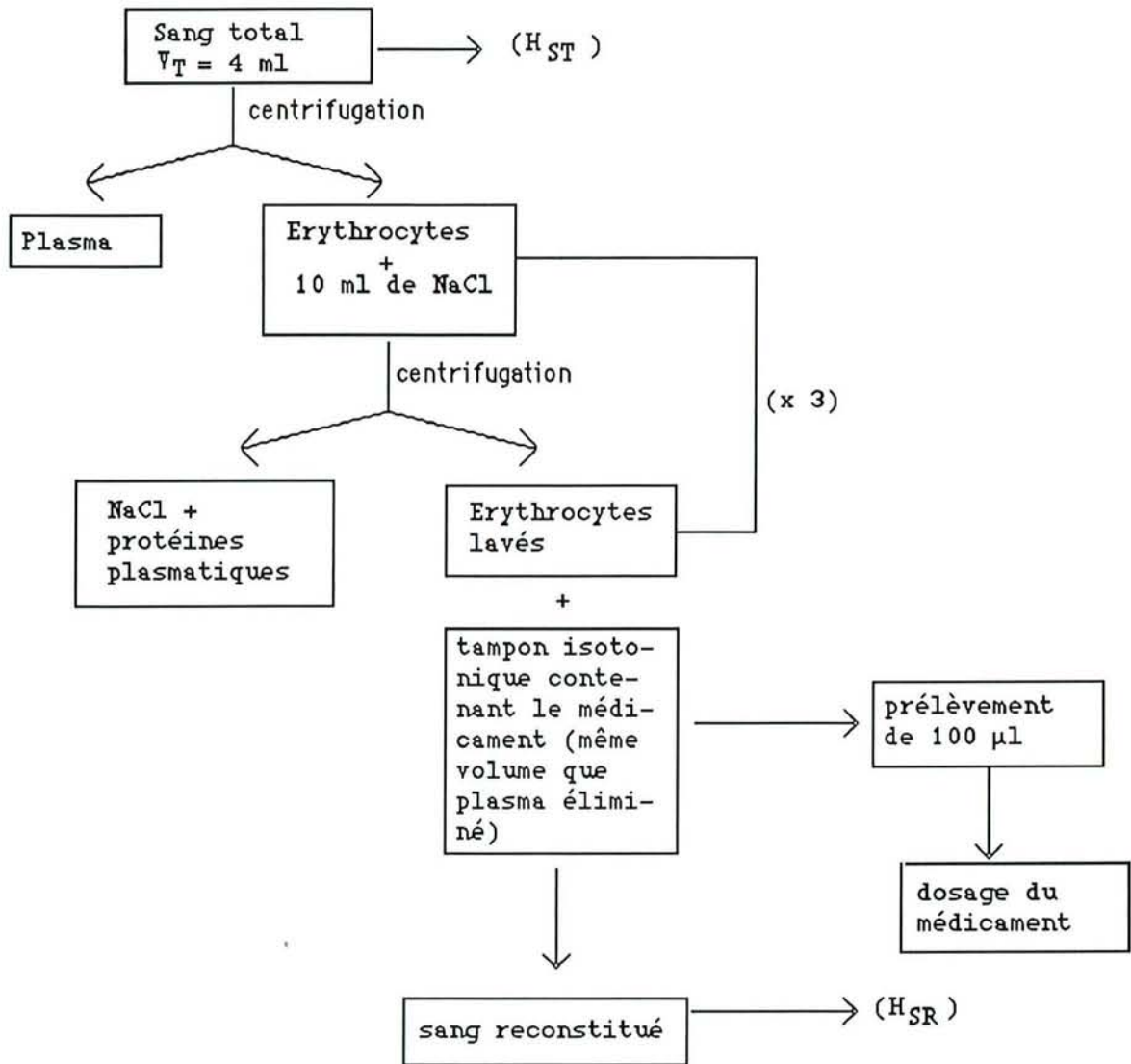


figure 11 : Préparation du sang reconstitué utilisé lors de l'étude du passage du médicament entre le tampon et les globules rouges.

(V_T , volume total; H_{ST} , hématocrite du sang total; H_{SR} , hématocrite du sang reconstitué)

b- Passage du médicament du tampon vers les globules rouges

Ce sang reconstitué obtenu comme décrit précédemment dans le paragraphe "a", surchargé en médicament et d'hématocrite (H_{SR}), est placé au bain-marie à 37° C sous agitation constante.

0,4 ml de la suspension de globules rouges sont prélevés aux temps 0; 0,5; 2; 4; 6; 8; 10; 20 minutes.

Les échantillons sont immédiatement centrifugés et le tampon séparé. Le médicament dans le tampon est alors dosé.

Les différentes étapes de manipulation sont schématisées figure 12.

c- Passage du médicament des globules rouges vers le tampon

Le sang reconstitué obtenu comme décrit précédemment dans le paragraphe "a" et surchargé en médicament, est incubé 20 minutes à 37°C, sous agitation constante, puis centrifugé pour éliminer le tampon. 100 µl du tampon sont prélevés et la concentration de médicament restant après incubation dosée. Les globules rouges alors surchargés sont resuspendus dans un volume de tampon frais égal au volume de départ.

Ce sang reconstitué, d'hématocrite (H_{SR})' est placé au bain-marie sous agitation.

0,4 ml de ce sang sont prélevés aux temps 0; 0,5; 2; 4; 6; 8; 10; 20 minutes. Les échantillons sont immédiatement centrifugés et le tampon séparé. Le médicament est alors dosé dans le tampon.

Les différentes étapes de manipulation sont schématisées figure 13.

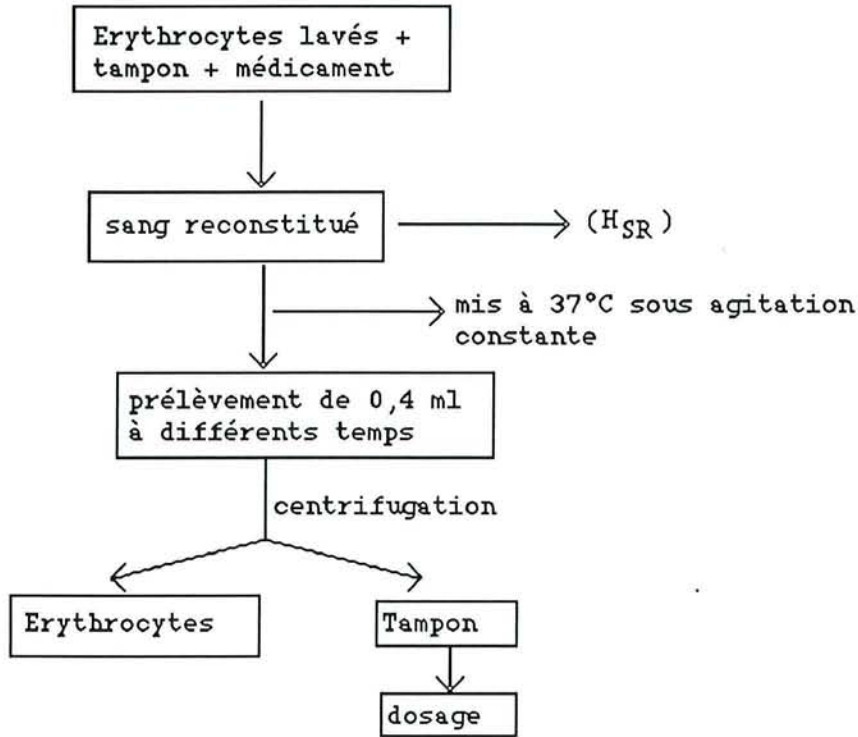


figure 12 : Passge du médicament du tampon isotonique vers les globules rouges.

(H_{SR}, hémocrite du sang reconstitué)

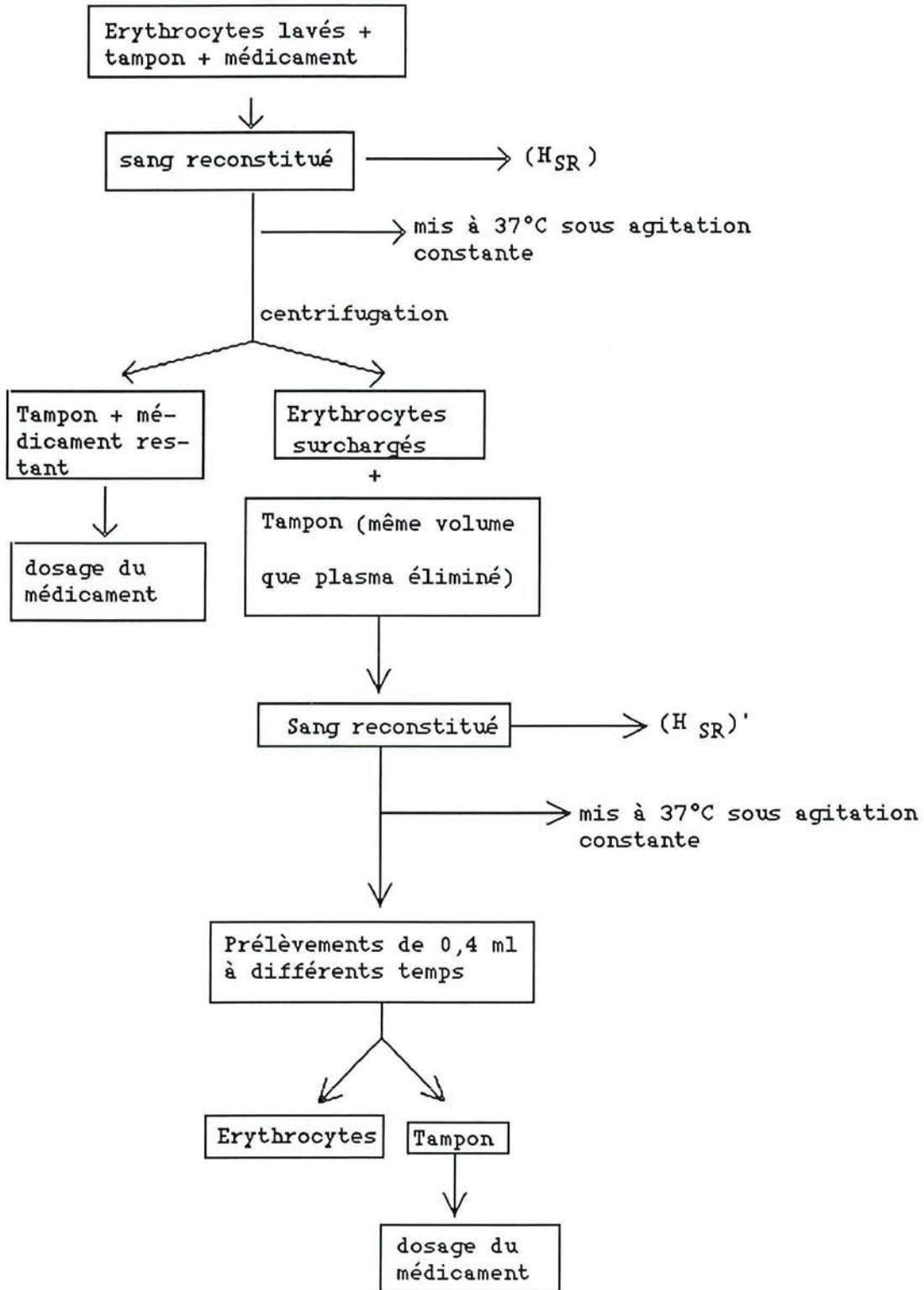


figure 13 : Passage du médicament des globules rouges vers le tampon isotonique.

(H_{SR}, hématocrite du sang reconstitué)

2.1.5.2. Répartition du médicament entre les globules rouges et le plasma

a- Préparation du sang reconstitué utilisé lors de l'étude du passage du médicament entre le plasma et les globules rouges

4 ml de sang, d'hématocrite (H_{ST}) sont introduits dans un tube rodé de 25 ml, centrifugé 10 min à 2500 g; le plasma est séparé et mis dans un tube.

10 µl de la solution de médicament lui sont ajoutés. 100 µl de ce plasma sont immédiatement prélevés, afin de doser la concentration en médicament au temps 0.

Le plasma est placé au bain-marie, pendant 30 minutes (Il se forme un équilibre entre la fraction de médicament liée aux protéines plasmatiques et la fraction libre). Le sang est alors reconstitué.

Les différentes étapes de la manipulation sont schématisées figure 14.

b- Passage du médicament du plasma vers les globules rouges

Ce sang reconstitué obtenu comme décrit précédemment dans le paragraphe "a", surchargé en médicament et d'hématocrite (H_{SR}) est mis immédiatement, au bain marie à 37° C, sous agitation constante.

0,4 ml de sang sont prélevés aux temps 0; 0,5; 2; 4; 6; 8; 10; 20 minutes.

Les échantillons sont immédiatement centrifugés et le plasma séparé. Le médicament dans le plasma est alors dosé.

Les différentes étapes de la manipulation sont schématisées figure 15.

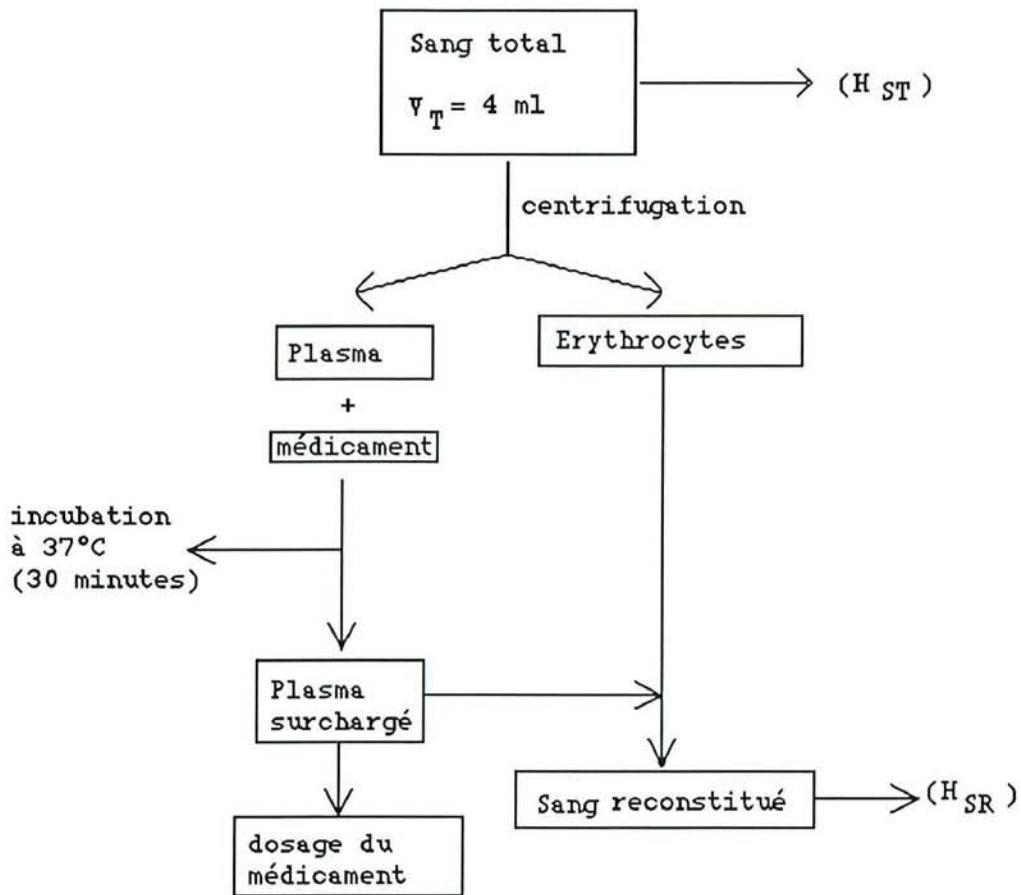


figure 14 : Préparation du sang reconstitué utilisé lors de l'étude du passage du médicament entre le plasma et les globules rouges
(V_T , volume total; H_{ST} , hématoците du sang total; H_{SR} , hématoците du sang reconstitué)

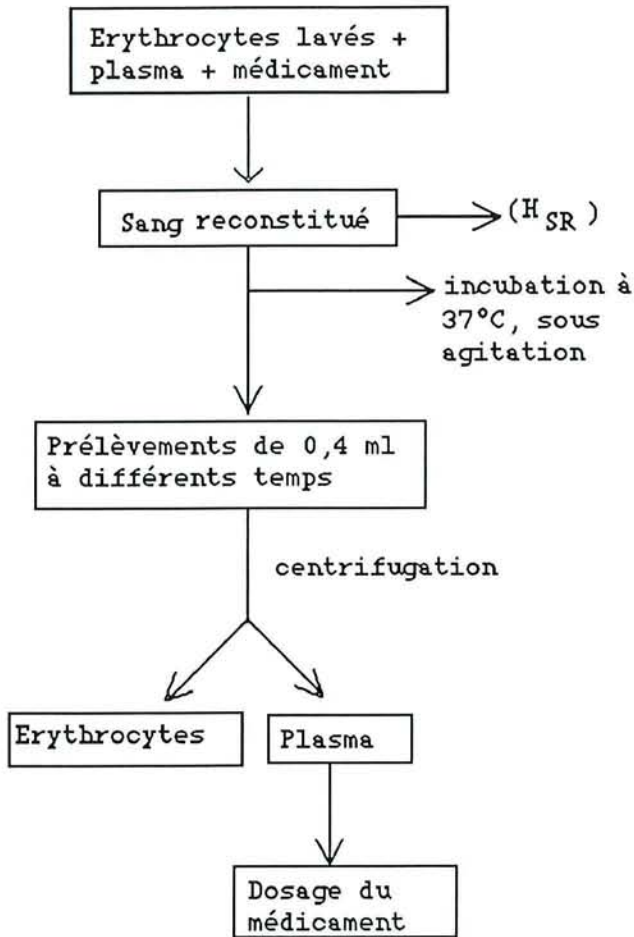


figure 15 : Passage du médicament du plasma vers les globules rouges.

(H_{SR}, hématicrite du sang reconstitué)

c- Passage du médicament des globules rouges vers le plasma

Après 20 min d'incubation, le sang reconstitué obtenu comme décrit précédemment dans le paragraphe "a", surchargé en médicament, est centrifugé pour éliminer le plasma. 100 μ l du plasma sont prélevés et la concentration de médicament restant après incubation dosée.

Les globules rouges alors surchargés, sont resuspendus dans un volume de plasma frais, égal au volume de départ. Ce sang reconstitué d'hématocrite (H_{SR}) est placé au bain-marie sous agitation. 0,4 ml de sang sont prélevés aux temps 0; 0,5; 2; 4; 6; 8; 10; 20 minutes.

Les échantillons sont immédiatement centrifugés et le plasma séparé. Le principe actif est alors dosé dans le plasma.

Les différentes étapes de manipulation sont schématisées figure 16.

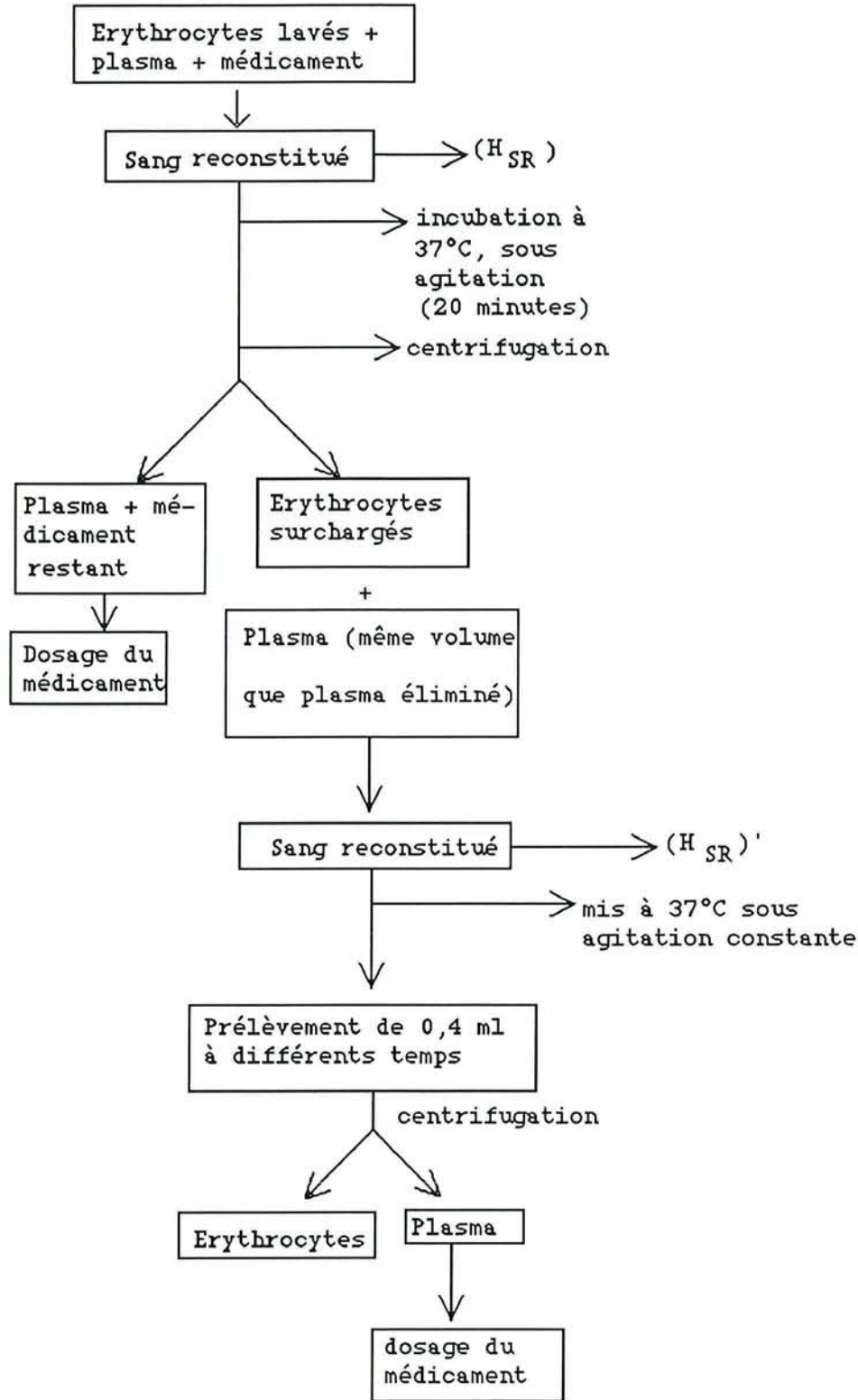


figure 16 : Passage du médicament des globules rouges vers le plasma.

(H_{SR}, hémocrite du sang reconstitué)

III.3. ANALYSE DES RESULTATS

L'étude de l'évolution du système dans le temps, ou en fonction de la quantité de disopyramide qui est initialement introduite se fait en suivant les variations de concentration dans le tampon ou le plasma.

-Le temps nécessaire à l'obtention de l'équilibre des concentrations entre le tampon ou le plasma et les globules rouges est mesuré à partir des valeurs expérimentales.

Les méthodes de calcul sont développées dans la première partie de ce mémoire.

-La concentration dans les globules rouges (C_{gr}), les coefficients de distribution réel et apparent (D réel et $D_{apparent}$), la fraction libre plasmatique (f) sont calculés à l'aide des équations développées par Garrett (30, 31).

$$C_{gr} = \frac{(C_{po} - C_p)(1-H)}{H}$$

$$D_{réel} = \frac{C_{gr}}{C_p(1-f)}$$

$$D_{apparent} = \frac{C_{gr}}{C_p}$$

$$f = \frac{D \text{ apparent}}{D \text{ réel}}$$

où C_p représente la concentration plasmatique à l'instant $t=0$; C_p , la concentration plasmatique à l'instant t .

Les valeurs de la fraction libre plasmatique ainsi calculées, seront alors comparées à celles obtenues de façon directe par une méthode d'ultrafiltration.

-A l'équilibre de distribution, les concentrations libres non ionisées de part et d'autre de la membrane du globule rouge sont égales si on admet que seules les formes non ionisées libres sont transférables (45).

La concentration globulaire libre de disopyramide est alors calculée à l'aide de l'équation de distribution d'une base entre deux milieux séparés par une membrane (76, 78). Le rapport entre les concentrations en disopyramide dans l'eau globulaire (pH 7,26) et dans le tampon de pH 7,4, calculé pour le disopyramide (pK_a 8,34) est égal à 1,34, soit :

$$\frac{C_{gr \text{ libre}}}{C_{p \text{ libre}}} = 1,34$$

La fraction libre globulaire (f') est alors le rapport des concentrations globulaires libres et totales.

$$f' = \frac{C_{gr \text{ libre}}}{C_{gr \text{ totale}}}$$

III.4. ANALYSE STATISTIQUE

Les paramètres de la cinétique de passage érythrocytaire du disopyramide, déterminés après analyse des données du tampon ou du plasma, sont comparés par régression linéaire (calcul du coefficient de corrélation).

Si p est inférieur à 5%, la relation entre les deux paramètres est linéaire.

Afin de valider le tampon isotonique pH 7,4 substitué au plasma lors de l'étude du coefficient de distribution réel, les coefficients de distribution réels moyens obtenus dans les différents sens de passage sont comparés à l'aide du test t de Student pour observations non appariées. Si p est supérieur à 5%, les moyennes ne diffèrent pas significativement à 5%.

III.5. RESULTATS et DISCUSSION

III.5.1. Choix du tampon d'incubation

Les tampons 1, 2, composés de phosphate de potassium et de chlorure de sodium en proportions variables, de même que les tampons 3 et 4, contenant également du chlorure de potassium et de magnésium ainsi que de calcium et de l'HEPES pour le tampon 4 n'ont pas été retenus, car nous avons observé un trop important phénomène d'hémolyse.

En effet, les hématies sont extrêmement sensibles aux variations d'électrolytes, de pression osmotique, des tampons dans lesquels elles sont en suspension.

Le tampon 5, constitué de chlorure de sodium, de potassium, de même que de glucose et de phosphate de sodium, sera employé tout au long de notre travail.

III.5.2. Reproductibilité de la méthode d'incubation dans les différents sens de passage

La reproductibilité de la méthode d'incubation a été évaluée en traitant 8 ml de sang selon les procédures décrites précédemment pour les différents sens de passage et en les répartissant par fractions de 1 ml dans 8 tubes rodés de 10 ml. Placés au bain marie à 37°C, sous agitation constante pendant 20 minutes, 0,4 ml de sang sont alors prélevés dans chacun des 8 tubes. Les échantillons sont immédiatement centrifugés et le tampon ou plasma séparés. Le médicament est alors dosé dans le tampon ou le plasma.

La reproductibilité de la méthode d'incubation a été étudiée pour 3 niveaux de concentrations comprises entre 5 et 20 µg/ml de disopyramide dans le plasma ou le tampon. Connaissant le pourcentage moyen théorique de la fraction liée aux protéines plasmatiques pour le disopyramide, la surcharge à introduire dans le compartiment de départ est ajustée pour que la concentration libre soit la même quel que soit le passage étudié. L'étude de la reproductibilité de la méthode d'incubation déterminée comme indiqué précédemment, fournit les résultats suivants (Tableau III.1).

Tableau III.1.Reproductibilité de la méthode d'incubation dans les différents sens de passage et pour chaque concentration étudiée (n = 8).

CONCENTRATION DE DISOPYRAMIDE DANS LE TAMPON (µg/ml)
faible *moyenne* *forte*

Passage du disopyramide tampon vers les globules rouges

valeurs théoriques	1,70	4,50	7,10
moyenne	1,68	4,46	7,10
extrêmes	(1,67-1,71)	(4,41-4,49)	(7,04-7,13)
écart type	0,02	0,046	0,085
CV %	1,19	1,03	1,20

Passage du disopyramide des globules rouges vers le tampon

valeurs théoriques	2,80	4,70	7,20
moyenne (µg/ml)	2,78	4,69	7,18
extrêmes	(2,75-2,86)	(4,64-4,73)	(7,12-7,23)
écart type	0,04	0,08	0,18
CV %	1,44	1,63	2,51

CONCENTRATION DE DISOPYRAMIDE DANS LE PLASMA (µg/ml)
faible *moyenne* *forte*

Passage du disopyramide du plasma vers les globules rouges

valeurs théoriques	2,50	4,40	6,60
moyenne (µg/ml)	2,46	4,38	6,62
extrêmes	(2,44-2,48)	(4,35-4,4)	(6,59-6,65)
écart type	0,01	0,08	0,092
CV %	0,41	1,83	1,39

Passage du disopyramide des globules rouges vers le plasma

valeurs théoriques	3,70	5,20	8,00
moyenne (µg/ml)	3,70	5,16	8,01
extrêmes	(3,62-3,74)	(5,12-5,19)	(7,96-8,09)
écart type	0,07	0,10	0,20
CV %	1,89	1,96	2,44

CV, coefficient de variation.

L'imprécision de la méthode inférieure à 3 % permet de conclure à une bonne reproductibilité de la méthode utilisée, quel que soit le passage et la concentration étudiés.

III.5.3. Etude de la répartition du disopyramide entre le tampon ou le plasma et les globules rouges

La répartition du disopyramide entre le tampon ou le plasma et les globules rouges, a été étudiée pour différentes concentrations en médicament.

Une large gamme de concentrations incluant les taux thérapeutiques, a été utilisée, pour mettre en évidence d'éventuels processus de saturation au niveau des sites de fixation des protéines plasmatiques et globulaires.

Afin de faciliter la lecture des résultats, nous avons regroupé en annexe I, les concentrations dans le plasma ou le tampon et dans les globules rouges, pour les différents temps de prélèvement, et ceci dans les différents sens de passage. S'y trouvent également les valeurs moyennes (n=7), à l'équilibre de distribution, des concentrations dans le tampon ou le plasma et les globules rouges, à partir desquelles sont calculés les coefficients de distribution et les fractions libres plasmatique et globulaire.

L'étude de la distribution se fait sur une période de temps de 0 à 20 minutes. Des études réalisées sur des périodes beaucoup plus longues (3 heures), n'ont montré aucune variation du niveau d'équilibre (figure 17).

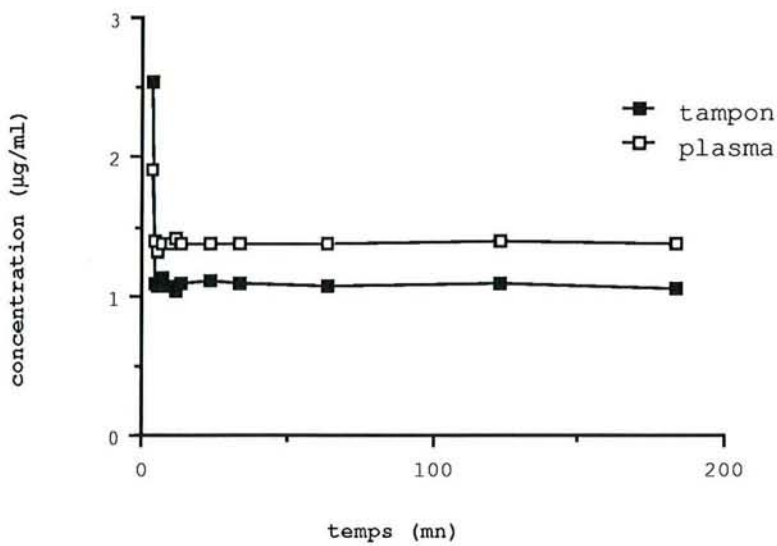


figure 17 : Variation de la concentration dans le tampon ou le plasma du disopyramide en fonction du temps, lors de son passage du tampon ou du plasma vers les globules rouges.

5.3.1. Equilibre de distribution

Les courbes d'évolution des concentrations de disopyramide dans le tampon (figure 18) et le plasma (figure 19) en fonction du temps, montrent que l'équilibre de distribution entre le plasma ou le tampon et les globules rouges est atteint presque instantanément, en moins d'une minute.

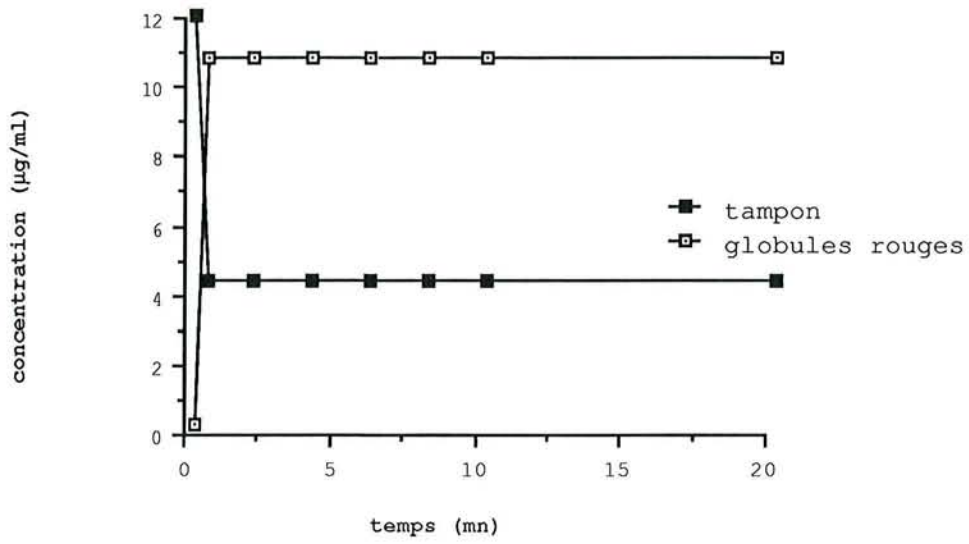


figure 18: Exemple de courbes montrant l'évolution des concentrations en disopyramide dans les deux compartiments en fonction du temps lors de son passage du tampon vers les globules rouges.

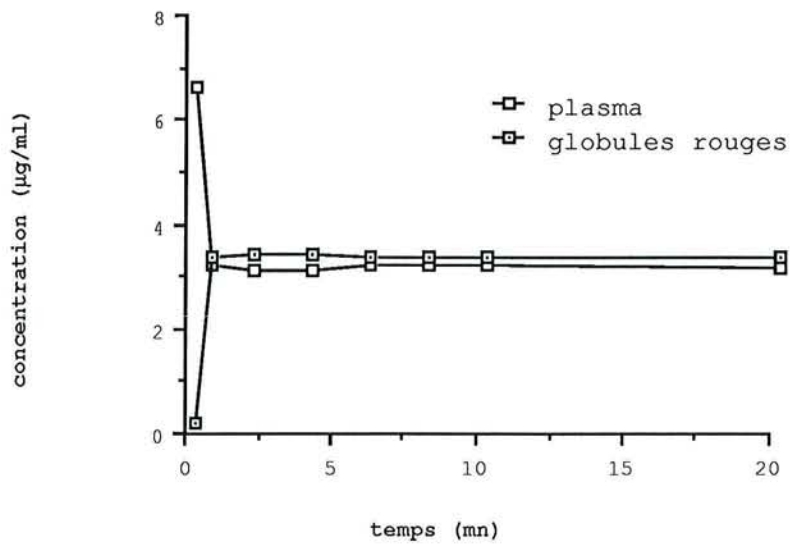


figure 19: Exemple de courbes montrant l'évolution des concentrations en disopyramide dans les deux compartiments en fonction du temps lors de son passage du plasma vers les globules rouges.

Il en est de même pour les passages en sens inverse; le temps d'équilibre est voisin de 0,5 minutes (figure 20 et 21).

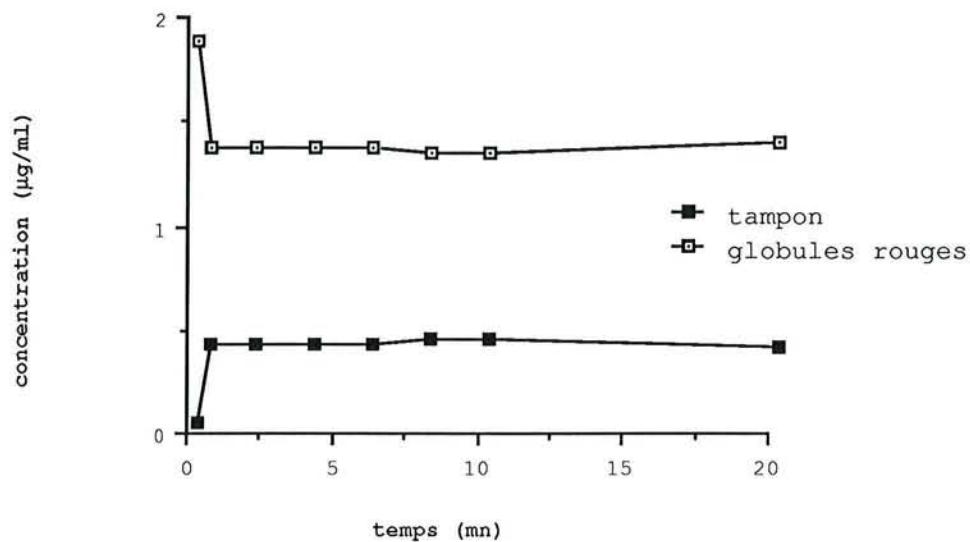


figure 20: Exemple de courbes montrant l'évolution des concentrations en disopyramide dans les deux compartiments en fonction du temps lors de son passage des globules rouges vers le tampon.

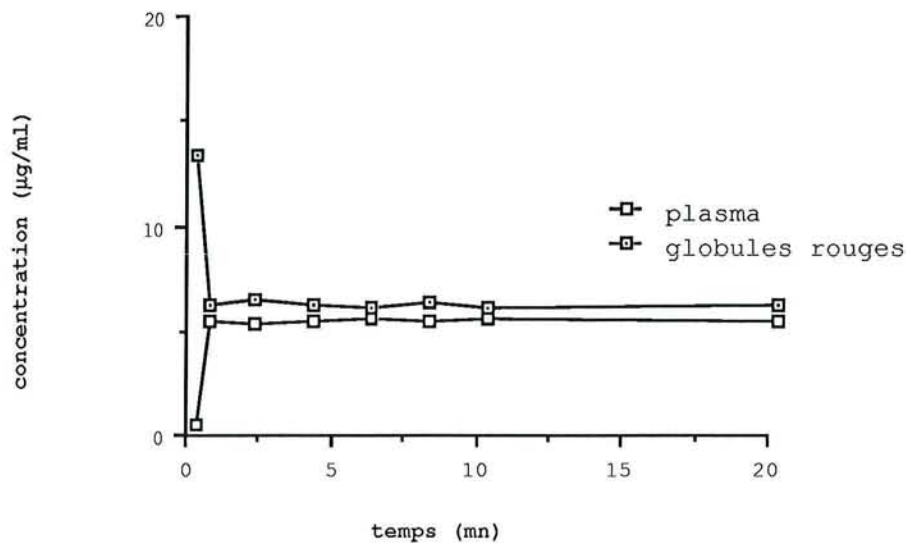


figure 21: Exemple de courbes montrant l'évolution des concentrations en disopyramide dans les deux compartiments en fonction du temps lors de son passage des globules rouges vers le plasma.

La rapidité d'obtention de l'équilibre de distribution du disopyramide entre le tampon ou le plasma et les globules rouges, est fonction du degré de liposolubilité de sa forme non ionisée, donc de son coefficient de partage (75-78).

La détermination du coefficient de partage du disopyramide a été réalisée par agitation d'une phase aqueuse (tampon isotonique pH 7,4 surchargé en médicament à des concentrations comprises entre 4,6 et 23,2 µg/ml) et d'une phase lipophile (octanol), pendant 25 minutes, à température ambiante. Après centrifugation à 2000 tours par minute, pendant 10 minutes, le médicament restant dans la phase aqueuse est dosé. La saturation des deux milieux en eau et octanol avait été réalisée préalablement.

Pour des concentrations initiales en disopyramide dans la phase aqueuse comprises entre 4,6 et 23,2 µg/ml, le coefficient de partage est dans les limites de 1,88 et 2,23 (moy = 2,08 ± 0,12, n=8). Il est indépendant de la concentration dans la gamme étudiée (figure 22).

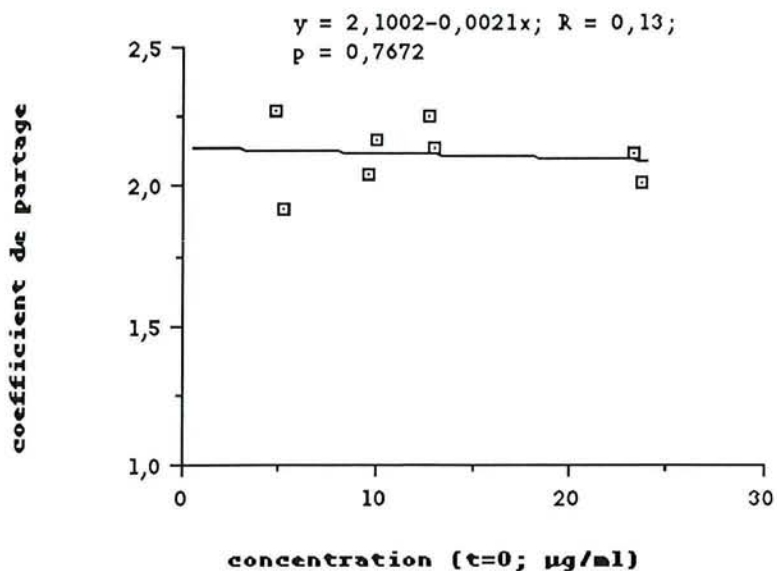


figure 22 : Evolution du coefficient de partage du disopyramide en fonction de sa concentration dans la phase aqueuse au temps 0.

Etudiée sur une période plus longue 120 minutes, à une concentration en disopyramide de départ à 6,5 µg/ml, la distribution du disopyramide entre l'octanol et le tampon surchargé n'a montré aucune variation du coefficient de partage (moy = 2,11 ± 0,02; n = 9; 2,06-2,15; cv = 0,95%).

Le coefficient de partage du disopyramide à 2,08 permet d'expliquer en partie, l'obtention d'un temps d'équilibre de distribution si rapide dans les différents sens de passage.

La liposolubilité d'une substance concerne exclusivement sa fraction non ionisée. A pH 7,4, la forme non ionisée du principe actif représente 1/10^{ème} de sa forme ionisée (figure 23).

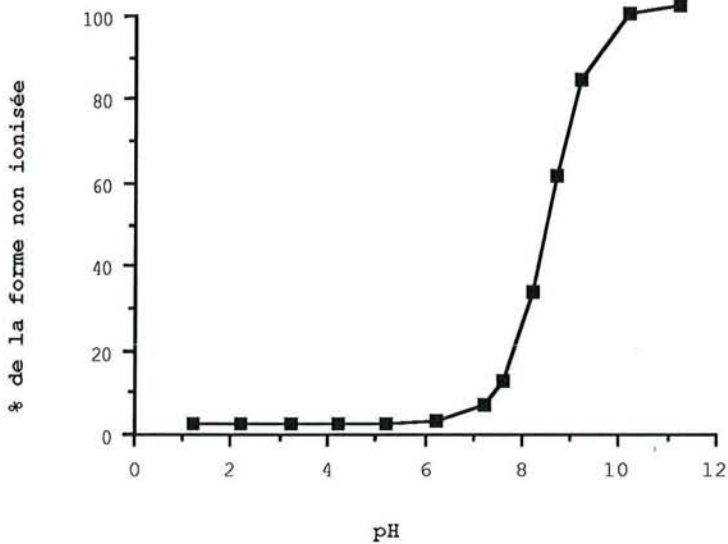


figure 23 : effet du pH sur l'ionisation du disopyramide.

Le disopyramide possède des groupements alkyls, qui augmentent son caractère hydrophobe, lui facilitant ainsi son passage à travers la membrane du globule rouge.

L'addition de ces trois facteurs (liposolubilité, degré d'ionisation et hydrophobicité de la molécule) peut expliquer l'obtention d'un temps d'équilibre aussi rapide entre le tampon ou le plasma et les globules rouges.

5.3.2. Coefficient de distribution réel

Lorsque les conditions d'équilibre sont réalisées, pour des concentrations de disopyramide comprises entre 1,6 - 46,1 $\mu\text{g/ml}$ de tampon au temps 0, les coefficients de distribution réels obtenus pour le passage du disopyramide du tampon vers les globules rouges sont dans les limites de 1,76 - 2,60 (moy=2,30 \pm 0,21; n=24).

Lors de l'étude de la répartition du disopyramide du tampon vers les globules rouges, Hinderling (43) trouve un coefficient réel de distribution à 1,24 \pm 0,02, pour des concentrations au temps $t = 0$, comprises entre 0,28-18,7 $\mu\text{g/ml}$. La méthode d'incubation, utilisée par Hinderling, est réalisée à 25° C sous agitation à intervalles réguliers. Elle diffère par ses conditions opératoires de celle utilisée dans cette étude et s'éloigne des conditions physiologiques. Ceci pourrait expliquer l'écart observé entre les valeurs des coefficients réels de distribution.

Pour des concentrations en disopyramide comprises entre 1,45-45,5 µg/ml dans les globules rouges au temps $t = 0$, dans le sens globules rouges vers tampon, ces coefficients de distribution réels se situent entre 2,04 - 3,42 (moy=2,60±0,44; n=14).

Ce coefficient supérieur à 1, traduit le rôle de lieux de stockage des globules rouges vis à vis de ce principe actif.

Quel que soit le sens de passage, ces coefficients de distribution sont soumis à des variabilités. Cette variabilité tient sans doute au fait, que le sang provient de donneurs différents qui peuvent présenter des variations au niveau de leur hématoците (influence de l'hématoците sur la distribution de l'amiodarone dans le sang; 88), au niveau de leurs globules rouges (membrane, concentration en protéines érythrocytaires) et au niveau du plasma (concentration en protéines plasmatiques).

5.3.2.1. Variation du coefficient de distribution réel en fonction de la concentration totale de disopyramide dans le tampon à l'équilibre

Le coefficient réel de distribution est indépendant de la concentration dans le tampon à l'équilibre, quel que soit le sens de passage (figures 24 et 25).

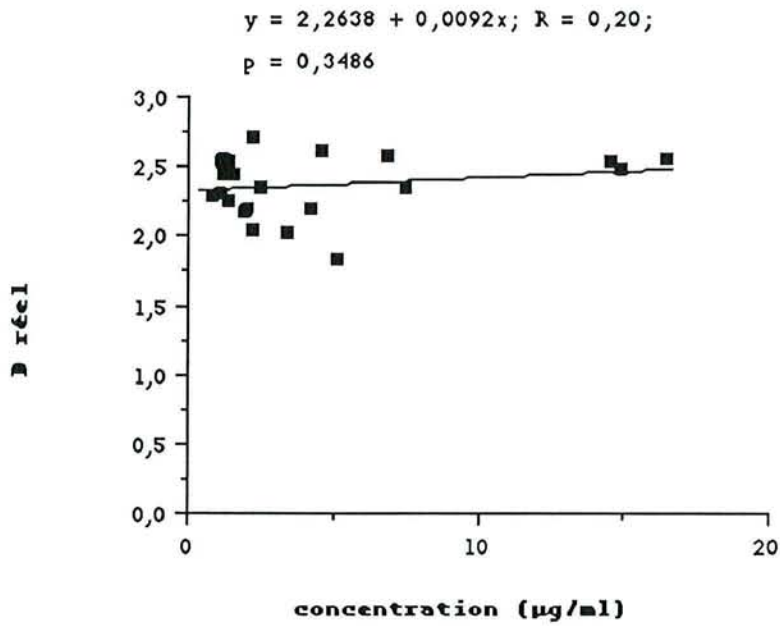


figure 24 : Evolution du coefficient de distribution réel (D réel) du disopyramide en fonction de la concentration dans le tampon à l'équilibre, lors du passage du tampon vers les globules rouges.

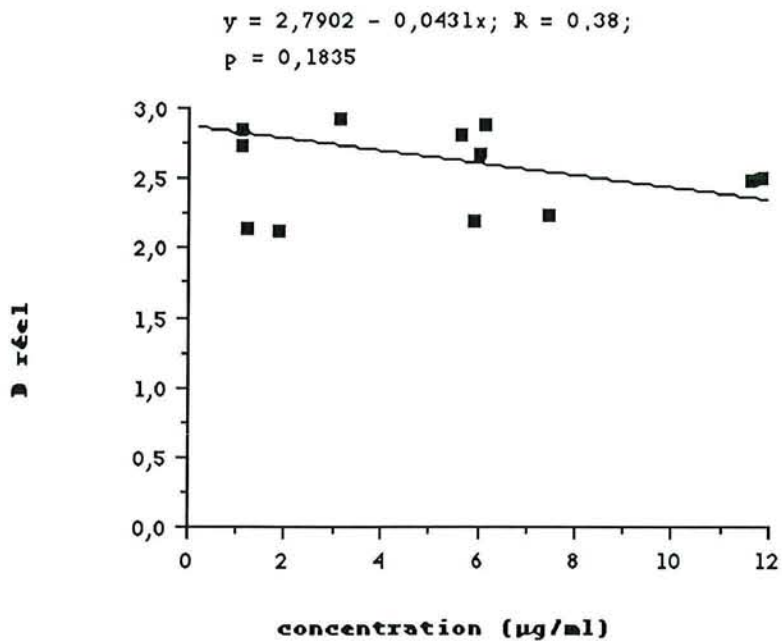


figure 25 : Evolution du coefficient de distribution réel (D réel) du disopyramide en fonction de sa concentration dans le tampon à l'équilibre, lors de son passage des globules rouges vers le tampon.

5.3.2.2. Variation du coefficient de distribution réel en fonction de l'hématocrite

L'étude du coefficient de distribution réel en fonction de l'hématocrite, obtenu lors du passage du disopyramide du tampon vers les globules rouges et des globules rouges vers le tampon montre que ce coefficient a tendance à décroître quand l'hématocrite augmente pour H comprise entre 0,34 et 0,57. Statistiquement, cette relation n'est pas significative avec p supérieur à 5% (figure 26 et 27).

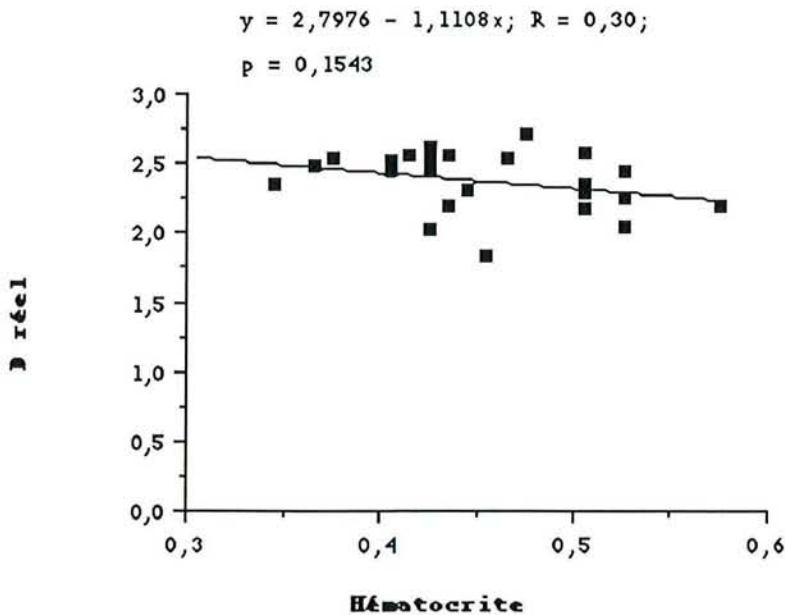


figure 26 : Evolution du coefficient de distribution réel (D réel) du disopyramide en fonction de l'hématocrite, lors de son passage du tampon vers les globules rouges.

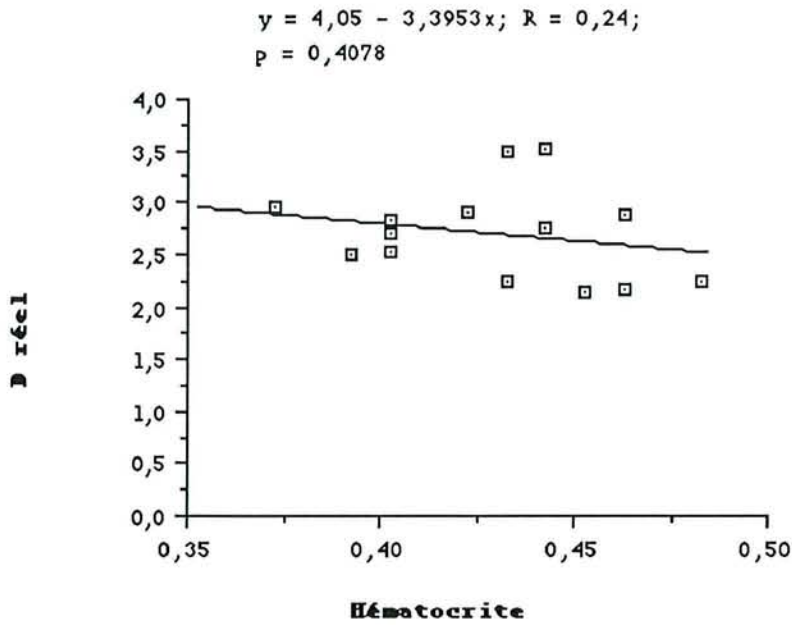


figure 27 : Evolution du coefficient de distribution réel (D réel) du disopyramide en fonction de l'hématocrite, lors de son passage des globules rouges vers le tampon.

Certes, l'élargissement de la gamme d'hématocrite, ferait apparaitre plus clairement une relation entre l'hématocrite et le coefficient de distribution réel.

L'hématocrite joue donc un rôle mineur, lorsqu'il est compris entre 0,34 et 0,57.

5.3.2.3. Comparaison des coefficients de distribution réels moyens du disopyramide obtenus dans les différents sens de passage

Les résultats des coefficients de distribution réels obtenus lors du passage du disopyramide du plasma vers les globules rouges et des globules rouges vers le plasma sont regroupés dans les tableaux en annexe. Il est en moyenne égal à $2,31 \pm 0,02$ ($2,27-2,37$; $n=23$) dans le

sens plasma vers globule rouge et à $2,60 \pm 0,02$ ($2,55-2,62$; $n=18$) en sens inverse.

Ces résultats sont voisins de ceux obtenus lors du passage du disopyramide entre le tampon et les globules rouges, ce qui nous permet de conclure à la validation du tampon isotonique pH 7,4 substitué au plasma lors de l'étude de coefficient de distribution réel (tableau III.2).

Tableau III.2.: Comparaison des coefficients de distribution réels moyens obtenus lors des passages du médicament entre le tampon ou le plasma et les globules rouges.

	n	D réel		test t	
		moy \pm sd	extrêmes	p	significativité
T vers GR	24	$2,30 \pm 0,21$	1,8-2,6	0,8182	ns
P vers GR	23	$2,31 \pm 0,02$	2,27-2,37		
GR vers T	14	$2,60 \pm 0,44$	2,0-3,4	0,971	ns
GR vers P	18	$2,60 \pm 0,02$	2,55-2,62		

légende : moy \pm sd, moyenne \pm déviation standard; p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, les moyennes sont considérées comme statistiquement différentes.

5.3.3. Coefficient de distribution apparent

5.3.3.1. Variation du coefficient de distribution apparent en fonction de la concentration plasmatique de disopyramide à l'équilibre

Le coefficient de distribution apparent, obtenu dans le sens plasma vers les globules rouges, pour des concentrations de disopyramide comprises entre 0,90 et 35,1 $\mu\text{g/ml}$ de plasma varie entre 0,49 et 2,07. Il augmente

avec la concentration, jusqu'à l'obtention d'un plateau de saturation pour une concentration à l'équilibre voisine de 10 $\mu\text{g/ml}$ (figure 28).

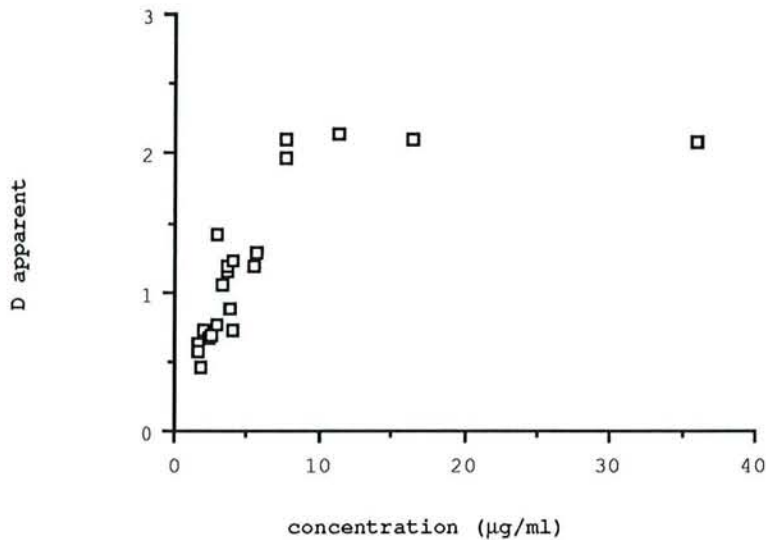


figure 28 : Evolution du coefficient de distribution apparent (D apparent) en fonction de la concentration de disopyramide dans le plasma à l'équilibre, dans le sens plasma vers les globules rouges.

Nous observons la même tendance dans le sens globules rouges vers le plasma, à des concentrations plasmatiques en disopyramide de 1,4 à 14,5 $\mu\text{g/ml}$, où le coefficient de distribution apparent augmente de 0,65 à 3,37 (figure 29).

Certes, l'élargissement de la gamme des concentrations, ferait apparaître plus clairement le processus de saturation observé dans le sens plasma vers globules rouges.

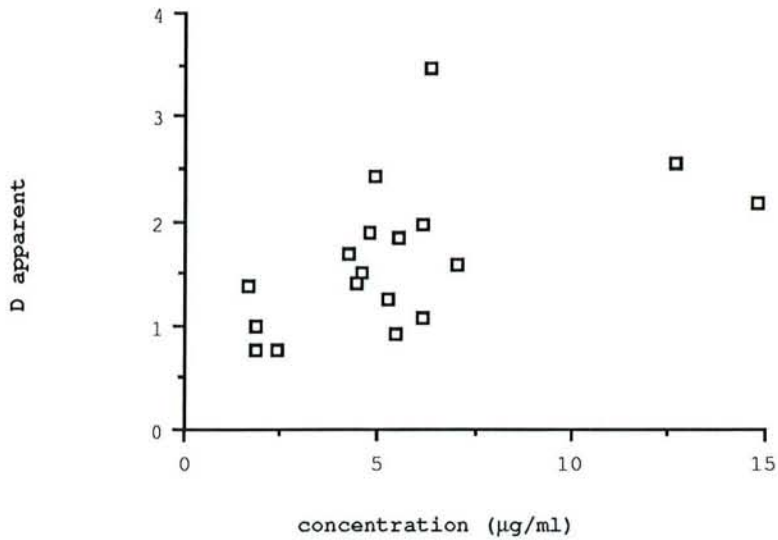


figure 29 : Evolution du coefficient de distribution apparent (D apparent) en fonction de la concentration de disopyramide dans le plasma à l'équilibre, lors de son passage des globules rouges vers le plasma.

Une plus grande variabilité des coefficients de distribution apparents est observée dans le sens de passage du disopyramide des globules rouges vers le plasma. L'étude de la distribution du disopyramide des globules rouges vers le plasma met en oeuvre une étape supplémentaire dans le protocole expérimental, qui est la surcharge des globules rouges. Or les globules rouges sont fragiles et suite à l'augmentation de leur temps de manipulation et d'incubation pourraient se lyser et ceci expliquerait la plus grande variabilité observée.

5.3.3.2. Variation de D apparent en fonction de l'hématocrite

L'évolution du coefficient de distribution apparent, obtenu lors du passage du disopyramide du plasma vers les globules rouges et des globules rouges vers le plasma en fonction de l'hématocrite montre qu'il n'y a pas de relation entre ces deux paramètres (figures 30 et 31). L'hématocrite joue donc encore ici un rôle mineur.

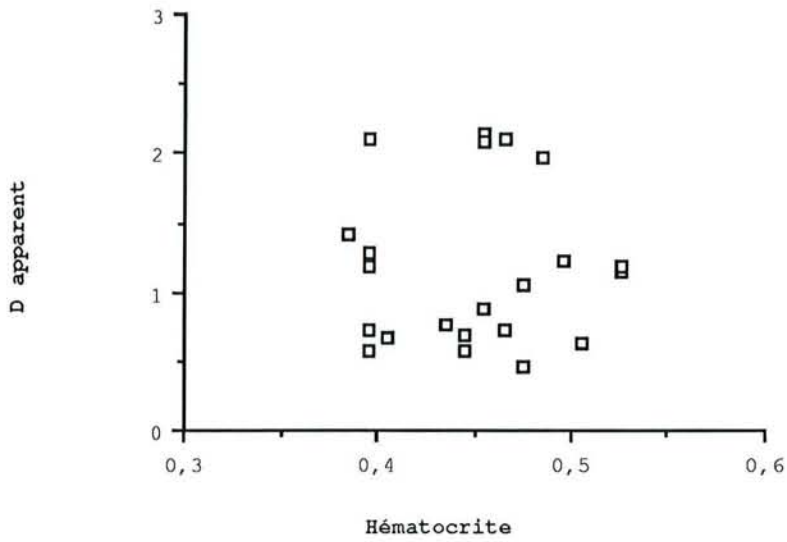


figure 30 : Evolution du coefficient de distribution apparent (D apparent) en fonction de l'hématocrite, lors du passage du disopyramide du plasma vers les globules rouges.

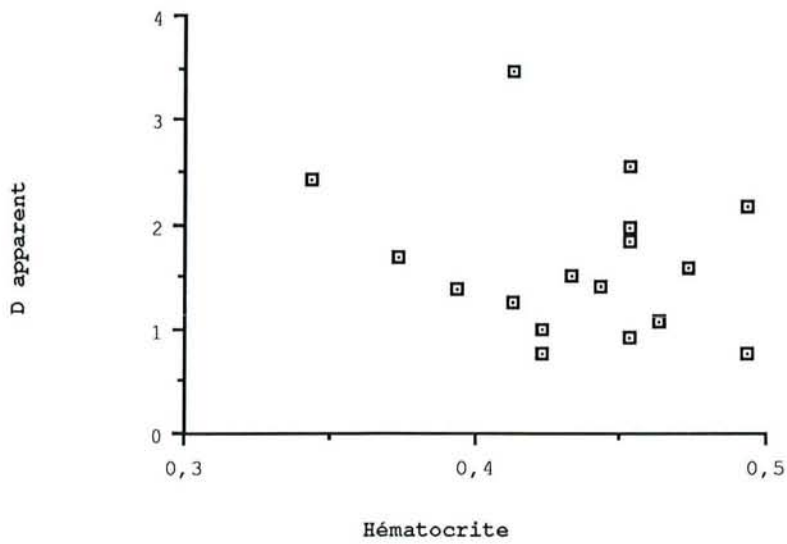


figure 31 : Evolution du coefficient de distribution apparent (D apparent) en fonction de l'hématocrite, lors du passage du disopyramide des globules rouges vers le plasma.

5.3.4. Fraction libre plasmatique

5.3.4.1. *Variation de la fraction libre plasmatique du disopyramide en fonction de sa concentration plasmatique totale à l'équilibre*

Lors du passage du plasma vers les globules rouges, en considérant la moyenne des coefficients de distribution réels ($x = 2,30 \pm 0,21$) et les valeurs du coefficient de distribution apparent obtenues pour les différentes concentrations en disopyramide, les fractions libres plasmatiques passent de 16 % à 90 %, pour des concentrations plasmatiques en disopyramide comprises entre 0,90 et 35,1 $\mu\text{g/ml}$.

Elle est égale à 88 % en moyenne pour des concentrations plasmatiques voisines de 10 $\mu\text{g/ml}$ (figure 32).

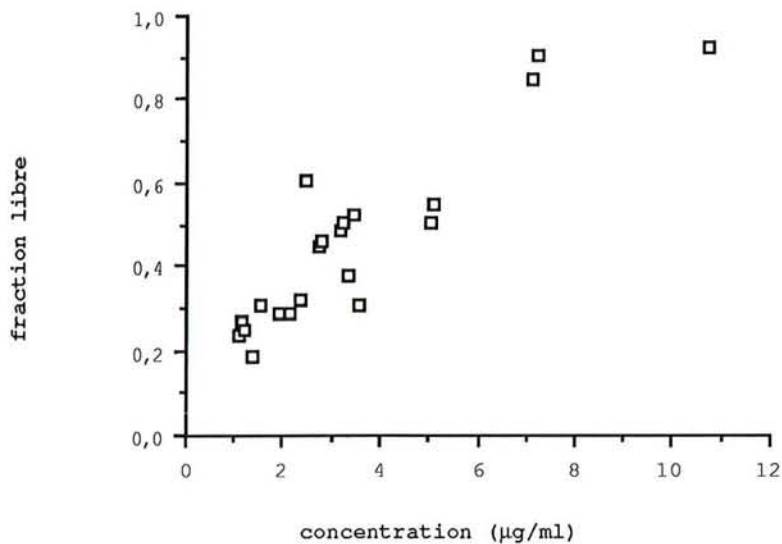


figure 32 : Evolution de la fraction libre plasmatique du disopyramide en fonction de sa concentration plasmatique, à l'équilibre de distribution, dans le sens plasma vers globules rouges.

Parallèlement, dans le sens globules rouges vers plasma, pour des concentrations plasmatiques en disopyramide comprises entre 1,4 et 14,5 $\mu\text{g/ml}$ et en considérant la moyenne des coefficients de distribution réels ($X = 2,60 \pm 0,02$, $n = 14$) obtenus lors du passage globules rouges vers tampon, les fractions libres plasmatiques (f) calculées sont dans les limites de 26 à 94 % (figure 33).

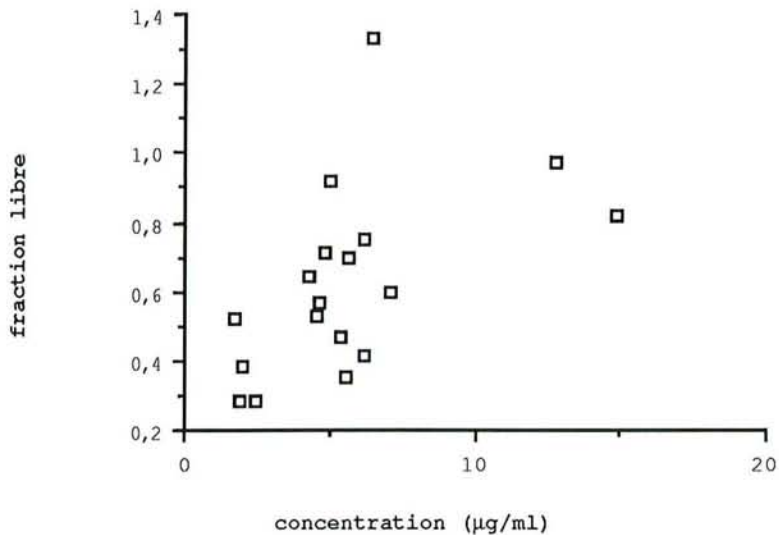


figure 33 : Evolution de la fraction libre plasmatique du disopyramide en fonction de sa concentration plasmatique, à l'équilibre, dans le sens globules rouges vers plasma.

Nos résultats sont concordants avec les valeurs citées par Meffin, David ou Bryson (13, 20, 69), dont l'étude de la fixation du disopyramide aux protéines plasmatiques a été réalisée in vitro. A l'inverse, le taux de fixation plasmatique du disopyramide déterminé in vivo par Gibassier (35) est beaucoup plus fort que nos valeurs in vitro (figure 34).

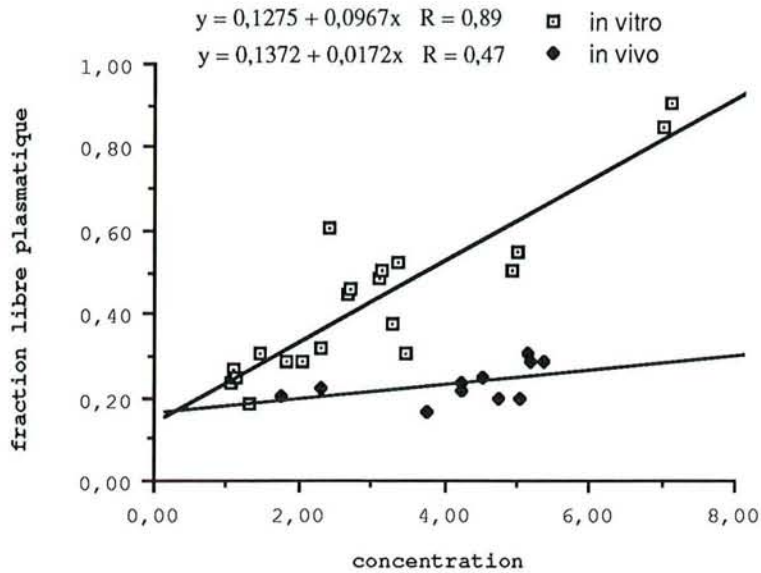


figure 34 : Fixation protéique plasmatique du disopyramide. Comparaison de nos valeurs de f obtenues in vitro lors du passage du disopyramide, du plasma vers les globules rouges avec celles de Gibassier obtenues in vivo.

Cette conclusion importante, montrant que l'intensité de la fixation protéique plasmatique du disopyramide est sous estimée in vitro, déjà observé par de nombreux auteurs (35, 43, 65), renforce l'argumentation en faveur de la détermination in vivo des taux libres du disopyramide.

La fraction libre plasmatique est concentration dépendante et saturable dans le domaine des concentrations étudiées; un plateau de saturation est obtenu pour des concentrations plasmatiques voisines de 10 $\mu\text{g/ml}$, en accord avec les résultats de Hinderling et Giacomini (34, 44). De même, le coefficient de distribution apparent augmente avec la concentration plasmatique, jusqu'à l'obtention d'un plateau de saturation pour des concentrations voisines de 10 $\mu\text{g/ml}$. Lors du passage du tampon vers les globules rouges, Dréel est constant quelle que soit la concentration. On

peut donc conclure à la non saturation des fixations globulaires. Ainsi dans le cas du disopyramide, ce sont les protéines plasmatiques qui sont responsables de la non linéarité du coefficient de distribution apparent.

5.3.4.2. comparaison de la fraction libre obtenue par la méthode d'ultrafiltration à celle obtenue par le calcul

Les résultats de la fraction libre, obtenus par la méthode de l'ultrafiltration comparés à ceux obtenus par le calcul (figure 35), montre que ces 2 méthodes ne sont pas statistiquement différentes.

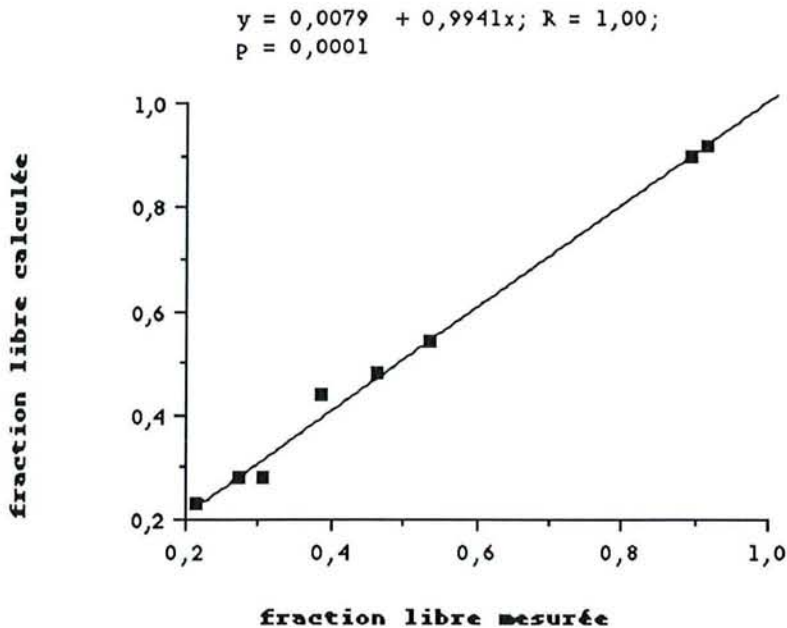


figure 35 : Evolution de la fraction libre plasmatique calculée, lors du passage du disopyramide du plasma vers globules rouges, en fonction de la fraction libre plasmatique mesurée par la méthode d'ultrafiltration.

5.3.5. Fraction libre globulaire

Les concentrations globulaires libres du disopyramide et sa fraction libre globulaire (f') sont calculées et reportées dans les tableaux en annexe.

5.3.5.1. Variation de la fraction libre globulaire du disopyramide en fonction de sa concentration globulaire totale à l'équilibre

Les fractions globulaires libres (f') sont indépendantes de la concentration globulaire à l'équilibre (figures 36 et 37) et du sens de passage (tableau III.3).

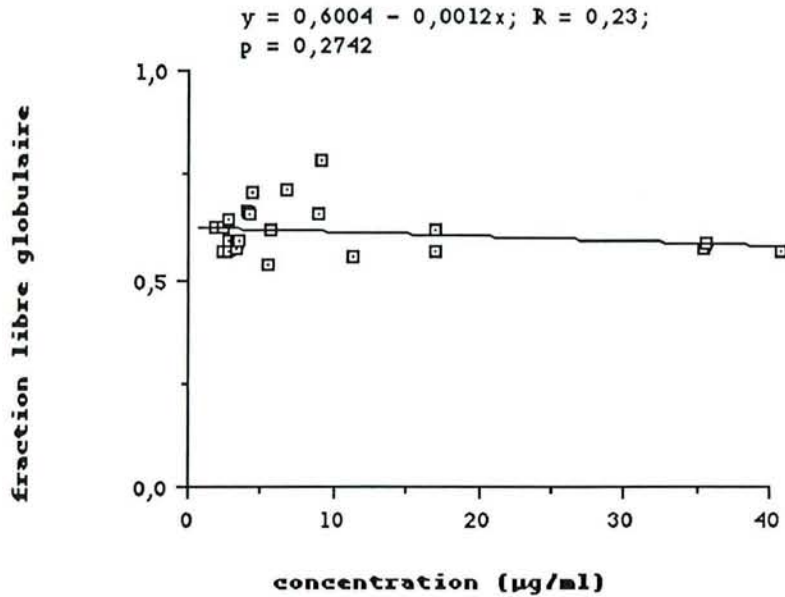


figure 36: Evolution de la fraction libre globulaire en fonction de la concentration globulaire de disopyramide à l'équilibre de distribution, lors de son passage du tampon vers les globules rouges.

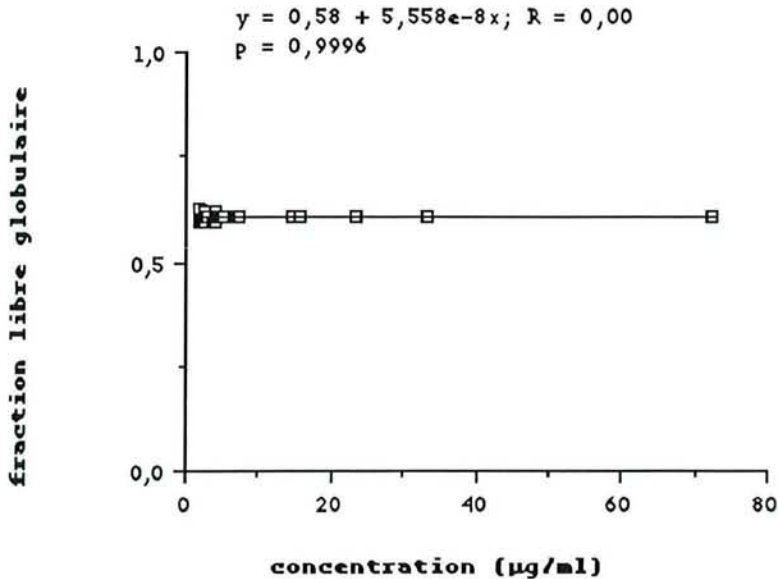


figure 37 : Evolution de la fraction libre globulaire en fonction de la concentration globulaire de disopyramide à l'équilibre de distribution, lors de son passage du plasma vers les globules rouges.

Tableau III.3 : Comparaison des fractions libres globulaires moyennes obtenues lors du passage du médicament du tampon ou plasma vers les globules rouges.

	n	D réel		test t	
		moy \pm sd	extrêmes	p	significativité
T vers GR	24	0,59 \pm 0,06	0,51-0,76	0,446	ns
P vers GR	23	0,58 \pm 0,008	0,57-0,60		
GR vers T	14	0,53 \pm 0,09	0,39-0,66	0,512	ns
GR vers P	18	0,52 \pm 0,005	0,51-0,52		

légende : moy \pm sd, moyenne \pm déviation standard; p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, les moyennes sont considérées comme statistiquement différentes.

Lors des passages en sens inverse, la fraction libre globulaire ($f' = C_{gr\ libre} / C_{totale\ globulaire}$) est dans les limites de 0,39-0,66 (moy=0,53 \pm 0,09;n=14, dans le sens globules rouges vers tampon; moy=0,52 \pm 0,005;n=18, dans le sens globules rouges vers plasma; figure 38 et 39).

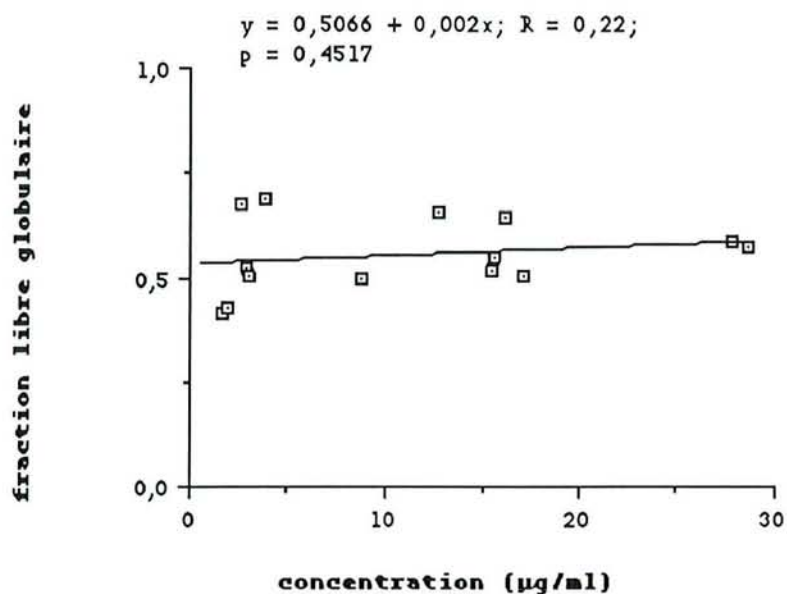


figure 38 : Evolution de la fraction libre globulaire en fonction de la concentration dans les globules rouges de disopyramide à l'équilibre de distribution, lors de son passage des globules rouges vers le tampon.

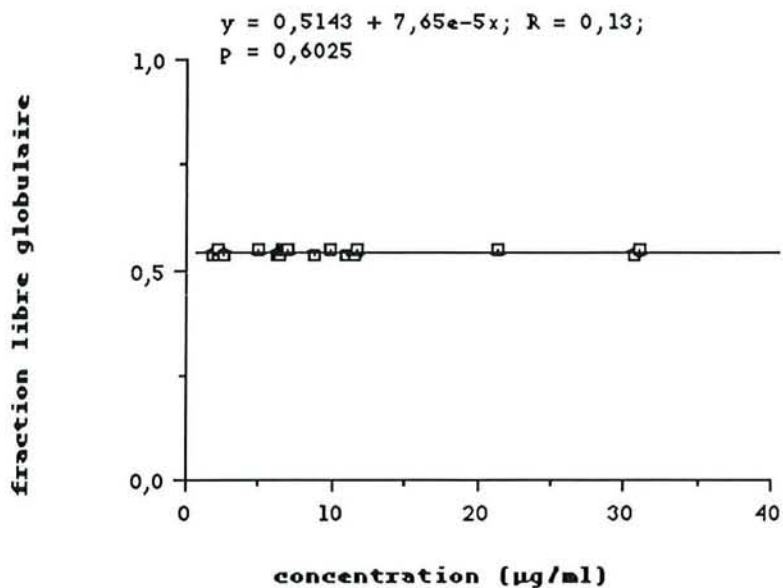


figure 39 : Evolution de la fraction libre globulaire en fonction de la concentration globulaire de disopyramide à l'équilibre de distribution, lors de son passage des globules rouges vers le plasma.

La liaison globulaire du disopyramide est donc non saturable dans l'intervalle des concentrations étudiées. Ces résultats sont en accord avec un D réel constant quelle que soit la concentration en disopyramide.

III. 6. CONCLUSION

L'étude de la répartition in vitro du disopyramide, entre le tampon, le plasma et les globules rouges, montre que la cinétique de passage est instantanée, l'équilibre de distribution est atteint presque immédiatement après la surcharge.

Le disopyramide passe dans les globules rouges dans des proportions non négligeables. Lors de la répartition du composé entre le tampon, représentant la forme libre, et les globules rouges, la concentration globulaire, à l'équilibre de distribution, est en moyenne double de celle dans le tampon. Le coefficient de distribution réel moyen, dans le sens tampon vers globules rouges, est égal à $2,30 \pm 0,21$; $n = 24$. Il est indépendant de la concentration dans le domaine étudié, incluant les concentrations thérapeutiques.

A l'inverse, lors du passage du disopyramide entre le plasma et les globules rouges, le coefficient de distribution apparent est concentration dépendante et saturable, un plateau de saturation étant obtenu pour des concentrations à l'équilibre voisines de $10 \mu\text{g/ml}$.

Dans le sens plasma vers globules rouges, le coefficient de distribution apparent augmente de 0,38 à 2,07 pour des concentrations plasmatiques totales passant de 0,90 à $35,24 \mu\text{g/ml}$.

La détermination de la fraction libre plasmatique du disopyramide effectuée indirectement, à partir du coefficient de distribution ou directement par la méthode d'ultrafiltration montre que cette liaison augmente avec la concentration plasmatique à l'équilibre pour se saturer à partir de 10 µg/ml. Pour les concentrations thérapeutiques, 3-5 µg/ml, elle est en moyenne de $0,43 \pm 0,12$ (n = 4).

Les valeurs constantes du coefficient de distribution réel, quelle que soit la concentration, montrent que les protéines plasmatiques sont responsables de la dépendance du coefficient de distribution apparent vis à vis de la concentration.

Il y a, pour la plupart des molécules fortement liées aux protéines, compétition entre les 2 équilibres médicament libre-protéines plasmatiques et médicament libre-érythrocytes.

La fraction libre de disopyramide globulaire, calculée indirectement par l'équation de Schanker (76, 78) représente en moyenne 50 % de la concentration totale globulaire. Elle apparaît indépendante de la concentration; la liaison est non saturable.

En résumé, le rapport de la quantité de médicament retrouvée au niveau des hématies à la quantité de médicament présent au niveau plasmatique, à l'équilibre de distribution, est compris entre 0,49 et 2,03 pour des concentrations thérapeutiques. Ce rapport témoigne d'un fort passage globulaire du disopyramide, pour des concentrations plasmatiques voisines de 3 µg/ml. Cette étude permet de penser que l'étude du passage des

médicaments dans le globule rouge peut ne pas être négligeable et mérite qu'on y prête attention.

D'un point de vue plus général, ce travail propose un protocole opérationnel d'incubation permettant l'étude du passage d'un médicament à partir du plasma ou du tampon dans les globules rouges et de l'étude en sens inverse.

Cette méthode a l'avantage d'être simple, rapide, reproductible, applicable à l'ensemble des molécules médicamenteuses et utilise le matériel courant de laboratoire.

Elle permet de réaliser indirectement l'étude in vitro des liaisons aux protéines plasmatiques, donnant dans le cas du disopyramide des résultats comparables à ceux obtenus par les méthodes classiques et permet en plus la détermination de la fraction libre globulaire.

Elle paraît d'autant plus intéressante à utiliser pour les molécules dont les fractions libres ne peuvent être évaluées avec exactitude par les méthodes classiques. Garrett et Hunt (27), ont d'ailleurs utilisé la méthode in vitro d'incubation pour déterminer la fraction liée aux protéines du Δ^9 - tetrahydrocannabinol, puisque d'une part cette molécule s'absorbe en quantité importante sur les parois de verre et aux membranes synthétiques et d'autre part elle est très fortement liée aux protéines (% de liaison supérieur à 95 %).

De plus, cette méthode sert à mesurer la fraction liée aux protéines globulaires pour un médicament donné.

IV ème PARTIE : ETUDE IN VIVO
DU PASSAGE GLOBULAIRE DU
DISOPYRAMIDE CHEZ L'HOMME

IV.1. INTRODUCTION

IV.2. MATERIELS ET METHODES

IV.3. ANALYSE DES RESULTATS

IV.4. RESULTATS

IV.5. DISCUSSION

Etude in vivo du passage globulaire du disopyramide chez l'homme

IV.1. INTRODUCTION

L'objectif de ce travail porte sur l'étude de l'état d'équilibre des concentrations sanguines et plasmatiques du disopyramide (RYTHMODAN[®] LP - Roussel) à des malades, lors d'administrations répétées selon un schéma thérapeutique classique. La détermination du temps nécessaire à l'obtention de l'état d'équilibre des concentrations entre le plasma et les globules rouges, des coefficients de distribution entre le plasma et les globules rouges (D réel et D apparent) et des paramètres de liaisons aux protéines plasmatiques, sont calculés, afin de les comparer à ceux déterminés précédemment in vitro.

IV.2. MATERIELS ET METHODES

IV.2.1. Patients

16 patients, 5 hommes et 11 femmes, âgés de 43 à 87 ans ($67,5 \pm 12,9$) et de poids compris entre 44 et 87 kg ($69,8 \pm 13,4$) ont participé à l'étude, après avoir donné leur consentement éclairé. Ce protocole, réalisé en collaboration avec le service de cardiologie B, Hôpital de Brabois (Vandoeuvre), antérieurement à la Loi sur la protection des personnes

soumises à des essais biomédicaux dite Loi Huriet, a été approuvé par le Comité d'éthique du CHRU de Nancy.

Tous les patients présentaient une indication rythmologique nécessitant la prescription d'un antiarythmique de classe I :

troubles du rythme ventriculaire ou supraventriculaire, prévention de la fibrillation auriculaire. Ils répondaient tous aux critères d'exclusion qui seront très brièvement rappelés ci dessous : grossesse, impossibilité de revenir en hospitalisation au bout d'un mois, toute contre-indication à l'emploi du disopyramide, toute pathologie associée hépatique ou rénale, l'existence d'une annémie, d'une hypokaliémie, toute cardiopathie avec une fraction d'ejection ventriculaire gauche inférieure à 40%, et enfin tout traitement inducteur ou inhibiteur enzymatique.

IV.2.2. Bilan clinique et biologique

Un bilan clinique et biologique initial a été effectué pour chaque patient.

Le bilan clinique consiste en l'évaluation de la cardiopathie par échocardiographie et éventuellement de la fraction d'éjection ventriculaire gauche isotopique. L'indication du traitement antiarythmique est jugée à partir d'un électrocardiogramme 12 dérives et d'un enregistrement Holter sur 24 heures.

Le bilan biologique consiste en un bilan général (numération-formule sanguine, vitesse de sédimentation, électrolytes sanguins et pH

urinaire), en l'évaluation de la fonction rénale (azotémie, créatininémie et clairance de la créatinine), en l'évaluation de la fonction hépatique (transaminases et phosphatases alcalines plasmatiques, cholestérolémie, temps de Quick, bilirubinémie), et en l'évaluation protidique (protidémie, alpha-1 glycoprotéine acide plasmatique et électrophorèse des protéines).

Ces bilans ont été répétés au bout d'un mois.

Les bilans biologiques étaient normaux. Les caractéristiques physiques et biologiques des patients sont regroupées dans les tableaux IV.1a et IV.1b.

Les résultats du bilan clinique ainsi que les traitements associés sont donnés dans le tableau IV.1c.

IV.2.3. Administration

Chaque sujet hospitalisé reçoit à J0 une prise unique orale de 250 mg de RYTHMODAN[®]LP à 8 heures (heure H0), puis de J1 à J5 250 mg de la même forme, matin et soir, respectivement à 8 heures et 20 heures. De J6 à J29, les malades poursuivent leur traitement ambulatoire à raison de 250 mg matin et soir, en respectant au plus près les horaires d'administration. Ils sont hospitalisés de J30 à J33, le traitement étant poursuivi sans modification.

Pour respecter la pratique courante de prescription, une dose fixe (250 mg) a été administrée à chaque patient indépendamment de leur poids.

Tableau IV.1a : Caractéristiques physiques des patients

obs N°	sexe	Age (ans)	Poids (Kg)	Taille (cm)	Dose administrée (mg/Kg)	Hématocrite	
						J0	J32
1	M	61	85	173	2,9	0,46	0,42
2	M	77	68	167	3,7	0,47	0,39
3	M	54	83	179	3	0,43	0,42
4	F	87	44	152	5,7	0,36	0,36
5	F	64	64	164	3,9	0,43	*
6	M	43	85	177	2,9	0,41	0,37
7	F	45	77	151	3,2	0,44	0,4
8	F	64	71	155	3,5	0,39	0,38
9	F	60	81	166	3,1	0,4	0,42
10	M	61	87	185	2,9	0,45	0,44
11	F	78	68	160	3,7	0,4	0,39
12	F	77	50	162	5	0,48	0,41
13	F	78	61	147	4,1	0,35	*
14	F	75	69	163	3,6	0,39	0,33
15	F	78	73	160	3,4	0,45	0,45
16	F	77	50	159	5	0,46	0,38

Légende : Les patients 5 et 13 ont quittés l'étude à J5; F, féminin; M, masculin.

Tableau IV.1b : Caractéristiques biologiques des patients

	obs N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Cholestérol total (g/l)	<i>J0</i>	3,0	1,8		2,0	2,0	1,8	1,6	2,0	2,2	2,6	2,7	2,6	2,0	2,3	1,7	2,0
	<i>J32</i>	1,9	2,0	2,0	2,0		1,7	1,3	1,7	2,3	3,4	2,2	2,5		1,8	2,1	2,1
Bilirubine totale (g/l)	<i>J0</i>	4,0	12,0		8,0	6,0	16,0	6,0	6,0	11,0	7,0	7,0	5,0	5,0	2,0	9,0	6,0
	<i>J32</i>	7,0	6,0	7,0	5,0		5,0	7,0	4,0	1,0	5,0	6,0	4,0		2,0	5,0	7,0
TGO	<i>J0</i>	20,0	20,0		30,0	8,0	28,0	20,0	21,0	28,0	13,0	10,0	13,0	57,0	19,0	47,0	13,0
	<i>J32</i>	15,0	15,0	24,0	15,0		19,0	19,0	46,0	25,0	16,0	10,0	17,0		15,0	10,0	15,0
TGP	<i>J0</i>	57,0	50,0		51,0	9,0	27,0	37,0	35,0	13,0	14,0	10,0	18,0	24,0	36,0	57,0	27,0
	<i>J32</i>	30,0	16,0	32,0	9,0		32,0	56,0	54,0	16,0	41,0	7,0	18,0		15,0	6,0	41,2
Phosphatases alcalines	<i>J0</i>	83,0	248,0		116,0	136,0	133,0	111,0	154,0	121,0	135,0	110,0	340,0	116,0	129,0	171,0	120,0
	<i>J32</i>	118,0	127,0	159,0	120,0		108,0	145,0	160,0	179,0	193,0	134,0	266,0		107,0	112,0	115,0
Créatinémie (mg/l)	<i>J0</i>	14,0	15,0	13,0	12,0	8,0	14,0	10,0	8,0	10,0	11,0	9,0	10,0	12,0	10,0	12,0	11,0
	<i>J32</i>	13,0	14,0	13,0	13,0		15,0	7,0	11,0	12,0	12,0	10,0	10,0		12,0	12,0	12,0
Cl théor créat (ml/mn)	<i>J0</i>	67,0	40,0	76,0	23,0	72,0	82,0	86,0	80,0	76,0	87,0	55,0	37,0	37,0	53,0	45,0	75,0
	<i>J32</i>	74,0	43,0	75,0	25,0		74,0	147,0	68,0	73,0	82,0		45,0		33,0	40,0	76,0
Cl mesur créat (ml/mn)	<i>J0</i>	72,0	52,0	252,0	40,0	114,0	86,0	82,0	69,0	55,0	93,0	70,0	39,0	21,0	46,0	30,0	45,0
	<i>J32</i>	95,0	56,0	105,0	37,0		67,0	64,0	50,0	16,0	96,0	66,0	34,0		34,0	40,0	52,0
pH urinaire	<i>J0</i>	5,0	5,0	5,5	6,5	6,0	5,0	6,5	7,0	5,0	5,0	5,0	7,0	6,0	6,0	6,0	6,0
	<i>J32</i>	5,0	5,0	6,0	6,0		5,0	5,0	6,0	5,0	6,5	5,0	6,5		6,0	6,0	6,0
Protidémie (g/l)	<i>J0</i>	69,0	64,0	67,0	65,0	61,0	66,0	59,0	61,0	68,0	58,0	77,0	60,0	60,0	62,0	53,0	62,0
	<i>J32</i>	66,0	59,0	64,0	55,0		60,0	63,0	60,0	71,0	61,0	69,0	59,0		56,0	56,0	60,0
Albuminémie (g/l)	<i>J0</i>	45,5	36,5	41,5	38,4	39,7	42,9	34,8	36,0	36,0	30,2	42,4	36,6	33,0	67,2	32,3	38,1
	<i>J32</i>	44,2	34,2	41,6	33,0		34,2	39,1	35,4	41,2	37,8		36,0		33,6	33,0	35,6
Glyc prot acide (g/l)	<i>J0</i>	0,7	0,9	0,8	0,6	0,6	0,8	0,8	0,6	0,7	1,0	0,9	1,0	1,4	1,1	1,2	1,0
	<i>J32</i>	0,6		0,9	0,8		0,9	0,8	1,0	1,0	1,1	0,9	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9

* les patients 5 et 13 ont quitté l'étude à J5

Tableau IV.1c : Caractéristiques cliniques et traitements associées.

Patient

N °	TRAITEMENTS ASSOCIES	Pathologies associées
1	ciprofibrate (LIPANOR®) allopurinol (ZYLORIC 100) acétylsalicylate de lysine (ASPEGIC® 250) héparine calcique (CALCIPARINE®)	hypercholestérolémie hyperuricémies coronaropathie coronaropathie
2	/	/
3	héparine calcique (CALCIPARINE®)	ACFA, Prévention de thrombose
4	furosémide (FUROSEMIX 40 mg)	insuffisance cardiaque modéré
5	/	/
6	furosémide (LASILIX 40 mg) acénocoumarol (SINTROM®) chlorure de potassium (DIFFU-K®)	Prothèse valvulaire cardiaque
7	héparine calcique (CALCIPARINE®) acide acétylsalicylique (ASPIRINE)	ACFA
8	héparine calcique (CALCIPARINE®) nifédipine (ADALATE 20 mg LP) méthyldopa (ALDOMET®) fénofibrate (LIPANTHYL® 100)	ACFA HTA HTA hypercholestérolémie
9	triazolam (HALCION®) héparine calcique (CALCIPARINE®) furosémide (LASILIX 40 mg)	insomnie ACFA insuffisance cardiaque
10	/	/
11	/	/
12	furosémide (LASILIX 40 mg) captopril (LOPRIL®) isosorbide dinitrate (RISORDAN®)	insuffisance cardiaque
13	isosorbide dinitrate (RISORDAN®) furosémide (LASILIX 40 mg) chlorure de potassium (DIFFU-K®)	
14	molsidomine (CORVASAL®) fénofibrate (LIPANTHYL®) nifédipine (ADALATE 20 mg LP)	
15	captopril (LOPRIL® 25 mg) héparine calcique (CALCIPARINE®) furosémide (LASILIX 40 mg) chlorure de potassium (DIFFU-K®) umuline (INSULINE LILLY)	
16	héparine calcique (CALCIPARINE®)	ACFA

légende: HTA, hypertension artérielle; ACFA, arythmie complète par fibrillation auriculaire.

IV.2.4. Prélèvements

10 ml de sang ont été prélevés sur vacutainers® héparinés (Becton Dickinson, Grenoble, France) à différents temps :

- J0 : 14 prélèvements répartis sur 24 heures
- J2 à J4 : 2 prélèvements à 5 et 12 heures.
- J5 : 7 prélèvements répartis sur 12 heures.
- J32 : 5 prélèvements répartis sur 12 heures.

Pour l'étude plasmatique, 3 ml de sang ont été centrifugés, et le plasma congelé à - 20° C. Pour l'étude sur sang total, les 7 ml restant de sang total sont congelés en plusieurs aliquots à - 20 °C.

Les temps de prélèvements sont exposés dans le tableau IV.2.

IV.2.5. Dosage

Les dosages de disopyramide dans le plasma et dans le sang total sont effectués par HPLC par la méthode décrite précédemment (22).

Les concentrations libres sont mesurées au maximum de concentration (4-5-6 heures) ainsi qu'en taux résiduel (12 heures à J0 et 11-12 heures à J32), après filtration du plasma sur membrane MPS-1 (Amicon). A la différence du "in vitro" on n'utilise plus du plasma frais mais du plasma congelé, car les prélèvements arrivent à tous heures du jour et de la nuit.

Tableau IV.2. : Jours et horaires de prélèvement

Jours	0	2	3	4	5	32
Heures	0				0	
	0,5					
	1					
	1,5					
	2				2	
	3					
	4				4	4
	5	5	5	5		5
	6				6	6
	8				8	
	10				10	
						11
	12	12	12	12	12	12
	14					
	24					

IV.2.6. Sorties d'essai en cours de protocole

Certains critères apparaissant en cours d'étude, entraînent le retrait du patient : une demande claire du patient, une aggravation de la cardiopathie, un allongement du QT sur l'électrocardiogramme au delà de 500 msec, l'apparition d'un effet secondaire jugé intolérable par le patient et/ou inacceptable par l'investigateur, ou l'apparition d'une pathologie intercurrente ne permettant pas le maintien dans l'étude.

La patiente n°5 sort de l'étude au bout de 15 jours, suite à l'apparition d'un purpura nécrotique des membres inférieurs, associé à une atteinte rénale révélée par une protéinurie. A l'arrêt du traitement, les différents symptômes régressent, mais réapparaissent lors de la reintroduction du disopyramide (très vraisemblablement par phénomène immunoallergique). Le traitement est alors définitivement abandonné.

La patiente n°13, avec antécédent d'infarctus myocardique inférieur, décède à la suite d'une insuffisance ventriculaire gauche irréductible, 3 semaines après son entrée dans le protocole.

La patiente n°16 est reconvoquée à J64, car les taux de disopyramide plasmatiques sont très supérieurs aux valeurs thérapeutiques à J5 et J32 (8,6 et 16,5 µg/ml respectivement). Après un bilan biologique, aucun signe d'insuffisance rénale ou hépatique, ni d'autre anomalie biologique

n'ont pu être révélés. Il n'existe pas non plus de médicaments potentialisateurs associés.

IV.3.ANALYSE DES RESULTATS

-La concentration dans les globules rouges, les coefficients de distribution réel et apparent ($D_{réel}$ et $D_{apparent}$) sont calculés à l'aide des équations développées par Garrett (30, 31).

Les valeurs obtenues pour $D_{réel}$ et $D_{apparent}$ seront comparées à celles obtenues lors de l'étude in vitro.

-Le temps nécessaire à l'obtention de l'équilibre de distribution entre le plasma et les globules rouges des patients est étudié à partir des valeurs calculées des coefficients de distribution.

-Les concentrations maximales (C_{max}) ainsi que le temps nécessaire à son obtention, les concentrations à 12 heures (C_{12h}) dans le plasma, le sang total et les globules rouges sont déterminées à partir des valeurs expérimentales.

-Les paramètres biologiques et les variables de la cinétique de passage érythrocytaire du disopyramide sont comparés par régression linéaire (calcul du coefficient de corrélation). Si p est inférieur à 5%, la relation entre les paramètres est considérée comme linéaire.

-Les paramètres cinétiques moyens obtenus à J0, J5 et J32 sont comparés à l'aide du test t de Student pour observations appariées. Le test de Wilcoxon sert à comparer les moyennes des t_{max} obtenus à J0, J5 et J32. Si p est inférieur à 5%, les moyennes diffèrent significativement.

IV.4.RESULTATS

IV.4.1.Evolution des concentrations dans le sang, le plasma et les globules rouges

Les courbes moyennes d'évolution des concentrations de disopyramide dans le plasma, le sang total et les globules rouges en fonction du temps sont représentées ci dessous, (figures 40, 41 et 42).

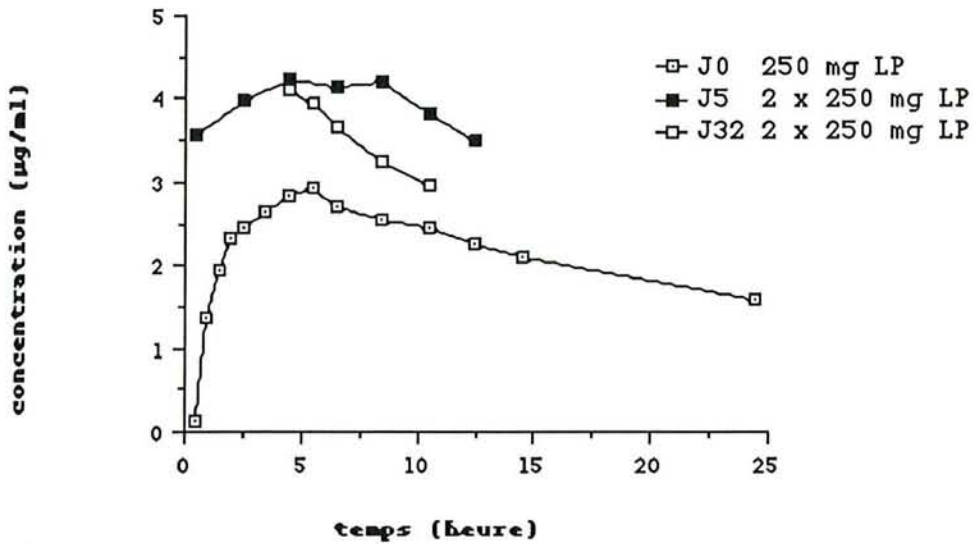


figure 40 : Courbes moyennes des concentrations plasmatiques de disopyramide.

légende : J0, jour 0; J5, jour 5; J32, jour 32.

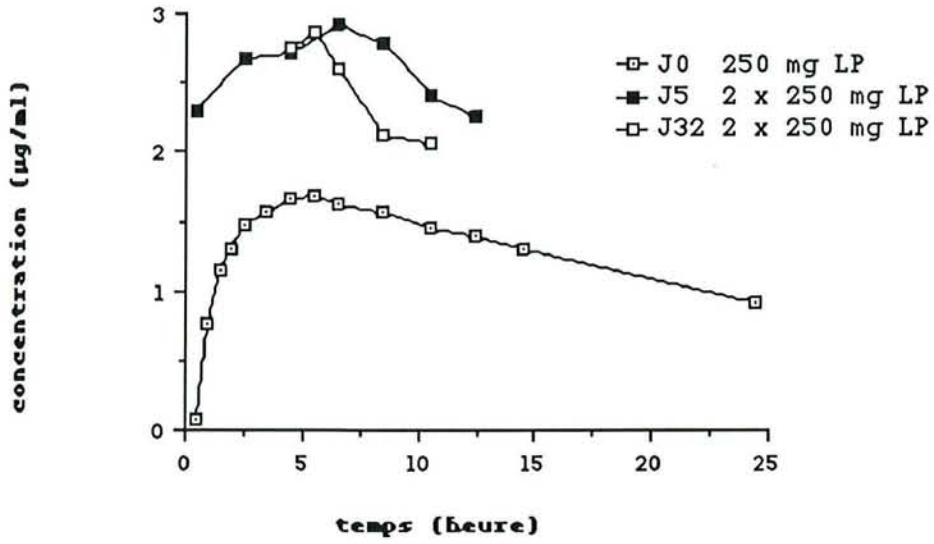


figure 41 : Courbes moyennes des concentrations sanguines de disopyramide.

légende : J0, jour 0; J5, jour 5; J32, jour 32.

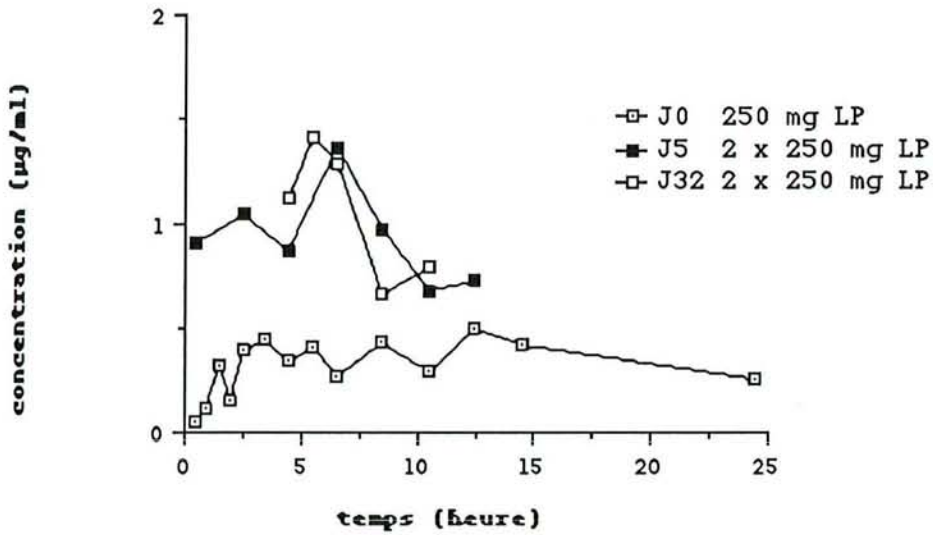


figure 42 Courbes moyennes des concentrations globulaires de disopyramide.

légende : J0, jour 0; J5, jour 5; J32, jour 32.

Afin de faciliter la lecture des résultats, nous avons regroupé en annexe II, les résultats individuels de la concentration dans le plasma (Cp), de la fraction libre plasmatique (f), de la concentration libre plasmatique (C libre plasma), de la concentration dans le sang total (Csg), de la concentration dans les globules rouges (Cgr), des coefficients de distribution réel et apparent (D réel et D apparent), pour les différents temps de prélèvements. Les concentrations globulaires, calculées à partir des concentrations dans le plasma et le sang total donnent parfois des résultats négligeables (inférieurs à la détection limite, soit 0,1 µg/ml). Ceux ci n'ont pas été pris en compte.

IV.4.2. Concentration et temps maximaux moyens (Cmax et Tmax)

La concentration maximale passe de 2,9 à J0 à 4,4 et 4,1 respectivement à J5 et J 32 dans le plasma et de 1,8 à 3,0 et 2,8 dans le sang total.

Dans les globules rouges, à J0, elle est égale à $0,7 \pm 0,4$, pour atteindre la valeur de 1,5 à J5 et J32. Ces résultats indiquent un faible passage du disopyramide dans les globules rouges, la concentration érythrocytaire représente en moyenne le tiers de la concentration plasmatique.

L'étude comparée des concentrations maximales à J0, J5 et J32, montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les valeurs moyennes des concentrations maximales à J5 et J32 (Tableau IV.3)

Un équilibre des concentrations maximales dans le plasma, le sang total et les globules rouges est donc atteint au jour 5.

Tableau IV.3 : Comparaison des valeurs moyennes des concentrations maximales plasmatiques, sanguines et globulaires des patients obtenues à J0, J5 et J32.

jours de prélèvement		test t		
n	Cmax (µg/ml) moy ±sd	extrêmes	P	significativité
plasma				
J0	16	2,9 ±1,1	(1,6-5,9)	
				0,0354
J5	16	4,4 ±3,5	(2,3-16,6)	s
				0,5928
J32	14*	4,1 ±2,0	(2,3-10,3)	ns
sang total				
J0	16	1,8 ±0,7	(0,8-3,2)	
				0,0201
J5	16	3,0 ±2,4	(1,5-11,0)	s
				0,9048
J32	14*	2,8 ±1,5	(1,7-7,5)	ns
globules rouges				
J0	15*	0,7 ±0,4	(0,3-1,4)	
				0,0626
J5	16	1,5 ±1,4	(0,5-5,3)	s
				0,4589
J32	14*	1,5 ±1,1	(0,2-4,3)	ns

légende : Cmax, concentration maximale; moy ±sd, moyenne ±déviati on standard; p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, la différence entre les moyennes est considéré comme significative.

*, les patients 5 et 13 quittent l'étude à J5; les valeurs inférieures à 0 sont supprimées.

Le temps nécessaire à l'obtention de la concentration maximale dans le plasma et le sang total est voisin de 5 heures (moy = 4,70 ± 0,23). Le disopyramide à libération prolongée permet donc un décalage dans le temps du pic plasmatique et sanguin par rapport au disopyramide simple dont le Tmax se situe entre 30 minutes et 3 heures après l'ingestion, comme cela a été décrit dans la littérature (37). Le Rythmodan®LP libère de façon prolongée et quantitativement le principe actif, grâce à la diffusion contrôlée du disopyramide à partir du réseau matriciel (35). Dans les globules rouges, il est dans les limites de 2 et 14 heures (moy = 6,3 ± 0,67; tableau IV.3). P supérieur à 5% (tableau IV.4), montre que le temps moyen nécessaire à l'obtention des concentrations maximales globulaires ne diffèrent pas significativement de J0 à J32.

IV.4.3. Concentration moyenne à 12 heures

La concentration moyenne dans le plasma à 12 heures varie respectivement de 2,1 µg/ml (à J0) à 3,4 et 2,9 (à J5 et J32). Dans le sang, elle passe de 1,3 µg/ml (à J0) à 2,2 et 2,0 (à J5 et J32). La concentration moyenne globulaire à 12 heures est égale à 0,51 ± 0,3 à J0 puis respectivement à J5 et J32, à 0,71 ± 1,0 et 0,74 ± 0,66.

La concentration dans les globules rouges représente seulement le quart de la concentration plasmatique et témoigne du faible passage du disopyramide dans les globules rouges.

Tableau IV.4 : Comparaison des temps moyens nécessaires à l'obtention de la concentration maximales plasmatiques, sanguines et globulaires des patients obtenues à J0, J5 et J32.

jours de prélèvement		test de Wilcoxon			
	n	Tmax (min) moy ±sd	extrêmes	P	significativité
plasma					
J0	16	4,8 ±1,8	(1,5-8,0)		
				0,7536	ns
J5	16	4,9 ±1,9	(2,0-8,0)		
				0,8785	ns
J32	14*	4,6 ±0,5	(4,0-5,0)		
sang total					
J0	16	4,8 ±2,5	(2,0-12,0)		
				0,8753	ns
J5	16	4,6 ±2,4	(2,0-12,0)		
				0,9443	ns
J32	14*	4,7 ±0,5	(4,0-5,0)		
globules rouges					
J0	15*	6,5 ±3,9	(2,0-14,0)		
				0,6832	ns
J5	16	5,6 ±2,8	(2,0-10,0)		
				0,3882	ns
J32	14*	6,9 ±3,3	(4,0-12,0)		

légende : Tmax, temps nécessaire à l'obtention de la concentration maximale; moy ±sd, moyenne ±déviati on standard; p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, la différence entre les moyennes est considéré comme significative.

*, les patients 5 et 13 quittent l'étude à J5; les valeurs inférieures à 0 sont supprimées.

La comparaison statistique des concentrations plasmatiques, sanguins et globulaires de disopyramide obtenus à J5 et J32 (12 heures), confirme l'instauration de l'état d'équilibre à J5. En effet, les taux obtenus à J5 et J32, ne sont plus significativement différents (p supérieur à 5%) (Tableau IV.5).

Certes, pour les globules rouges, statistiquement, il n'existe pas de différence significative entre les valeurs moyennes des concentrations résiduelles de J0 à J32. Mais à J0, 7 patients sur 16 ont des concentrations globulaires à 12 heures négligeables, qui ne sont alors, pas prises en compte, lors du calcul de la moyenne. Une trop grande variabilité dans les résultats ne nous permet pas d'admettre un état d'équilibre entre plasma et globule rouge dès J0.

IV.4.4..Fraction libre plasmatique

4.4.1.Résultats moyens

La comparaison des valeurs moyennes de la fraction libre plasmatique (f) obtenues à J0 et J32 montre que f est indépendante de la durée du traitement (Tableau IV.6).

Tableau IV.5 : Comparaison des valeurs moyennes des concentrations plasmatiques, sanguines et globulaires des patients obtenues à J0, J5 et J32 (12 heures).

jours de prélèvement		test t			
n	C12h ($\mu\text{g/ml}$) moy \pm sd	extrêmes	P	significativité	
plasma					
J0	16	2,1 \pm 1,1	(0,8-5,1)	0,0633	ns
J5	16	3,4 \pm 3,4	(1,7-15,7)	0,4746	ns
J32	14*	2,9 \pm 1,5	(1,5-7,2)		
sang total					
J0	16	1,3 \pm 0,7	(0,4-2,7)	0,0368	s
J5	16	2,2 \pm 1,9	(0,9-8,5)	0,8485	ns
J32	14*	2,0 \pm 1,1	(1,0-4,9)		
globules rouges					
J0	9*	0,51 \pm 0,3	(0,1-1,2)	0,4286	ns
J5	14*	0,71 \pm 1,0	(0,1-4,0)	0,3372	ns
J32	13*	0,74 \pm 0,7	(0,1-2,3)		

légende : C12h, concentration à 12 heures; moy \pm sd, moyenne \pm déviati on standard; p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, la différence entre les moyennes est considéré comme significative. *, les valeurs inférieurs à 0 sont supprimées et les patients n° 5 et 13 quittent l'étude à J5.

Tableau IV.6 : Comparaison des valeurs moyennes des fractions libres plasmatiques des patients obtenues à J0 et J32.

	jours de prélèvement			test t	
	n	f moy \pm sd	extrêmes	P	significativité
plasma					
J0	16	0,17 \pm 0,06	(0,08-0,35)	0,9443	ns
J32	14*	0,17 \pm 0,05	(0,09-0,31)		

légende : f, fraction libre plasmatique; moy, moyenne; \pm sd, écart type, p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, la différence entre les moyennes est considéré comme significative. *, les patients n°5 et 13 quittent l'étude à J5.

4.4.2. Résultats individuels (12 heures)

Si l'on considère la fraction libre plasmatique à chaque jour, des différents patients, nous observons de larges variations interindividuelles (tableaux en annexe). A J0, elle varie de 0,08 à 0,35 et à J32, de 0,09 à 0,31.

a- Variation en fonction de la dose administrée

Il n'a pas été mis en évidence statistiquement de relation linéaire entre la dose administrée et la fraction libre plasmatique à J0 et J32. La fraction libre plasmatique est donc indépendante de la dose administrée comprise entre 3 et 5 mg/Kg (figures 43 et 44).

$$y = 0,1925 - 0,0109x; R = 0,10;$$
$$p = 0,7168$$

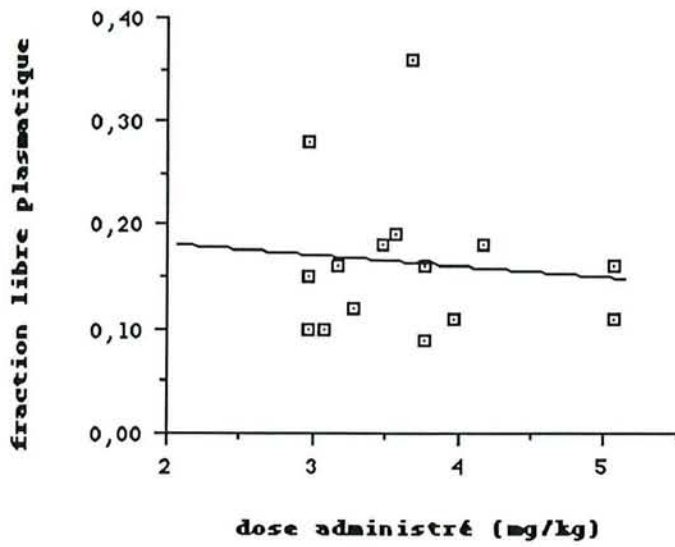


figure 43 : Relation entre la dose administrée en mg/kg et la fraction libre plasmatique à J0 (12 heures).

$$y = 0,2148 - 0,0104x; R = 0,15;$$
$$p = 0,6012$$

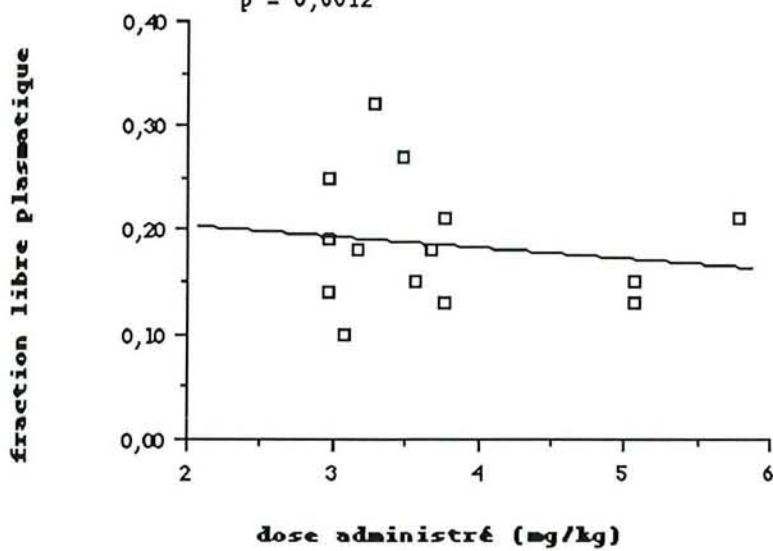


figure 44 : Relation entre la dose administrée en mg/kg et la fraction libre plasmatique à J32 (12 heures).

b- Variation en fonction de la concentration plasmatique (12 heures)
De même, f est indépendante de la concentration plasmatique totale (12 heures) à J0 (figure 45).

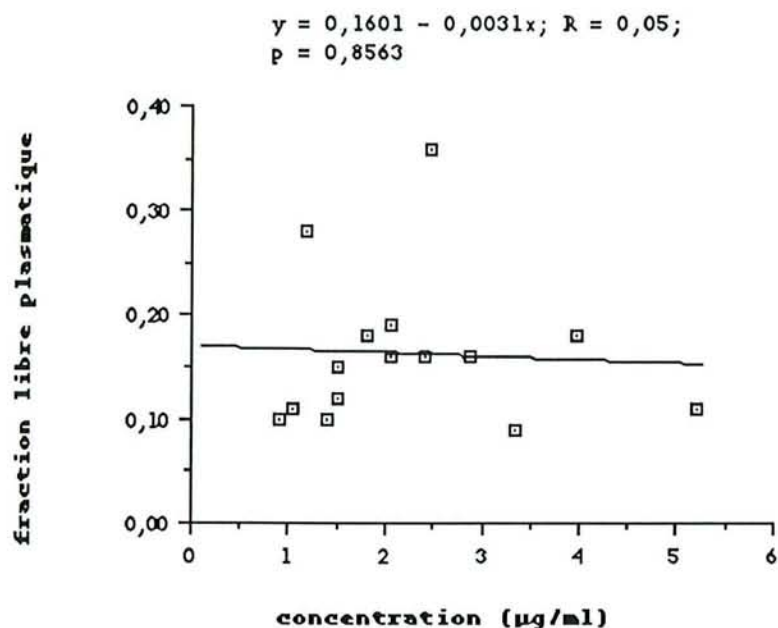


figure 45 : relation entre la fraction libre plasmatique et la concentration plasmatique totale à J0 (12 heures).

A J32, f a tendance à décroître quand la concentration augmente. Cette relation n'est pas significative avec p supérieur à 5 % (figure 46).

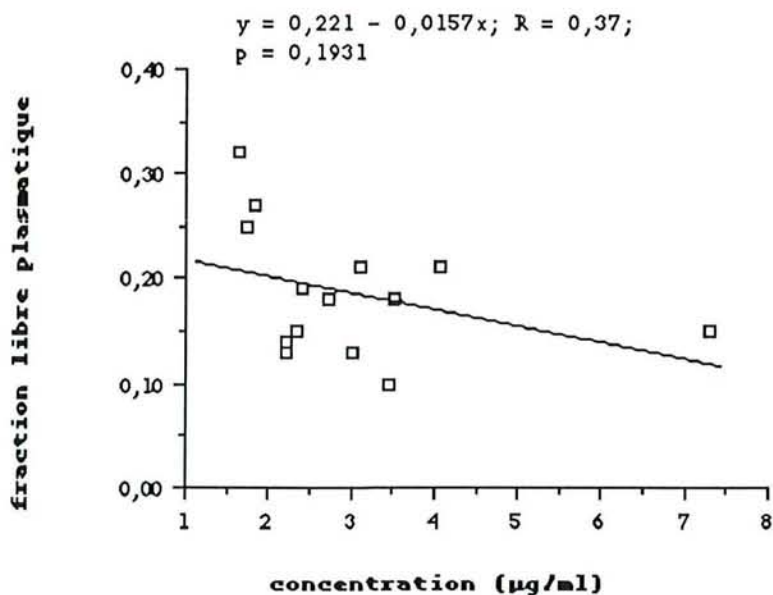


figure 46 : relation entre la fraction libre plasmatique et la concentration plasmatique totale à J32 (12 heures).

c- Variation en fonction de l'âge

L'étude de la fraction libre plasmatique moyenne à J0 et J32 en fonction de l'âge des patients montre que f a tendance à augmenter avec l'âge (figures 47 et 48). Mais cette hypothèse n'est pas vérifiée statistiquement.

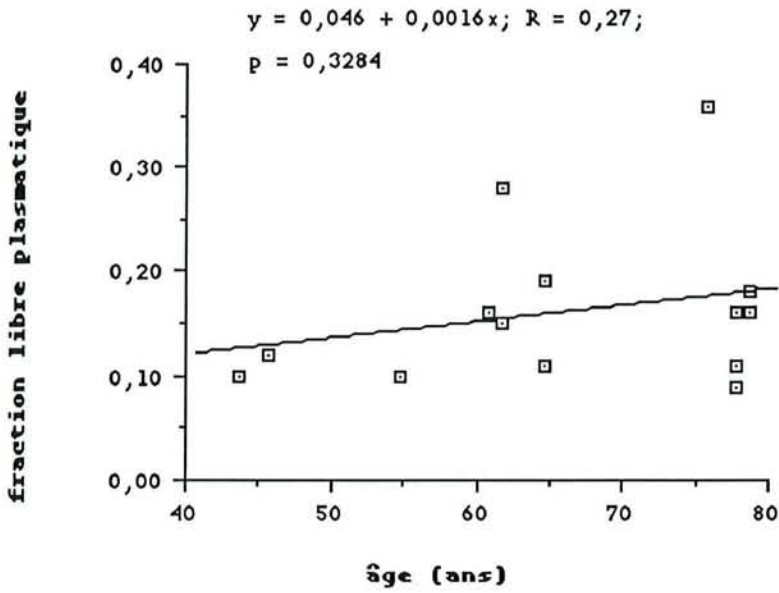


figure 47 : Relation entre la fraction libre plasmatique moyenne à J0 et l'âge.

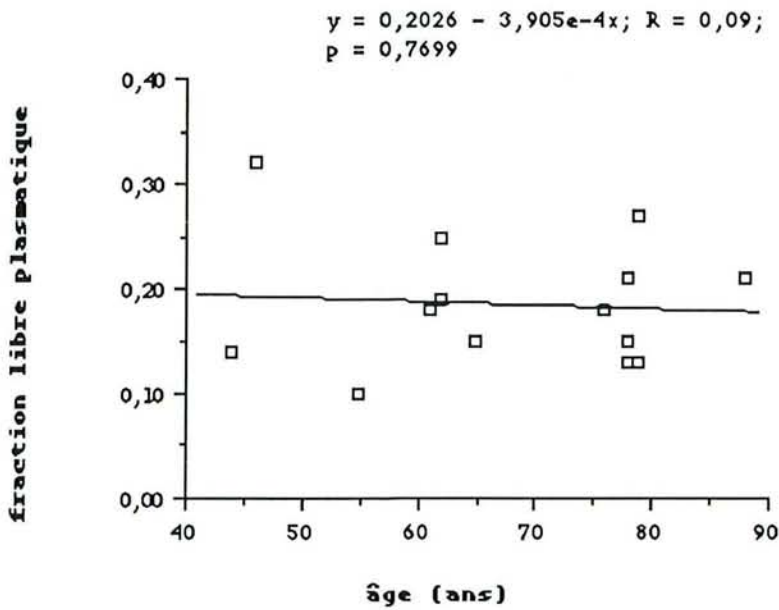


figure 48 : Relation entre la fraction libre plasmatique à J32 et l'âge.

Le taux d'albumine a tendance à diminuer avec l'âge, mais cette hypothèse n'est pas confirmée statistiquement (figures 49 et 50). Inversement, le taux d'alpha 1-glycoprotéine acide a tendance à augmenter avec l'âge à J0 (p égal 0,2487), la relation n'est pas retrouvée à J32 (p égal à 0,7762) (figures 49 et 50).

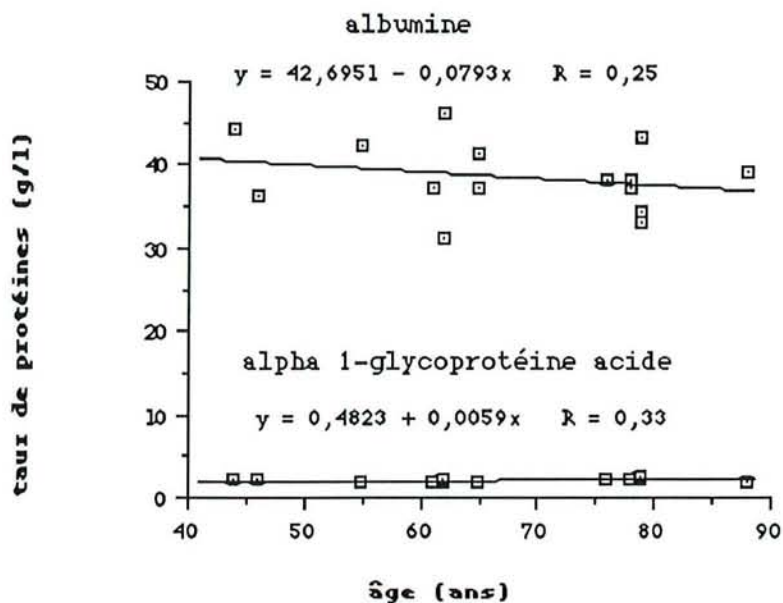


figure 49 : Relation entre le taux d'albumine et d'alpha 1-glycoprotéine acide (au jour J0) et l'âge.

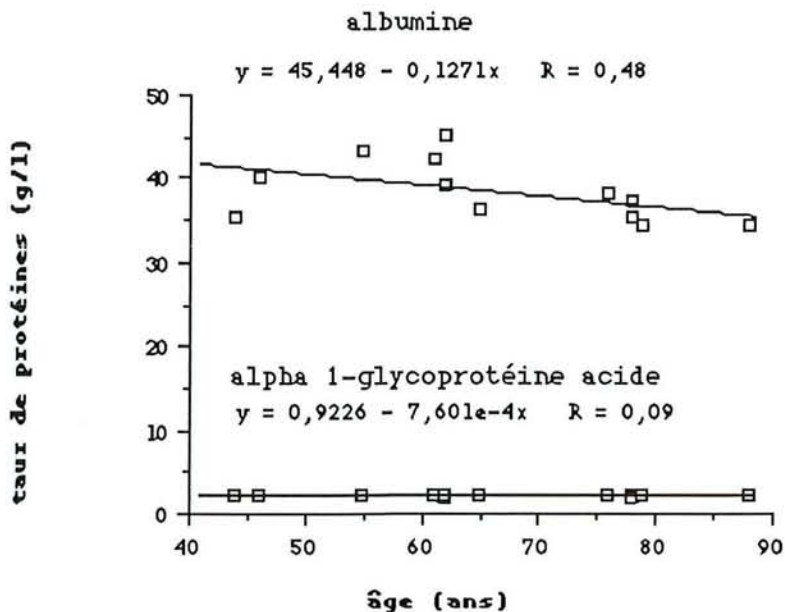


figure 50 : Relation entre le taux d'albumine et d'alpha 1-glycoprotéine acide (au jour J0) et l'âge.

d- Variation en fonction du taux en protéines plasmatiques (albumine; alpha 1-glycoprotéine acide).

L'étude du taux d'albumine et d'alpha 1-glycoprotéine acide en fonction de la fraction libre à J0 et J32 (12 heures) est représentée sur les figures 51 et 52. f est indépendant du taux d'albumine et d'alpha 1-glycoprotéine acide.

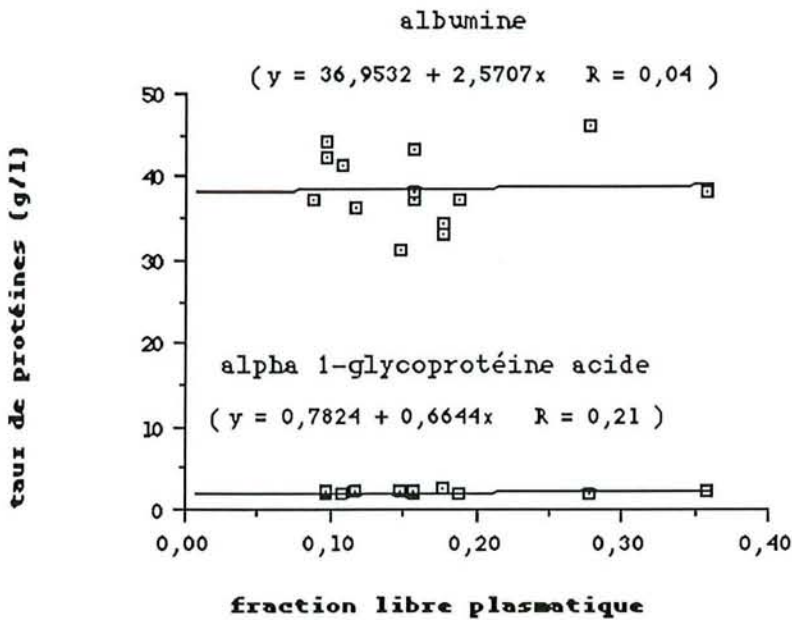


figure 51 : Relation entre la fraction libre plasmatique et le taux d'albumine et d'alpha 1-glycoprotéine acide des patients au jour 0.

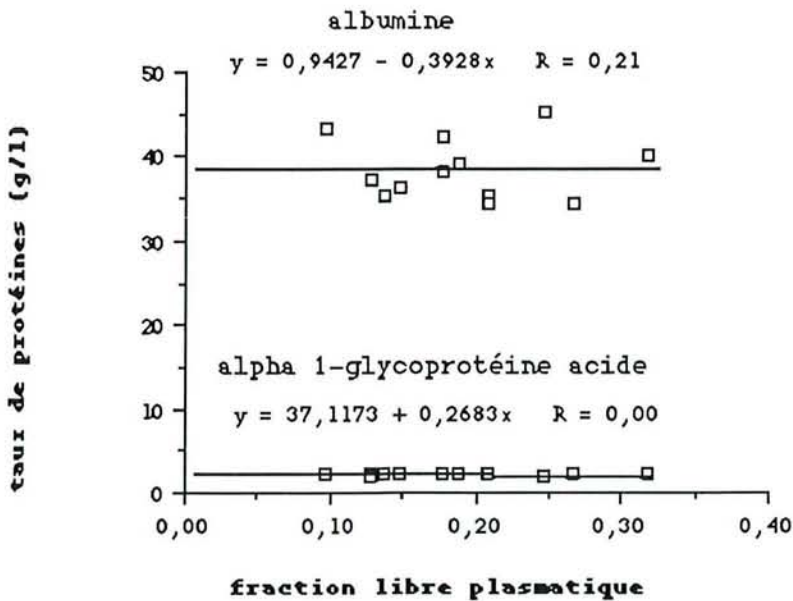


figure 52 : Relation entre la fraction libre plasmatique et le taux d'albumine et d'alpha 1-glycoprotéine acide des patients au jour 32.

IV.4.5. Le coefficient de distribution réel

4.5.1. Moyenne à 12 heures

L'étude comparée des coefficients de distribution réels à J0 et J32 montre qu'il n'existe pas significativement de différence entre les moyennes de J0 à J32 (tableau IV.7). Mais seulement 9 patients sur 16 ont été pris en compte pour le calcul de cette moyenne. Ainsi, une trop grande variabilité dans les résultats entre individus, ne nous permet pas de conclure en l'existence d'un équilibre de distribution entre l'eau plasmatique et les globules rouges dès J0 (12 heures).

Tableau IV.7 : Comparaison des valeurs moyennes des coefficients de distribution réels entre J0 et J32 (12 heures).

jours de prélèvement		Dréel (C _{gr} / (C _p . f))	extrêmes	P	test t significativité
n*	moy ±sd				
J0	7	1,14 ±0,59	(0,35-1,81)	0,6635	ns
J32	13	1,46 ±1,04	(0,40-3,00)		

légende : Dréel, coefficient de distribution réel; moy ±sd, moyenne ±déviati on standard; p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, la différence entre les moyennes est considéré comme significative. n*, nombre de valeurs (les valeurs inférieures à 0 sont supprimées, les patients n°5 et 13 ont quitté l'étude à J5).

4.5.2. Résultats individuels (12 heures)

Les tableaux (en annexe) regroupant les coefficients individuels de distribution réels permettent de juger de l'importance des variations interindividuelles (figure 53).

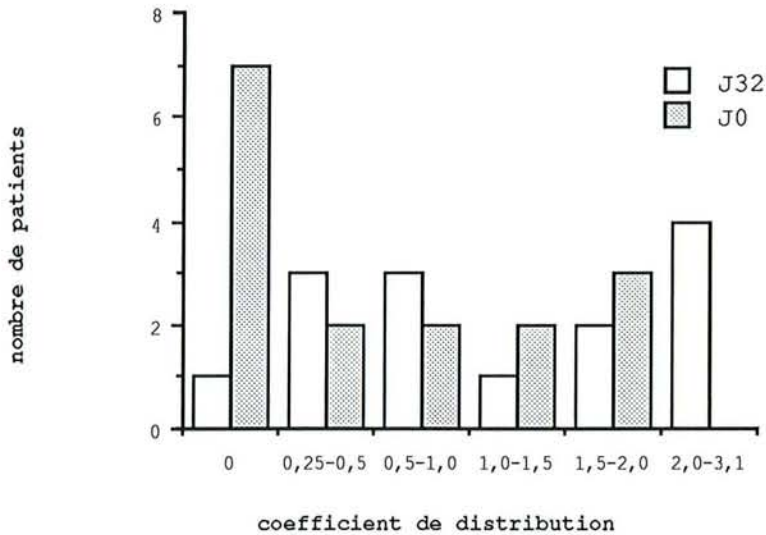


figure 53 : Distribution des D réel à J0 et J32 (12 heures).

En effet, à J0 (12 heures), les coefficients de distribution réels sont négligeables pour les patients 3, 6, 10, 11, 12, 15 et 16 et compris entre 0,25 et 1,88 pour les autres malades.

A J32 (12 heures), les patients n° 3, 4, 8 et 14 ont un coefficient de distribution réel supérieur à 2. Par contre, pour les patients n° 7, 10 et 16, il est dans les limites de 1,2-1,7. Pour les patients n° 1, 2, 6, 9, 11 et 15, il est inférieur à 1 et négligeable pour le patient 12.

Les patients n° 5 et 13 ont quitté l'étude à J5.

Les patients n° 1, 2, 6, 7, 9, 10, 11, 15 et 16 pour qui les coefficients de distribution réels sont inférieurs à 2, ont un poids rapporté à leur taille ($79,6 \pm 7,1$ kg pour $167,4 \pm 10,8$) supérieur à celui des autres patients, dont les coefficients de distribution apparents sont supérieurs à 2,5 ($66,8 \pm 16,4$ kg pour $162,3$ cm). Or, les tissus graisseux peuvent stocker eux aussi le médicament (en rapport avec la liposolubilité du médicament) et entrer en compétition avec le globule rouge pour la fraction libre plasmatique, diminuant ainsi le coefficient de distribution entre le plasma et les globules rouges.

Nous n'avons relevé entre les patients, aucune autre différence au niveau sanguin, hépatique et rénale, qui pourraient expliquer le facteur multiplicatif existant entre les valeurs de leur coefficient de distribution.

Le patient n°12 qui ne se rapproche d'aucun autre patient, et est caractérisé par des coefficients de distribution négligeables, avait ses prélèvements sanguins très fortement hémolysés à leur arrivée au laboratoire.

En effet, les prélèvements sanguins, très difficiles à effectuer chez ce patient étaient retardés de 10 minutes et ne nous parvenaient pas toujours dans les temps requis pour un dosage de qualité.

La comparaison des valeurs des Dréel obtenu à J0 et J32 montre que la répartition du disopyramide entre le plasma et les globules rouges est progressive. En effet, à J0, pour 14 patients, le coefficient de distribution réel est faible, voir même négligeable et augmente progressivement jusqu'à J32.

a-Variation en fonction de la concentration plasmatique totale

En considérant chaque patient individuellement, l'étude du coefficient de distribution réel en fonction de la concentration plasmatique libre de J0

à J32 montre que Dréel est indépendant de la concentration plasmatique totale (p supérieur à 5 %).

b-Variation en fonction de l'hématocrite

L'évolution du coefficient de distribution réel en fonction de l'hématocrite montre qu'il n'y a pas de relation entre ces deux paramètres (figure 54 et 55).

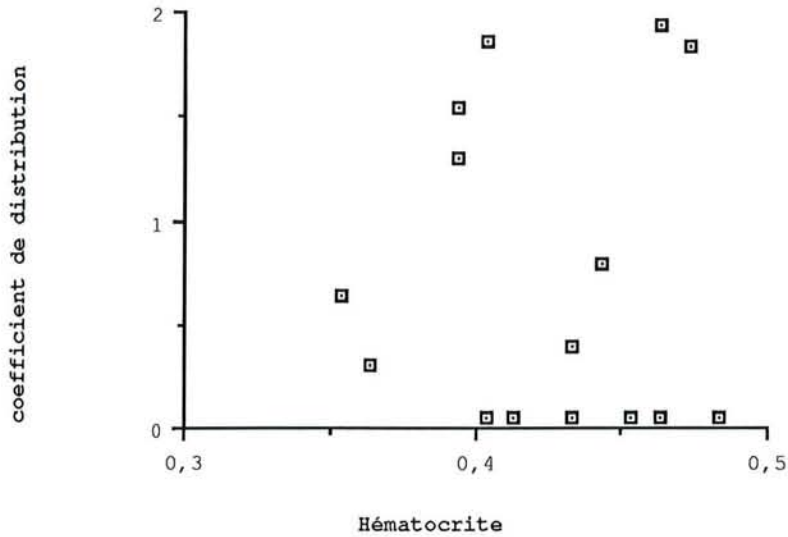


figure 54 : Relation entre le coefficient de distribution réel et l'hématocrite à J0 (12 heures).

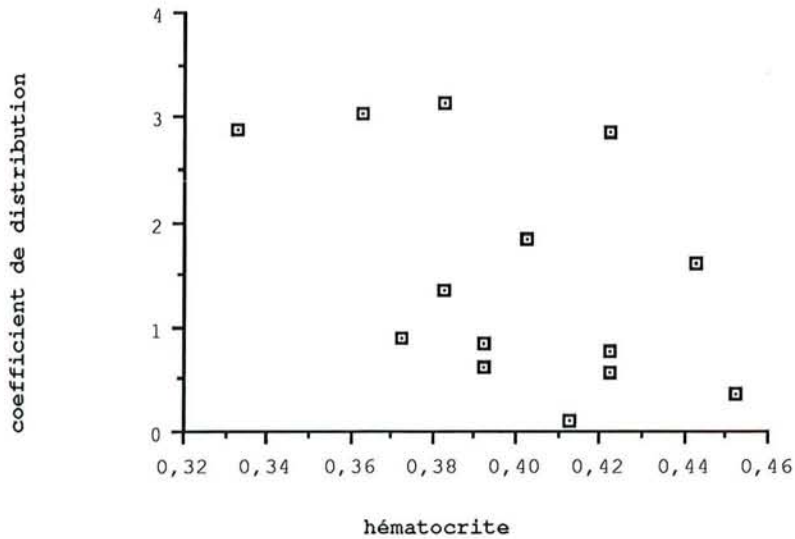


figure 55 : Relation entre le coefficient de distribution réel et l'hématocrite à J32 (12 heures).

IV.4.6. Le coefficient de distribution apparent

4.6.1. Moyenne à 12 heures

Les valeurs moyennes des coefficients de distribution apparents à J0, J5 et J32 sont reportées dans le tableau IV.8.

Tableau IV.8 : Comparaison des valeurs moyennes des coefficients de distribution apparents entre J0, J5 et J32 (12 heures).

jours de prélèvement		Dapparent (C _{gr} /C _p)		test t	
		extrêmes	P	significativité	
n*	moy ±sd				
J0	9	0,22 ±0,19 (0,04-0,52)	0,7189	ns	
J5	14	0,22 ±0,19 (0,02-0,71)	0,365	ns	
J32	13	0,25 ±0,18 (0,10-0,60)			

Légende : Dapparent, coefficient de distribution apparent; moy ±sd, moyenne ±déviat ion standard; p, valeur p de significativité statistique; s, significatif; ns, non significatif. A p inférieur à 5%, la différence entre les moyennes est considéré comme significative. n*, nombre de valeurs (les valeurs inférieures à 0 sont supprimées, les patients n°5 et 13 ont quitté l'étude à J5).

Il n'existe pas significativement de différence entre les valeurs moyennes des coefficients de distribution apparents à J0, J5 et J32 (tableau IV.8).

4.6.2. Résultats individuels (12 heures)

Les valeurs individuelles obtenues pour les coefficients de distribution apparents, à chaque jour (12 heures) sont rassemblées dans les tableaux en annexe.

En prenant comme références J0, J5 et J32 (12 heures), les coefficients de distribution apparents des 16 patients sont compris respectivement entre 0 et 0,71 (figure 56).

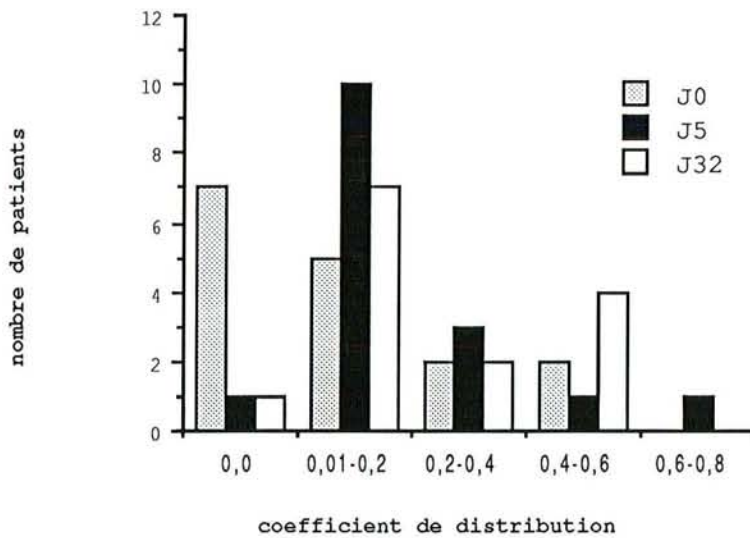


figure 56 : Distribution des D apparent à J0, J5 et J32 (12 heures).

Les patients 5 et 13 quittent l'étude à J5.

A J0, 14 patients sur 16 ont un coefficient de distribution apparent faible. Puis à J5 et J32, la concentration dans les globules rouges ainsi que $D_{apparent}$ augmentent progressivement. Ainsi, la diffusion du disopyramide in vivo n'est pas instantanée.

a-Variation en fonction de la concentration plasmatique totale

Chez la plupart des patients, à l'exception des patients 1, 6, 9, 14 et 16, l'étude du coefficient de distribution apparent en fonction de la concentration plasmatique totale de J0 à J32 montre que $D_{apparent}$

augmente linéairement avec la concentration plasmatique (p inférieur à 5%). La courbe moyenne d'évolution du coefficient de distribution apparent en fonction de la concentration totale de disopyramide dans le plasma est représentée ci dessous (figure 57).

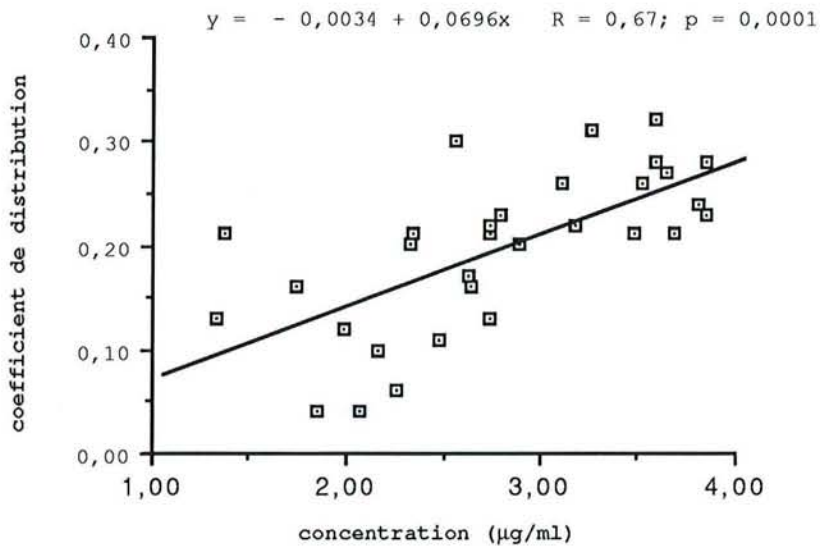


figure 57 : Courbe moyenne d'évolution du coefficient de distribution apparent en fonction de la concentration totale de disopyramide dans le plasma.

Chez les patients 1, 6, 9, 14 et 16, D apparent est statistiquement indépendant de la concentration totale de disopyramide dans le plasma.

b-Variation en fonction de l'hématocrite

Comme pour le coefficient de distribution réel, à J0, J5 et J32, il n'existe pas de relation significative entre le coefficient de distribution apparent et l'hématocrite avec p respectivement égal à 0,607, 0,1567 et 0,0917.

L'hématocrite n'a donc qu'un rôle mineur sur la variation du coefficient de distribution apparent pour H comprise entre 0,33 et 0,48.

IV.4.7. Etude de la variabilité interindividuelle observée pour un même paramètre

Nous constatons qu'indépendamment du paramètre considéré, les résultats obtenus in vivo sont soumis à une grande variabilité.

Cette variabilité interindividuelle peut s'expliquer par la fait que l'ensemble des patients, par leur âge compris entre 45 et 87 ans, leur pathologie, leur traitement associés ..., forme un groupe non homogène, d'où une plus grande disparité dans les résultats.

Comme le soulignait, par exemple, Ehrnebo pour la pentazocine (27), l'étude in vivo de la distribution dans le sang total d'un médicament avec des patients et de surcroit âgés, met en jeu de nombreux facteurs entraînant une certaine variabilité dans les résultats :

-les associations médicamenteuses (les médicament peuvent entrer en compétition pour les mêmes sites de fixation, modifiant ainsi la fixation protéique et/ou la fixation tissulaire du médicament étudié; 46, 62).

Bien que les médicaments connus pour modifier fortement la pharmacocinétique du disopyramide faisaient partis des critères d'exclusion, les patients de notre étude étaient pour la plupart sous traitements multiples. Par exemple, le patient n° 7 était traité par de l'acide acétylsalicylique (aspirine®) et de l'héparine calcique (calciparine®)...

-les pathologies associées (insuffisance hépatique, insuffisance rénale, maladies inflammatoires, infarctus du myocarde, hyperthyroïdisme; 46, 62)

Dans notre étude, un certain nombre de patients présentait un débit sanguin se trouvant modifié lors de certaines pathologies (diminué dans le cas de l'hypertension, la coronarite (patient 1, 13, 14), l'insuffisance mitrale (patient 4, 3, 12 et 9) ou d'un coeur pulmonaire (patient 15) et augmenté dans le cas de l'insuffisance cardiaque de l'hyperthyroïdisme ou de l'emphysème pulmonaire.

-l'âge entraîne des variations de la liaison protéique, une diminution de l'eau corporelle et des débits sanguins et une augmentation des graisses (46, 62).

Dans la population étudiée, le poids des patients est inversement proportionnel à leur âge (figure 58).

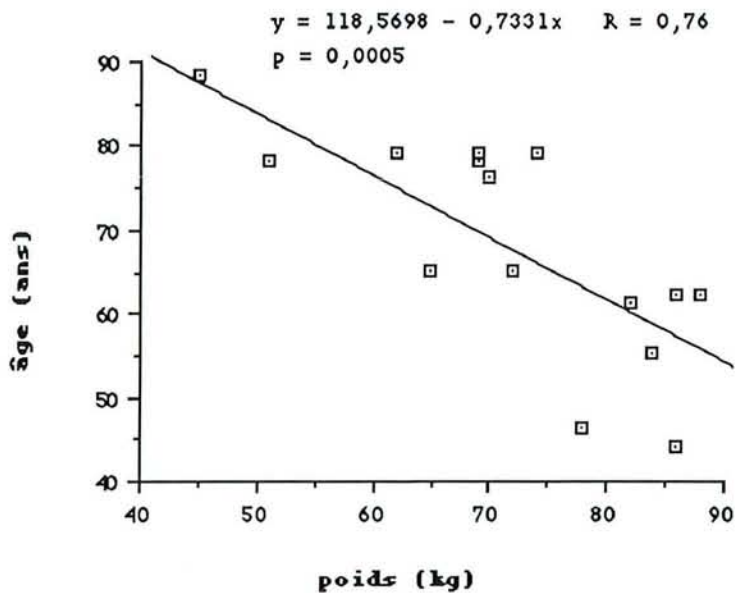


figure 58 : Relation entre le poids et l'âge des patients.

De même, il existe une relation significative entre le poids et le sexe ($p = 0,011$). Les sujets masculins ont un poids supérieur aux sujets féminins. Le poids moyen chez les hommes est de $81,6 \pm 7,73$ kg, pour $54,36 \pm 28,75$ kg chez les femmes.

Ainsi, cette différence de poids existant entre les malades a une incidence sur la dose exprimée en mg de disopyramide par kg de poids corporel (Tableau IV.1a), ce qui explique ces larges variations interindividuelles de la dose par rapport au poids.. Elle varie alors de 2,9 à 5,0 mg/kg .

-des variations physiologiques ou pathologiques au niveau du globule rouge lui même ou au niveau de sa membrane (maladies enzymatiques ou génétiques) peuvent modifier l'intensité de passage du médicament dans les globules rouges (21, 80).

Ainsi, lors de son passage dans la circulation générale, le disopyramide se répartit entre les différents constituants du sang.

Parallèlement à cette distribution intrasanguine, le médicament subit un certain nombre d'étapes : distribution tissulaire, métabolisme et élimination (figure 59).

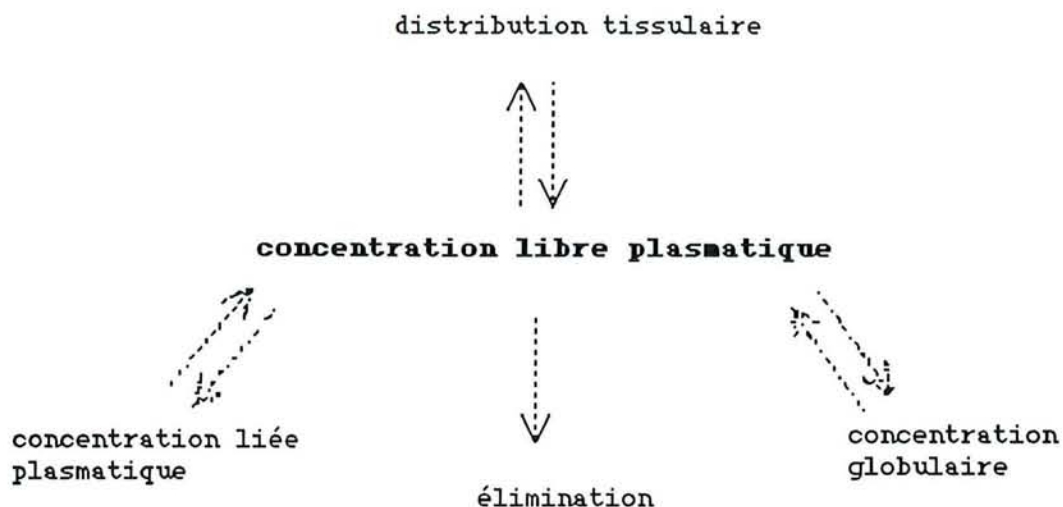


figure 59 : différentes étapes que subit un médicament après son passage dans la circulation générale.

Tous facteurs pouvant modifier l'une de ses étapes auront une répercussion sur la concentration libre plasmatique du médicament (46, 62) et entraîneront des variations dans la distribution globulaire. En effet, l'équilibre qui s'établit dans le sang est un équilibre global, et la fraction de médicament qui passe dans les globules rouges est directement reliée à la concentration libre plasmatique.

IV. 5. DISCUSSION

La répartition in vivo du disopyramide LP entre le plasma et les globules rouges est progressive, non instantanée. Pour la plupart des patients de notre étude, à l'exception des patients (1 et 14), la concentration globulaire est faible parfois même négligeable à J0

(12 heures), malgré une concentration plasmatique relativement élevée; elle augmente progressivement les jours suivants. Les patients 1 et 14, se distinguent des autres patients, par un passage du disopyramide dans les globules rouges plus rapide, avec une concentration globulaire supérieure à 1 $\mu\text{g/ml}$ dès J0 (12 heures), qui n'augmente pas significativement les jours suivants (p supérieur à 5 %).

La répartition progressive du disopyramide dans les globules rouges pourrait s'expliquer ainsi : on distinguerait deux phases : une première phase pendant laquelle le médicament se trouve principalement lié aux protéines plasmatiques, un très faible passage dans les globules rouges, est alors observé; la concentration globulaire est ainsi inférieure à la détection limite, soit 0,1 $\mu\text{g/ml}$; une seconde phase, pendant laquelle le métabolite déplacerait le disopyramide de ces sites de liaison aux protéines plasmatiques (10, 35, 43) entraînant alors une augmentation du taux libre de disopyramide dans le plasma et un possible passage plus important dans les globules rouges. Sachant que le temps d'apparition de la concentration maximale du métabolite est variable selon les patients (54), ceci pourrait expliquer le fait que les patients 1 et 14 aient une répartition plus rapide du disopyramide dans les globules rouges.

La fraction libre plasmatique se situe entre 0,08 et 0,35 selon les patients et révèle une très forte disparité interindividuelle. Cette variabilité a également été observée par d'autres auteurs (35, 69) et serait surtout liée à la physiopathologie dans le cas des malades, à l'âge physiologique et probablement au polymorphisme génétique chez l'homme sain.

La fraction libre plasmatique est indépendante de la concentration plasmatique totale. Ce résultat diverge de ceux de la littérature (11, 34, 35, 64).

Pour tenter d'expliquer cette discordance, nous avons été amené à comparer notre protocole expérimental à ceux utilisés par les auteurs. Dans notre étude, le plasma utilisé était préalablement congelé avant toute étude de la liaison protéique, alors que les auteurs utilisaient du plasma frais. Dans notre étude, ce choix était justifié par le fait, que les prélèvements des malade arrivaient à toutes heures du jour et de la nuit.

Selon Gibassier, le plasma utilisé lors de l'étude de la fixation protéique doit en théorie présenter les qualités suivantes (35):

- plasma obtenu à partir de sang non hémolysé
- plasma frais hépariné (sans aucune congélation préalable du traitement)
- conservation possible du plasma entre +2° et +8° C (24 H à 48 H).

Il est possible que la congélation du plasma modifie ou perturbe la fixation du disopyramide aux protéines plasmatiques, en induisant un changement conformationnel de ces protéines.

L'alpha 1- glycoprotéine acide apparait comme la protéine vectrice du disopyramide (contribution comprise entre 75 et 95 %), alors que l'albumine, généralement dominante dans la fixation des molécules basiques, n'intervient que très faiblement dans ce mécanisme (35). Haughey (40) a pu également établir une corrélation quantitative entre le taux d'alpha 1- glycoprotéine acide et le taux de fixation du disopyramide. Le disopyramide est fixé de manière pratiquement spécifique sur l'alpha 1- glycoprotéine acide : 1 ère classe de sites rapidement

saturable, de très forte affinité pour le principe actif. L'albumine est la 2^{ème} classe de sites peu saturable, d'affinité faible.

La capacité de fixation du disopyramide sur l'alpha 1-glycoprotéine acide en relation avec le taux d'alpha 1-glycoprotéine acide est fonction de l'âge, minimale chez le nouveau-né et fortement croissante à partir de 49 ans, entraînant une fluctuation importante des taux libres circulants (44). Ces taux libres sont d'autant plus faibles que le taux d'alpha 1-glycoprotéine acide est élevé. Les auteurs (35, 40) observent également une très grande variabilité du taux d'alpha 1-glycoprotéine acide, au cours des syndromes inflammatoires et particulièrement après un infarctus du myocarde. Bien que l'âge des patients de notre étude se situe entre 43 et 85 ans, aucune relation significative n'a pu être mise en évidence entre l'âge, la fraction libre plasmatique et le taux d'alpha 1-glycoprotéine acide et d'albumine.

A J32 (12 heures), le rapport des concentrations dans les globules rouges et l'eau plasmatique (coefficient de distribution réel) se situe entre 0,25 et 3,04.

Les liaisons que forme le disopyramide avec les protéines globulaires, soit à l'intérieur du globule rouge soit sur la membrane érythrocytaire ne sont pas saturables, puisque D réel ne dépend pas de la concentration plasmatique totale.

La détermination du coefficient de distribution réel étant faite directement à partir de la fraction libre plasmatique, les résultats obtenus sont à interpréter avec la même réserve.

Le coefficient de distribution apparent se situe entre 0,06 et 0,54 à J32 (12 heures). Comme pour le coefficient de distribution réel, une grande variabilité dans les résultats est observée.

Comme pour la plupart des molécules fortement liées aux protéines plasmatiques, les coefficients de distribution apparents sont peu élevés, inférieur à 1, et témoignent d'un faible passage du disopyramide dans les globules rouges.

De plus, pour la plupart des patients à l'exception des malades 1, 6, 9, 14, 16, il augmente linéairement avec la concentration plasmatique totale. Pour les patients, 1, 6, 9, 14 et 16, D apparent est indépendant de la concentration plasmatique totale.

En résumé, le disopyramide fortement lié aux protéines plasmatiques, présente un rapport de la quantité de médicament retrouvée au niveau des hématies à la quantité de médicament présent au niveau plasmatique faible et témoigne d'un passage globulaire du disopyramide peu important.

CONCLUSION GENERALE

L'étude de la distribution globulaire du disopyramide a été réalisée en deux étapes consécutives et complémentaires :

-une étude in vitro réalisée par la méthode d'incubation à 37°C et sous agitation constante. Cette méthode est simple, rapide d'exécution, ne nécessite l'achat d'aucun matériel coûteux. Elle permet l'étude du passage du médicament aussi bien dans le sens plasma vers globule rouge qu'en sens inverse et la détermination de la fraction libre plasmatique et globulaire.

-une étude in vivo réalisée chez un groupe de 16 patients qui ont reçu du disopyramide à libération prolongée (LP).

La première phase de ce travail était de proposer un protocole d'étude in vitro de la distribution du disopyramide entre le plasma et les globules rouges.

La seconde phase in vivo, devait nous permettre de valider ce protocole, en comparant les résultats obtenus lors des deux phases.

In vitro, nous avons montré que la distribution entre le tampon ou le plasma et les globules rouge était instantanée.

In vivo, la répartition du disopyramide LP entre plasma et globules rouges était progressive, non instantanée : pour la plupart des patients, la concentration globulaire est négligeable à J0 (12 heures), malgré une concentration de disopyramide dans le plasma comprises entre 0,8 et 5,0 µg/ml; elle augmente les jours suivants.

Nous pensons que ce décalage observé entre les résultats obtenus in vitro et ceux obtenus in vivo pourrait être lié en partie à la fixation du disopyramide aux protéines plasmatiques. Comme nous l'avons déjà souligné dans le troisième partie, la liaison du disopyramide aux protéines plasmatiques est beaucoup plus intense lorsqu'elle est déterminée directement sur du plasma prélevé au cours d'étude cinétique du disopyramide chez l'homme, que lors d'étude in vitro.

Ainsi, in vivo, lors de la répartition du disopyramide dans les globules rouges, on distinguerait deux phases : une première phase pendant laquelle très peu de médicament se trouve sous forme libre, un très faible passage dans les globules rouges, est alors observé; la concentration globulaire est ainsi inférieure à la détection limite, soit 0,1 µg/ml; une seconde phase, pendant laquelle le métabolite déplacerait le disopyramide de ses sites de liaison aux protéines plasmatiques (10, 35, 43) entraînant alors une augmentation du taux libre de disopyramide dans le plasma.

Sachant que seule la forme libre de disopyramide peut traverser la membrane du globule rouge, ceci pourrait expliquer une répartition progressive du disopyramide dans les globules rouges.

La fraction libre plasmatique (f), obtenue in vitro lors du passage du plasma vers les globules rouges passe de 0,16 à 0,88, pour des concentrations plasmatiques de disopyramide comprises entre 0,90 et 6,99 µg/ml; elle est dépendante de la concentration totale de disopyramide dans le plasma.

In vivo, f se situe entre 0,08 et 0,35 pour des concentrations plasmatiques comprises entre 0,79 et 5,09 $\mu\text{g/ml}$; elle est indépendante de la concentration plasmatique.

Comme le montre la figure 60, le taux de fixation du disopyramide est beaucoup plus fort, in vivo, que le taux de fixation déterminé in vitro. Certes, lors de l'étude in vitro, du plasma frais a été utilisé pour la détermination des taux libres plasmatiques à la différence du ex vivo où l'on utilise du plasma congelé. Nous avons d'ailleurs à ce sujet émis dans la 4^{ème} partie l'hypothèse, d'une erreur du protocole de détermination in vivo de la fraction libre plasmatique.

Cependant, de nombreux auteurs (3, 35, 64) ont déjà fait état de cette différence qui paraît justifier une détermination directe des taux libres ultrafiltrables du disopyramide.

Selon Gibassier (35), cette différence observée pourrait être due aux modifications d'une part des concentrations du médicament ligand et/ou d'autre part des protéines impliquées dans la fixation. Les modifications se produisent dans les proportions respectives des énantiomères 2S et 2R, avec une prédominance de l'un ou l'autre des stéréoisomères et/ou dans la composition du plasma (albumine, alpha 1- glycoprotéine acide, etc...) par rapport au plasma vierge prélevé pour établir la fixation in vitro.

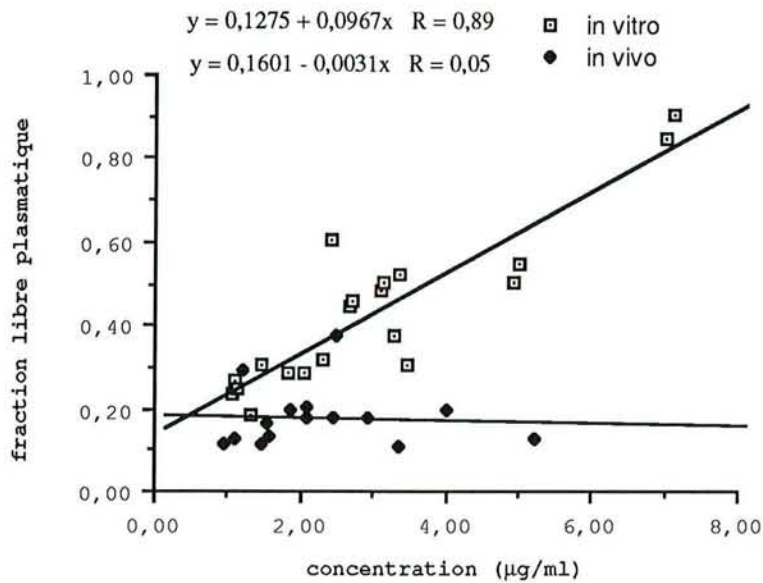


figure 60 : Fixation protéique plasmatique du disopyramide. Comparaison de la méthode in vitro et méthode in vivo.

Le coefficient de distribution réel, obtenu in vitro, est supérieur à 2, il est constant dans le domaine des concentrations étudiées incluant les concentrations thérapeutiques; la concentration représente alors plus du double de la concentration plasmatique libre.

In vivo, 4 patients sur 13 ont un coefficient de distribution supérieur à 2, comparables à ceux déterminés in vitro. Ceux ci étant déterminés directement à partir de la fraction libre plasmatique, il nous apparait difficile de dire si les variations observées entre in vitro et in vivo sont liées à des facteurs dépendant du protocole in vivo de détermination de la fraction libre plasmatique (congélation des échantillons).

Le coefficient de distribution apparent, obtenu in vitro, pour des concentrations plasmatiques comprises entre 0,90 et 6,99 $\mu\text{g/ml}$, se situe entre 0,49 et 2,03; il augmente avec la concentration plasmatique et la fraction libre plasmatique.

In vivo, pour des concentrations comprises entre 1,51 et 7,17 $\mu\text{g/ml}$, D apparent des 16 patients, à J32 (12 heures), se situe entre 0,10 et 0,59. Chez la plupart des patients, à l'exception des patients 1, 6, 9, 14 et 16, l'étude du coefficient de distribution apparent en fonction de la concentration plasmatique totale de J0 à J32 montre que D apparent augmente linéairement avec la concentration plasmatique. Chez les patients 1, 6, 9, 14 et 16, D apparent est indépendant de la concentration totale de disopyramide dans le plasma.

Les "D apparent" obtenus in vivo sont très inférieurs à ceux obtenus in vitro; ils sont inférieurs à 0,6 et cela signifie que les concentrations globulaires sont négligeables par rapport aux concentrations plasmatiques (figure 61).

Le taux de fixation plasmatique du disopyramide est beaucoup plus intense, in vivo, que le taux de fixation expérimental déterminé in vitro. Ainsi, sachant que seul le disopyramide sous forme libre peut traverser les membranes érythrocytaires et/ou tissulaires, une baisse du taux libre plasmatique du disopyramide entraînera un passage moindre dans les globules rouges, et par la même une diminution du coefficient de distribution apparent.

De plus, in vivo, le médicament subit un certain nombre d'étapes, dont la distribution tissulaire. Il se pourrait qu'une forte affinité du disopyramide pour les tissus influence aussi l'intensité du passage du disopyramide entre le plasma et les globules rouges.

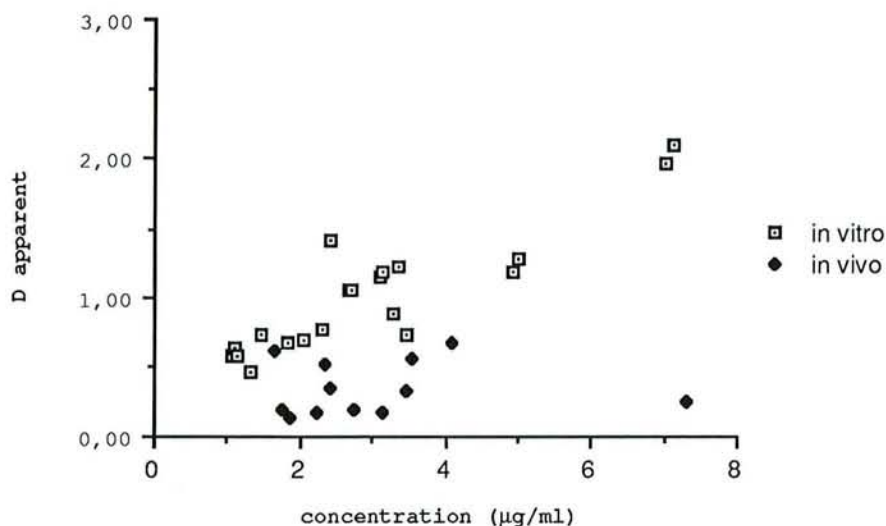


figure 61 : Evolution du coefficient de dsitribution apparent en fonction de la concentration totale de disopyramide dans le plasma.

Comparaison de la méthode in vitro et méthode in vivo (D apparent de tous les patients à J32 (12 heures)).

En résumé, cette étude montre que l'intensité du passage du disopyramide dans les globules rouges est surestimée in vitro. In vivo, un faible passage globulaire est observée. A l'inverse, le taux de fixation déterminé indirectement par le méthode d'incubation est beaucoup plus faible que le taux de fixation déterminé in vivo. Il apparait ainsi clairement que les résultats obtenus par la méthode d'incubation in vitro pour le disopyramide ne sont pas transposables in vivo.

Certes, il est regrettable que les discordances observées entre les résultats obtenus in vitro et ceux obtenus in vivo, pour le disopyramide, ne nous permettent pas de valider le protocole d'étude in vitro de la distribution du disopyramide entre le plasma ou le tampon et les globules rouges. Toutefois il apporte une conclusion importante dans le sens où il

met en garde contre l'extrapolation des résultats in vitro à l'in vivo pour la détermination du passage globulaire du disopyramide et attire l'attention sur les différences qui peuvent se présenter pour d'autres médicaments.

Cependant, ce modèle d'étude semble très intéressant dans le cadre d'autres molécules, comme pour le lithium, le diazepam.. pour lesquelles les résultats in vitro sont comparables à ceux obtenus in vivo (33, 51). En effet, s'agissant d'un modèle expérimental simple, de nombreuses études peuvent être réalisées pour analyser les caractéristiques de fixation aux protéines plasmatiques et globulaires d'un médicament et peuvent avoir un aspect prévisionnel pour analyser par exemple le déplacement d'un principe actif de ses sites de fixation par une autre molécule.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1- ABSHAGEN U., KEWITZ H., RIETBROCK N.

Distribution of digoxin, digitoxin and ouabain between plasma and erythrocytes in various species.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1971, 270, 105-116

2- AHTEE L., PAASONEN M.K.

Distribution of some phenothiazines in red blood cells and platelets.

J. Pharm. Pharmacol., 1966, 18, 126-128

3- AITIO M.L.

Plasma concentrations and proteins binding of disopyramide and monoNdealkylidisopyramide during chronic oral disopyramide therapy.

Br. J. Clin. Pharmacol., 1981, 11, 369-375

4- AKI H., YAMANOTO M.

Microcalorimetric study for the binding of ionic drugs to human erythrocytes and the ghost membranes.

J. Pharm. Pharmacol., 1990, 42, 637-641

5- BAYNE W.F., CHU L.C., THEEUVES F.

Acetazolamide binding to two carbonic anhydrase isoenzymes in human erythrocytes.

J. Pharm. Sci., 1979, 68, 912-913

6- BENOIST J.M.

Lithium intra-érythrocytaire et rapport érythro-plasmatique. Mécanismes biochimiques et applications cliniques.

Thérapie, 1982, 37, 615-628

7- BICKEL M.H.

Binding of chlorpromazine and imipramine to red cells, albumin, lipoproteins and other blood components.

J. Pharm. pharmacol., 1975, 27, 733-738

8- BOOBIS A.R., BURLEY D., MARGERISON DAVIES D., DAVIES D.S., IAN HARRISON P., ORME M.E., KEVIN PARK B., GOLDBERG L.I.

Therapeutics drugs

Edinburgh; London; Melbourne : Churchill Livingstone, 1991

9- BOWERS W.F., FULTON S., THOMPSON J.

Ultrafiltration vs equilibrium dialysis for determination of free fraction.

Clin. Pharmacokinet., 1984, 2, 49-60

10- BREDESEN J.E., KIERULF P.

Relationship between alpha 1-acid glycoprotein and plasma binding of disopyramide and mono-N-dealkyldisopyramide.

Br. J. clin. Pharmacol., 1984, 18, 779-784

11- BREDESEN J.E., PIKE E., LUNDE P.K.M.

Plasma binding of disopyramide and mono-N-dealkyldisopyramide.

Br. J. clin. Pharmacol., 1982, 14, 673-676

12- BRES J., BRESSOLLE F.

Pharmacocinétique plasmatique, érythrocytaire et urinaire du sultropide chez l'homme.

Thérapie, 1985, 40, 433-439

13- BRYSON J.E., LAWRENCE J.R., STEELE W.H., CAMPWELL B.C., ELLIOTT H.L.,
SUMNER D.J.

The influence of protein binding of disopyramide clearance.
Eur. J. clin. Pharmacol., 1982, 23, 453-456

14- CHATELAIN P., LARUEL R.

Amiodarone partitioning with phospholipid bilayers and erythrocyte
membranes.
J. Pharm. Sci., 1985, 74, 783-784

15- CHARETTE C., MACGILVERAY I.J., MAINVILLE C.

Simultaneous determination of disopyramide and its Mono-N-dealkyl
metabolite in plasma and urine by high-performance liquid chromatography.
J. Chromatogr., 1983, 274, 219-230

16- COFFEY J.J., BULLOCK F.J., SCHOENEMANN P.T.

Numerical solution of nonlinear pharmacokinetic equations. Effects of
plasma protein binding on drug distribution and elimination.
J. Pharm. Sci., 1971, 60, 1623-1628

17- COHEN Y.

Abrégé de pharmacologie.
Paris : Masson, 1986

18- CRUZE C.A., MEYER M.C.

Binding of salicylate and sulfathiazole by whole blood constituents.
J. Pharm. Sci., 1976, 65, 33-37

19- CUNNINGHAM J.L., SHEN D.D., SHUDO I., AZARNOFF D.L.

The effects of urine pH and plasma protein binding on the renal clearance of disopyramide.

Clin. Pharmacokinet., 1977, 2, 373-383

20- DAVID B.M., MADSEN B.W., ILETT K.F.

Plasma binding of disopyramide.

Br. J. Clin. Pharmacol, 1980, 9, 614-618

21- DELAUNAY J., BOIVIN P.

Le squelette du globule rouge.

Recherche, 1990, 21, 844-852

22- DEL CONT BERNARD A., ROYER MORROT M.J., ZHIRI A., RAMBOURG M., ROYER R.J.

Automated determination of disopyramide and N-monodealkyldisopyramide in plasma by reversed-phase liquid chromatography with a column switching system.

J. Chromatogr., 1992, 574, 365-368

23- DIETERLE W., WAGNER J., FAIGLE J.W.

Binding of chlortalidone to blood components in man.

Eur. J. Clin. Pharmacol., 1976, 10, 37-42

24- DUBETZ D.K., BROWN N.N., HOOPER W.D., EADIE M.J., TYRER J.H.

Disopyramide pharmacokinetics and bioavailability.

Br. J. Clin. Pharmacol., 1978, 6, 279-281

25- DUCHATEAU A.M.J.A., MERKUS F.W.H.M., SCHOBLEN F.

Rapid gas chromatographic determination of disopyramide in serum using a nitrogen detector.

J. Chromatogr., 1975, 109, 432-435

26- EHRNEBO M.

Pharmacokinetics and distribution properties of pentobarbital in humans following oral and intravenous administration.

J. Pharm. Sci., 1974, 63, 1114-1118

27- EHRNEBO M., AGURELL S., BOREUS L.O., GORDON E., LONROTH U.

Pentazocine binding to blood cells and plasma proteins

Clin. Pharmacol. Ther., 1974, 16, 424-429

28- FLEUREN H.L.J., VAN ROSSUM J.M.

Nonlinear relationships between plasma and red blood cell pharmacokinetics of chlorthalidone in man.

J. Pharmacokinet. Biopharm., 1987, 36, 2641-2645

29- GARRETT E.R., HINDERLING P. H.

Pharmacokinetics of disopyramide in healthy human subjects.

Clin. Pharmacol. Ther., 1975, 17, 234-241

30- GARRETT E.R., HUNT A.

Physicochemical properties, solubility, and protein binding of tetrahydrocannabinol.

J. Pharm. Sci., 1974, 63, 1056-1064

31- GARRETT E.R., LAMBERT H.J.

Pharmacokinetics of trichloroethanol and metabolites and interconversions among variously referenced pharmacokinetic parameters.

J. Pharm. Sci., 1973, 62, 550-571

32- GARVER D.L., DAVIS J.M., DEKIRMENJIAN H.

Pharmacokinetics of red blood cell phenothiazine and clinical effects. Acute dystonic reactions.

Arch. Gen. Psychiatry, 1976; 33, 862-866

33- GAY C., OLIE J.P., DAGHER G., BINET P., LOO H., DENIKER P.

Etude cinétique du rapport érythroplasmatique du lithium.

Thérapie, 1984, 39, 139-145

34- GIACOMINI K.M., SWEZEY S.E., TURNER-TAMIYASU K., BLASCHKE T.F.

The effect of saturable binding to plasma proteins on the pharmacokinetic properties of disopyramide.

J. Pharmacokinet. Biopharm., 1982, 10, 1-13

35- GIBASSIER D.

Biopharmacie et pharmacocinétique chirale du disopyramide; Etude expérimentale et clinique.

Th. : Pharm.: Rennes : 1985

36- GILGENKRANTZ J.M., ROYER R.J., ZANNAD F.

Thérapeutique en pathologie cardio-vasculaire "de la pharmacologie à la prescription.

Paris : Flammarion, 1987

37- GRAFFNER C., LAGERSTROM P.O.G., LUNDBORG P.N.G., RONN O.F.

Relative absorption of disopyramide as determined by liquid chromatography following acute administration of standard capsules and controlled-release tablets.

Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol., 1981, 19, 414-420

38- GREEN R.J., BARON D.N.

The acute in vitro effect of ethanol, its metabolites and other toxic alcohols on ion flux in isolated human leucocytes and erythrocytes.

Biochem. pharmacol., 1986, 35, 3457-3464

39- HAGENFELDT L., ARVIDSSON A.

The distribution of amino acids between plasma and erythrocytes.

Clin. Chim. Acta, 1980, 100, 133-141

40- HAUGHEY D.B., KRAFT C.J., MATZKE G.R., KEANE W.F., HALTSTENSON C.E.

Protein binding of disopyramide and elevated alpha-1-acid glycoprotein concentrations in serum obtained from dialysis patients and renal transplant recipients.

Am. J. Nephrol., 1985, 5, 35-39

41- HAUGHEY D.B., LIMA J.J.

Influence of concentration-dependent protein binding on serum concentrations and urinary excretion of disopyramide and its metabolite following oral administration.

Biopharm. Drug Dispos., 1983, 4, 103-112

42- HINDERLING P.H.

Kinetics of partitioning and binding of digoxin and its analogues in the subcompartments of blood.
J. Pharm. Sci., 1984, 73, 1042-1052

43- HINDERLING P.H., BRES J., GARRETT E R.

Protein binding and erythrocyte partitioning of disopyramide and its monodealkylated metabolite.
J. Pharm. Sci., 1974, 63, 1684-1690

44- HOLT D.W., HAYLER A.M., HEALEY G.F.

Effect of age and plasma concentrations of albumin and alpha 1-glycoprotein on protein binding of disopyramide.
Br. J. Clin. Pharmacol., 1983, 16, 344-345

45- HO NGNOC-TA TRUNG A., SIROIS G., DUBE L.M., MCGILVERAY I.J.

Comparaison of the erythrocyte partitioning method with two classical methods for estimating free drug fraction in plasma.
Biopharm. Drug Dispos., 1984, 5, 281-290

46- HOUIN G.

Pharmacocinétique.
Paris : Marketing, 1990

47- HUTSELL T.C., STACHELSKI S.J.

Determination of disopyramide and its Mono-N-Dealkylated metabolite in blood serum and urine.
J. Chromatogr., 1975, 106, 151-158

48- ILETT K.F., HACKETT P.L., DUSCI L.J., TJKROSETIO R.

Assay of disopyramide in plasma by high-pressure liquid chromatography.
J. Chromatogr., 1978, 154, 325-329

49- ILETT K.F., MADSEN B.W., WOODS T.D.

Disopyramide kinetics in patients with acute myocardial infarction.
Clin. Pharmacol. Ther., 1979, 26, 1-7

50- ISAACS V.E., SCHOENWALD R.D.

Binding of quinidine to a red blood cell hemolysate preparation.
J. Pharm. Sci., 1974, 63, 1267-1271

51- JADOT G., VALLI M., BRUGUEROLLE B., BOUYARD P.

Le globule rouge : indicateur pharmacologique à réévaluer ?...
Nouv. Presse Méd., 1981, 10, 3369-3370

52- JELLET L.B., SHAND D.G.

Uptake of propranolol by washed human red blood cells.
Pharmacologist., 1973, 13, 245

53- JOHNSTON A., HENRY J.A., WARRINGTON S.J., HAMER N.A.J.

Pharmacokinetics of oral disopyramide phosphate in patients with renal
impairment.

Br. J. Clin. Pharmacol., 1980, 10, 245-248

54- JUILLIERE Y.

Etude comparée de la pharmacocinétique du disopyramide à libération prolongée, chez le sujet âgé (≥ 75 ans) et le sujet adulte jeune (≤ 65 ans).

DEA : Pharm. : Nancy : 1990

55- KAPIL R.P., ABOTT F.S., KERR C.R., EDWARDS D.J., LALKA D., AXELSON J.E.

Simultaneous quantitation of disopyramide and its mono-dealkylated metabolite in human plasma by fused-silica capillary gas chromatography using nitrogen-phosphorus specific detection.

J. Chromatogr., 1984, 307, 305-321

56- KAPIL R.P., AXELSON J.E., MANSFIELD I.L., EDWARDS D.J., McERLAINE B., MASON M.A., LALKA D., KERR C.R.

Disopyramide pharmacokinetics and metabolism: effect of inducers.

Br. J. Clin. Pharmacol., 1987, 24, 781-791

57- KARIM A., SCHUBERT E.N., BURNS T.S., PALMER M. and ZINNY M.A.

Disopyramide plasma concentrations following single and multiple doses of immediate- and controlled-release capsules.

Angiology, 1983, 34, 375-392

58- KÜBLER von W., BRETSCHNEIDER H.J., SPIECKERMANN

Die verteilung von dipyridamol, einer selektiv coronarerweiternden substanz, zwischen plasma, zellulärer und wässiger phase bei Mensch und Hund.

Arzneim-Forsch, 1969, 19, 180-190

59- KUNKA R.L., MATTOCKS A.M.

Nonlinear model for acetazolamide.

J. Pharm. Sci., 1979, 68, 342-349

60- KURATA D.B.S., WILKINSON G.R.Ph.D.

Erythrocytes uptake and plasma binding of diphenylhydantoin

Clin. Pharmacol. ther., 1974, 16, 355-362

61- KURZ H., WEITZ B.

Evaluation of methods to determine protein-binding.

Drug Res., 1977, 27, 1373-1380

62- LABAUNE J.P.

Pharmacocinétique .

Paris : Masson, 1984.

63- LEHNINGER A.L.

Biochimie - Bases moléculaires de la structure et des fonctions
cellulaires.

Paris : Flammarion medecine-Sciences, 1981

64- LIMA J.J., JUNGBLUTH G.L., DEVINE T., ROBERSTON L.W.

Stereoselective binding of disopyramide to human plasma protein.

Life Sci., 1984, 35, 835-839

65- MAC ARTHUR J.N., DAWKINS P.D., SMITH J.H.

The binding of indomethacin, salicylate and phenobarbitone to human whole blood in vitro.

J. Pharm. Pharmacol., 1971, 23, 32-36

66- MALING T.J.B., SIEBERS R.W.L., BURGESS C.D., TAYLOR C., PURDIE G.

Individual variability of amiodarone distribution in plasma and erythrocytes: Implications for therapeutic monitoring.

Ther. Drug Monit., 1989, 11, 121-126

67- MAREN T.H., ROBINSON B., PALMER R.F., GRIFFITH M.E.

The binding of aromatic sulfonamides to erythrocytes.

Biochem. Pharmacol., 1960, 6, 21-46

68- MATUZAS W., JAVAID J.I., UHLENHUTH E.H.

Plasma and red blood cell imipramine levels and clinical response among depressed out patients.

Psychopharmacol. Bull., 1983, 19, 652-655

69- MEFFIN P.J., ROBERT E.W., WINKLE R.A., HARAPAT S., PETERS F.A.,
HARRISON D.C.

Role of concentration-dependent plasma protein binding in disopyramide disposition.

J. Pharmacokinet. Biopharm., 1979, 7, 29-45

70- MEFFIN P.J., HARAPAT S., HARRISON D.C.

High-pressure liquid chromatographic analysis of drugs in biological fluids.

III. Analysis of disopyramide and its mono-n-dealkylated metabolite in plasma and urine.

J. Chromatogr., 1977, 132, 503-510

71- PEDERSEN L.E. and BONDE J.

Displacement of disopyramide from human plasma proteins.

Acta Pharmacol. Toxicol., 1985, 57, 223-226

72- PIAFSKY K.M., BORGA O.

Plasma protein binding of basic drugs: II. Importance of alpha 1-acid glycoprotein for interindividual variation.

Clin. Pharmacol. ther., 1977, 545-549

73- ROWLAND M.

Influence of route of administration on drug availability.

J. Pharm. Sci., 1972, 61, 70-74

74- SAICHANDANA S.

The erythrocyte membrane as a model for the assessment of the distribution pharmacokinetics of tricyclic antidepressants.

Th. : Pharm. : Boston : 1977

75- SCHANKER L.S.

Passage of drugs across body membranes.

Pharmacol. Rev., 1962, 14, 501-530

76- SCHANKER L.S., JOHNSON J.M., JEFFREY J.J.

Rapid passage of organic anions into human red cells.

Am. J. Physiol., 1964, 207, 503-508

77- SCHANKER L.S., NAFPLIOTIS P.A.

Penetration of drugs into erythrocytes.

Fed. Proc., 1960, 19, 136

78- SCHANKER L.S., NAFPLIOTIS P.A., JOHNSON J.M.

Passage of organic bases into human red cells.

J. Pharmacol. Exptl. Therap., 1961, 133, 325-331

79- SCHULZ P., LUTTRELL S., GORGIA A., GARRONE G.

The free fraction in plasma and the plasma to erythrocytes ratio of imipramine.

(abstract of paper)

Clin. Pharmacol. Ther., 1982, 31, 267

80- SOEBITO-SALEH S.

Influence de la distribution dans les érythrocytes et de la liaison aux protéines de la vincamine sur le comportement pharmacocinétique.

Th. : Pharm. : Montpellier : 1980

- TAMURA A., KAWASE F., SATO T.

Binding of chlorpromazine, phenytoin and aspirin to the erythrocytes and lipoproteins in whole human blood.

J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 740-742

82- TILLEMENT J.P.

Communication personnelle.

83- TILLEMENT J.P., ALBENGRES E., URIEN S.

Methodological aspects of the evaluation of the binding of drugs to plasma and tissue proteins.

Eur. J. Drug. Met. Pharmacokin., 1979, 3, 123-127

84- TONN G.R., KERR C.R., AXELSON J.E.

In vitro protein binding of propafenone and 5-hydroxypropafenone in serum and in solutions of isolated serum proteins, and to red blood cells.

J. Pharm. Sci., 1992, 81, 1098-1103

85- TORSTENSSON L., HOFVENDAHL S.

Steady-state pharmaco-kinetics of two formulations and dosage regimes of oral disopyramide.

Curr. Ther. Res., 1982, 31, 617-624

86- UPTON R.A., WILLIAMS R.L.

The impact of neglecting nonlinear plasma-protein binding on disopyramide bioavailability studies.

J. Pharmacokinet. Biopharm., 1986, 14, 365-379

87- URIEN S., RIAnt P., RENOuARD A., COULOMB B., ROCHER I.

Binding of indipamide to serum proteins and erythrocytes.

Biochem. Pharmacol., 1988, 37, 2963-2966

88- VERONESE M.E., MACLEAN S., HENDRIKS R.

Plasma protein binding of amiodarone in a patient population :
measurement by erythrocytes partitioning and a novel glass-binding
method.

Br. J. Clin. Pharmacol., 1988, 26, 721-731

89- WALLACE S.M., RIEGELMAN S.

Uptake of acetazolamide by human erythrocytes in vitro.

J. Pharm. Sci., 1977, 66, 729-731

90- WOO E., GREENBLATT D.J.

Pharmacokinetic and clinical implications of quinidine protein binding.

J. Pharm. Sci., 1979, 68, 466-469

91- WEIHGOLD K., SPECKER M., LEUSCHNER F.

Biouerfügbarkeit und in-vitro-freisetzung von vincamin-retard präparaten.

Therapiewoche, 1978, 28, 4000-4714

92- ZINGUALES I.A.

Detection of chlorpromazine and thioridazine metabolites in human
erythrocytes.

J. Chromatogr., 1969, 44, 547-562



ANNEXE I
ETUDE IN VITRO DE LA
REPARTITION DU DISOPYRAMIDE
ENTRE GLOBULES ROUGES ET
PLASMA

PASSAGE DU DISOPYRAMIDE DU TAMPON VERS LES GLOBULES ROUGES

TABLEAU DES VALEURS A L'EQUILIBRE DE LA CONCENTRATION MOYENNE DANS LE TAMPON ET LES GLOBULES ROUGES (C_t et C_{gr}), DU COEFFICIENT DE DISTRIBUTION REEL ($D_{réel}$), DE LA FRACTION LIBRE GLOBULAIRE (f'), POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS TAMPON VERS GLOBULES ROUGES (TABLEAU I).

TABLEAUX DES VALEURS DE LA CONCENTRATION DANS LE TAMPON ET LES GLOBULES ROUGES (C_t et C_{gr}) DU DISOPYRAMIDE AUX DIFFERENTS TEMPS, POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS TAMPON VERS GLOBULES ROUGES (TABLEAUX II à VI).

Tableau I : Valeurs, à l'équilibre, de la concentration moyenne (n = 7) dans le tampon (Ct) et les globules rouges (Cgr), du coefficient de distribution réel (D réel), de la fraction libre globulaire (f'), pour chaque passage étudié dans le sens tampon vers globules rouges.

H	Ct (T=0)	Ct (à l'équilibre)	Cgr (à l'équilibre)	D réel (Cgr/Ct)	Cgr libre (à l'équilibre)	f'
0,50	1,58	0,49	1,09	2,22	0,66	0,60
0,42	1,91	0,69	1,70	2,46	0,92	0,54
0,44	2,01	0,73	1,63	2,23	0,98	0,60
0,41	2,23	0,82	2,03	2,48	1,10	0,54
0,37	2,46	1,01	2,48	2,46	1,35	0,55
0,40	2,73	1,04	2,54	2,44	1,39	0,55
0,52	2,92	0,82	1,94	2,37	1,10	0,57
0,42	2,95	1,09	2,57	2,36	1,46	0,57
0,40	2,96	1,15	2,72	2,37	1,54	0,57
0,52	3,23	0,96	2,09	2,18	1,29	0,62
0,34	4,63	2,13	4,86	2,28	2,85	0,59
0,50	4,77	1,54	3,23	2,10	2,06	0,64
0,52	5,85	1,87	3,67	1,96	2,51	0,68
0,47	6,03	1,81	4,77	2,64	2,43	0,51
0,57	6,21	1,63	3,45	2,12	2,18	0,63
0,42	7,36	3,05	5,95	1,95	4,09	0,69
0,43	10,10	3,88	8,25	2,13	5,20	0,63
0,45	11,65	4,77	8,41	1,76	6,39	0,76
0,42	11,80	4,16	10,55	2,54	5,57	0,53
0,50	22,81	6,52	16,29	2,50	8,74	0,54
0,50	23,50	7,16	16,34	2,28	9,59	0,59
0,36	34,18	14,54	34,92	2,40	19,48	0,56
0,46	43,75	14,15	34,75	2,46	18,96	0,55
0,43	46,13	16,03	39,91	2,49	21,48	0,54

Tableau II : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage tampon vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,50	1,58	0,00
0,50	0,50	0,46	1,12
2,00	0,50	0,49	1,09
4,00	0,50	0,45	1,13
6,00	0,50	0,53	1,05
8,00	0,50	0,51	1,07
10,00	0,50	0,48	1,10
20,00	0,50	0,49	1,09
0,00	0,42	1,91	0,00
0,50	0,42	0,63	1,77
2,00	0,42	0,69	1,68
4,00	0,42	0,64	1,75
6,00	0,42	0,79	1,55
8,00	0,42	0,65	1,74
10,00	0,42	0,70	1,67
20,00	0,42	0,70	1,71
0,00	0,44	2,01	0,00
0,50	0,44	0,79	1,55
2,00	0,44	0,76	1,59
4,00	0,44	0,72	1,64
6,00	0,44	0,67	1,71
8,00	0,44	0,71	1,65
10,00	0,44	0,71	1,65
20,00	0,44	0,76	1,59
0,00	0,41	2,23	0,00
0,50	0,41	0,80	2,06
2,00	0,41	0,86	1,97
4,00	0,41	0,82	2,03
6,00	0,41	0,79	2,07
8,00	0,41	0,89	1,93
10,00	0,41	0,80	2,06
20,00	0,41	0,76	2,12
0,00	0,37	2,46	0,00
0,50	0,37	1,01	2,47
2,00	0,37	1,00	2,49
4,00	0,37	1,04	2,42
6,00	0,37	1,00	2,49
8,00	0,37	0,96	2,55
10,00	0,37	1,01	2,47
20,00	0,37	1,03	2,43
30,00	0,37	1,02	2,45
60,00	0,37	1,00	2,49
120,00	0,37	1,01	2,47
180,00	0,37	0,98	2,52

Tableau III : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage tampon vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,40	2,73	0,00
0,50	0,40	1,14	2,39
2,00	0,40	0,98	2,63
4,00	0,40	1,01	2,58
6,00	0,40	1,03	2,55
8,00	0,40	1,01	2,58
10,00	0,40	1,08	2,48
20,00	0,40	1,04	2,54
0,00	0,52	2,92	0,00
0,50	0,52	0,79	1,97
2,00	0,52	0,81	1,95
4,00	0,52	0,83	1,93
6,00	0,52	0,89	1,87
8,00	0,52	0,79	1,97
10,00	0,52	0,82	1,94
20,00	0,52	0,82	1,94
0,00	0,42	2,95	0,00
0,50	0,42	1,15	2,49
2,00	0,42	1,13	2,51
4,00	0,42	1,09	2,57
6,00	0,42	1,04	2,64
8,00	0,42	1,06	2,61
10,00	0,42	1,05	2,62
20,00	0,42	1,09	2,57
0,00	0,40	2,96	0,00
0,50	0,40	1,10	2,79
2,00	0,40	1,17	2,69
4,00	0,40	1,15	2,72
6,00	0,40	1,16	2,70
8,00	0,40	1,23	2,60
10,00	0,40	1,08	2,82
20,00	0,40	1,15	2,72
0,00	0,52	3,23	0,00
0,50	0,52	0,94	2,11
2,00	0,52	0,97	2,09
4,00	0,52	1,22	1,86
6,00	0,52	0,92	2,13
8,00	0,52	0,87	2,18
10,00	0,52	0,86	2,19
20,00	0,52	0,96	2,10

Tableau IV : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage tampon vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,34	4,63	0,00
0,50	0,34	2,19	4,74
2,00	0,34	2,16	4,79
4,00	0,34	2,12	4,87
6,00	0,34	2,09	4,93
8,00	0,34	2,09	4,93
10,00	0,34	2,11	4,89
20,00	0,34	2,13	4,85
0,00	0,50	4,77	0,00
0,50	0,50	1,60	3,17
2,00	0,50	1,57	3,20
4,00	0,50	1,55	3,22
6,00	0,50	1,53	3,24
8,00	0,50	1,46	3,31
10,00	0,50	1,55	3,22
20,00	0,50	1,53	3,24
0,00	0,52	5,85	0,00
0,50	0,52	1,95	3,6
2,00	0,52	1,83	3,71
4,00	0,52	1,85	3,69
6,00	0,52	1,87	3,67
8,00	0,52	1,86	3,68
10,00	0,52	1,87	3,67
20,00	0,52	1,87	3,67
0,00	0,47	6,03	0,00
0,50	0,47	1,89	4,67
2,00	0,47	1,87	4,69
4,00	0,47	1,82	4,75
6,00	0,47	1,73	4,85
8,00	0,47	1,76	4,82
10,00	0,47	1,76	4,82
20,00	0,47	1,81	4,76
0,00	0,57	6,21	0,00
0,50	0,57	1,72	3,39
2,00	0,57	1,61	3,47
4,00	0,57	1,61	3,47
6,00	0,57	1,62	3,46
8,00	0,57	1,61	3,47
10,00	0,57	1,61	3,47
20,00	0,57	1,61	3,47

Tableau V : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage tampon vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,42	7,36	0,00
0,50	0,42	3,18	5,77
2,00	0,42	3,12	5,86
4,00	0,42	3,05	5,95
6,00	0,42	3,04	5,97
8,00	0,42	2,99	6,03
10,00	0,42	2,93	6,12
20,00	0,42	3,05	5,95
0,00	0,43	10,10	0,00
0,50	0,43	4,21	7,81
2,00	0,43	3,81	8,34
4,00	0,43	4,27	7,73
6,00	0,43	3,69	8,50
8,00	0,43	3,67	8,52
10,00	0,43	3,76	8,40
20,00	0,43	3,73	8,44
0,00	0,45	11,65	0,00
0,50	0,45	4,89	8,26
2,00	0,45	4,82	8,35
4,00	0,45	4,73	8,46
6,00	0,45	4,56	8,67
8,00	0,45	4,86	8,30
10,00	0,45	4,77	8,41
20,00	0,45	4,77	8,41
0,00	0,42	11,80	0,00
0,50	0,42	4,15	10,56
2,00	0,42	4,16	10,55
4,00	0,42	4,16	10,55
6,00	0,42	4,15	10,56
8,00	0,42	4,15	10,56
10,00	0,42	4,16	10,55
20,00	0,42	4,16	10,55
0,00	0,50	22,81	0,00
0,50	0,50	7,08	15,73
2,00	0,50	6,72	16,09
4,00	0,50	6,20	16,61
6,00	0,50	6,20	16,61
8,00	0,50	6,42	16,39
10,00	0,50	6,52	16,29
20,00	0,50	6,52	16,29

Tableau VI : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage tampon vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,50	23,50	0,00
0,50	0,50	7,31	16,19
2,00	0,50	7,15	16,35
4,00	0,50	7,09	16,41
6,00	0,50	6,89	16,61
8,00	0,50	7,08	16,42
10,00	0,50	7,43	16,07
20,00	0,50	7,16	16,34
0,00	0,36	34,18	0,00
0,50	0,36	14,72	34,60
2,00	0,36	14,09	35,72
4,00	0,36	14,78	34,49
6,00	0,36	14,20	35,52
8,00	0,36	14,90	34,28
10,00	0,36	14,54	34,92
20,00	0,36	14,54	34,92
0,00	0,46	43,75	0,00
0,50	0,46	14,08	34,83
2,00	0,46	13,72	35,25
4,00	0,46	13,74	35,23
6,00	0,46	13,62	35,37
8,00	0,46	14,00	34,92
10,00	0,46	15,74	32,88
20,00	0,46	14,15	34,75
0,00	0,43	46,13	0,00
0,50	0,43	16,90	38,75
2,00	0,43	15,20	41,00
4,00	0,43	15,82	40,18
6,00	0,43	15,90	40,07
8,00	0,43	16,10	39,81
10,00	0,43	16,23	39,63
20,00	0,43	16,03	39,91

PASSAGE DU DISOPYRAMIDE DES GLOBULES ROUGES VERS LE TAMPON

TABLEAU DES VALEURS A L'EQUILIBRE DE LA CONCENTRATION MOYENNE DANS LE TAMPON ET LES GLOBULES ROUGES (C_t et C_{gr}), DU COEFFICIENT DE DISTRIBUTION REEL (D réel), DE LA FRACTION LIBRE GLOBULAIRE (f'), POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS GLOBULES ROUGES VERS TAMPON (TABLEAU VII) .

TABLEAUX DES VALEURS DE LA CONCENTRATION DANS LE TAMPON ET LES GLOBULES ROUGES (C_t et C_{gr}) DU DISOPYRAMIDE AUX DIFFERENTS TEMPS, POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS GLOBULES ROUGES VERS TAMPON (TABLEAUX VIII à X) .

Tableau VII : Valeurs moyennes (n = 7) de l'hématocrite (H), de la concentration dans le tampon (Ct), de la concentration dans les globules rouges (Cgr), du coefficient de distribution réel (D réel), de la fraction libre globulaire (f'), lors du passage des globules rouges vers le tampon.

H	Cgr (T=0)	Cgr (à l'équilibre)	Ct (à l'équilibre)	D réel	Cgr libre (à l'équilibre)	f'
0,44	1,45	1,06	0,31	3,42	0,42	0,39
0,43	1,84	1,32	0,39	3,38	0,52	0,40
0,46	3,20	2,04	0,99	2,06	1,33	0,65
0,46	3,49	2,45	0,88	2,78	1,18	0,48
0,44	3,50	2,37	0,89	2,66	1,19	0,50
0,45	5,34	3,34	1,64	2,04	2,20	0,66
0,37	13,20	8,26	2,90	2,85	3,89	0,47
0,43	19,68	12,14	5,69	2,13	7,62	0,63
0,40	23,06	14,88	5,45	2,73	7,30	0,49
0,48	23,50	15,63	7,26	2,15	9,73	0,62
0,40	23,76	15,04	5,81	2,59	7,79	0,52
0,42	24,79	16,63	5,91	2,81	7,92	0,48
0,39	45,03	27,25	11,37	2,40	15,24	0,56
0,40	45,50	28,11	11,59	2,43	15,53	0,55

Tableau VIII : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage globules rouges vers tampon.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,44	0,00	1,45
0,50	0,44	0,34	1,02
2,00	0,44	0,28	1,09
4,00	0,44	0,31	1,06
6,00	0,44	0,31	1,06
8,00	0,44	0,31	1,06
10,00	0,44	0,30	1,07
20,00	0,44	0,31	1,06
0,00	0,43	0,00	1,84
0,50	0,43	0,38	1,33
2,00	0,43	0,38	1,33
4,00	0,43	0,38	1,33
6,00	0,43	0,38	1,33
8,00	0,43	0,41	1,30
10,00	0,43	0,41	1,30
20,00	0,43	0,37	1,35
0,00	0,46	0,00	3,20
0,50	0,46	0,99	2,04
2,00	0,46	0,99	2,04
4,00	0,46	1,01	2,02
6,00	0,46	1,01	2,02
8,00	0,46	1,01	2,02
10,00	0,46	0,95	2,08
20,00	0,46	0,95	2,08
0,00	0,46	0,00	3,49
0,50	0,46	0,87	2,47
2,00	0,46	0,89	2,44
4,00	0,46	0,87	2,47
6,00	0,46	0,90	2,43
8,00	0,46	0,87	2,47
10,00	0,46	0,89	2,44
20,00	0,46	0,89	2,44
0,00	0,44	0,00	3,50
0,50	0,44	0,92	2,33
2,00	0,44	0,88	2,38
4,00	0,44	0,88	2,38
6,00	0,44	0,92	2,33
8,00	0,44	0,88	2,38
10,00	0,44	0,88	2,38
20,00	0,44	0,88	2,38

Tableau IX : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage globules rouges vers tampon.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,45	0,00	5,34
0,50	0,45	1,64	3,34
2,00	0,45	1,63	3,35
4,00	0,45	1,69	3,28
6,00	0,45	1,69	3,28
8,00	0,45	1,61	3,37
10,00	0,45	1,64	3,34
20,00	0,45	1,58	3,41
0,00	0,37	0,00	13,20
0,50	0,37	2,90	8,26
2,00	0,37	2,90	8,26
4,00	0,37	2,90	8,26
6,00	0,37	2,91	8,24
8,00	0,37	2,90	8,26
10,00	0,37	2,90	8,26
20,00	0,37	2,90	8,26
0,00	0,43	0,00	19,68
0,50	0,43	5,58	12,29
2,00	0,43	5,80	12,00
4,00	0,43	5,58	12,29
6,00	0,43	5,80	12,00
8,00	0,43	5,69	12,14
10,00	0,43	5,69	12,14
20,00	0,43	5,69	12,14
0,00	0,40	0,00	23,06
0,50	0,40	5,45	14,88
2,00	0,40	5,45	14,88
4,00	0,40	5,66	14,57
6,00	0,40	5,44	14,90
8,00	0,40	5,43	14,91
10,00	0,40	5,26	15,17
20,00	0,40	5,45	14,88
0,00	0,48	0,00	23,50
0,50	0,48	6,97	15,95
2,00	0,48	6,97	15,95
4,00	0,48	7,70	15,16
6,00	0,48	7,38	15,50
8,00	0,48	7,26	15,63
10,00	0,48	7,26	15,63
20,00	0,48	7,26	15,63

Tableau X : Evolution des concentrations dans le tampon et les globules rouges du disopyramide en fonction du temps, lors du passage globules rouges vers tampon.

Temps	Hématocrite	Ct ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,40	0,00	23,76
0,50	0,40	5,81	15,04
2,00	0,40	5,81	15,04
4,00	0,40	5,81	15,04
6,00	0,40	6,2	14,46
8,00	0,40	5,8	15,06
10,00	0,40	5,68	15,24
20,00	0,40	5,58	15,39
0,00	0,42	0,00	24,79
0,50	0,42	5,91	16,63
2,00	0,42	5,91	16,63
4,00	0,42	5,91	16,63
6,00	0,42	5,80	16,78
8,00	0,42	6,16	16,28
10,00	0,42	5,86	16,70
20,00	0,42	5,82	16,75
0,00	0,39	0,00	45,03
0,50	0,39	10,94	27,92
2,00	0,39	11,78	26,61
4,00	0,39	11,37	27,25
6,00	0,39	11,37	27,25
8,00	0,39	11,37	27,25
10,00	0,39	11,37	27,25
20,00	0,39	11,37	27,25
0,00	0,40	0,00	45,50
0,50	0,40	11,59	28,11
2,00	0,40	11,59	28,11
4,00	0,40	11,59	28,11
6,00	0,40	11,78	27,83
8,00	0,40	11,78	27,83
10,00	0,40	11,06	28,91
20,00	0,40	11,75	27,87

PASSAGE DU DISOPYRAMIDE DU PLASMA VERS LES GLOBULES ROUGES

TABLEAU DES VALEURS A L'EQUILIBRE DE LA CONCENTRATION MOYENNE DANS LE PLASMA ET LES GLOBULES ROUGES (C_p et C_{gr}), DU COEFFICIENT DE DISTRIBUTION REEL ET APPARENT (D réel et D apparent), DE LA FRACTION LIBRE PLASMATIQUE ET GLOBULAIRE (f et f'), POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS PLASMA VERS GLOBULES ROUGES (TABLEAU XI).

TABLEAUX DES VALEURS DE LA CONCENTRATION DANS LE PLASMA ET LES GLOBULES ROUGES (C_p et C_{gr}) DU DISOPYRAMIDE AUX DIFFERENTS TEMPS, POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS PLASMA VERS GLOBULES ROUGES (TABLEAU XII à XVI).

Tableau XI : Valeurs, à l'équilibre, de la concentration moyenne (n = 7) dans le plasma (Cp) et les globules rouges (Cgr), du coefficient de distribution réel et apparent (D réel et Dapparent), de la fraction libre plasmatisque et globulaire (f et f'), pour chaque passage étudié dans le sens plasma vers globules rouges.

H	Cp (T=0)	Cp (à l'équilibre)	Cgr (à l'équilibre)	D apparent	f	D réel	Cgr libre (à l'équilibre)	f'
0,39	1,18	0,90	0,44	0,49	0,21	2,33	0,25	0,57
0,44	1,36	0,98	0,49	0,50	0,22	2,27	0,29	0,59
0,5	1,47	0,95	0,52	0,55	0,24	2,28	0,31	0,60
0,47	1,55	1,16	0,44	0,38	0,16	2,37	0,25	0,57
0,39	1,84	1,30	0,85	0,65	0,28	2,31	0,48	0,56
0,4	2,34	1,68	1,00	0,60	0,26	2,29	0,59	0,59
0,44	2,80	1,90	1,15	0,61	0,26	2,33	0,66	0,57
0,43	3,26	2,16	1,46	0,68	0,29	2,33	0,84	0,58
0,38	4,14	2,27	3,05	1,34	0,58	2,32	1,76	0,58
0,47	4,72	2,53	2,47	0,98	0,42	2,32	1,42	0,57
0,47	4,79	2,56	2,52	0,98	0,43	2,29	1,48	0,59
0,46	5,20	3,34	2,18	0,65	0,28	2,33	1,25	0,57
0,45	5,20	3,14	2,51	0,80	0,35	2,28	1,47	0,59
0,52	6,40	2,97	3,17	1,07	0,46	2,32	1,83	0,58
0,52	6,60	3,00	3,32	1,11	0,48	2,31	1,93	0,58
0,49	6,80	3,23	3,72	1,15	0,50	2,30	2,16	0,58
0,39	8,20	4,80	5,32	1,11	0,48	2,31	3,09	0,58
0,39	8,60	4,86	5,85	1,20	0,52	2,31	3,39	0,58
0,48	18,85	6,88	12,97	1,89	0,82	2,30	7,56	0,58
0,46	19,11	6,99	14,22	2,03	0,88	2,31	8,24	0,58
0,45	28,33	10,51	21,77	2,07	0,90	2,30	12,68	0,58
0,39	35,90	15,65	31,67	2,02	0,88	2,30	18,45	0,58
0,45	93,13	35,24	70,75	2,01	0,87	2,31	41,08	0,58

Tableau XII : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps, lors du passage plasma vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,39	1,18	0,00
0,50	0,39	0,90	0,44
2,00	0,39	0,91	0,42
4,00	0,39	0,91	0,42
6,00	0,39	0,92	0,41
8,00	0,39	0,87	0,48
10,00	0,39	0,90	0,44
20,00	0,39	0,90	0,44
0,00	0,44	1,36	0,00
0,50	0,44	0,97	0,50
2,00	0,44	0,99	0,47
4,00	0,44	0,96	0,51
6,00	0,44	0,99	0,47
8,00	0,44	1,01	0,45
10,00	0,44	0,96	0,51
20,00	0,44	0,97	0,50
0,00	0,50	1,47	0,00
0,50	0,50	0,90	0,57
2,00	0,50	0,95	0,52
4,00	0,50	0,95	0,52
6,00	0,50	0,98	0,49
8,00	0,50	0,91	0,56
10,00	0,50	0,99	0,48
20,00	0,50	0,99	0,48
0,00	0,47	1,55	0,00
0,50	0,47	1,12	0,48
2,00	0,47	1,11	0,50
4,00	0,47	1,10	0,51
6,00	0,47	1,16	0,44
8,00	0,47	1,16	0,44
10,00	0,47	1,24	0,35
20,00	0,47	1,25	0,34
0,00	0,39	1,84	0,00
0,50	0,39	1,32	0,81
2,00	0,39	1,25	0,92
4,00	0,39	1,29	0,86
6,00	0,39	1,29	0,86
8,00	0,39	1,33	0,80
10,00	0,39	1,30	0,84
20,00	0,39	1,29	0,86
30,00	0,39	1,30	0,84
60,00	0,39	1,29	0,86
120,00	0,39	1,31	0,83
180,00	0,39	1,30	0,84

Tableau XIII : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps, lors du passage plasma vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,40	2,34	0,00
0,50	0,40	1,74	0,90
2,00	0,40	1,65	1,04
4,00	0,40	1,56	1,17
6,00	0,40	1,70	0,96
8,00	0,40	1,67	1,01
10,00	0,40	1,71	0,95
20,00	0,40	1,70	0,96
0,00	0,44	2,80	0,00
0,50	0,44	1,88	1,17
2,00	0,44	1,88	1,17
4,00	0,44	1,91	1,13
6,00	0,44	1,88	1,17
8,00	0,44	1,93	1,11
10,00	0,44	1,90	1,15
20,00	0,44	1,90	1,15
0,00	0,43	3,26	0,00
0,50	0,43	2,22	1,38
2,00	0,43	2,23	1,37
4,00	0,43	2,11	1,52
6,00	0,43	2,20	1,41
8,00	0,43	2,02	1,64
10,00	0,43	2,16	1,46
20,00	0,43	2,16	1,46
0,00	0,38	4,14	0,00
0,50	0,38	2,20	3,17
2,00	0,38	2,34	2,94
4,00	0,38	2,21	3,15
6,00	0,38	2,25	3,08
8,00	0,38	2,35	2,92
10,00	0,38	2,27	3,05
20,00	0,38	2,27	3,05
0,00	0,47	4,72	0,00
0,50	0,47	2,52	2,48
2,00	0,47	2,51	2,49
4,00	0,47	2,48	2,53
6,00	0,47	2,60	2,39
8,00	0,47	2,49	2,51
10,00	0,47	2,53	2,47
20,00	0,47	2,57	2,42

Tableau XIV : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps, lors du passage plasma vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,47	4,79	0,00
0,50	0,47	2,61	2,46
2,00	0,47	2,60	2,47
4,00	0,47	2,52	2,56
6,00	0,47	2,59	2,48
8,00	0,47	2,52	2,56
10,00	0,47	2,53	2,55
20,00	0,47	2,52	2,56
0,00	0,46	5,20	0,00
0,50	0,46	3,40	2,11
2,00	0,46	3,40	2,11
4,00	0,46	3,40	2,11
6,00	0,46	3,40	2,11
8,00	0,46	3,20	2,35
10,00	0,46	3,40	2,11
20,00	0,46	3,20	2,35
0,00	0,45	5,20	0,00
0,50	0,45	3,00	2,69
2,00	0,45	3,20	2,44
4,00	0,45	3,20	2,44
6,00	0,45	3,20	2,44
8,00	0,45	3,20	2,44
10,00	0,45	3,20	2,44
20,00	0,45	3,00	2,69
0,00	0,52	6,40	0,00
0,50	0,52	3,00	3,14
2,00	0,52	2,90	3,23
4,00	0,52	2,90	3,23
6,00	0,52	3,00	3,14
8,00	0,52	3,00	3,14
10,00	0,52	3,00	3,14
20,00	0,52	2,97	3,17
0,00	0,52	6,60	0,00
0,50	0,52	3,00	3,32
2,00	0,52	3,00	3,32
4,00	0,52	3,00	3,32
6,00	0,52	3,00	3,32
8,00	0,52	3,00	3,32
10,00	0,52	3,00	3,32
20,00	0,52	3,00	3,32

Tableau XV : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps, lors du passage plasma vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,49	6,80	0,00
0,50	0,49	3,40	3,54
2,00	0,49	3,00	3,96
4,00	0,49	3,20	3,75
6,00	0,49	3,60	3,33
8,00	0,49	3,00	3,96
10,00	0,49	3,20	3,75
20,00	0,49	3,23	3,72
0,00	0,39	8,20	0,00
0,50	0,39	4,80	5,32
2,00	0,39	5,00	5,01
4,00	0,39	4,60	5,63
6,00	0,39	4,80	5,32
8,00	0,39	4,80	5,32
10,00	0,39	4,80	5,32
20,00	0,39	4,80	5,32
0,00	0,39	8,60	0,00
0,50	0,39	4,80	5,94
2,00	0,39	5,20	5,32
4,00	0,39	5,00	5,63
6,00	0,39	4,60	6,26
8,00	0,39	4,80	5,94
10,00	0,39	4,80	5,94
20,00	0,39	4,80	5,94
0,00	0,48	18,85	0,00
0,50	0,48	6,66	13,21
2,00	0,48	7,06	12,77
4,00	0,48	6,81	13,04
6,00	0,48	6,96	12,88
8,00	0,48	6,75	13,11
10,00	0,48	6,96	12,88
20,00	0,48	6,96	12,88
0,00	0,46	19,11	0,00
0,50	0,46	7,08	14,12
2,00	0,46	6,91	14,32
4,00	0,46	7,35	13,81
6,00	0,46	7,02	14,19
8,00	0,46	6,95	14,27
10,00	0,46	6,66	14,62
20,00	0,46	6,99	14,23

Tableau XVI : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps, lors du passage plasma vers globules rouges.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,45	28,33	0,00
0,50	0,45	10,09	22,29
2,00	0,45	10,88	21,33
4,00	0,45	11,30	20,81
6,00	0,45	10,76	21,47
8,00	0,45	10,27	22,07
10,00	0,45	9,80	22,65
20,00	0,45	10,50	21,79
0,00	0,39	35,90	0,00
0,50	0,39	15,71	31,58
2,00	0,39	15,72	31,56
4,00	0,39	15,42	32,03
6,00	0,39	15,74	31,53
8,00	0,39	15,81	31,42
10,00	0,39	15,47	31,95
20,00	0,39	15,66	31,65
0,00	0,45	93,13	0,00
0,50	0,45	36,46	69,26
2,00	0,45	34,92	71,15
4,00	0,45	34,80	71,29
6,00	0,45	35,90	69,95
8,00	0,45	34,86	71,22
10,00	0,45	33,45	72,94
20,00	0,45	36,30	69,46

PASSAGE DU DISOPYRAMIDE DES GLOBULES ROUGES VERS LE PLASMA

TABLEAU DES VALEURS A L'EQUILIBRE DE LA CONCENTRATION MOYENNE DANS LE PLASMA ET LES GLOBULES ROUGES (C_p et C_{gr}), DU COEFFICIENT DE DISTRIBUTION REEL ET APPARENT (D réel et D apparent), DE LA FRACTION LIBRE PLASMATIQUE ET GLOBULAIRE (f et f'), POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS GLOBULES ROUGES VERS PLASMA (TABLEAU XVII).

TABLEAUX DES VALEURS DE LA CONCENTRATION DANS LE PLASMA ET LES GLOBULES ROUGES (C_p et C_{gr}) DU DISOPYRAMIDE AUX DIFFERENTS TEMPS, POUR CHAQUE PASSAGE DANS LE SENS PLASMA VERS GLOBULES ROUGES (TABLEAU XVIII à XXI).

Tableau XVII : Valeurs, à l'équilibre, de la concentration moyenne (n = 7) dans le plasma (Cp) et les globules rouges (Cgr), du coefficient de distribution réel et apparent (D réel et D apparent), de la fraction libre plasmatisque et globulaire (f et f'), pour chaque passage étudié dans le sens globules rouges vers plasma.

H	Cgr (T=0)	Cgr (à l'équilibre)	Cp (à l'équilibre)	D apparent	f	D réel	Cgr libre (à l'équilibre)	f'
0,42	3,18	1,02	1,56	0,65	0,25	2,62	0,52	0,51
0,49	3,60	1,39	2,12	0,66	0,25	2,62	0,71	0,51
0,42	3,65	1,44	1,60	0,90	0,35	2,57	0,75	0,52
0,39	3,94	1,77	1,39	1,27	0,49	2,60	0,91	0,51
0,45	10,61	4,25	5,20	0,82	0,32	2,55	2,23	0,52
0,44	10,82	5,48	4,19	1,30	0,50	2,62	2,81	0,51
0,43	11,76	6,03	4,32	1,40	0,54	2,58	3,13	0,52
0,46	12,69	5,78	5,88	0,98	0,38	2,59	2,99	0,52
0,41	12,88	5,72	4,98	1,15	0,44	2,61	2,94	0,51
0,37	12,94	6,24	3,94	1,59	0,61	2,60	3,22	0,52
0,45	13,52	8,02	4,50	1,78	0,68	2,62	4,10	0,51
0,45	15,57	9,14	5,26	1,74	0,67	2,59	4,72	0,52
0,47	17,83	10,16	6,80	1,49	0,57	2,62	5,19	0,51
0,45	18,06	10,90	5,86	1,86	0,72	2,58	5,65	0,52
0,34	19,74	10,75	4,63	2,32	0,89	2,61	5,52	0,51
0,41	29,40	20,60	6,11	3,37	1,30	2,59	10,64	0,52
0,49	42,91	29,91	14,52	2,06	0,79	2,61	15,37	0,51
0,45	46,75	30,23	12,40	2,44	0,94	2,59	15,62	0,52

Tableau XVIII : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps , lors du passage globules rouges vers plasma.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,42	0,00	3,18
0,50	0,42	1,51	1,10
2,00	0,42	1,63	0,93
4,00	0,42	1,58	0,99
6,00	0,42	1,59	0,98
8,00	0,42	1,53	1,06
10,00	0,42	1,54	1,05
20,00	0,42	1,56	1,02
0,00	0,49	0,00	3,60
0,50	0,49	2,10	1,42
2,00	0,49	1,97	1,55
4,00	0,49	1,95	1,57
6,00	0,49	2,32	1,19
8,00	0,49	2,07	1,45
10,00	0,49	2,33	1,18
20,00	0,49	2,12	1,39
0,00	0,42	0,00	3,65
0,50	0,42	1,67	1,34
2,00	0,42	1,61	1,42
4,00	0,42	1,53	1,53
6,00	0,42	1,62	1,41
8,00	0,42	1,57	1,48
10,00	0,42	1,58	1,46
20,00	0,42	1,60	1,44
0,00	0,39	0,00	3,94
0,50	0,39	1,41	1,74
2,00	0,39	1,30	1,91
4,00	0,39	1,38	1,78
6,00	0,39	1,40	1,75
8,00	0,39	1,41	1,74
10,00	0,39	1,43	1,70
20,00	0,39	1,39	1,77
0,00	0,45	0,00	10,61
0,50	0,45	5,41	4,00
2,00	0,45	5,31	4,12
4,00	0,45	5,20	4,25
6,00	0,45	5,08	4,40
8,00	0,45	5,10	4,38
10,00	0,45	5,11	4,36
20,00	0,45	5,20	4,25

Tableau XIX : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps , lors du passage globules rouges vers plasma.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,44	0,00	10,82
0,50	0,44	4,11	5,59
2,00	0,44	4,11	5,59
4,00	0,44	4,25	5,41
6,00	0,44	4,25	5,41
8,00	0,44	4,25	5,41
10,00	0,44	4,20	5,48
20,00	0,44	4,20	5,48
0,00	0,43	0,00	11,76
0,50	0,43	4,23	6,15
2,00	0,43	4,37	5,97
4,00	0,43	4,23	6,15
6,00	0,43	4,23	6,15
8,00	0,43	4,23	6,15
10,00	0,43	4,63	5,62
20,00	0,43	4,32	6,03
0,00	0,46	0,00	12,69
0,50	0,46	5,69	6,01
2,00	0,46	5,90	5,76
4,00	0,46	6,17	5,45
6,00	0,46	5,70	6,00
8,00	0,46	5,95	5,71
10,00	0,46	5,89	5,78
20,00	0,46	5,89	5,78
0,00	0,41	0,00	12,88
0,50	0,41	4,98	5,71
2,00	0,41	4,80	5,97
4,00	0,41	5,01	5,67
6,00	0,41	5,09	5,55
8,00	0,41	4,91	5,81
10,00	0,41	5,07	5,58
20,00	0,41	4,98	5,72
0,00	0,37	0,00	12,94
0,50	0,37	3,92	6,27
2,00	0,37	3,97	6,18
4,00	0,37	3,83	6,42
6,00	0,37	4,03	6,08
8,00	0,37	3,93	6,24
10,00	0,37	3,93	6,24
20,00	0,37	3,93	6,24

Tableau XX : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps , lors du passage globules rouges vers plasma.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,45	0,00	13,52
0,50	0,45	4,50	8,02
2,00	0,45	4,50	8,02
4,00	0,45	4,50	8,02
6,00	0,45	4,50	8,02
8,00	0,45	4,50	8,02
10,00	0,45	4,50	8,02
20,00	0,45	4,50	8,02
0,00	0,45	0,00	15,57
0,50	0,45	5,26	9,14
2,00	0,45	5,26	9,14
4,00	0,45	5,11	9,33
6,00	0,45	5,11	9,33
8,00	0,45	5,36	9,02
10,00	0,45	5,41	8,96
20,00	0,45	5,32	9,07
0,00	0,47	0,00	17,83
0,50	0,47	6,89	10,06
2,00	0,47	6,70	10,27
4,00	0,47	6,47	10,53
6,00	0,47	6,69	10,28
8,00	0,47	7,07	9,86
10,00	0,47	7,00	9,93
20,00	0,47	6,80	10,16
0,00	0,45	0,00	18,06
0,50	0,45	5,78	11,00
2,00	0,45	5,97	10,76
4,00	0,45	5,96	10,78
6,00	0,45	5,85	10,91
8,00	0,45	5,80	10,98
10,00	0,45	5,81	10,96
20,00	0,45	5,86	10,90
0,00	0,34	0,00	19,74
0,50	0,34	4,63	10,75
2,00	0,34	4,64	10,73
4,00	0,34	4,70	10,62
6,00	0,34	4,55	10,91
8,00	0,34	4,63	10,75
10,00	0,34	4,63	10,75
20,00	0,34	4,63	10,75

Tableau XXI : Evolution des concentrations plasmatiques et globulaires du disopyramide en fonction du temps , lors du passage globules rouges vers plasma.

Temps	Hématocrite	Cp ($\mu\text{g/ml}$)	Cgr ($\mu\text{g/ml}$)
0,00	0,41	0,00	29,40
0,50	0,41	6,16	20,53
2,00	0,41	6,08	20,65
4,00	0,41	6,10	20,62
6,00	0,41	6,11	20,60
8,00	0,41	6,11	20,60
10,00	0,41	6,11	20,60
20,00	0,41	6,11	20,60
0,00	0,49	0,00	42,91
0,50	0,49	15,09	27,21
2,00	0,49	14,52	32,73
4,00	0,49	14,52	32,73
6,00	0,49	12,14	30,28
8,00	0,49	15,91	26,35
10,00	0,49	14,93	27,37
20,00	0,49	14,52	32,73
0,00	0,45	0,00	46,75
0,50	0,45	12,40	31,59
2,00	0,45	12,06	32,01
4,00	0,45	12,47	31,51
6,00	0,45	12,47	31,51
8,00	0,45	12,59	31,36
10,00	0,45	12,40	26,82
20,00	0,45	12,40	26,82

ANNEXE II
ETUDE IN VIVO DU PASSAGE
GLOBULAIRE DU DISOPYRAMIDE
CHEZ L'HOMME

TABLEAUX DES VALEURS INDIVIDUELLES DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE TOTALE ET LIBRE (C_p et C_p libre), DE LA CONCENTRATION GLOBULAIRE ET SANGUINE (C_{gr} et C_{sg}), DU COEFFICIENT DE DISTRIBUTION REEL ET APPARENT (D réel et D apparent), AINSI QUE DE LA FRACTION LIBRE PLASMATIQUE (f) DU DISOPYRAMIDE POUR CHAQUE SUJET.

Patient n ° 1 : 61 ans

jour	H	heure	Cp μg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg μg/ml	Cgr μg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,46	0	0,00			0,00	0,00		
	0,46	0,5	1,14			0,64	1,39		1,22
	0,46	1	1,54			1,21	2,63		1,71
	0,46	1,5	1,67			1,04	2,26		1,35
	0,46	2	1,57			1,40	3,04		1,94
	0,46	3	1,34			0,84	1,83		1,36
	0,46	4	1,36	0,20	0,27	0,69	< dl		
	0,46	5	1,12	0,30	0,34	0,64	1,39	4,14	1,24
	0,46	6	1,09	0,23	0,25	0,70	1,52	6,07	1,40
	0,46	8	1,11			0,74	1,61		1,45
	0,46	10	1,24			0,73	1,59		1,28
	0,46	12	1,06	0,27	0,29	0,83	1,80	6,30	1,70
	0,46	14	1,26			0,80	1,74		1,38
	0,46	24	1,36			0,70	< dl		
	2	0,46	53	2,46			1,62	3,52	
0,46		60	1,78			1,00	2,17		1,22
3	0,46	77	2,64			1,91	4,15		1,57
	0,46	84	1,91			1,18	2,57		1,34
4	0,46	101	3,05			1,72	3,74		1,23
	0,46	108	1,66			1,03	2,24		1,35
5	0,46	120	2,68				< dl		
	0,46	122	2,82			1,80	3,91		1,39
	0,46	124	2,69			1,89	4,11		1,53
	0,46	126	2,99			1,99	4,33		1,45
	0,46	128	2,86			1,65	3,59		1,25
	0,46	130	2,30			1,52	3,30		1,44
	0,46	132	1,98			1,25	2,72		1,37
32	0,42	796	2,10			1,56	3,39		1,61
	0,42	797	2,28			1,66	3,95		1,73
	0,42	798	2,20			1,26	< dl		
	0,42	803	1,67	0,19	0,32	0,98	2,33	7,35	1,40
	0,42	804	1,60	0,24	0,38	1,00	2,38	6,20	1,49

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 2 : 77 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,47	0	0,00			0,00	0,00		
	0,47	0,5	0,56			0,35	0,11		0,20
	0,47	1	1,51			0,83	0,06		0,04
	0,47	1,5	2,12			1,18	0,12		0,06
	0,47	2	2,58			1,38	0,03		0,01
	0,47	3	3,16			2,00	0,69		0,22
	0,47	4	3,73	0,10	0,37	2,37	0,84	2,24	0,22
	0,47	5	4,03	0,12	0,48	2,46	0,69	1,43	0,17
	0,47	6	3,46	0,13	0,45	2,17	0,72	1,59	0,21
	0,47	8	3,44			2,41	1,25		0,36
	0,47	10	3,52			2,15	0,61		0,17
	0,47	12	3,22	0,08	0,26	1,95	0,52	2,01	0,16
	0,47	14	2,56			1,54	0,39		0,15
	0,47	24	1,92			1,28	0,56		0,29
	2	0,47	53	4,90			3,37	1,64	
0,47		60	3,54			2,09	0,45		0,13
3	0,47	77	4,61			2,76	0,67		0,15
	0,47	84	3,78			2,46	0,97		0,26
4	0,47	101	4,85			3,14	1,21		0,25
	0,47	108	3,46			2,19	0,76		0,22
5	0,47	120	4,23			3,01	1,63		0,39
	0,47	122	4,10			2,81	1,36		0,33
	0,47	124	4,07			2,57	0,88		0,22
	0,47	126	4,38			2,94	1,32		0,30
	0,47	128	4,22			2,76	1,11		0,26
	0,47	130	3,64			2,36	0,92		0,25
	0,47	132	3,11			2,20	1,17		0,38
32	0,39	796	4,04			2,85	0,99		0,24
	0,39	797	4,24			3,01	1,09		0,26
	0,39	798	3,94			2,85	1,15		0,29
	0,39	803	3,15	0,20	0,63	2,19	0,69	1,09	0,22
	0,39	804	2,99	0,20	0,60	1,94	0,30	0,50	0,10

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 3 : 54 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,43	0	0			0	0,00		
	0,43	0,5	1,24			0,59	< dl		
	0,43	1	1,97			1,07	< dl		
	0,43	1,5	2,25			1,1	< dl		
	0,43	2	2,06			1,11	< dl		
	0,43	3	1,86			1,05	< dl		
	0,43	4	1,69	0,14	0,24	0,86	< dl		
	0,43	5	1,7	0,09	0,15	0,87	< dl		
	0,43	6	1,43	0,09	0,13	0,75	< dl		
	0,43	8	1,21			0,61	< dl		
	0,43	10	1,14			0,6	< dl		
	0,43	12	0,79	0,09	0,07	0,39	< dl		
	0,43	14	0,63			0,33	< dl		
	0,43	24	0,41			0,15	< dl		
2	0,43	53	3,75			2,54	0,94		0,25
	0,43	60	3			2,03	0,74		0,25
3	0,43	77	3,75			2,38	0,56		0,15
	0,43	84	2,88			1,71	0,16		0,06
4	0,43	101	3,71			2,35	0,55		0,15
	0,43	108	3,12			2,04	0,61		0,19
5	0,43	120	3,68			2,29	0,45		0,12
	0,43	122	3,72			2,47	0,81		0,22
	0,43	124	4,2			2,6	0,48		0,11
	0,43	126	3,92			2,59	0,83		0,21
	0,43	128	3,94			2,61	0,85		0,21
	0,43	130	3,94			2,99	1,73		0,44
	0,43	132	3,79			2,36	0,46		0,12
32	0,42	796	4,65			2,27	< dl		
	0,42	797	3,68			2,68	1,30		0,35
	0,42	798	4,01			2,62	0,70		0,17
	0,42	803	3,46	0,11	0,38	2,02	0,03	0,08	0,01
	0,42	804	3,32	0,09	0,30	2,27	0,82	2,74	0,25

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 4 : 87 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,36	0	0,00			0,00	0,00		
	0,36	0,5	0,69			0,38	< dl		
	0,36	1	1,24			0,70	< dl		
	0,36	1,5	1,39			0,85	< dl		
	0,36	2	1,45			0,84	< dl		
	0,36	3	1,89			1,09	< dl		
	0,36	4	2,30	0,23	0,53	1,65	0,49	0,93	0,21
	0,36	5	2,50	0,15	0,38	1,57	< dl		
	0,36	6	2,53	0,26	0,66	1,74	0,34	0,51	0,13
	0,36	8	2,79			2,01	0,62		0,22
	0,36	10	2,40			1,47	< dl		
	0,36	12	2,08			1,37	0,11		0,05
	0,36	14	1,58			1,05	0,11		0,07
	0,36	24	1,06			0,68	0,00		0,00
	2	0,36	53	3,72			2,85	1,30	
0,36		60	1,86			1,33	0,39		0,21
3	0,36	77	3,78			2,95	1,47		0,39
	0,36	84	2,68			1,90	0,51		0,19
4	0,36	101	3,88			2,59	0,30		0,08
	0,36	108	2,18			1,72	0,90		0,41
5	0,36	120	2,56			2,01	1,03		0,40
	0,36	122	3,05			2,08	0,36		0,12
	0,36	124	3,54			2,39	0,35		0,10
	0,36	126	3,22			2,54	1,33		0,41
	0,36	128	2,74			1,91	0,43		0,16
	0,36	130	2,22			1,51	0,25		0,11
	0,36	132	1,88			1,31	0,30		0,16
32	0,36	796	4,91			3,88	2,05		0,42
	0,36	797	4,95			3,84	1,87		0,38
	0,36	798	4,08			3,47	2,39		0,58
	0,36	803	4,01	0,28	1,12	3,43	2,40	2,14	0,60
	0,36	804	3,95	0,20	0,79	3,36	2,31	2,93	0,59

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 5 : 64 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,43	0	0,00			0,00	0,00		
	0,43	0,5	0,57			0,24	< dl		< dl
	0,43	1	0,85			0,49	0,01		0,02
	0,43	1,5	1,15			0,67	0,03		0,03
	0,43	2	1,20			0,69	0,01		0,01
	0,43	3	1,41			0,74	< dl		
	0,43	4	1,51	0,16	0,24	0,83	< dl		
	0,43	5	1,57	0,15	0,24	0,82	< dl		
	0,43	6	1,29	0,13	0,17	0,80	0,15	0,90	0,12
	0,43	8	1,05			0,59	< dl		
	0,43	10	0,96			0,52	< dl		
	0,43	12	0,94	0,10	0,09	0,55	0,03	0,35	0,04
	0,43	14	0,80			0,45	< dl		
	0,43	24	0,82			0,40	< dl		
	2	0,43	53	2,50			1,77	0,80	
0,43		60	1,63			0,07	< dl		
3	0,43	77	2,65			1,94	1,00		0,38
	0,43	84	1,71			0,98	0,01		0,01
4	0,43	101	2,60			1,80	0,74		0,28
	0,43	108	1,72			1,15	0,39		0,23
5	0,43	120	2,17			1,20	< dl		
	0,43	122	2,64			1,78	0,64		0,24
	0,43	124	2,81			1,98	0,88		0,31
	0,43	126	2,53			1,73	0,67		0,26
	0,43	128	2,37			1,36	< dl		
	0,43	130	2,18			1,32	0,18		0,08
	0,43	132	2,06			1,37	0,46		0,22

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Cette patiente est sortie de l'étude au bout de 15 jours (réaction immunoallergique).

Patient n ° 6 : 43 ans

jour	H	heure	Cp μg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg μg/ml	Cgr μg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,41	0	0,00			0,00	0,00		
	0,41	0,5	1,21			0,68	0,11		0,20
	0,41	1	1,59			0,93	0,06		0,04
	0,41	1,5	1,72			0,94	0,12		0,06
	0,41	2	1,89			1,01	0,03		0,01
	0,41	3	2,28			1,24	0,69		0,22
	0,41	4	2,33	0,10	0,23	1,38	0,84	2,24	0,22
	0,41	5	2,44	0,10	0,24	1,27	0,69	1,43	0,17
	0,41	6	2,04	0,12	0,24	1,09	0,72	1,59	0,21
	0,41	8	1,80			1,02	1,25		0,36
	0,41	10	1,68			0,86	0,61		0,17
	0,41	12	1,30	0,09	0,12	0,72	0,52	2,01	0,16
	0,41	14	1,28			0,63	0,39		0,15
	0,41	24	0,62			0,30	0,56		0,29
	2	0,41	53	2,62			1,50	1,64	
0,41		60	1,92			1,14	0,45		0,13
3	0,41	77	2,24			1,40	0,67		0,15
	0,41	84	1,56			0,97	0,97		0,26
4	0,41	101	2,85			1,64	1,21		0,25
	0,41	108	1,79			1,01	0,76		0,22
5	0,41	120	2,14			0,60	1,63		0,39
	0,41	122	2,51			1,58	1,36		0,33
	0,41	124	2,00			1,31	0,88		0,22
	0,41	126	1,98			1,28	1,32		0,30
	0,41	128	2,13			1,47	1,11		0,26
	0,41	130	1,87			1,21	0,92		0,25
	0,41	132	1,68			1,07	1,17		0,38
32	0,37	796	3,40			2,02	0,99		0,24
	0,37	797	3,36			2,07	1,09		0,26
	0,37	798	3,24			1,97	1,15		0,29
	0,37	803	2,34	0,15	0,35	1,39	0,69	1,09	0,22
	0,37	804	2,08	0,13	0,27	1,39	0,30	0,50	0,10

Patient n °7 : 45 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,44	0	0,00			0,00	0,00		
	0,44	0,5	0,95			0,48	< dl		
	0,44	1	1,42			0,77	< dl		
	0,44	1,5	1,63			0,90	< dl		
	0,44	2	1,73			1,02	0,12		0,07
	0,44	3	1,77			1,06	0,16		0,09
	0,44	4	1,59	0,14	0,22	0,99	0,23	1,02	0,14
	0,44	5	1,81	0,15	0,27	1,09	0,17	0,64	0,10
	0,44	6	1,75	0,15	0,26	1,05	0,16	0,61	0,09
	0,44	8	1,57			1,06	0,41		0,26
	0,44	10	1,37			0,82	0,12		0,09
	0,44	12	1,41	0,11	0,16	0,84	0,11	0,74	0,08
	0,44	14	1,39			0,90	0,28		0,20
	0,44	24	0,93			0,49	< dl		
	2	0,44	53	2,45			1,58	0,47	
0,44		60	1,79			1,17	0,38		0,21
3	0,44	77	2,33			1,47	0,38		0,16
	0,44	84	1,76			1,17	0,42		0,24
4	0,44	101	2,30			1,52	0,53		0,23
	0,44	108	1,94			1,26	0,39		0,20
5	0,44	120	1,87			1,18	0,30		0,16
	0,44	122	2,18			1,44	0,50		0,23
	0,44	124	2,30			1,52	0,53		0,23
	0,44	126	2,15			1,47	0,60		0,28
	0,44	128	2,25			1,48	0,50		0,22
	0,44	130	2,00			1,40	0,64		0,32
	0,44	132	1,81			1,13	0,26		0,15
32	0,40	796	2,17			1,57	0,67		0,31
	0,40	797	2,42			1,66	0,52		0,21
	0,40	798	2,25			1,58	0,58		0,26
	0,40	803	2,00	0,21	0,42	1,24	0,10	0,24	0,05
	0,40	804	1,51	0,31	0,47	1,23	0,81	1,73	0,54

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 8 : 64 ans

jour	H	heure	Cp μg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg μg/ml	Cgr μg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,39	0	0,00			0,00			
	0,39	0,5	1,92			1,17	< dl		
	0,39	1	2,22			1,37	0,04		0,02
	0,39	1,5	2,42			1,49	0,04		0,01
	0,39	2	2,47			1,62	0,29		0,12
	0,39	3	2,62			1,77	0,44		0,17
	0,39	4	2,89	0,20	0,58	1,98	0,56	0,96	0,19
	0,39	5	2,88	0,21	0,60	1,83	0,19	0,31	0,07
	0,39	6	2,47	0,20	0,49	1,63	0,32	0,64	0,13
	0,39	8	2,20			1,44	0,25		0,11
	0,39	10	2,00			1,31	0,23		0,12
	0,39	12	1,95	0,18	0,35	1,36	0,44	1,25	0,22
	0,39	14	1,86			1,22	0,22		0,12
	0,39	24	1,67			0,95	< dl		
	2	0,39	53	4,21			2,91	0,88	
0,39		60	2,84			2,01	0,71		0,25
3	0,39	77	4,49			3,24	1,28		0,29
	0,39	84	3,03			2,19	0,88		0,29
4	0,39	101	3,58			2,49	0,79		0,22
	0,39	108	3,03			2,06	0,54		0,18
5	0,39	120	2,97			2,14	0,84		0,28
	0,39	122	3,77			2,23	< dl		
	0,39	124	3,83			2,40	0,16		0,04
	0,39	126	3,92			2,78	1,00		0,25
	0,39	128	3,31			2,21	0,49		0,15
	0,39	130	3,48			2,34	0,56		0,16
	0,39	132	3,19			2,03	0,22		0,07
32	0,38	796	3,88			2,39	< dl		
	0,38	797	3,95			2,97	1,37		0,35
	0,38	798	3,45			2,39	0,66		0,19
	0,38	803	2,30	0,15	0,35	1,60	0,46	1,33	0,20
	0,38	804	2,20	0,14	0,31	1,72	0,94	3,04	0,43

< dl, inférieure à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 9 : 60 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,40	0	0,00			0,00	0,00		
	0,40	0,5	-						
	0,40	1	0,70			0,38	< dl		
	0,40	1,5	1,61			0,99	0,06		0,04
	0,40	2	2,17			1,16	< dl		
	0,40	3	2,46			1,37	< dl		
	0,40	4	2,55	0,13	0,33	1,55	0,05	0,15	0,02
	0,40	5	2,42	0,13	0,31	1,36	< dl		
	0,40	6	2,14	0,15	0,32	1,28	< dl	< dl	
	0,40	8	1,83			1,08	< dl		
	0,40	10	2,24			1,31	< dl		
	0,40	12	2,30	0,15	0,35	1,63	0,63	1,81	0,27
	0,40	14	2,01			1,24	0,09		0,04
	0,40	24	1,47			0,82	< dl		
	2	0,40	53	3,34			2,22	0,54	
0,40		60	2,81			1,72	0,09		0,03
3	0,40	77	3,64			2,48	0,74		0,20
	0,40	84	3,13			2,00	0,31		0,10
4	0,40	101	3,37			2,37	0,87		0,26
	0,40	108	2,51			2,06	1,39		0,55
5	0,40	120	2,43			1,96	1,26		0,52
	0,40	122	2,90			2,25	1,28		0,44
	0,40	124	3,08			2,37	1,31		0,42
	0,40	126	2,45			2,04	1,43		0,58
	0,40	128	2,61			1,81	0,61		0,23
	0,40	130	2,28			1,66	0,73		0,32
	0,40	132	2,19			1,77	1,14		0,52
32	0,42	796	3,81			2,57	0,86		0,23
	0,42	797	3,71			2,48	0,78		0,21
	0,42	798	3,08			2,01	0,53		0,17
	0,42	803	3,07	0,16	0,49	1,98	0,47	0,97	0,15
	0,42	804	2,60	0,17	0,44	1,63	0,29	0,66	0,11

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n °10 : 61 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,45	0	0,00			0,00	0,00		
	0,45	0,5	1,02			0,45	< dl		
	0,45	1	1,23			0,67	< dl		
	0,45	1,5	1,49			0,74	< dl		
	0,45	2	2,06			0,89	< dl		
	0,45	3	1,52			1,18	0,76		0,50
	0,45	4	2,07	0,15	0,31	1,18	0,09	0,30	0,04
	0,45	5	1,95	0,12	0,23	0,99	< dl		
	0,45	6	1,73	0,13	0,22	0,96	0,02	0,08	0,01
	0,45	8	1,82			1,08	0,18		0,10
	0,45	10	1,76			1,03	0,14		0,08
	0,45	12	1,39	0,14	0,19	0,76	< dl		
	0,45	14	1,28			0,82	0,26		0,20
	0,45	24	0,92			0,56	0,12		0,13
	2	0,45	53	2,64			1,67	0,48	
0,45		60	2,02			1,20	0,20		0,10
3	0,45	77	2,84			1,91	0,77		0,27
	0,45	84	2,21			1,28	0,14		0,06
4	0,45	101	2,90			2,06	1,03		0,36
	0,45	108	1,97			1,15	0,15		0,08
5	0,45	120	2,54			1,64	0,54		0,21
	0,45	122	2,74			1,87	0,81		0,29
	0,45	124	2,76			1,83	0,69		0,25
	0,45	126	2,48			1,49	0,28		0,11
	0,45	128	2,39			1,51	0,43		0,18
	0,45	130	2,20			1,44	0,51		0,23
	0,45	132	2,07			1,41	0,60		0,29
32	0,44	796	3,43			2,34	0,95		0,28
	0,44	797	3,44			2,70	1,76		0,51
	0,44	798	2,88			2,03	0,95		0,33
	0,44	803	2,57	0,16	0,41	1,61	0,39	0,94	0,15
	0,44	804	2,28	0,18	0,41	1,55	0,62	1,51	0,27

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 11 : 78 an:

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,40	0	0,00			0,00	0,00		
	0,40	0,5	1,72			0,98	< dl		
	0,40	1	1,80			1,11	0,08		0,04
	0,40	1,5	1,69			0,92	< dl		
	0,40	2	1,69			1,05	0,09		0,05
	0,40	3	2,41			1,57	0,31		0,13
	0,40	4	2,68	0,21	0,56	1,54	< dl		
	0,40	5	2,72	0,17	0,46	1,51	< dl		
	0,40	6	2,46	0,20	0,49	1,49	0,04	0,07	0,01
	0,40	8	2,29			1,36	< dl		< dl
	0,40	10	2,11			1,30	0,09		0,04
	0,40	12	1,94	0,15	0,29	1,13	< dl		
	0,40	14	1,96			1,20	0,06		0,03
	0,40	24	1,34			0,89	0,22		0,16
	2	0,40	53	4,19			2,79	0,69	
0,40		60	2,07			1,31	0,17		0,08
3	0,40	77	3,68			2,35	0,36		0,10
	0,40	84	2,57			1,69	0,37		0,14
4	0,40	101	3,66			2,42	0,56		0,15
	0,40	108	2,56			1,74	0,51		0,20
5	0,40	120	2,85			1,88	0,43		0,15
	0,40	122	3,04			2,02	0,49		0,16
	0,40	124	3,69			1,36	< dl		
	0,40	126	2,98			2,01	0,55		0,19
	0,40	128	2,95			1,97	0,50		0,17
	0,40	130	2,92			1,75	< dl		
	0,40	132	2,36			1,52	0,26		0,11
32	0,39	796	3,02			2,01	0,43		0,14
	0,39	797	3,00			1,99	0,41		0,14
	0,39	798	2,95			1,80	< dl		
	0,39	803	2,26	0,13	0,29	1,40	0,05		0,02
	0,39	804	2,08	0,12	0,25	1,34	0,18	0,73	0,09

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n °12 : 77 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,48	0	0,00			0,00			
	0,48	0,5	1,00			0,51	< dl		
	0,48	1	2,31			1,11	< dl		
	0,48	1,5	2,83			1,29	< dl		
	0,48	2	2,66			1,39	0,01		0,01
	0,48	3	3,08			1,72	0,25		0,08
	0,48	4	2,98	0,21	0,63	1,52	< dl		
	0,48	5	3,50	0,17	0,60	1,68	< dl		
	0,48	6	3,55	0,20	0,71	1,88	0,07	0,10	0,02
	0,48	8	2,90			1,64	0,28		0,09
	0,48	10	2,83			1,53	0,12		0,04
	0,48	12	2,77	0,15	0,42	1,41	< dl		
	0,48	14	2,63			1,32	< dl		
	0,48	24	1,90			0,96	< dl		
	2	0,48	53	4,90			3,20	1,36	
0,48		60	4,25			2,55	0,71		0,17
3	0,48	77	4,50			2,66	0,67		0,15
	0,48	84	2,80			1,69	0,49		0,17
4	0,48	101	4,21			2,67	1,00		0,24
	0,48	108	3,12			1,70	0,16		0,05
5	0,48	120	2,73			1,52	< dl		
	0,48	122	3,83			2,32	0,68		0,18
	0,48	124	4,20			2,63	0,93		0,22
	0,48	126	3,96			2,46	0,84		0,21
	0,48	128	3,73			2,39	0,94		0,25
	0,48	130	3,63			2,05	< dl		
	0,48	132	2,86			1,69	0,42		0,15
32	0,41	796	3,52			2,28	0,50		0,14
	0,41	797	2,10			2,34	2,69		1,28
	0,41	798	2,90			2,33	1,51		0,52
	0,41	803	3,84	0,13	0,50	1,63	< dl		
	0,41	804	2,87	0,12	0,34	1,60	< dl		

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n °13 : 78 ans

jour	H	heure	Cp μg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg μg/ml	Cgr μg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,35	0	0,00			0,00	0,00	-	
	0,35	0,5	2,50			1,49	< dl		< dl
	0,35	1	3,11			1,90	< dl		< dl
	0,35	1,5	3,55			2,25	< dl		< dl
	0,35	2	4,03			2,65	0,09		0,02
	0,35	3	3,50			2,20	< dl		< dl
	0,35	4	4,04	0,14	0,57	2,26	< dl	< dl	< dl
	0,35	5	4,60	0,16	0,74	3,20	0,60	0,82	0,13
	0,35	6	4,40	0,16	0,70	2,82	< dl	< dl	< dl
	0,35	8	4,20			2,73	< dl		< dl
	0,35	10	3,84			2,56	0,18		0,05
	0,35	12	3,87	0,17	0,66	2,65	0,38	0,58	0,10
	0,35	14	3,53			2,69	1,13		0,32
	0,35	24	2,87			1,88	0,04		0,01
	2	0,35	53	6,27			4,49	1,18	
0,35		60	5,27			3,27	< dl		< dl
3	0,35	77	6,68			5,41	3,05		0,46
	0,35	84	5,94			4,94	3,08		0,52
4	0,35	101	7,22			6,03	3,82		0,53
	0,35	108	5,20			3,79	1,17		0,23
5	0,35	120	5,89			4,73	2,58		0,44
	0,35	122	7,01			6,09	4,38		0,63
	0,35	124	6,73			5,23	2,44		0,36
	0,35	126	7,19			6,06	3,96		0,55
	0,35	128	7,33			5,30	1,53		0,21
	0,35	130	6,61			4,68	1,10		0,17
	0,35	132	5,56			5,00	3,96		0,71

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Cette patiente est sortie de l'étude au bout de 21 jours (décès dans un tableau d'insuffisance cardiaque irréductible).

Patient n ° 14 : 75 ans

jour	H	heure	Cp μg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg μg/ml	Cgr μg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,39	0	0,00			0,00	0,00		
	0,39	0,5	1,17			0,71	< dl		
	0,39	1	1,28			0,94	0,41		0,32
	0,39	1,5	1,95			1,26	0,18		0,09
	0,39	2	2,16			1,65	0,85		0,39
	0,39	3	2,68			1,57	< dl		
	0,39	4	2,75	0,31	0,85	1,78	0,26	0,31	0,10
	0,39	5	2,44	0,32	0,78	1,67	0,47	0,60	0,19
	0,39	6	2,74	0,28	0,77	1,65	< dl		
	0,39	8	2,77			1,79	0,26		0,09
	0,39	10	2,65			1,90	0,73		0,27
	0,39	12	2,35	0,35	0,82	1,91	1,22	1,49	0,52
	0,39	14	2,24			1,83	1,19		0,53
	0,39	24	1,36			0,95	0,31		0,23
	2	0,39	53	4,50			3,18	1,12	
0,39		60	3,10			2,30	1,05		0,34
3	0,39	77	4,35			2,46	< dl		
	0,39	84	2,61			1,97	0,97		0,37
4	0,39	101	4,26			2,89	0,75		0,18
	0,39	108	2,86			2,12	0,96		0,34
5	0,39	120	2,97			1,90	0,23		0,08
	0,39	122	3,65			2,53	0,78		0,21
	0,39	124	3,28			2,44	1,13		0,34
	0,39	126	3,02			2,00	0,40		0,13
	0,39	128	3,20			2,14	0,48		0,15
	0,39	130	2,71			1,79	0,35		0,13
	0,39	132	2,22			1,42	0,17		0,08
32	0,33	796	4,00			2,58	< dl		
	0,33	797	4,15			2,76	< dl		
	0,33	798	3,62			2,51	0,26		0,07
	0,33	803	2,79	0,11	0,31	2,26	1,18	3,86	0,42
	0,33	804	3,39	0,17	0,58	2,80	1,60	2,78	0,47

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 15 : 78 an:

jour	H	heure	Cp μg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg μg/ml	Cgr μg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,45	0	0,00			0,00	0,00		
	0,45	0,5	2,04			1,10	< dl		
	0,45	1	2,68			1,37	< dl		
	0,45	1,5	2,54			1,40	0,01		0,00
	0,45	2	2,70			1,54	0,12		0,05
	0,45	3	2,74			1,63	0,27		0,10
	0,45	4	3,16	0,21	0,66	1,65	< dl		
	0,45	5	3,07	0,22	0,68	1,60	< dl		
	0,45	6	2,73	0,22	0,60	1,45	< dl		
	0,45	8	2,26			1,34	0,22		0,10
	0,45	10	1,99			1,08	< dl		
	0,45	12	1,71	0,17	0,29	0,91	< dl		
	0,45	14	1,20			0,71	0,11		0,09
	0,45	24	0,77			0,38	< dl		
	2	0,45	53	3,36			1,87	0,05	
0,45		60	1,90			1,05	0,01		0,01
3	0,45	77	3,05			2,20	1,16		0,38
	0,45	84	1,69			1,05	0,27		0,16
4	0,45	101	2,76			1,64	0,27		0,10
	0,45	108	1,64			0,93	0,06		0,04
5	0,45	120	1,84			1,06	0,11		0,06
	0,45	122	2,44			1,42	0,17		0,07
	0,45	124	2,41			1,55	0,50		0,21
	0,45	126	2,55			1,58	0,39		0,15
	0,45	128	2,65			1,76	0,67		0,25
	0,45	130	2,02			1,20	0,20		0,10
	0,45	132	1,56			0,87	0,03		0,02
32	0,45	796	2,58			1,64	0,49		0,19
	0,45	797	2,63			1,76	0,70		0,26
	0,45	798	2,15			1,42	0,53		0,25
	0,45	803	1,69	0,28	0,47	1,23	0,67	1,41	0,40
	0,45	804	1,71	0,26	0,44	0,99	0,11	0,25	0,06

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Patient n ° 16 : 77 ans

jour	H	heure	Cp µg/ml	f	Cp libre plasmatique	Csg µg/ml	Cgr µg/ml	D réel Cgr/(Cp.f)	D apparent Cgr/Cp
0	0,46	0	0,00			0,00			
	0,46	0,5	0,99			0,50	< dl		
	0,46	1	3,69			2,22	0,49		0,13
	0,46	1,5	5,19			2,61	< dl		
	0,46	2	4,58			2,95	1,04		0,23
	0,46	3	5,70			3,02	< dl		
	0,46	4	5,54	0,17	0,94	3,03	0,08	0,09	0,02
	0,46	5	5,88	0,14	0,82	3,07	< dl		
	0,46	6	5,60	0,15	0,84	3,12	0,21	0,25	0,04
	0,46	8	5,58			3,05	0,08		0,01
	0,46	10	5,42			2,97	0,09		0,02
	0,46	12	5,09	0,10	0,51	2,60	< dl		
	0,46	14	5,21			2,77	< dl		
	0,46	24	4,26			2,12	< dl		
	2	0,46	53	11,95			6,51	0,12	
0,46		60	11,36			5,88	< dl		
3	0,46	77	14,78			8,74	1,65		0,11
	0,46	84	13,82			7,61	< dl		
4	0,46	101	13,08			7,38	< dl		
	0,46	108	12,59						
5	0,46	120	11,27			6,17	< dl		
	0,46	122	11,35			6,92	1,72		0,15
	0,46	124	14,19			8,20	< dl		
	0,46	126	14,40			10,67	6,29		0,44
	0,46	128	16,55			10,98	4,44		0,27
	0,46	130	15,37			8,07	< dl		
	0,46	132	15,71			8,50	< dl		
32	0,38	796	10,25			7,50	3,01		0,29
	0,38	797	9,68			7,14	3,00		0,31
	0,38	798	8,70			7,02	4,28		0,49
	0,38	803	8,58	0,15	1,29	5,65	0,87	0,68	0,10
	0,38	804	7,17	0,14	1,00	4,92	1,25	1,24	0,17

< dl, inférieur à la détection limite de la méthode de dosage.

Nom, Prénom : Madame DEL-CONT-BERNARD épouse MAIRE Agnès

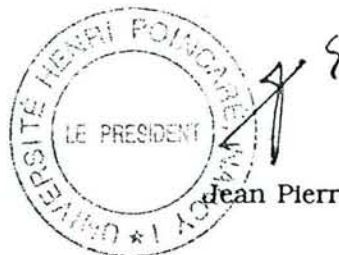
Nature de la thèse :

Doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1
en BIOLOGIE et SANTE

VU, APPROUVE ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 27 DEC. 1994 n°370

Le Président de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1



Jean Pierre FINANCE