

INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES EN MEDECINE VETERINAIRE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Mathieu, Alain LABADIE

Né, le 13 octobre 1980 à MARMANDE (Lot-et-Garonne)

Directeur de thèse : Madame le Professeur Martine KOLF-CLAUW

JURY

PRESIDENT :

M. Christian VIRENQUE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEUR :

Mme Martine KOLF-CLAUW

Mme Lydie BRET-BENNIS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

NOM : LABADIE

PRENOM : Mathieu

Titre de la thèse : Interactions médicamenteuses en médecine vétérinaire : exemple des benzimidazoles.

TOULOUSE 2004

RESUME : Les benzimidazoles sont des médicaments utilisés à la fois en médecine humaine et vétérinaire. Deux molécules appartenant à cette famille ont récemment été retirées du marché chez l'homme pour de sérieuses interactions médicamenteuses impliquant les systèmes de biotransformation. Le but de notre étude est de comprendre le mécanisme de telle interaction, de rassembler les connaissances concernant l'influence des benzimidazoles sur les systèmes de biotransformation et de projeter les implications potentielles en médecine vétérinaire.

MOTS CLES

Benzimidazoles, Interaction médicamenteuse, Cytochrome P450, Kétoconazole, Mibéfradil, Inhibition, Induction, Animal

Title of the thesis : Drug interaction in veterinary medicine : the benzimidazole's exemple

SUMMARY : Benzimidazole drugs represent substances used both in human and veterinary medicine. Two substances from this family were recently withdrawn from the market for serious drug interactions implying the biotransformation enzymes. The purpose of our study is to understand the mechanism of such an interaction, to gather knowledge on the influence of benzimidazoles on biotransformation systems and to evaluate the potential implications in veterinary medicine.

KEY WORDS

Benzimidazole, Drug Interaction, Cytochrome P450, Ketoconazole, Mibefradil, Inhibition, Induction, Animal

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	P. DESNOYERS
Directeurs honoraires.....	: M.	R. FLORIO
	M.	J. FERNEY
	M.	G. VAN HAVERBEKE
Professeurs honoraires.....	: M.	A. BRIZARD
	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	D. GRIESS
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELF
	M.	M. ECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEUR ASSOCIE

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, *Pathologie infectieuse*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme BRET-BENNIS Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
Mme CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme COLLARD-MEYNAUD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Productions animales*
Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MARENDI Marc, *Pathologie de la reproduction*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
Mme MESSUD-PETIT Frédérique, *Pathologie infectieuse*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
Mme RAYMOND-LETRON Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mlle TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
N. DESMAIZIERES Louis-Marie, *Clinique équine*
M. LEON Olivier, *Elevage et santé en productions avicoles et porcines*

MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, *Alimentation*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A Notre Jury de thèse

A Monsieur le Professeur Christian VIRENQUE

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Anesthésiologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre thèse,

Hommages respectueux.

A Madame le Professeur Martine Kolf-Clauw

Professeur de l'Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse

En remerciement de sa disponibilité, de ses précieux conseils et de son soutien
chaleureux.

A Madame le Docteur Lydie Bennis-Bret

Maître de conférence à l'Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse

Un immense merci pour sa gentillesse et son énergie contagieuse

INTRODUCTION	6
LES INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES	9
1.1 PRESENTATION GENERALE:.....	10
1.2 LE SYSTEME DES CYTOCHROMES P450:	11
1.2.1 Historique :.....	11
1.2.2 Biologie des cytochromes :.....	12
1.2.3 Les différentes isoformes	16
1.2.4 Les substrats spécifiques des différentes isoformes utilisés dans les études in vitro et in vivo	16
1.2.5 Variations interspécifiques :.....	18
1.2.6 Modulation de l'activité des cytochromes P450 :	21
1.3 METHODE D'ETUDE DES INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES :	27
1.3.1 Principes généraux :.....	27
1.3.2 Démarche pour évaluer les interactions médicamenteuse lors du développement des médicaments	31
1.3.3 Exemple d'interaction médicamenteuse CYP dépendantes:.....	33
BENZIMIDAZOLES ET INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES.....	40
2.1 LES BENZIMIDAZOLES UTILISES EN MEDECINE VETERINAIRE :.....	41
2.1.1 les benzimidazoles antiparasitaires :.....	41
2.1.2 L'oméprazole, un autre benzimidazole utilisé chez les animaux.....	49
2.1.3 Les autres benzimidazoles	51
2.2 LES INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES ET LES BENZIMIDAZOLES :	53
2.2.1 Variations du métabolisme des benzimidazoles lors d'interactions médicamenteuses :.....	55
2.2.2 Modification du métabolisme de certains médicaments provoquée par les benzimidazoles :	58
2.3 PERSPECTIVES :	60
CONCLUSION.....	63
BIBLIOGRAPHIE	65

Index des illustrations

Figure 1 : groupement prosthétique.	13
Figure 2 : représentation du CYP1A1.	13
Figure 3 : Fonctionnement du cytochrome P450.	15
Figure 4 : Démarche pour évaluer les interactions médicamenteuse pendant le développement des médicaments	32
Figure 5 : Le mibéfradil.	34
Figure 6 : Le kétoconazole	38
Figure 7 : noyau benzimidazole.	42
Figure 8 : antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire.	42
Figure 9 : pharmacocinétique du thiabendazole et de l'oxfendazole.	45
Figure 1 : métabolisme de l'albendazole.	45
Figure 2 : métabolisme du fenbendazole et de l'oxfendazole.	47
Figure 3 : Représentation de l'oméprazole.	50
Figure 4 : Métabolisme de l'oméprazole.	50
Figure 14 : structure du candésartan, du telmisartan, du pimozide et de l'astémizole.	52
Figure 15 : différents cas de figure pouvant conduire à une interaction médicamenteuse.	54

Index des tableaux

Tableau 1 : Homologie des séquences protéiques des cytochromes P450 entre l'homme et le chien (en pourcentage).	17
Tableau 2 : substrats spécifiques des différentes isoformes utilisés dans les études <i>in vitro</i> chez l'homme.	17
Tableau 3 : synthèse des connaissances concernant les substrats spécifiques du chien.	19
Tableau 4 : marqueurs des différents CYP <i>in vivo</i> .	19
Tableau 5 : comparaison de l'activité métabolique de différents cytochromes chez plusieurs espèces.	20
Tableau 6: modulation de l'activité des P450 par le mibéfradil chez l'homme, <i>in vitro</i> .	34
Tableau 7: modulation de l'activité des P450 par le mibéfradil chez l'homme, <i>in vivo</i> .	34
Tableau 8: modulation de l'activité des P450 par le kétoconazole chez le chien, <i>in vitro</i> .	38
Tableau 9: modulation de l'activité des P450 par le kétoconazole chez le chien, <i>in vivo</i> .	38
Tableau 10 : Noms déposés et indications des différents benzimidazoles antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire.	44
Tableau 11 : Doses létales 50 de l'albendazole.	47
Tableau 12 : variations du métabolisme de l'albendazole lors d'interactions médicamenteuses	56
Tableau 13 : variations du métabolisme du fenbendazole lors d'interactions médicamenteuses.	57
Tableau 14 : variations du métabolisme de l'oméprazole lors d'interactions médicamenteuses.	57
Tableau 15 : influence de quelques antiparasitaires sur les CYP.	59
Tableau 16 : influence de l'oméprazole sur les CYP .	61

Table des abréviations

FMO	flavines Mono-oxygénases
BZ	benzimidazoles
ABZ	albendazole
ABZ-SO	albendazole sulfoxyde
ABZ-SO2	albendazole sulfone
FBZ	fenbendazole
FBZ-SO	fenbendazole sulfoxyde
FBZ-SO2	fenbendazole sulfone
OH-OPZ	hydroxy-oméprazole
OPZ-SO2	oméprazole sulfone
OPZ	oméprazole
N.I.	Pas d'inhibition
H	Homme
R	Rat
C	Chien
P	Porc
CYP	cytochrome

Introduction

Le terme de métabolisme fait référence aux transformations, par des réactions enzymatiques, d'un médicament en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs au plan pharmacologique. De nombreux tissus peuvent réaliser cette transformation (peau, poumon, rein, intestin...). Néanmoins le principal site de biotransformation est représenté au niveau hépatique par les enzymes microsomales.

Le métabolisme peut être divisé en deux étapes : la première phase consiste en des oxydations, réductions ou hydrolyses catalysées par des enzymes microsomales ou cytosoliques. Le cytochrome P450 microsomal est l'élément catalytique terminal et principal de ce système fondé sur le transfert d'électrons. Une fois la première phase réalisée, le métabolite peut être méthylé ou associé à un produit endogène (acides aminés, acétique, sulfurique, glucuronique, glutathion...). Le résultat est un composé plus hydrosoluble et donc plus facilement éliminable par l'organisme.

De nombreuses voies métaboliques d'élimination des médicaments, et particulièrement celles utilisant les cytochromes P450, peuvent être inhibées, ou induites par l'administration d'autres substances. La conséquence est une augmentation ou une diminution de la concentration plasmatique du médicament et de ses métabolites dans l'organisme. La formation de métabolites toxiques est aussi possible. Ces variations pharmacocinétiques peuvent modifier l'efficacité et l'innocuité des médicaments surtout s'ils possèdent un faible indice thérapeutique. Il en est de même pour les temps d'attente chez les animaux de rente.

Les benzimidazoles sont apparus, il y a plusieurs décennies avec la découverte du thiabendazole, le premier anthelmintique à large spectre. Le parabendazole en 1967, le cambendazole en 1970, le mébendazole en 1971 l'oxibendazole en 1973 ont ensuite été découverts par les chercheurs, stimulés par l'utilisation du thiabendazole. Cependant c'est la découverte de composés soufrés comme le fenbendazole (1974), l'oxfendazole et l'albendazole (1976) qui a été à l'origine de l'utilisation massive de cette famille de médicaments en médecine vétérinaire.

Aujourd'hui, le nombre des benzimidazoles a augmenté et tous n'ont pas des propriétés anthelmintiques. C'est le cas de certains inhibiteurs de la pompe à protons

(comme l'oméprazole) , d'antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 2 (comme le candésartan), d'antihistaminiques (comme l'astémizole), d'inhibiteurs calciques (comme le mibéfradil) ou de neuroleptiques (comme le pimozide). Mis à part l'oméprazole, dont la mise sur le marché des médicaments vétérinaires est imminente, ces molécules ne sont pas encore utilisées chez les animaux. Avant leur mise sur le marché, ces médicaments ont fait l'objet d'études pré-cliniques et cliniques consistant à expérimenter la molécule sur l'animal et à réaliser des cultures sur cellules afin de prouver entre autre, leur innocuité et leur efficacité pharmacologique.

Pourtant, deux composés de cette famille utilisés en médecine humaine, le mibéfradil et l'astémizole, ont récemment été retirés du marché pour de sérieuses interactions médicamenteuses impliquant le système des cytochromes P450.

Cette étude a donc pour but, après avoir envisagé le mécanisme des interactions ainsi que la famille des benzimidazoles, de recueillir les données concernant l'interférence entre les benzimidazoles et les autres médicaments. Nous devons nous appuyer sur des études réalisées chez l'homme, mieux documentées et en déduisons les implications potentielles en médecine vétérinaire.

1

Les interactions médicamenteuses

Les interactions médicamenteuses sont des réponses pharmacodynamiques, pharmacocinétiques ou cliniques qui résultent de l'administration de deux ou plusieurs médicaments et qui diffèrent des effets connus de chacun des médicaments administrés seuls. Les effets cliniques de ces interactions peuvent être antagonistes, additifs ou synergiques et entraîner l'échec du traitement, une amplification de l'effet pharmacologique prévu ou des effets toxiques pouvant être graves, voire fatals. *Strnad C.F. (2000)*. Nous étudierons dans cette première partie les différents type d'interaction, l'implication des cytochromes dans ces phénomènes ainsi que les modalités d'études.

1.1 Présentation générale:

On distingue deux types d'interaction :

-- **Les interactions pharmacodynamiques.** Elles résultent de l'effet de deux molécules sur le même mécanisme physiologique, et souvent sur l'occupation des mêmes sites récepteurs. Elles sont généralement faciles à prévoir en fonction des propriétés pharmacologiques respectives des médicaments. Ce ne sont pas des interactions pharmacocinétiques en nature, mais la clairance de la molécule peut être modifiée car l'intégrité fonctionnelle des organes impliqués dans l'élimination peut être atteinte.

Par exemple, l'amphotéricine B induit une hypokaliémie qui augmente le risque d'apparition de troubles du rythme ventriculaires lors d'administration concomitante d'antagonistes des récepteurs H1 de l'histamine comme l'astémizole ou la terfénadine qui possèdent cet effet secondaire.

-- **Les interactions pharmacocinétiques.** Le terme de pharmacocinétique recouvre plusieurs procédés distincts : l'absorption, la distribution, la biotransformation, et l'excrétion.

Les interactions médicamenteuses de nature pharmacocinétique ont pour conséquence de modifier les niveaux d'exposition au médicament ou à ses métabolites par l'un des mécanismes suivants : modification de l'absorption (par chélation, formation de complexes ou par modification du pH), modification de la distribution (compétition entre deux médicaments pour le même site de liaison sur les

protéines plasmatiques), induction ou inhibition d'une ou de plusieurs enzymes du métabolisme des médicaments, modification de l'excrétion (compétition pour les systèmes rénaux de transport d'anions ou de cations ou modification du pH urinaire). Les conséquences cliniques de ces interactions sont plus difficiles à prévoir, principalement parce qu'il existe des différences entre les individus. *Albengres et al. (1998)*

Dans notre étude, nous nous limiterons aux interactions pharmacocinétiques dont le mécanisme est une modification de la biotransformation des médicaments.

La biotransformation des médicaments s'effectue généralement en deux temps. Les réactions de phase 1 mettent en jeu l'oxydation, la réduction ou l'hydrolyse de la molécule mère, et produisent des métabolites de polarité croissante qui peuvent être excrétés ou transformés. Pour les métabolites qui subissent la phase 2 de la biotransformation, les groupes polaires présents sur l'intermédiaire se conjuguent avec le glutathion, l'acétate, le glucuronate, le sulfate ou la glycine pour produire des composés très hydrosolubles pouvant être excrétés. Certains médicaments participent directement aux réactions de conjugaison de la phase 2, sans passer par la phase 1.

La majeure partie du métabolisme de phase 1 fait appel au cytochrome P450 (CYP), une superfamille d'isoenzymes hémiques qui se trouvent surtout dans les hépatocytes, à l'intérieur des membranes du réticulum endoplasmique lisse. *Strnad C.F. (2000)*.

1.2 Le système des cytochromes P450:

1.2.1 Historique :

L'aventure des cytochromes P450 commence en 1955 grâce à la mise au point, par B. Chance, d'un spectrophotomètre à double faisceau très performant capable de lire des échantillons hautement turbides, tels que les microsomes. Williamson observa ainsi une bande d'absorption intense à 450 nm après bullage d'oxyde de carbone sur une suspension de microsomes réduit. M. Klingenberg et D.

Garfinkel poursuivent l'étude de ce « pigment microsomal fixant l'oxyde de carbone » mais ceux sont Omura et Sato qui, en montrant que ce pigment est bien une hémoprotéine et, plus précisément un cytochrome de type b, lui donneront son appellation de cytochrome P450.

La fonction physiologique du cytochrome P450 comme oxydase terminale dans les réactions d'oxygénation a été rapportée ensuite par Estabrook pour l'hydroxylation en C21 des stéroïdes. Cette participation comme oxydase terminale devait ensuite être étendue aux réactions d'hydroxylation et de désalkylation de composés chimiques exogènes.

Cette découverte a été contemporaine d'une autre observation importante du début des années 60 : l'augmentation « *in vivo* » des activités hydroxylantes des microsomes hépatiques sous l'action de certains agents chimiques : hydrocarbures polycycliques aromatiques, phénobarbital, pesticides, appelés inducteurs. *Fournier A. (1991).*

1.2.2 Biologie des cytochromes :

- Répartition :

Le cytochrome P450, mis en évidence dans les microsomes hépatiques de mammifères apparaît comme largement répandu dans le règne animal et même végétal. On le retrouve dans les glandes surrénales, les reins, les poumons, les intestins, la peau, les ovaires et l'encéphale. D'une façon générale, tous les organes stéroïdogéniques (surrénales, gonades, placenta) contiennent des quantités importantes de cytochrome P450 destinées à l'hydroxylation spécifique des stéroïdes. Sa présence est également décelée chez les insectes, chez des bactéries comme les *Pseudomonas*, chez les levures et chez des végétaux supérieurs tels que le sorgho et la rose. Cette protéine, très ancienne, est donc apparue très tôt dans l'évolution, mais sa mise en évidence, son implication dans le métabolisme de molécules endogènes ou exogènes et son induction sont des découvertes récentes. *Fournier A. (1991).*

Groupe pyrrole associé
à un atome de fer

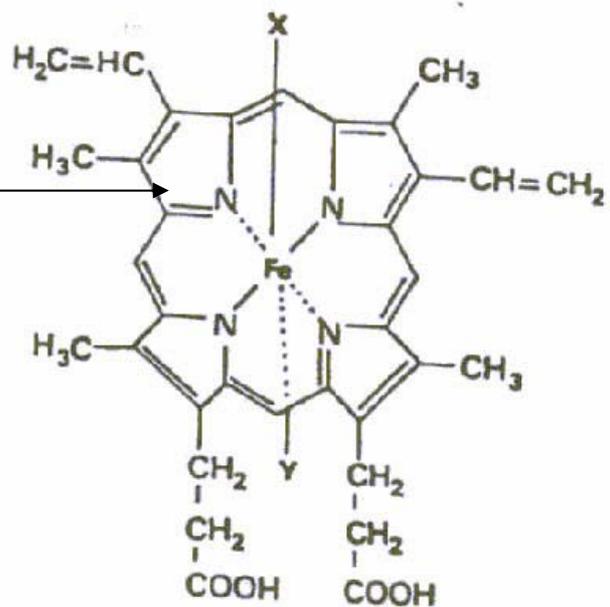


Figure 1 : groupement prosthétique. D'après Fournier A. (1991)

Hélices α

L'hème

Les feuillets β

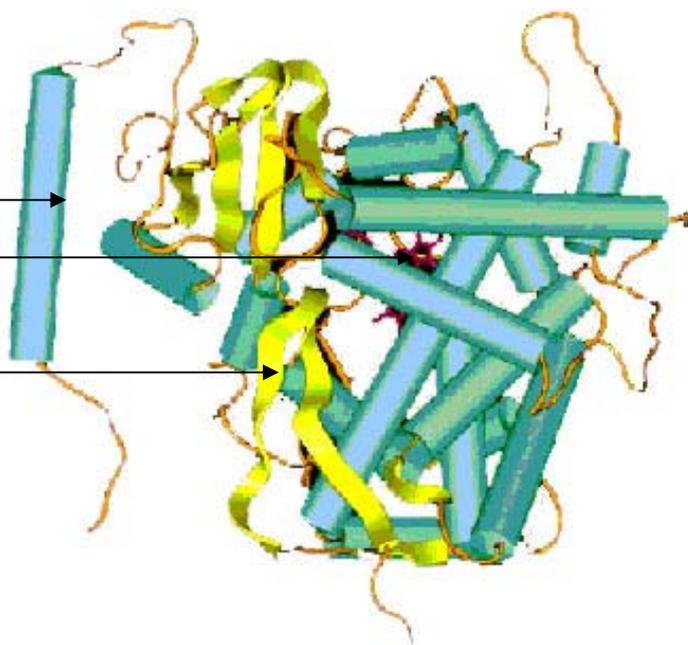


Figure 2 : représentation du CYP1A1. D'après Szklarz G., Paulsen M (2002)

- Structure :

Le cytochrome P450 est une hémoprotéine constituée d'une apoprotéine et d'un groupement prosthétique, l'hème. L'hème est composé d'un noyau tétrapyrrole de base associé à un atome de fer ionisé et à des substituants qui forment un noyau protoporphyrine IX identique à celui de l'hémoglobine (figure 1).

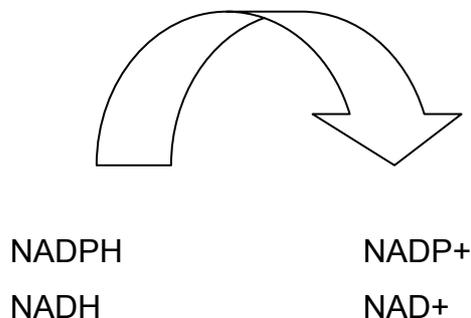
Le poids moléculaire des différents cytochromes P450 varie entre 43 000 et 60 000 daltons. Le noyau porphyrine, y compris le fer, représente environ 650 daltons.

Le couple réducteur-oxydant ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) de l'hème est le site catalytique. La cavité de l'hémoprotéine est très large et de très grosses molécules peuvent y pénétrer (figure2). Une portion de cette protéine, à une bonne distance du fer est fortement hydrophobe et c'est sur cette protéine, appelée site actif que peuvent se fixer les substances exogènes, par interactions hydrophobes non spécifiques. *Fournier A. (1991).*

- Activité monooxygénase :

Les cytochromes P450 participent à la biotransformation des molécules endo- et exogènes en leur incorporant un groupement hydroxyle. Cette activité monooxygénase repose sur un transfert d'électrons apportés par le NAD(P)H afin de maintenir le Fer sous forme Fe^{2+} . (figure 3)

Bilan de cette réaction:



1- Interaction du substrat RH avec le cytochrome P450 sous forme Fe^{3+} .

2- Réduction du fer par un électron provenant du NADPH via la NADPH réductase.

3- Fixation de l' O_2 sur le fer réduit.

4- Transfert électronique entre Fe^{2+} et O_2 aboutissant à l'oxydation du fer en Fe^{3+} et la réduction de O_2 en O_2^- (anion superoxyde).

5- Réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} par un deuxième électron provenant du NADPH ou du NADH

6- Réoxydation du fer et formation d'un anion peroxyde instable réagissant avec le substrat.

7- Oxydation du substrat et dissociation.

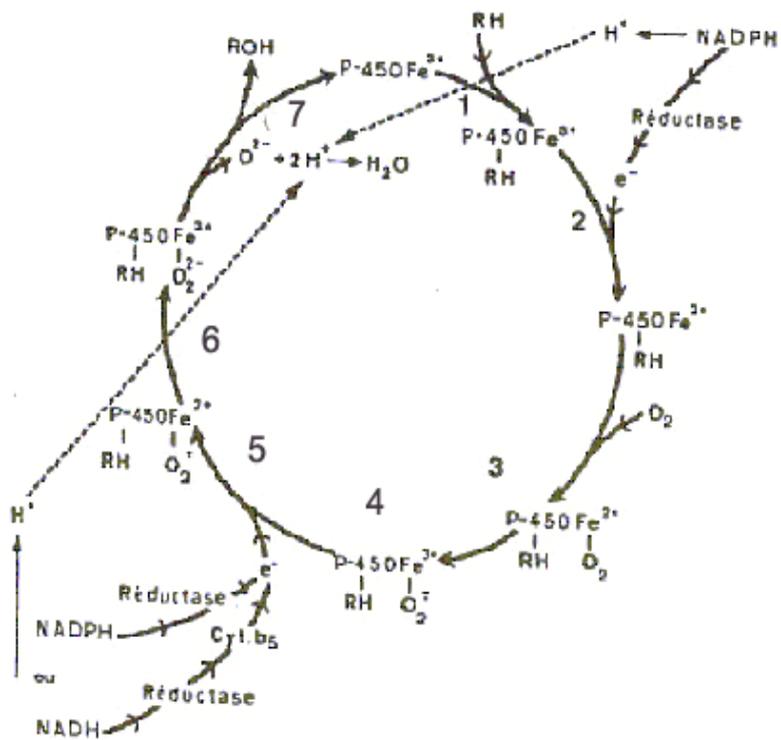


Figure 3 : Fonctionnement du cytochrome P450. D'après Fournier A. (1991)

1.2.3 Les différentes isoformes

Cette enzyme a été très étudiée, si bien qu'on dénombre aujourd'hui 270 familles de cytochromes P450 différentes (CYP) (dont 70 chez l'homme). Aussi, ne doit-on pas parler du cytochrome P450 mais des cytochromes P450.

Une nomenclature systématique, basée sur l'évolution des gènes des CYP, a été mise en place depuis 15 ans. Les CYP sont classés en famille (premier chiffre), sous-famille (lettre), et isoforme particulière (second chiffre) . Exemple : CYP3A4
Entre 2 gènes de CYP de la même famille, 40% des séquences sont semblables (55% entre 2 CYP de la même sous-famille). *Strnad C.F. (2000)*.

Le chien est une espèce souvent utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour découvrir le métabolisme, la pharmacocinétique, la sécurité et l'efficacité des médicaments. Cependant nous avons peu de connaissance sur les cytochromes P450 de cette espèce. Aujourd'hui neuf gènes codant pour les cytochromes P450 ont été isolés et séquencés dans cette espèce (60 chez le rat). Leur ressemblance avec les gènes humains a été étudiée pour les répartir dans les différentes familles (tableau 1).

1.2.4 Les substrats spécifiques des différentes isoformes utilisés dans les études *in vitro* et *in vivo*

- Etudes *in vitro* :

Le métabolisme de ces substrat est spécifique d'un CYP dans des conditions *in vitro* et reflète l'activité du cytochrome. Des dosages successifs permettent de connaître la cinétique de la réaction et donc de mettre en évidence des phénomènes d'inhibition ou d'induction enzymatique.

Chez l'homme, le choix de ces substrats fait l'objet d'un consensus afin d'uniformiser les études entre les différentes équipes de recherche. De plus, Les organismes de régulation des médicaments obligent les laboratoires à utiliser certains substrats pour l'obtention des autorisations de mises sur le marché. On distingue les substrats spécifiques privilégiés comme l'éthoxyrésorufine pour le CYP1A2 et les substrats acceptables comme la caféine (tableau 2).

homme	chien						
	1A1	1A2	2B11	2C21	2C41	2D15	3A12
1A1	81	67					
1A2	73	81					
2B6			78				
2C8				66	70		
2C9				69	75		
2C19				70	74		
2D6						75	
3A4							79
3A5							78
3A7							74

Tableau 1 : Homologie des séquences protéiques des cytochromes P450 entre l'homme et le chien (en pourcentage). D'après Shou M., Norcross R. (2003)

CYP	substrats spécifiques de choix	substrats spécifiques acceptables
1A2	Ethoxyrésorufine Phénacétine	Caféine Théophylline Méthoxyrésorufine
2C9	S-Warfarine Diclofénac	Tolbutamide
2C19	S-Méphénytoïne	
2D6	Bufuralol Dextrométhorphane	Métoprolol Débrisoquine Codéine
2 E1	Chlorzoxazone	4-nitrophénol Acide laurique
3A4	Midazolam Testostérone	Nifédipine, Terféndine Féلودipine, Erythromycine Ciclosporine, Simvastatine

Tableau 2 : substrats spécifiques des différentes isoformes utilisés dans les études in vitro chez l'homme. D'après Tucker G.T. et al, (2001)

Chez le chien, la recherche des substrats spécifiques de chaque CYP majeur (étape indispensable à toute étude d'interaction médicamenteuse *in vitro* et *in vivo*) vient de débiter (tableau 3). Des points obscurs demeurent : aucun CYP connu ne catalyse l'hydroxylation en 4' de la méphénytoïne observée *in vitro*, l'hydroxylation de la testostérone et du diclofénac est réalisée par 2 CYP si bien que nous ne possédons toujours pas de substrats spécifiques pour le CYP 2C21.

- Etudes *in vivo* :

Le métabolisme de ces substrats est spécifique d'un CYP dans des conditions *in vivo* et reflète l'activité du cytochrome. Des dosages successifs permettent de mettre en évidence des phénomènes d'inhibition ou d'induction enzymatique.

Chez l'homme, comme pour les études *in vitro*, les organismes de régulation des médicaments imposent l'utilisation de certains substrats dans les études *in vivo* (tableau 3). Il n'en est pas de même pour les médicaments vétérinaires où les substrats spécifiques à utiliser sont inconnus.

1.2.5 Variations interspécifiques :

Différentes études montrent que l'extrapolation des résultats concernant les systèmes de biotransformation entre les espèces peut conduire à des erreurs (tableau 5). L'activité métabolique des différents cytochromes (représentée dans notre exemple par la vitesse de réaction enzymatique) varie en fonction des espèces. C'est pourquoi le métabolisme des médicaments doit être étudié dans l'espèce cible.

Les substrats utilisés dans ces études sont spécifiques des enzymes humaines et murines, le sont-ils pour les enzymes des animaux domestiques? *Szotakova B. et al (2003)*.

CYP canin	CYP humain homologue	substrats	réaction
1A1	1A1	ethoxyresorufine	O-dééthylation en position 7
2B11	2B6	testostérone diclofénac diazépan	Hydroxylation en 16 α 4'-hydroxylation N-déméthylation
2C41	2C9		
2C21	2C19	testostérone diclofénac	Hydroxylation en 16 α 4'-hydroxylation
2D15	2D6	bufuralol dextrométhorphane	Hydroxylation en 1' O-déméthylation
3A12	3A4	testostérone diazépan nordiazépan dextrométorphane	Hydroxylation en 2 α ,2 β et 16 α Hydroxylation en C3 Hydroxylation en C3 N-déméthylation

Tableau 3 : synthèse des connaissances concernant les substrats spécifiques du chien. D'après Shou M et al (2003)

CYP	Substrat utilisé
1A2	Caféine
2B6	Bupropion
2C9	Tolbutamide
2C19	Méphénytoïne Oméprazole
2D6	Débrisoquine
2 E1	Chlorzoxazone
3A4	Midazolam (voie orale et intraveineuse) Erythromycine (voie intraveineuse)

Tableau 4 : marqueurs des différents CYP in vivo. D'après Tucker G.T. et al, (2001)

	CYP1A		CYP2C		CYP2E	CYP3A
	EROD	Phé	MFCD	Tolbu	Chlor	6 β -TOH
Homme				B C D	B	B C D
Chien				A B	B	A
Chat				A B	B	A
Cheval				A C D	A C D	A
Porc	F G H		G		H	F G H
Mouton	E H		E F H		H	E F H
Chèvre	E H		G		H	E G
Bovin	E F G		G		E F G	E G

Vitesse de réaction enzymatique statistiquement différente de celle :

A: de l'homme.

B: du cheval.

C : du chien.

D : du chat.

E: du porc.

F: de la chèvre.

G: du mouton

H: des bovins.

EROD: 7-Ethoxyresorufin O-deéthylase.

Tolbu : Tolbutamide hydroxylase

Phé : Phénacétine O-dééthylase.

Chlor : Chlorzoxazone 6-hydroxylase

6 β -TOH : Testostérone 6 β -hydroxylase

MFCD : 7-Méthoxy-4-trifluorométhyl-coumarine-dééthylase

Tableau 5 : comparaison de l'activité métabolique de différents cytochromes chez plusieurs espèces. Résumé de deux études différentes : la première en gris clair concerne l'homme, le chien, le chat, et le cheval (Chauret N. et al (1997)). La seconde en gris foncé concerne le porc, le mouton, la chèvre et les bovins (Szotakova B. et al (2003)).

1.2.6 Modulation de l'activité des cytochromes P450 :

- Inhibition enzymatique :

L'inhibition est la réduction de l'activité d'une enzyme. Les inhibitions sont considérées comme plus dangereuses que les inductions enzymatiques, en raison de leur rapidité d'apparition. *Guengerich F. (1997)*

Mécanismes d'inhibition :

Le mécanisme d'inhibition des CYP peut être divisé grossièrement en trois catégories : les inhibitions réversibles, quasi-irréversibles et irréversibles.

Les inhibitions réversibles constituent le mécanisme le plus fréquent. *Lin J.H., Lu A.Y.H.(1998)*.

- Inhibition réversible :

les imidazoles, les pyridines et les quinolines sont des inhibiteurs réversibles. Ces composés ne se lient pas seulement au groupement prosthétique (l'hème), mais aussi à la région lipophile de la protéine.

Ainsi le potentiel d'un inhibiteur est déterminé par sa lipophilie ainsi que par la force de sa liaison avec le fer ionisé de l'hème.

Par exemple, le kétoconazole et la cimétidine sont deux imidazoles interagissant avec les CYP. Cependant, la cimétidine est un inhibiteur dont le pouvoir est relativement faible. Ce résultat est expliqué par la faible lipophilie de cette molécule par rapport au kétoconazole *Lin J.H., Lu A.Y.H.(1998)*.

Il existe trois types d'inhibition réversible :

- les inhibitions compétitives, où l'inhibiteur et le substrat sont en compétition sur le site catalytique de l'enzyme.

- les inhibitions allostériques où l'inhibiteur se fixe sur un site de régulation différent du site catalytique, appelé site allostérique. La fixation de l'inhibiteur entraîne une diminution de l'affinité de l'enzyme pour le substrat. On distingue alors l'inhibition non compétitive où l'inhibiteur se fixe sur l'enzyme seule ou sur le complexe enzyme-

substrat et l'inhibition incompétitive où l'inhibiteur ne se fixe que sur le complexe enzyme-substrat. *Guengerich F. (1997)*

- Inhibition quasi-irréversible :

Un grand nombre de médicaments comme les alkylamines, les macrolides ou les méthylendioxybenzènes (exemple : Piperonyl butoxide) appartiennent à cette catégorie. Les métabolites de ces médicaments forment des complexes stables avec le groupement prosthétique du CYP, induisant son inactivation. *In vitro*, ces complexes peuvent être séparés et l'activité de l'enzyme restaurée grâce à des composés hautement lipophiles qui déplacent l'intermédiaire métabolique du site actif. Cependant, *in vivo*, le complexe est si stable que l'enzyme n'est plus disponible pour le métabolisme des médicaments et la synthèse de nouvelles enzymes est le seul moyen pour retrouver cette activité.

Ainsi cette forme d'inhibition est considérée comme quasi-irréversible. *Lin J.H., Lu A.Y.H.(1998)*.

- Inhibition irréversible :

Des médicaments contenant certains groupes fonctionnels peuvent être oxydés par les CYP en intermédiaires réactifs qui causent une inactivation irréversible de l'enzyme en se liant au site actif. Comme une activation métabolique est nécessaire, ces médicaments sont qualifiés de « substrat suicide ». Le mécanisme de cette inactivation est basé soit sur une interaction avec l'hème (comme une alkylation, exemple l'éthinylestradiol), soit avec la protéine (comme le chloramphénicol).

En général, une modification de l'hème inactive définitivement les CYP, tandis qu'une altération de la protéine n'entraînera une perte de l'activité métabolique que si certains acides aminés utiles à la liaison avec le substrat, le transfert d'électrons ou l'activation de l'oxygène, sont modifiés de façon irréversible. Par exemple, par la création de liaisons covalentes avec le xénobiotique ou avec ses intermédiaires métaboliques *Lin J.H., Lu A.Y.H.(1998)*.

Conséquence d'une inhibition : exemple du CYP3A4 humain

Dans cette partie, nous détaillerons différents symptômes survenants lors d'utilisation d'inhibiteurs des CYP3A4 (comme le kétoconazole ou l'érythromycine) avec d'autres médicaments dont l'indice thérapeutique est faible.

- Effets délétères :

-- Torsades de pointe.

Les torsades de pointe sont une arythmie ventriculaire qui survient lors d'une augmentation de l'intervalle entre l'onde électrocardiographique Q et l'onde T. Les antihistaminiques non sédatifs comme la terféndine et l'astémizole, le cisapride et les neuroleptiques comme le pimozide ont cet effet secondaire car ces médicaments bloquent les canaux potassiques, impliqués dans la conduction nerveuse cardiaque et augmentent donc l'intervalle QT. Lors d'une élévation de la concentration plasmatique de ces médicaments, le risque de développement de cette arythmie augmente. Cette situation peut apparaître en présence d'inhibiteur des CYP3A4 qui diminuent le métabolisme de ces xénobiotiques et augmentent donc leur concentration plasmatique. *Dresser G. K. et al (2000)*

-- Rhabdomyolyses.

Les inhibiteurs de la HMG-CoA réductase sont utilisés pour diminuer la concentration plasmatique des patients en cholestérol. Cependant, leur utilisation peut être associée à des myalgies et des élévations marquées de la créatine kinase. De sévères rhabdomyolyses ont aussi été rapportées, ayant pour conséquence de graves insuffisances rénales. Le mécanisme de cet effet délétère n'a pas été clairement défini. Cependant, deux hypothèses ont été suggérées. La première explique l'altération de la perméabilité membranaire des myocytes par la diminution de la synthèse du cholestérol. La seconde théorie repose sur une diminution des concentrations mitochondriales en ubiquinone (coenzyme Q). L'ubiquinone facilite le transport d'électrons et intervient dans la production d'énergie cellulaire (ATP). Une diminution des réserves d'ATP peut entraver le fonctionnement des myocytes et provoquer une destruction cellulaire. Lors d'utilisation des inhibiteurs

de la HMG-CoA réductase, la concentration plasmatique d'ubiquinone est généralement réduite d'environ 30 % car cette enzyme est véhiculée par les LDL. Lors d'une augmentation des concentrations plasmatiques des inhibiteurs de la HMG-CoA réductase ainsi que de leurs métabolites, la fréquence des effets secondaires est significativement plus élevée. Le CYP3A4 a un rôle majeur dans le métabolisme de cette classe de médicaments. La co-administration avec des inhibiteurs du CYP3A4 est donc contre-indiquée. Dresser G. K. et al (2000)

-- Hypotension.

L'hypotension est un effet secondaire dose-dépendant des médicaments anti-hypertension. La plupart des inhibiteurs calciques (qui sont des agents anti-hypertension) sont des substrats du CYP3A4. L'association de cette classe de médicaments avec les inhibiteurs du CYP3A4 doit être évitée. Dresser G. K. et al (2000)

-- D'autres effets sont possibles comme une sédation excessive (lors d'utilisation de benzodiazépines), de l'Ataxie (carbamazépine) ou de l'ergotisme (ergotamine). Dresser G. K. et al (2000)

- Effets bénéfiques :

-- Augmentation de l'efficacité :

Le saquinavir et le ritonavir, deux antiviraux, sont des inhibiteurs de la synthèse protéique souvent administrés en même temps. Leur biodisponibilité est très faible. Le ritonavir est un inhibiteur du CYP3A4. Le saquinavir est un substrat de ce cytochrome. L'utilisation concomitante de ces deux médicaments permet d'inhiber métabolisme du saquinavir et ainsi, d'augmenter sa concentration maximale (multipliée par 33).

-- Diminution du coût :

Le kétoconazole interfère avec le métabolisme de la cyclosporine en inhibant le CYP3A4. Il provoque une augmentation du temps de demi-vie et de la

concentration maximale en cyclosporine. La dose journalière de cette molécule très onéreuse peut ainsi être diminuée (cf infra).

-- Suppression des variations interindividuelles.

Les différences entre les individus au niveau de la pharmacocinétique des médicaments sont depuis longtemps connues. Elles surviennent pour des médicaments dont le métabolisme est très dépendant des cytochromes. Des facteurs comme l'âge, l'état de santé, les inductions enzymatiques, les inhibitions, et la nourriture sont impliqués dans ces variations. Les médicaments, qui comme le mibéfradil, inhibent très fortement leur propre métabolisme ont une pharmacocinétique qui n'est pas affectée par les facteurs que nous venons de citer. L'inhibition est suffisamment importante pour éviter tout métabolisme dépendant des cytochromes dont l'activité présente des variations interindividuelles. *Welker H. A. et al (1998)*

- Induction des cytochromes P450 :

Généralités :

Le CYP1A1, 2C9, 2E1, et 3A4 sont des enzymes inductibles. Leur expression génique peut être augmentée par des facteurs exogènes. À la différence des mécanismes d'inhibition, dont la réponse est immédiate, l'induction des P450 est un procédé de régulation lent, qui peut conduire à une réduction de la concentration plasmatique des médicaments métabolisés par les P450 et peut ainsi, diminuer leur efficacité. Les conséquences de l'induction des cytochromes ne sont pas souvent envisagées dans les études cliniques.

D'un point de vue biologique, l'induction est une réponse adaptative pour protéger la cellule contre un xénobiotique toxique, en augmentant la capacité de dégradation.

Dans la plupart des cas d'induction des CYP, une augmentation de la transcription des gènes est mise en évidence. Cependant dans certains cas, des mécanismes non transcriptionnel sont connus.

Par exemple, la troléandomycine induit le CYP humain 3A4, mais les mécanismes sont non-transcriptionnels. Il n'y a aucune augmentation de la synthèse protéique de CYP3A4. Par contre, la dégradation de cette protéine est limitée. De manière similaire, l'induction du CYP2E1 par l'alcool ou l'acétone est provoquée par un mécanisme non-transcriptionnel.

Depuis des années, les scientifiques essaient de résoudre le mystère de la reconnaissance par les cellules des agents inducteurs et de la transmission du signal à la machinerie cellulaire. Mais à l'exception du CYP1A1, le mécanisme moléculaire impliqué n'est pas totalement compris. Dans le cas du CYP1A1, les agents inducteurs se lient à un récepteur (appelé récepteur AhR : Aryl hydrocarbon receptor) et se déplacent vers le noyau. Le mécanisme transcriptionnel se divise en plusieurs étapes :

- 1- Hétérodimérisation entre le récepteur Ah et un récepteur nucléaire (appelé Arnt : Ahr nuclear translocator)
- 2- Interaction de l'hétérodimère avec un segment enhancer spécifique (AhRE).
- 3- Transmission du signal d'induction au segment promoteur du CYP1A1.

La conséquence est une amplification de la transcription du gène correspondant au cytochrome et une stabilisation du complexe d'initiation de la transcription. *Whitlock J. P. (1999)*

Conséquences de l'induction des cytochromes :

L'induction entraîne une réduction des effets pharmacologiques des médicaments car le métabolisme est augmenté. Elle peut aussi créer un déséquilibre entre les phénomènes de détoxification et « toxification ». En métabolisant les xénobiotiques, les enzymes peuvent accélérer la détoxification, ou si les métabolites sont dangereux, peuvent augmenter la toxicité des molécules mères. Dans le cas du CYP1A1, son induction peut diminuer la cancérogénicité de certains composés. Par exemple, l'injection intrapéritonéale de l'inducteur du CYP1A1 ; la β -naphthoflavone inhibe la formation de tumeurs pulmonaires et mammaires chez les rongeurs provoquée par le DMBA (Dimethylbenzoic Acid : composé hautement cancérigène).

En revanche, les CYP1A peuvent activer la formation de catabolites toxiques à partir des composés parentaux (cas du benzopyrène) et le risque de développement de tumeurs augmente.

Ainsi, le caractère bénéfique ou délétère de l'induction des cytochromes est difficile à analyser . *Petersen K.-U. (1995), Lin J.H., Lu A.Y.H.(1998).*

La majorité des réactions d'oxydation des médicaments (réactions de phase I) sont catabolisées par une superfamille d'oxygénases à fonction mixte : les cytochromes P450. Ils sont principalement présents au niveau hépatique, et sont à l'origine d'un grand nombre d'interactions médicamenteuses pharmacocinétiques provoquées par l'inhibition ou l'induction de leur activité.

1.3 Méthode d'étude des interactions médicamenteuses :

1.3.1 Principes généraux :

Pour étudier les interactions médicamenteuses, il faut d'abord identifier toutes les voies métaboliques qui entrent en jeu dans la biotransformation du médicament, les enzymes spécifiques responsables de ces réactions et les métabolites générés. Différentes méthodes sont utilisables : sondes pharmacologiques (comparaison de l'intensité du métabolisme du médicament en présence d'un inhibiteur spécifique d'un CYP ou sans) , sondes immunochimiques (présence d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux inhibant certaines isoformes), CYP exprimés en système hétérologue et purifiés (voir plus loin). *Strnad C.F. (2000).*

- Etude in vitro:

L'inhibition enzymatique :

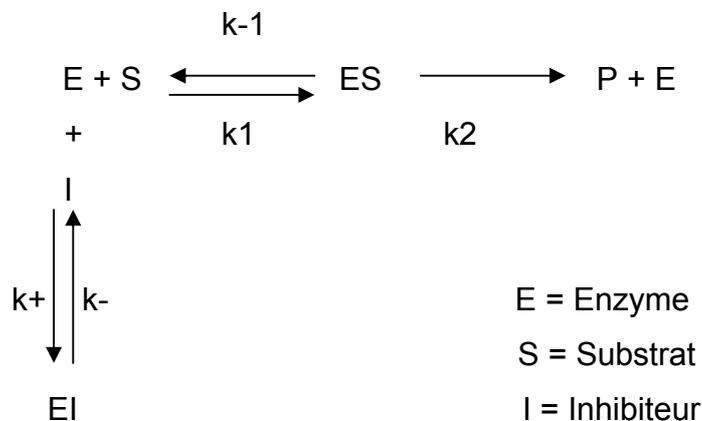
L'activité inhibitrice d'une molécule peut être exprimée sous la forme de la constante d'inhibition (K_i) ou de la concentration inhibant 50% de l'activité de l'enzyme (CI50) :

La CI50 est une estimation de la concentration d'inhibiteur, inhibant 50% de l'activité maximale d'une enzyme pour une concentration donnée de substrat. Les mesures de la CI50 ont l'avantage d'être indépendantes du mécanisme biochimique

d'inhibition. Cependant, la CI50 ne s'applique qu'à la concentration de substrat étudiée. L'extrapolation des résultats *in vivo* risque de ne pas être fiable si la concentration du substrat dans les hépatocytes diffère de la concentration étudiée *in vitro*. Dans le cas des inhibiteurs compétitifs, la CI50 ne donnera une idée de la K_i que si la concentration étudiée de substrat est beaucoup plus faible que la K_m (constante de Michaelis).

Il est aussi utile de connaître la constante d'inhibition (K_i) *in vitro* d'un médicament pour une isoforme donnée. La K_i mesure l'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme. Pour l'obtenir, il faut mesurer le degré d'inhibition de l'enzyme à différentes concentrations d'inhibiteur et de substrat. D'une manière simplifiée, si K_i est inférieure à 1 μm , on considère que le risque d'apparition d'interaction médicamenteuse est très élevé. Si K_i est comprise entre 1 et 10 μm , le risque est élevé. Entre 10 et 50 μm , le risque est faible. Si K_i est supérieure à 50 μm , le risque est alors considéré comme presque nul.

- Exemple d'une inhibition compétitive pour la détermination de la constante d'inhibition:



D'après les équations de Michaelis :

$$v_0 = \frac{V_{\text{max}} \cdot [\text{S}]}{K_m + [\text{S}]}$$

$$v_i = \frac{V_{\text{max}} \cdot [\text{S}]}{K_m \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_i}\right) + [\text{S}]}$$

avec v_0 : vitesse de réaction enzymatique en l'absence d'inhibition.

avec v_i : vitesse de la réaction enzymatique en présence d'un inhibiteur (lors d'une inhibition compétitive)

$$PI = \frac{v_0 - v_i}{v_0} \% = \frac{\frac{[I]}{K_i}}{1 + \frac{[I]}{K_i} + \frac{[S]}{K_m}}$$

avec PI : pourcentage d'inhibition

CI50 représente la concentration d'inhibiteur correspondant à une diminution de la vitesse de biotransformation de 50 %, *in vitro*. Lin J.H., Lu A.Y.H (1998). La connaissance de la CI50 permet de déterminer K_i (si la concentration étudiée de substrat est beaucoup plus faible que la K_m).

- Origine des cytochromes utilisés dans les études d'inhibition *in vitro*

--Fractions subcellulaires de tissu hépatique.

En médecine humaine, les microsomes sont couramment utilisés pour l'exploration des effets d'un nouveau médicament sur les CYP et pour l'obtention de données préliminaires sur les interactions susceptibles de survenir entre médicaments. Les microsomes hépatiques constituent une fraction intracellulaire de tissu que l'on obtient par centrifugation différentielle à haute vitesse d'un homogénat de foie. Ce système comporte des avantages : il est facile à préparer, il est disponible sur le marché et est stable à long terme en cryoconservation.

Il suffit de comparer l'intensité du métabolisme de substrats spécifiques d'une isoenzyme en la présence du médicament étudié ou sans. Ces substrats sont bien définis pour l'homme, à la différence des animaux domestiques.

--Modèles *ex-vivo*.

Les biopsie de foie, ainsi que les foies qui ont été prélevés à des fins de transplantation sans pouvoir être utilisés, constituent des sources de foie humain pour les études. Après différents traitements, des hépatocytes isolés en suspension, en culture primaire ou en tranches sont obtenus. Ces modèles offrent de nombreux avantages par rapport aux microsomes : notamment la présence de la totalité des enzymes hépatiques du métabolisme des médicaments, des cofacteurs endogènes et une reproduction plus exacte des différences susceptibles d'exister entre la concentration du médicament de part et d'autre de la membrane cellulaire. Les

coupes de foie possèdent un autre avantage : l'architecture cellulaire du tissu et des communications intercellulaires sont préservées. La stabilité à court terme des enzymes représente le principal problème des hépatocytes et des coupes de foie. *Strnad C.F. (2000).*

--Enzymes de métabolisme des médicaments exprimés en système hétérologue et purifiées.

Les ADNc des CYP les plus courants ont été clonés et les enzymes humaines recombinantes ont été exprimées dans une variété de cellules qui présentent une faible activité intrinsèque cytochrome P450, notamment des bactéries, des levures, des cellules d'insectes, des cellules mammaliennes, par exemple les cellules d'hépatome humain HepG2. L'activité de l'enzyme exprimée en système hétérologue peut être étudiée soit dans des préparations de microsomes obtenues à partir de lysats de cellules transgéniques, soit dans des systèmes reconstitués contenant l'enzyme purifiée par électrophorèse. Ces modèles recombinants ont l'avantage d'offrir un seul système enzymatique pour l'étude du métabolisme d'un médicament. Toutefois, en raison de l'absence de voies métaboliques compétitives dans ces systèmes, il est impossible d'obtenir des données sur la contribution relative de l'isoforme en question dans le métabolisme global du médicament *in vivo*. *Strnad C.F. (2000).*

L'induction enzymatique :

Les cultures primaires d'hépatocytes et les lignées cellulaires (souvent d'origine humaine ex : lignée cellulaire d'hépatome humain HepG2) sont utilisées pour l'étude de l'induction. Les artéfacts sont fréquents car les hépatocytes présentent une perte de l'expression des CYP qui augmente avec le temps. Les mesures sont effectuées par dosage de l'activité des isoformes spécifiques, par immunodétection, ou par dosage quantitatif des ARNm. *Strnad C.F. (2000).*

- Etude in vivo:

L'interaction entre deux molécules différentes peut être analysée et la première molécule, dont le métabolisme et les voies métaboliques sont bien connues, va servir de marqueur d'une voie métabolique (CYP). Le suivi des paramètres pharmacocinétiques de ce marqueur est envisagé avant et après

traitement par la deuxième molécule dont on veut étudier le potentiel d'interaction. Cette démarche va permettre de conclure quant aux effets de ce dernier composé à tester sur les enzymes de biotransformation. *Grobellet R. (1998)*

1.3.2 Démarche pour évaluer les interactions médicamenteuse lors du développement des médicaments

Chez l'homme, des études *in vitro* pré-cliniques sont entreprises pour déterminer quelles recherches *in vivo* seront conduites. La Food and Drug Administration conseille d'utiliser la dose recommandée la plus forte et le rythme d'administration, le plus court lors de la phase d'évaluation. Tous les CYP principaux doivent être testés avec des substrats spécifiques (1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2 E1, 3A).

La figure 4 indique des différentes situations survenant lors de la mise sur le marché d'un médicament chez l'homme ainsi que les études complémentaires qui peuvent être entreprises. Si la molécule (M) est un substrat ou un inhibiteur majeur des CYP, les études *in vivo* seront particulièrement rigoureuses et auront pour but de rechercher avec quelles autres molécules les interactions seront possibles. Si les co-administration ne sont pas évitables, un ajustement des doses sera recherché.

Chez l'animal, Il existe des textes réglementaires qui imposent aux demandeurs d'AMM de se documenter sur la sécurité et l'efficacité du médicament qu'ils souhaitent mettre sur le marché. En droit français, cela correspond à l'arrêté du 5 septembre 1994 fixant les normes et protocoles applicables aux essais analytiques, toxicologiques pharmacologiques et cliniques en matière d'essais de médicaments vétérinaires qui est une transposition de la directive 2001/82/EC. La Directive 2001/82/EC comprend notamment :

1- Une Présentation des renseignements et documents relatifs aux essais d'innocuité:

Le demandeur doit « fournir une discussion objective des résultats aboutissant à des conclusions relatives à la sécurité du produit sur les marges de sécurité chez l'animal soumis à l'essai et l'animal de destination et sur ses effets indésirables possibles, son champ d'application, les doses actives et incompatibilités éventuelles.... » (3ème partie de l'annexe I, point f)du chapitre II).

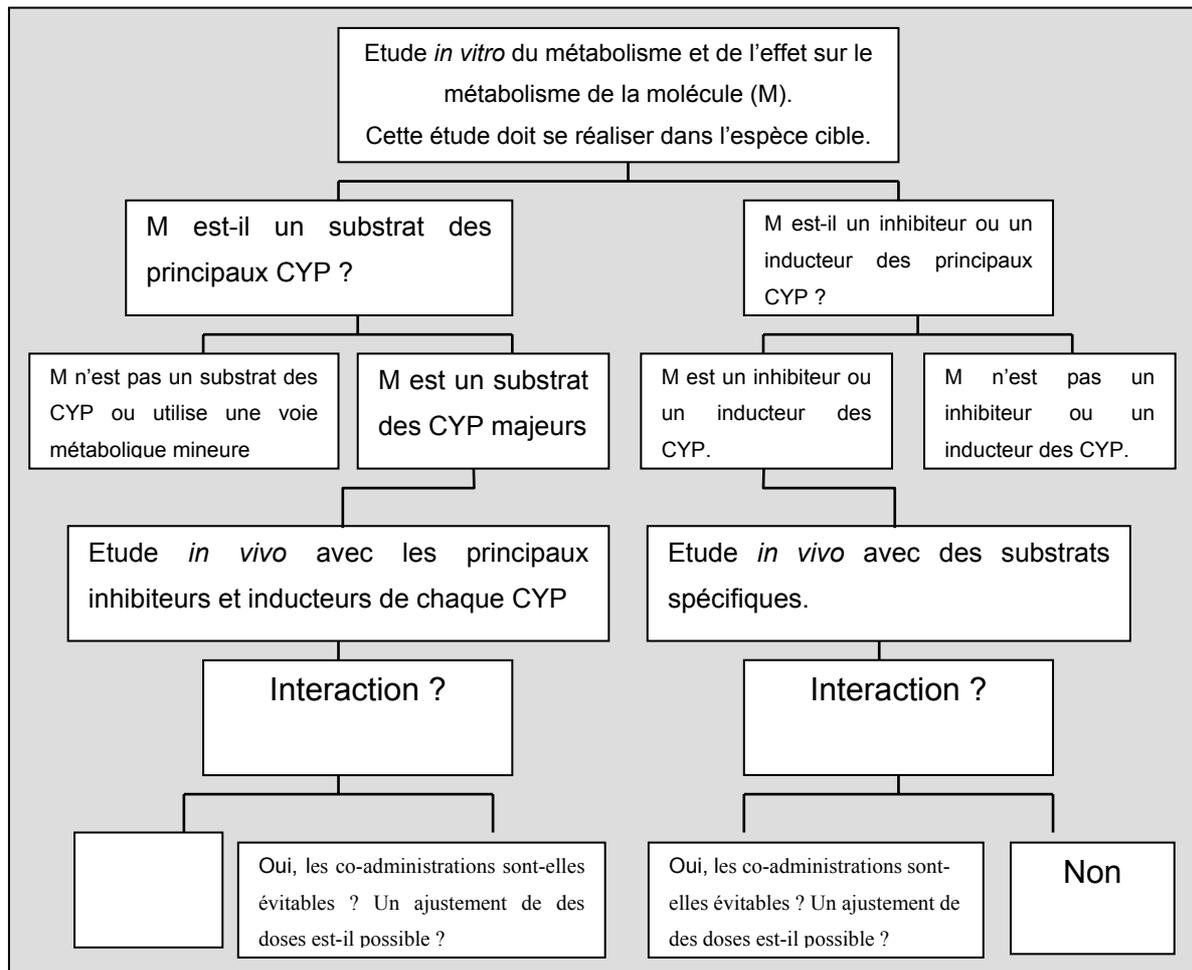


Figure 4 : Démarche pour évaluer les interactions médicamenteuse pendant le développement des médicaments D'après Tucker G.T.et al, (2001)

Le cas échéant, pour des associations fixes de principes actifs: « les études pharmacodynamiques et ou pharmacocinétique doivent mettre en lumière les interactions qui rendent l'association recommandable pour l'usage clinique ». (4ème partie, chapitre 1)

2- "Les essais cliniques ont pour but de mettre en évidence ou de fournir des preuves à l'appui de l'effet du médicament vétérinaire administré à la dose recommandée, de préciser ses indications et contre-indications en fonction de l'espèce, de l'âge, de ses modalités d'emploi, de ses effets indésirables éventuels et de son innocuité dans les conditions normales d'emploi." (4ème partie, chapitre II)

Ceci inclut éventuellement des données relatives aux interactions avec les médicaments dont l'utilisation concomitante est prévisible.

3- « Les informations cliniques doivent comporter toutes précisions sur les médicaments autres que le médicament à l'étude administrés au cours de la période d'examen, soit préalablement, soit simultanément, et dans ce cas, sur les interactions constatées.... » (4ème partie, Chapitre III)

En pratique:

Il n'est pas requis de fournir des études d'interactions avec l'ensemble des principes actifs existant sur le marché. Des études d'interactions médicamenteuses sont présentes dans les dossiers d'AMM des médicaments associant plusieurs principes actifs. Pour les médicaments dont l'utilisation concomitante est prévisible, des études d'interactions médicamenteuses ou des données d'interactions issues des essais cliniques sont générées. Lorsqu'une interaction entre famille est connue, elle est mentionnée ainsi que ses conséquences (par exemple: réduction de dose).

1.3.3 Exemple d'interaction médicamenteuse CYP dépendantes:

- Cas du mibéfradil chez l'homme.

Le mibéfradil est un inhibiteur calcique dont l'indication était le traitement de l'hypertension artérielle et des angines de poitrine stabilisées. Ce composé appartient à la famille des benzimidazoles (figure 5). *Wandel C. et al (2000)*

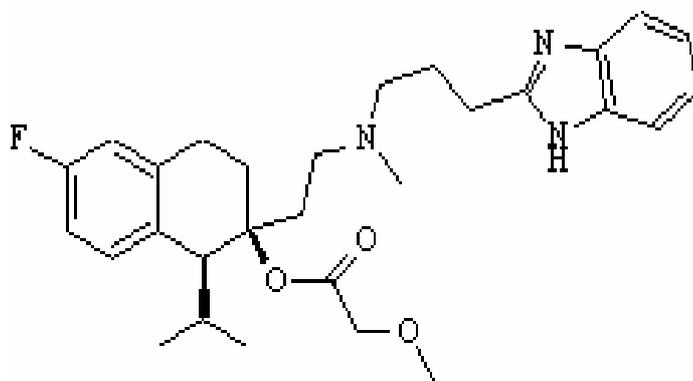


Figure 5 : Le mibéfradil. D'après Welker H. A. (1998)

1A1	1A2	2A6	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4
							nifédipine Ki=0.6µM
							midazolam IC50=1.6µmol

En gris, cytochromes dont l'activité est inhibée.

Tableau 6: modulation de l'activité des P450 par le mibéfradil chez l'homme, *in vitro*. D'après Ernst ME, Kelly MW. (1998) Wang JS et al (1999) Wandel C. et al (2000)

1A2	2A6	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4
				métoprolol		quinidine
						cyclosporine

En gris, molécules dont le métabolisme est inhibé.

Tableau 7: modulation de l'activité des P450 par le mibéfradil chez l'homme, *in vivo*. D'après Krayenbühl J.C. (1999)

Il bloque les canaux calciques voltage-dépendants. Ce blocage induit :

- Au niveau des fibres cardiaques, une diminution de la contractibilité et un ralentissement de la conduction auriculo-ventriculaire.
- Au niveau du noeud sinusal, une baisse de la fréquence cardiaque.
- Au niveau vasculaire, une relaxation des fibres lisses entraînant une diminution des résistances artérielles. Cette baisse de pression artérielle provoque une stimulation sympathique réflexe et une stimulation du système rénine angiotensine (mécanismes compensateurs).

Les autres fibres lisses sont moins sensibles aux antagonistes calciques.

Le métabolisme du mibéfradil est intense car moins de 3 % d'une dose est retrouvée inchangée dans les urines. Il repose sur des réactions d'hydrolyse d'ester et des réactions d'oxydation. Ces deux voies sont sous la dépendance du CYP3A4. Le rôle des autres isoformes est négligeable. Le métabolite majeur est le Ro 5966, qui circule à une concentration supérieure à celle de la molécule mère. Les autres métabolites existent à des concentrations plus faibles. Son activité est approximativement égale à 10 % de celle de la molécule mère. *Welker H. A. et al (1998)*

Chez l'homme, les effets secondaires décrits sont des oedèmes des membres, des vertiges, des céphalées ainsi que des troubles de la conduction cardiaque.

Etude *in vitro*, chez l'homme :

Le mibéfradil inhibe les CYP1A2, 2D6 et surtout 3A4 (tableau 6). Cette inhibition compétitive est très importante pour le CYP3A4 ($K_i=0.6 \mu\text{M}$).

Etude *in vivo*, chez l'homme :

La biodisponibilité de la quinidine est augmentée de 50 %. La concentration en cyclosporine et en métoprolol est multiplié par deux ou par trois (tableau7). *Krayenbühl J.C. (1999)*

Les études d'interaction *in vitro* et *in vivo* réalisées avant la mise sur le marché du mibéfradil auraient dû orienter les recherches vers les conséquences de l'inhibition des CYP3A4 et 2D6 sur des patients atteints de maladies cardiovasculaires et donc susceptibles d'utiliser plusieurs médicaments. Cependant, il faudra attendre un an après le lancement de la molécule en 1996 en Suisse puis aux Etats-Unis et l'apparition de nombreux effets indésirables pour que les médecins soient avertis des interactions possibles avec les autres médicaments. Le médicament a finalement été retiré du marché un an plus tard, lors de la sortie d'une étude montrant que la mortalité chez les patients cardiaques était plus forte avec le mibéfradil que sans.

Les conséquences cliniques de l'inhibition du CYP3A4 par le mibéfradil sont :

- une néphrotoxicité lors d'administration d'immunosuppresseur comme le tacrolimus *Krähenbühl S. et al (1998)* ou la cyclosporine.
- une rhabdomyolyse chez les patients recevant de la lovastatine ou de la simvastatine.
- des torsades de pointe : augmentations de l'intervalle PQ lors d'administration de digoxine, cisapride, d'amiodarone ou de terfénaire. *Krähenbühl S. et al (1999)*

De plus, le mibéfradil inhibe la glycoprotéine P. Elle est présente au niveau des cellules intestinales, des tubules rénaux, des canalicules biliaires, mais aussi de la barrière hémato-encéphalique. La glycoprotéine P limite l'absorption intestinale des médicaments en favorisant leur passage dans la lumière de l'intestin, favorise leur élimination en les transportant dans la lumière des canaux biliaires et tubulaires, et s'oppose à leur pénétration dans le système nerveux central en diminuant leur distribution. L'inhibition de ce système entraîne l'augmentation de la concentration plasmatique de certaines molécules qui comme le mibéfradil, sont souvent des substrats du CYP3A4. La sommation de ces deux phénomènes explique la gravité des interactions. *Wandel C. et al (2000)*

- Cas du kétoconazole chez le chien.

Le kétoconazole est apparu en médecine vétérinaire en 1979. Il entre dans le traitement des teignes, dermatites à *Malassezia*, cryptococcoses, Aspergilloses.

Cette molécule, dérivée de l'imidazole (figure 6), inhibe la stérol 14-déméthylase, enzyme dépendante des cytochromes P-450, qui permet la synthèse d'ergostérol, nécessaire au maintien de la structure de la membrane cytoplasmique de certains germes, en particulier des champignons. *Heit M. C. et Riviere J. E. (1995)*. Il provoque, de plus, une accumulation de 14-méthyl-stérols qui altère les membranes.

Chez l'homme, le kétoconazole est un puissant inhibiteur du CYP3A4. Il est particulièrement spécifique de cette isoenzyme à la différence des autres antifongiques azolés comme le sulconazole.

- Etudes *in vitro* chez le chien:

Le kétoconazole affecte largement la pharmacocinétique des substrats du CYP3A12, tandis qu'il affecte peu la pharmacocinétique des substrats du CYP1A1/2, 2C21, et 2D15.

Ainsi, on peut prédire des interactions médicamenteuses lors de co-administration du kétoconazole avec des substrats du CYP3A12 comme la cyclosporine, la dexaméthasone, le midazolam et le vérapamil. *Kuroha M. (2002)*

- Etudes *in vivo* chez le chien:

Le temps de demi-vie du midazolam est multiplié par 2 dès le premier jour de traitement au kétoconazole, il est multiplié par 3 au 30^{ième} jour de traitement.

Des observations chez l'homme semblent indiquer que le kétoconazole interagit aussi avec la glycoprotéine P. Certaines interactions avec les xénobiotiques peuvent être provoquées par la sommation des effets d'inhibition sur les CYP et sur la glycoprotéine P. *Wang E. (2002)*

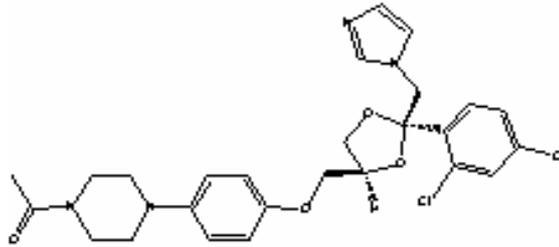


Figure 6 : Le kétoconazole. D'après Heit M. C. et Riviere J. E. (1995)

CYP1A1/2	CYP2C21	CYP2D15	CYP3A12
éthoxyrésorufi ne O- dééthylase	tolbutamide méthyl- hydroxylase	bufurolol 1'-hydroxylation	midazolam 4-hydroxylation
Ki=10.6	Ki=17	Pas d'inhibition	Ki=0.18

En gris, cytochromes dont l'activité est inhibée.

Tableau 8: modulation de l'activité des P450 par le kétoconazole chez le chien, *in vitro*. D'après Kuroha M. (2002)

CYP3A12
midazolam

En gris, molécules dont le métabolisme est inhibé.

Tableau 9: modulation de l'activité des P450 par le kétoconazole chez le chien, *in vivo*. D'après Kuroha M. (2002)

On utilise la cyclosporine dans le traitement des maladies auto-immunes comme les lupus cutanés ou les fistules péri-anales. Son emploi est de plus en plus fréquent en médecine vétérinaire (apparition dans le dictionnaire des médicaments vétérinaires de l'Atopica® (Novartis)). Le kétoconazole interfère avec le métabolisme de la cyclosporine en inhibant le CYP3A12 et la glycoprotéine P. Il provoque une rapide augmentation de la concentration en cyclosporine (dans les 24 heures après la co-administration) et de son temps de demi-vie (il passe de 15 heures à 42 heures). La dose de cyclosporine peut ainsi être divisée par 10 chez le chien. *Robson D. (2003)*. Cette adaptation de la dose présente un intérêt en médecine vétérinaire compte tenu du prix de la cyclosporine.

- Le coût du traitement pour un chien de 40 kg si on utilise la cyclosporine seule (soit à 5 mg par kg pendant 16 semaines) est de 3500 \$.
- Quand elle est combinée au kétoconazole, le prix de la cyclosporine (utilisée à 0,5 mg par kg) est de 350 \$. En additionnant le prix du kétoconazole c'est-à-dire de 220 \$, le prix passe à 570 \$.

Cependant, on note une variation dans la concentration de cyclosporine entre les animaux et une augmentation du risque d'interactions médicamenteuses lors de polythérapie. *Mouatt J.G. (2002)*

Les conséquences du puissant effet inhibiteur du kétoconazole sur les CYP ne s'arrêtent pas aux interactions médicamenteuses : l'inhibition de la synthèse des corticostéroïdes est recherchée par exemple dans le traitement de l'hyperadrénocorticisme. L'avantage de ce traitement est l'absence d'effet sur la synthèse des minéralocorticoïdes à la différence de l'OP'DDD. Le kétoconazole est alors utilisé à la posologie de 20 mg/kg/jour en 2 prises quotidiennes.

Le mibéfradil et le kétoconazole interfèrent avec le système des cytochromes P450 et provoquent des interactions médicamenteuses. Le premier composé est un benzimidazole, anciennement utilisé chez l'homme, le second est un imidazole, autant utilisé en médecine humaine que vétérinaire. Il existe d'autres benzimidazoles utilisés massivement chez les animaux. Il reste à déterminer s'ils interfèrent avec les CYP et s'ils sont à l'origine d'interactions médicamenteuses.

2

Benzimidazoles et interactions médicamenteuses

Les benzimidazoles sont utilisés à la fois en médecine humaine et vétérinaire. Chez les animaux, ils ont deux indications majeures. La première est le traitement et la prévention des maladies parasitaires, la seconde est d'un usage plus fréquent : l'oméprazole est utilisé chez les animaux de compagnie comme antiulcéreux. Nous étudierons dans une première partie les différentes molécules utilisées en médecine vétérinaire, avant d'examiner en seconde partie l'existence d'interactions médicamenteuses

2.1 Les benzimidazoles utilisés en médecine vétérinaire :

2.1.1 les benzimidazoles antiparasitaires :

- Données structurales :

Tous les benzimidazoles antiparasitaires dérivent du noyau benzimidazole, composé d'un groupement benzyl et d'un groupement imidazole (figure 7). En fonction de la nature des substituants associés à ce noyau, on distingue deux catégories de benzimidazoles : les thiazolés comme le thiabendazole et le cambendazole et les carbamates comme l'albendazole et le fenbendazole. Le triclabendazole ne fait partie d'aucune de ces deux catégories (figure 8).

- Mode d'action et indications thérapeutiques :

Toutes ces molécules ont un mode d'action similaire sur les parasites et les variations d'efficacité entre elles sont probablement le reflet de différences de biodisponibilité. Des efforts considérables ont été dépensés pour déterminer le mécanisme par lequel les benzimidazoles agissent sur les parasites : ils se lient aux molécules de tubulines, entraînant une inhibition de la formation des microtubules. Ainsi, les migrations intracellulaires sont interrompues, empêchant le bon fonctionnement des mitoses, et provoquant des troubles d'absorption des nutriments (15 à 24 heures après le début du traitement) pour le parasite. *Martin R. J. (1997)*
L'action antiparasitaire est due à une différence de sensibilité aux benzimidazoles entre les cellules du parasite et celles de l'hôte. De plus, les benzimidazoles inhibent la fumarate réductase, bloquant ainsi les mitochondries. Les parasites sont donc privés d'énergie.

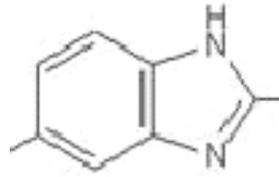


Figure 7 : noyau benzimidazole. D'après McKellar Q.A. et Scott E. W. (1990)

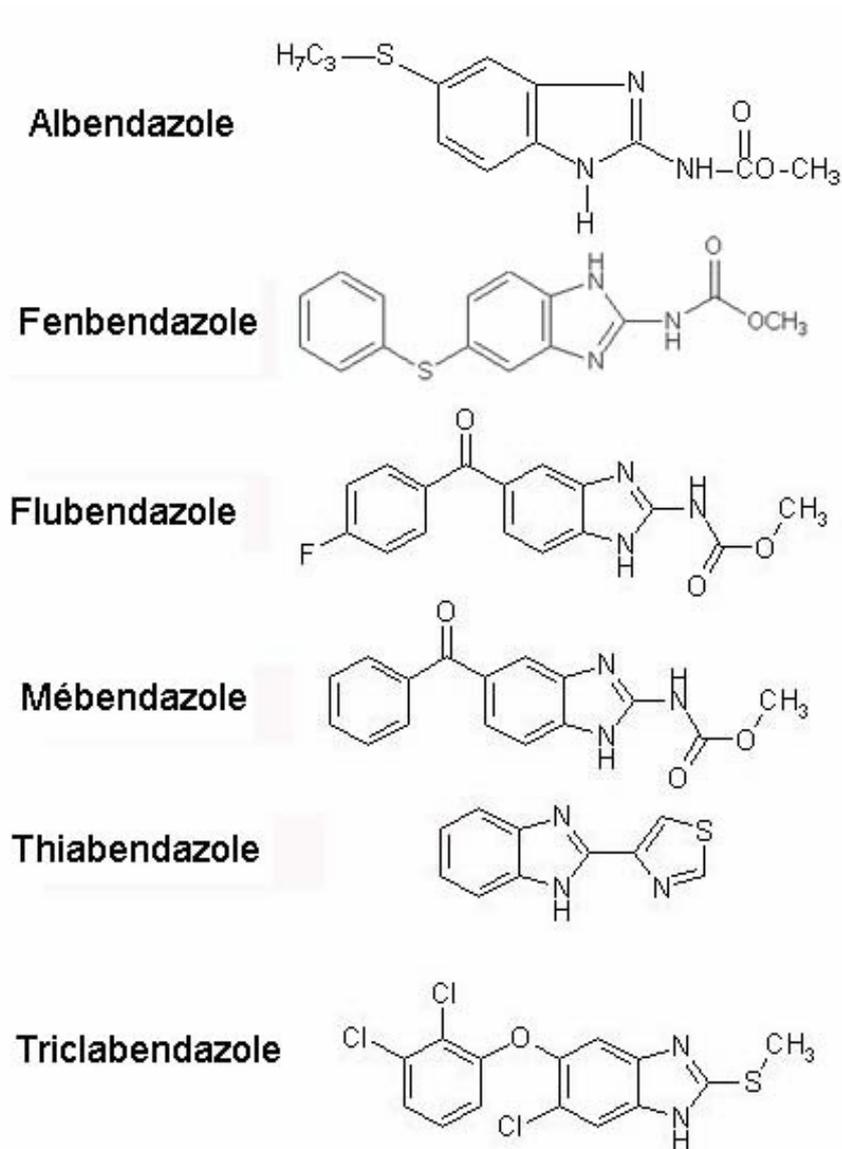


Figure 8 : antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire. D'après McKellar Q.A. et Scott E. W. (1990) Dayan A.D (2003)

On utilise les benzimidazoles pour le traitement et la prévention des infestations par les strongles digestifs. Le mébendazole et les benzimidazoles soufrés (comme l'albendazole) ont une action contre les strongles respiratoires et les cestodes. L'albendazole et le mébendazole sont aussi efficaces contre les Trématodes. Les différents molécules, leur indications ainsi que leurs posologies sont présentées dans le tableau 10.

Le FASCINEX® et le PARSIFAL® sont les plus utilisés chez les bovins en raison de leur efficacité sur différents stades de la grande douve. Chez les ovins, le SUPAVERM® est le plus utilisé car l'association du mébendazole et du closantel permet de lutter efficacement contre l'oestrose ovine. Le FLUBENOL® est un antiparasitaire de choix pour les chiots et les chatons car sa présentation sous forme de pâte appétente est très facile d'utilisation.

- Données pharmacocinétiques :

Chez les ruminants, la solubilité dans le contenu ruminal conditionne l'absorption et la cinétique des benzimidazoles : le thiabendazole est plus soluble que les autres benzimidazoles et tend à être rapidement absorbé puis éliminé (figure 9). Les composés moins hydrosolubles sont présents dans le plasma plus longtemps car il s'effectue un équilibre entre la concentration plasmatique et la concentration dans le tractus gastro-intestinal. Ainsi, la période, pendant laquelle le parasite est en contact avec la molécule, augmente. Les médicaments très peu hydrosolubles sont moins efficaces car ils ne sont pas absorbés et sont excrétés dans les selles sans être métabolisés. *McKellar Q.A. et Scott E. W. (1990)*

L'hydrosolubilité n'est cependant pas le seul critère influant sur la disponibilité des benzimidazoles : les particularités anatomiques comme le rumen des ruminants et le caecum des équidés permettent de ralentir le passage dans le tube digestif et contribuent à augmenter l'activité des benzimidazoles. Cela a été confirmé chez le mouton en comparant l'administration par voie orale et par voie intra-abomasale. *McKellar Q.A. et Scott E. W. (1990)*. Chez le chien et le chat, les benzimidazoles sont absorbés et excrétés rapidement, ce qui diminue le temps d'exposition des parasites aux médicaments. Ainsi, les traitements nécessitent des administrations répétées. Le Flubénol Pâte® s'utilise par exemple pendant 3 jours pour avoir une action contre les trichures et les ténias. *McKellar Q.A. et Scott E. W. (1990)*

Principe actif	Posologie	Médicaments	Indications parasitaires
ALBENDAZOLE	BV: 7.5-10 mg/kg OV/CP: 3.8-7.5 mg/kg	BILUTAC® CONCENTRAT® DISTHELM® PROFTRIL® RUMIFUGE® VALBAZEN®	Nématodes digestifs Nématodes respiratoires Cestodes <i>Fasciola hepatica</i> (formes adultes à 10mg/kg pour les BV et à 5mg/kg pour les OV)
FLUBENDAZOLE	PC : 5mg/kg 10J (truie et verrat) Vol: 1.5-3 mg/kg 7J CN-CT: 22mg/kg (3 jours pour action sur les trichures)	COFAMIX® FLUBENDAZOLE FLUBENOL® FLUSTAT® SANTAMIX® UCAMIX®	Nématodes digestifs Nématodes respiratoires Cestodes
THIABENDAZOLE	BV : 100mg/kg CV : 100mg/kg OV-CP : 89mg/kg	DEXORYL® NEMAPAN®	Nématodes digestifs Nématodes respiratoires Trématodes (Dicrocoeliose)
OXFENDAZOLE	CN : 11.3mg/kg 3J BV : 4.5mg/kg OV-CP 5mg/kg	DOLTHENE® OXFENIL® REPIDOSE® SYNANTHIC®	Nématodes digestifs Nématodes respiratoires Cestodes
OXIBENDAZOLE	CN-CT : 5mg/kg CV : 5mg/kg PC: 15mg/kg	COFAMIX® EQUIMINTHE® POLYVERKAN® VERMEQUINE® VITAMINTHE®	Nématodes digestifs Nématodes respiratoires Cestodes
FENBENDAZOLE	BV: 7.5mg/kg OV-CP: 5mg/kg PC: 5mg/kg CN: 5mg/kg	PANACUR®	Nématodes digestifs Nématodes respiratoires Cestodes
MEBENDAZOLE	OV: 15mg/kg CN-CT: 10mg/kg 5J CV: 5-10mg/kg	SUPAVERM® TELMIN® TELKAN®	Nématodes respiratoires Cestodes <i>Fasciola hepatica</i>
TRICLABENDAZOLE	BV: 12mg/kg OV-CP: 10mg/kg	FASCINEX® PARSIFAL®	Nématodes digestifs Nématodes respiratoires <i>Fasciola hepatica</i>

Tableau 10 : Noms déposés et indications des différents benzimidazoles antiparasitaires utilisés en médecine vétérinaire. D'après le dictionnaire des médicaments vétérinaire (2003)

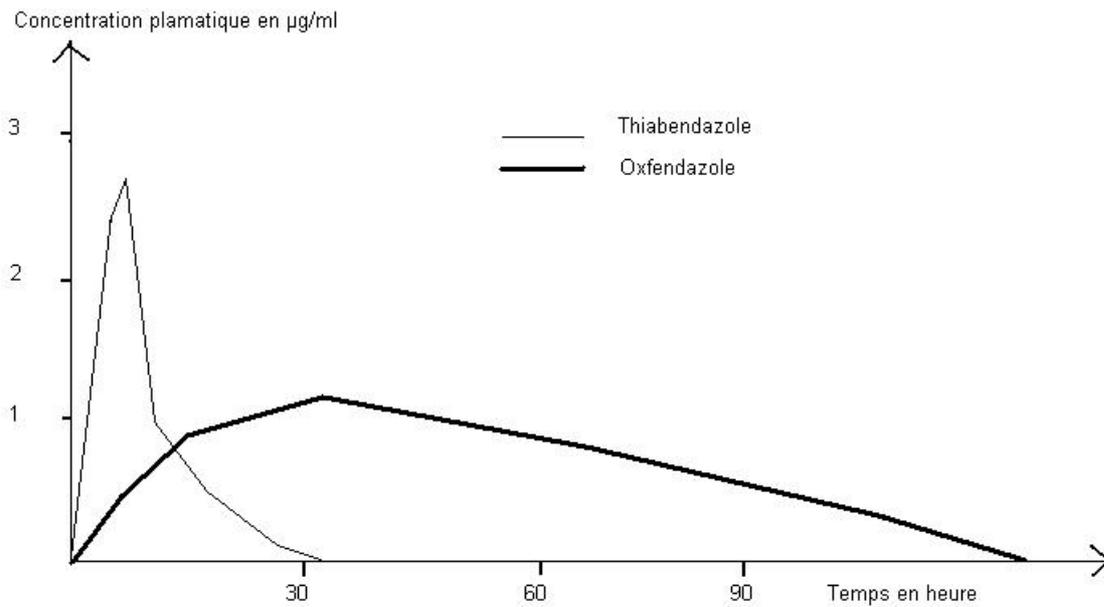


Figure 9 : pharmacocinétique du thiabendazole et de l'oxfendazole. *D'après McKellar Q.A. et Scott E. W. (1990)*

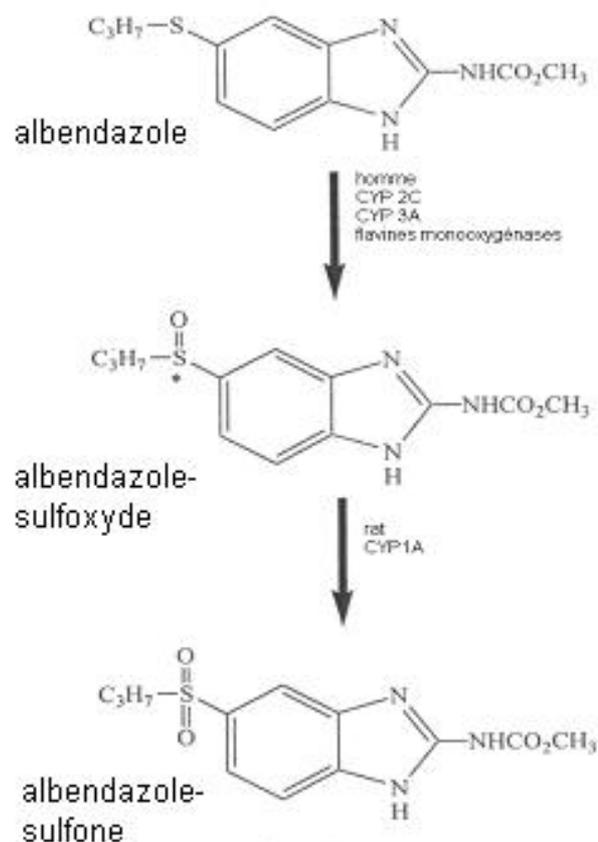


Figure 5 : métabolisme de l'albendazole. *D'après Lanchote V. L. (2002)*

- Métabolisme

Les benzimidazoles sont métabolisés intensivement au niveau hépatique. Les réactions de biotransformation varient en fonction des molécules. Les benzimidazoles soufrés sont oxydés sous forme de sulfoxyde, de sulfone ou de métabolites hydroxylés. Les métabolites hydroxylés sont excrétés directement dans la bile, libres ou conjugués et ne sont pas détectés dans le sang. L'activité contre les nématodes est attribuée principalement au sulfoxyde. Pour les benzimidazoles carbamates ne possédant pas d'atome de soufre, comme le mébendazole, le groupement kéto est réduit en fonction hydroxyle.

Cas de l'albendazole

Le métabolisme de cette molécule est particulièrement important, car l'albendazole-sulfoxyde est le métabolite actif. L'albendazole-sulfoxyde est obtenu chez l'homme après oxydation de l'albendazole par les CYP2C et 3A ou par le système des flavines monooxygénases. Il est ensuite oxydé en un dérivé sulfone inactif. Cette réaction est réalisée chez le rat par les CYP1A. (cf figure 10)

L'albendazole-sulfoxyde possède un atome de soufre asymétrique et présente donc un énantiomère positif et un négatif. Les systèmes enzymatiques impliqués dans la formation des deux énantiomères sont différents : les flavines monooxygénases forment les énantiomères positifs tandis que les CYP2C forment les négatifs. Les CYP3A forment indifféremment des énantiomères positifs ou négatifs. *Dayan A.D. (2003)* Il existe des différences entre les espèces au niveau du ratio d'énantiomères positifs et négatifs. *Lanchote V. L. (2002)*

Cas du fenbendazole et de l'oxfendazole

La sulfoxydation du fenbendazole est sous dépendance du système des flavines monooxygénases et conduit à l'obtention d'un dérivé sulfoxyde appelé oxfendazole (cf figure 11). La sulfonation dépend du système des CYP. Les différentes isoformes impliquées n'ont pas été mises en évidence. *Benchaoui H.A. et Mckellar Q.A. (1996)*

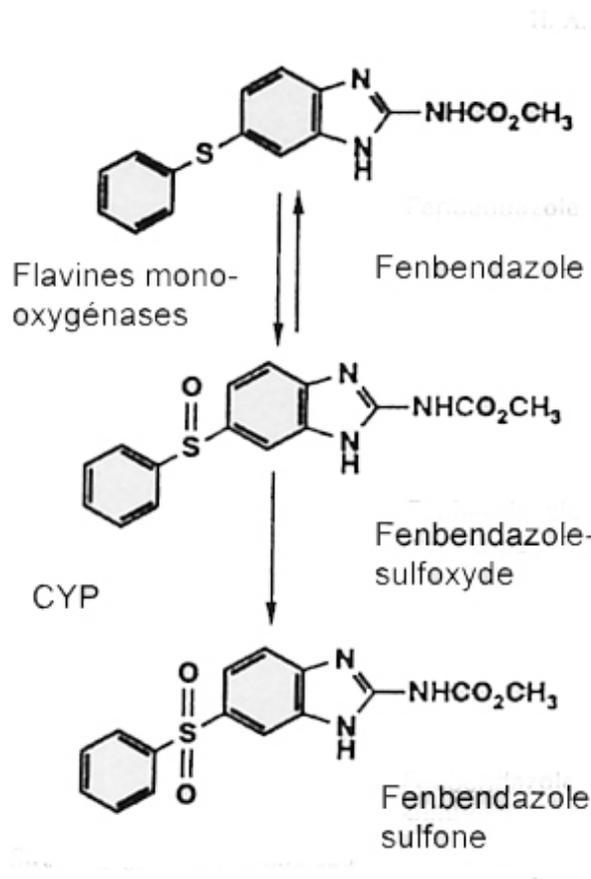


Figure 6 : métabolisme du fenbendazole et de l'oxfendazole. D'après Benchaoui H.A. et Mckellar Q.A. (1996)

souris	Supérieure à 3000 mg /kg
Rat	1320 - 2400 mg/kg
lapin	500 - 1150 mg/kg

Tableau 11 : Doses létales 50 de l'albendazole. D'après Dayan A.D (2003)

- Toxicité :

Les benzimidazoles anthelmintiques ont des indices thérapeutiques élevés. Durant le développement des composés les moins hydrosolubles (comme le fenbendazole et l'oxfendazole), les doses létales n'ont même pas pu être établies. La faible hydrosolubilité de ces molécules explique la faible toxicité : la quantité absorbée est trop faible pour être toxique. Ainsi, les cas de toxicité liés à l'utilisation de benzimidazoles chez les animaux domestiques sont peu nombreux. Comme le montre le tableau 10 pour l'albendazole, Les DL50 sont extrêmement élevées chez les rongeurs et les lagomorphes. En toxicité chronique, les études effectuées sur la souris, le rat et le chien montrent que l'administration d'albendazole à 30 ou 40 mg/kg/J pendant 4 à 90 jours cause : une anémie réversible, une faible leucopénie, une hypercholestérolémie et des retards de croissance. À l'autopsie, une augmentation de la taille du foie est mise en évidence avec des modifications histologiques comme une augmentation de taille des hépatocytes centrolobulaires.

Cependant, le principal effet secondaire des benzimidazoles antiparasitaires est leur tératogénicité, qui varie en fonction de la structure des composés et de l'espèce cible. Le premier effet tératogène a été observé avec le parbendazole chez le mouton. Des malformations squelettiques des os longs ont été observées. Le moment du traitement dans la gestation est critique pour l'effet tératogène. Chez la brebis, il s'agit de la période allant du 10^{ième} au 25^{ième} jour de gestation. Des cas de malformations existent aussi pour l'oxfendazole et l'albendazole chez la brebis. Le fenbendazole, le mébendazole ne présentent pas cet effet. *Dayan A.D (2003)*

L'USP Veterinary Practitioners' Reporting program recense quatre situations où l'administration d'albendazole a conduit à des effets délétères chez le chien. Ces animaux souffraient d'une dégénérescence de la moelle osseuse. Le FDA-CVM (Drug and Food Administration-Center of Veterinary Medicine) en recense 17. La plus grande partie des chiens avaient reçu l'albendazole pour le traitement d'une giardiose ou comme anthelmintique. Ici encore, des analyses de laboratoire révélèrent une pancytopenie et une dégénérescence de la moelle osseuse. *Meyer E. K. (1998)*

2.1.2 L'oméprazole, un autre benzimidazole utilisé chez les animaux

L'oméprazole, dont la structure est présentée dans la figure 12, est un inhibiteur de la pompe à protons. Il est utilisé dans le traitement des ulcères gastriques ou duodénaux, des oesophagites provoquées par les reflux gastro-oesophagiens. L'oméprazole possède un groupement sulfone en pont entre le cycle benzimidazole et le groupement pyridine.

- Mode d'action, indications, posologies :

À pH neutre, L'oméprazole est chimiquement stable, liposoluble et se comporte comme une base faible dénuée d'activité inhibitrice. A partir du flux sanguin, il gagne les cellules pariétales et diffuse dans les canalicules sécrétoires où il est protoné et séquestré. La molécule protonée voit sa configuration modifiée pour former un acide sulfénique et un sulfénamide. Le sulfénamide interagit de manière covalente avec les groupements sulfhydryl au niveau de la partie extracellulaire de la membrane portant l'H⁺,K⁺-ATPase. L'inhibition est totale lorsque deux molécules inhibitrices sont couplées à une molécule d'ATPase. L'oméprazole doit donc être considéré comme un pro-médicament devant être activé pour être efficace. *Brunton L. L. (1998)*. L'administration d'oméprazole inhibe durablement l'activité enzymatique. La sécrétion acide reprend après l'insertion d'une nouvelle molécule d'H⁺,K⁺-ATPase dans la membrane apicale de la muqueuse fundique.

La spécificité d'action des inhibiteurs de la pompe à protons est liée d'une part à la distribution sélective de l'H⁺,K⁺-ATPase et d'autre part, à la nécessité d'un milieu acide pour catalyser la conversion en métabolite actif.

Chez le chien et le chat, on utilise l'oméprazole lors d'ulcères gastriques et duodénaux ou de vomissements accompagnés d'oesophagite. Les inhibiteurs de la pompe à protons ont aussi un effet anti-bactérien contre *Helicobacter pylori* en association avec des antibiotiques. *Jungnickel P. W. (2000)*

L'oméprazole est utilisé chez le chien et le chat à la posologie de 1 à 2 mg par kg et par jour. Il n'existe pas encore de médicaments vétérinaires et les praticiens doivent utiliser le Mopral®.

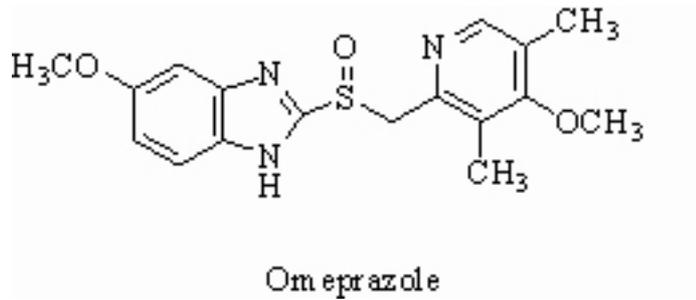


Figure 7 : Représentation de l'oméprazole. D'après Meyer U. A. A(1996)

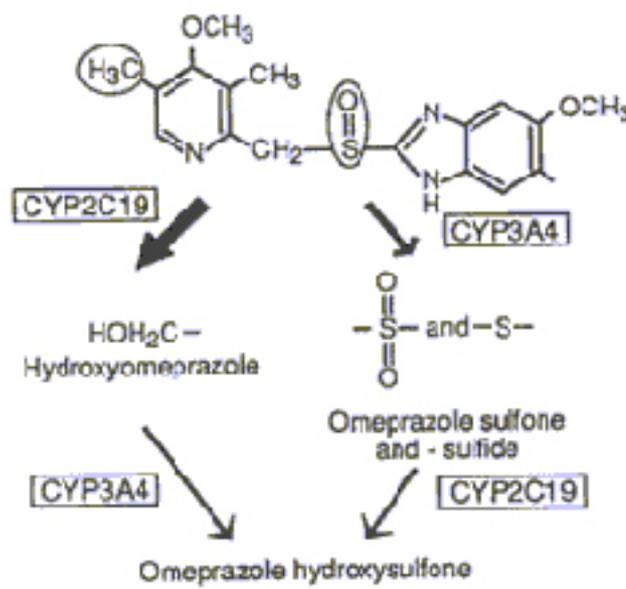


Figure 8 : Métabolisme de l'oméprazole. D'après Meyer U. A. A(1996)

- Métabolisme :

Chez l'homme, les cytochromes impliqués dans le métabolisme de l'oméprazole sont majoritairement les CYP2C19. Les cytochromes P450 3A ont moins d'affinité pour cette molécule. L'oméprazole est dégradé, par hydroxylation aliphatique du groupement méthyle présent sur le noyau pyridine, en hydroxy-oméprazole ou, par oxydation du groupement sulfoxyde, en oméprazole-sulfoxyde, impliquant respectivement le CYP2C19 et le CYP3A4. Ces deux métabolites sont ensuite transformés en oméprazole-hydroxy-sulfoxyde selon l'intervention séquentielle des deux types de cytochromes (figure 13). *Meyer U. A. A(1996)*

- Toxicité, effets secondaires :

L'oméprazole est généralement bien toléré. Son indice thérapeutique est important et la dose létale 50 chez le rat est supérieure à 2g/kg. En toxicité chronique, le traitement de patients avec de l'oméprazole (de 60 à 360 mg/j) pendant six ans, n'a pas provoqué d'effets secondaires. Près de 1,5 à 3 % des sujets prenant ce médicament ont des symptômes gastro-intestinaux tels que des nausées, de la diarrhée ou des coliques abdominales. Des effets sur le système nerveux central (céphalées, somnolence, vertiges) ont été rapportés avec une moindre fréquence.

2.1.3 Les autres benzimidazoles

Il existe d'autres composés dans cette famille (figure 14), mais ils ne sont pas utilisés en médecine vétérinaire. Le candésartan et le telmisartan sont des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 2, leur indication est le traitement de l'hypertension artérielle. L'astémizole est un antagoniste du récepteur H1 de l'histamine, son efficacité a été démontré dans les rhinites allergiques. De plus, l'absence de dépression du système nerveux central et d'effet anticholinergique offrent un important avantage. Le pimozide est un neuroleptique utilisé dans le traitement de la schizophrénie et du syndrome de Gilles de la Tourette.

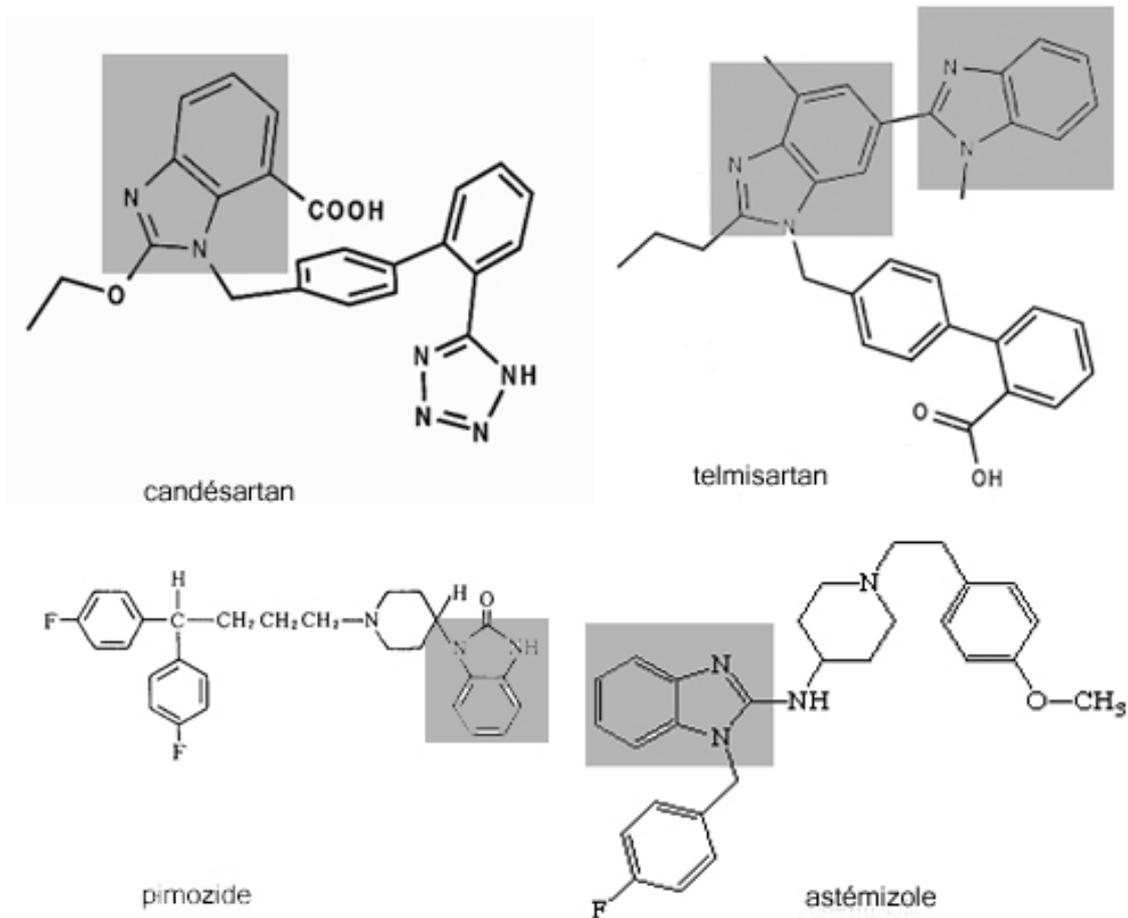


Figure 14 : structure du candésartan, du telmisartan, du pimozide et de l'astémizole. D'après Sharpe et al (2001), Richard et al (1984).

Les benzimidazoles ont des spectres d'action très variés, mais tous ont un métabolisme étroitement lié avec le système des CYP. C'est la raison pour laquelle, l'astémizole a été retiré du marché : sa grande dépendance vis à vis du CYP 3A4 et son faible indice thérapeutique étaient à l'origine de fréquentes interactions médicamenteuses quand il était administré avec des inhibiteurs du CYP3A4 comme le kétoconazole et l'érythromycine. Qu'en est-il des médicaments utilisés en médecine vétérinaire ?

2.2 Les interactions médicamenteuses et les benzimidazoles :

Nous allons envisager schématiquement tous les cas de figure pouvant conduire à une interaction médicamenteuse chez les animaux, impliquant un benzimidazole noté BZ et une molécule A, administrée en même temps.

1- Si le métabolisme de BZ est dépendant d'une voie métabolique (par exemple de CYP3A4), alors l'administration d'une molécule A inhibant la voie métabolique CYP dépendante va conduire à une augmentation de la concentration de BZ et donc à l'apparition d'effets secondaires éventuels. De plus, des voies métaboliques mineures vont être favorisées, provoquant l'apparition de nouveaux métabolites avec des conséquences imprévisibles. Si BZ présente un faible indice thérapeutique (cas de l'astémizole), les effets secondaires seront importants conduisant à l'expression de la toxicité de BZ. Si son indice thérapeutique est plus élevé, l'augmentation de sa concentration peut modifier des paramètres pharmacocinétiques tels que le temps d'attente. Si un allongement du temps d'attente n'est pas respecté, des risques pour le consommateur peuvent être encourus. (figure 15)

2- Si BZ a la particularité d'inhiber la voie métabolique CYP dépendante de A, alors nous nous retrouvons dans la situation inverse de la précédente, l'apparition de la toxicité de A dépendant de son indice thérapeutique. (figure 15)

3- Des phénomènes d'induction sont aussi possible mais ils prennent plus de temps à se mettre en place et conduisent à une diminution de la concentration en BZ ou en A (suivant lequel est l'inducteur). Dans ce cas, on assistera à une diminution des effets de A ou de BZ. (figure 15)

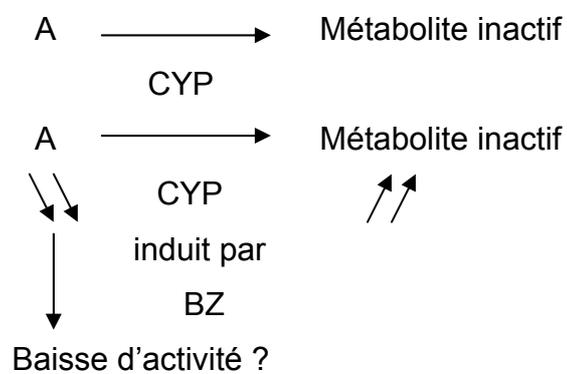
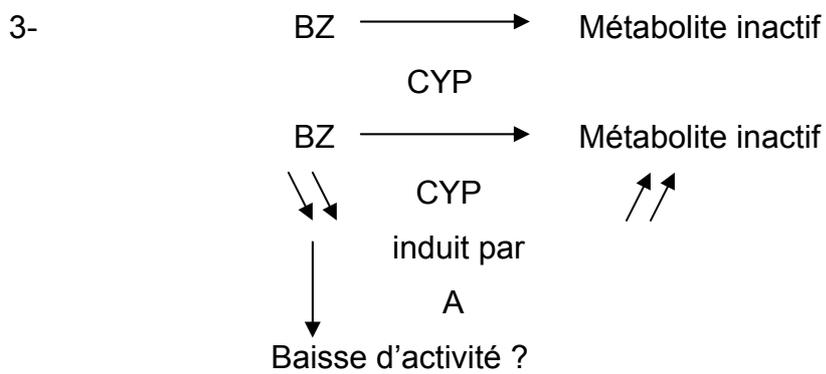
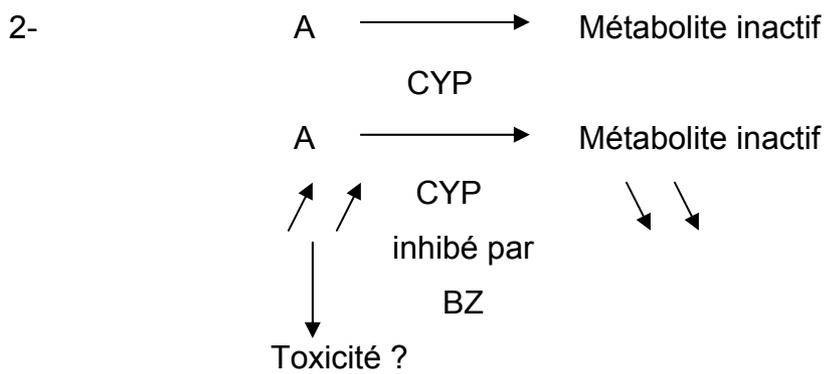
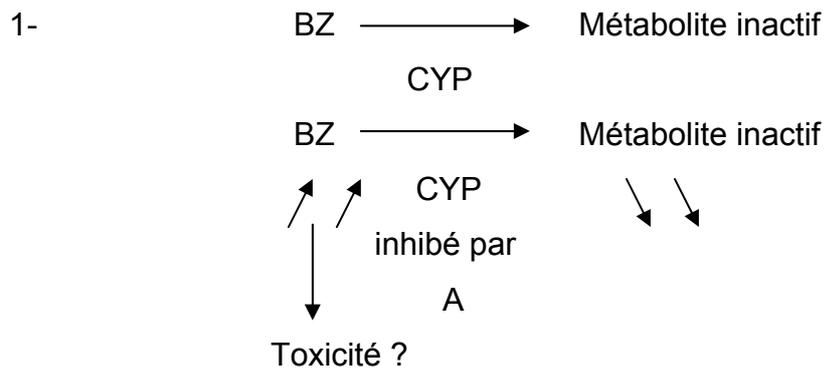


Figure 15 : différents cas de figure pouvant conduire à une interaction médicamenteuse.

2.2.1 Variations du métabolisme des benzimidazoles lors d'interactions médicamenteuses :

- Cas de l'albendazole :

En médecine humaine, l'albendazole est considéré comme un médicament de choix pour le traitement des neurocysticercoses. Il est fréquemment utilisé en association avec la dexaméthasone et les antiépileptiques pour prévenir les effets secondaires à la présence des cysticerques. Des études ont été réalisées pour examiner les conséquences de telles associations (tableau 12). La pharmacocinétique de l'albendazole est modifiée par l'administration de la dexaméthasone, des antiépileptiques, du praziquantel et de la cimétidine.

Le jus de pamplemousse interfère aussi avec l'albendazole, il entraîne une augmentation de la concentration maximale et une diminution du temps de demi-vie de l'albendazole-sulfoxyde (ALB-SO). Ces résultats sont surprenants car le jus de pamplemousse est un inhibiteur des CYP3A4 et la formation d'ALB-SO devrait être diminuée. Ces résultats indiquent que le métabolisme de l'albendazole n'est pas encore parfaitement connu. *Nagy J et al (2002)*

- Cas du fenbendazole :

La pharmacocinétique du fenbendazole est aussi modifiée par l'administration concomitante d'inducteurs (comme la dexaméthasone) ou d'inhibiteurs (comme le piperonyl-butoxyde) des CYP (tableau 13).

L'association du pipéronyl-butoxyde et de l'oxfendazole provoque une augmentation du temps de demi-vie de ce dernier ainsi qu'une augmentation de l'aire sous la courbe du fenbendazole. Cette dernière observation est expliquée par l'augmentation de la concentration en oxfendazole qui déplace l'équilibre de la réaction réversible de sulfoxydation médiée par les flavines monooxygénases. *Sanchez S. et al (2002)*

	ALB $\xrightarrow{\text{CYP2C}} \text{ALB-SO} \xrightarrow{\text{CYP1A}} \text{ALB-SO}_2$ CYP3A Actif Inactif	Conséquences
dexaméthasone	Inducteur CYP3A	ALB-SO : \nearrow Cmx, \nearrow t1/2, \nearrow AUC
phénytoïne	Inducteur Inducteur CYP3A CYP1A	ALB-SO : \searrow Cmx, \searrow t1/2, \searrow AUC
carbamazépine	Inducteur Inducteur CYP3A CYP1A	ALB-SO : \searrow Cmx, \searrow t1/2, \searrow AUC
phénobarbital	Inducteur Inducteur CYP3A CYP1A CYP2C	ALB-SO : \searrow Cmx, \searrow t1/2, \searrow AUC
praziquantel	Inconnu	ALB-SO : \nearrow Cmx, \nearrow t1/2, \nearrow AUC
cimétidine	Inhibiteur Inhibiteur CYP3A CYP1A CYP2C	ALB-SO : \searrow Cmx, \nearrow t1/2

Cmx : concentration maximale

T1/2 : temps de demi-vie

AUC : aire sous la courbe

ALB : albendazole ALB-SO : albendazole-sulfoxyde ALB-SO₂: albendazole-sulfone

Tableau 12 : variations du métabolisme de l'albendazole lors d'interactions médicamenteuses. D'après Sotelo J., Jung H. (1998), Takayanagui O. M. et Lanchote V. L. (1997), Lanchote V. L. et al (2002), Homeida M. et al (1994), H. G. Schipper H. G. et al (2000)

	$FBZ \xrightarrow{FMO} FBZ-SO \xrightarrow{CYP} FBZ-SO_2$ Actif Inactif	Conséquences
dexaméthasone Ov	Inducteur CYP3A	FBZ-SO : ↓ Cmx, ↓ AUC
piperonyl-butoxide Ov-Cv	Inhibiteur CYP ???	FBZ-SO : ↑ Cmx ↑ AUC

Ov : ovin Cv : cheval

Cmx : concentration maximale AUC : aire sous la courbe

FBZ : fenbendazole FBZ-SO : fenbendazole-sulfoxyde

FBZ-SO₂ : fenbendazole -sulfone

Tableau 13 : variations du métabolisme du fenbendazole lors d'interactions médicamenteuses. D'après McKellar Q. A. et al (2002), Benchaoui H.A. et Mckellar Q.A. (1996), Sanchez S. et al (2003)

	$OPZ \begin{cases} \swarrow CYP2C19 \\ \searrow CYP3A4 \end{cases}$ OH-OPZ OPZ-SO ₂ $\swarrow \searrow$ HO-OPZ-SO ₂	Conséquences
kétoconazole chez l'homme	Inhibiteur CYP3A	oméprazole: ↑ Cmx, ↑ AUC
jus de pamplemousse chez l'homme	Inhibiteur CYP3A4	oméprazole-sulfone: ↓ Cmx

Cmx : concentration maximale AUC : aire sous la courbe

OPZ : oméprazole OPZ-SO₂ : oméprazole sulfone OH-OPZ : hydroxy-oméprazole

HO-OPZ-SO₂ : hysroxy-oméprazole sulfone

Tableau 14 : variations du métabolisme de l'oméprazole lors d'interactions médicamenteuses. D'après Ishizaki T., Horai Y. (1999), Tassaneeyakul W. et al (2000)

- Cas de l'oméprazole

Le métabolisme de l'oméprazole est inhibé par le kétoconazole. Une administration quotidienne de 100 à 200 mg de kétoconazole pendant quatre jours entraîne une inhibition marquée de la formation d'oméprazole sulphone. Ainsi, la concentration en oméprazole double chez certain patients (tableau 13).

Trop peu d'études sont réalisées chez les animaux domestiques, pour connaître avec précision le risque d'interaction médicamenteuse lié à la modification du métabolisme des benzimidazoles. Cependant, les données que nous avons recueillies semblent montrer que des interactions médicamenteuses sont possibles chez les animaux domestiques. L'indice thérapeutique des antiparasitaires et de l'oméprazole est suffisamment fort pour qu'elles passent inaperçues. Au mieux, la concentration des molécules actives augmente, donnant une plus grande efficacité aux traitements. Au pire, la concentration et l'efficacité diminuent.

2.2.2 Modification du métabolisme de certains médicaments provoquée par les benzimidazoles :

- Les antiparasitaires

On a montré pour quelques antiparasitaires leur influence sur les CYP. Le tableau 15 est un résumé de plusieurs études qui utilisent des protocoles différents. Si les études *in vitro* dominent, le choix de l'espèce et du marqueur utilisé varie. Nous remarquons que peu de données sont disponibles concernant l'homme comme les animaux sur le potentiel d'inhibition et d'induction des antiparasitaires. Les études sont concentrées sur les CYP1A1 et 1A2 et traitent peu des autres isoenzymes. De plus, les différences entre les espèces sont importantes rendant les extrapolations hasardeuses. Ces données sont pourtant nécessaires pour la sécurité des prescriptions.

Molécule	1A1	1A2	2A6	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4
albendazole	H, R	H, R N.I chez H N.In chez M	H	N.I chez H	N.I chez H	N.I chez H	H	H, R N.I chez H
fenbendazole et oxfendazole	H, L	H, L						Testostérone 6β-hydroxylation
mébendazole	H							
tiabendazole Etudes <i>in vitro</i>	H, R	H Phenacétin O-Deethylation Ki=0.61		H Diclofenac 4-Hydroxylation Ki=69	N.I chez H	N.I chez H		N.I chez H
Etudes <i>In vivo</i>		théophylline						

En gris foncé, cytochromes dont l'activité est inhibée.

En gris clair, cytochromes dont l'activité est induite.

Case en blanc, pas d'étude réalisée

N.I. Pas d'inhibition N.In Pas d'induction Les Ki sont exprimées en µM

H : homme R : rat L : lapin M : mouflon

Tableau 15 : influence de quelques antiparasitaires sur les CYP. D'après Velik J. et al (2004), Bapiro T. E. et al (2001), Grobellet R. (1998), Galtier P. et al (1997), Gleizes C. et al (1991), Asteinza J. et al (2000), Baliharova V. (2003), Galtier P. (1991)

Les antiparasitaires semblent étroitement liés aux P450. La conformation plane des molécules ainsi que la présence d'un atome de soufre semblent favoriser les phénomènes d'induction. Qu'en est-il des phénomènes d'inhibition, responsables des interactions médicamenteuses les plus dangereuses ? Une étude menée chez l'homme pour l'albendazole et le thiabendazole ne montre pas d'effets inhibiteurs, excepté pour le CYP1A2 impliqué dans le métabolisme de la théophylline. En considérant la ressemblance des antiparasitaires avec le mibéfradil et le kétoconazole, d'autres études devraient être réalisées.

- L'oméprazole

Nous disposons de beaucoup plus de données concernant l'oméprazole chez l'homme. L'oméprazole inhibe fortement les CYP2C9 et 2C19. L'inhibition du CYP3A4 est négligeable. Ainsi, *in vivo*, nous assistons à une diminution de l'élimination des substrats du CYP2C19 et du CYP2C9 comme le diazépam dont la clairance est minorée de 54%.

Le risque d'apparition de manifestations cliniques dues aux interactions médicamenteuses avec l'oméprazole n'est pas négligeable. L'inhibition du CYP2C19 pose alors un problème lors d'utilisation de molécules avec un faible indice thérapeutique. Qu'en est-il chez les animaux ? Les études sont centrées sur le CYP1A2. Une induction de ce cytochrome, comme chez l'homme, est remarquée chez le chien, le porc et parfois chez le rat. L'inhibition des autres isoenzymes est inconnue.

2.3 Perspectives :

Les interactions médicamenteuses avec de graves conséquences cliniques surviennent le plus souvent quand une molécule A inhibe le métabolisme d'une molécule B possédant un faible index thérapeutique. Les benzimidazoles utilisés chez les animaux peuvent-ils participer à de telles interactions ? Leur index thérapeutique étant important, l'inhibition de leur métabolisme a peu de chance d'entraîner des troubles. Cependant, une meilleure connaissance du métabolisme des benzimidazoles dans chaque espèce permettrait d'augmenter les concentrations en métabolites actifs et d'évaluer les possibles modifications des temps d'attente chez les animaux de rente. Le spectre d'activité pourrait être augmenté et le risque de résistance diminué.

Molécule	1A1	1A2	2A6	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4
Oméprazole	H,R,	H,R,C		Tolbutamide Ki=40.1	S-Méphénytoïne Ki=4.1			Dextrométhorphan Ki=84.4
Etude in vitro	C,P	,P		H	H			H
Etude in vivo		Caféine		Phénytoïne Tolbutamide	Diazépam R-warfarine Tolbutamide		Antipyrine Aminopyrine	Carbamazépine Clarithromycine

En gris foncé, cytochromes dont l'activité est inhibée.

En gris clair, cytochromes dont l'activité est induite.

Case en blanc, pas d'étude réalisée

N.I. Pas d'inhibition N.In Pas d'induction Les Ki sont exprimées en μM

H : homme R : rat C : chien P : porc

Tableau 16 : influence de l'oméprazole sur les CYP . D'après Ko J.-W. (1997), Meyer U. A. B (1996), Grobelle R. (1998), Unge P. et Anderson T. (1997), Lu C. et Li A. P. (2001)

Deux membres de cette famille, le mibéfradil et l'astémizole, ont récemment été retirés du marché aux Etats-Unis, pour de dangereuses interactions médicamenteuses CYP dépendantes. Les résultats dont nous disposons, montrent que les benzimidazoles antiparasitaires induisent les CYP1A1/2. Mise à part la théophylline, aucun médicament métabolisé par cette isoforme, n'est administré aux animaux. Des données sur les autres isoformes manquent. Pour réaliser ces études, il faudra tout d'abord découvrir des substrats et des inhibiteurs spécifiques à chaque isoforme. Ainsi, il sera possible comme pour les médicaments destinés à l'homme d'effectuer un protocole de découverte d'interactions médicamenteuses *in vitro* et *in vivo* avant la mise sur le marché de chaque molécule.

Conclusion

Les benzimidazoles sont des médicaments utilisés à la fois en médecine humaine et vétérinaire. Leur principale indication est le traitement et la prévention des maladies parasitaires. Ils semblent étroitement liés au système des cytochromes P450 : leur métabolisme est en grande partie sous leur dépendance, inhibition et induction de certaines isoformes des P450 surviennent lors de leur utilisation. L'intensité de cette liaison dépend de la molécule. Chaque molécule a une influence différente et ceci dans chaque espèce. Les extrapolations sont donc délicates.

De nombreuses voies métaboliques d'élimination des médicaments, et particulièrement celles utilisant les cytochromes P450, peuvent être inhibées, ou induites par l'administration d'autres substances. La conséquence est une augmentation ou une diminution de la concentration plasmatique du médicament et de ses métabolites dans l'organisme. La formation de métabolites toxiques est aussi possible. Ces variations pharmacocinétiques peuvent modifier l'efficacité et l'innocuité des médicaments surtout s'ils possèdent un faible indice thérapeutique. Il en est de même pour les temps d'attente chez les animaux de rente. Aux vues des conséquences des inductions et des inhibitions, il est nécessaire de les évaluer. La pharmacologie humaine l'a bien compris après la mise sur le marché du mibéfradil. En médecine vétérinaire, les études sont encore sporadiques. Pour réaliser ces études, il faudra tout d'abord découvrir des substrats et des inhibiteurs spécifiques à chaque isoforme des cytochromes P450. Ainsi, il sera possible comme pour les médicaments destinés à l'homme d'effectuer un protocole de découverte d'interactions médicamenteuses *in vitro* et *in vivo* avant la mise sur le marché de chaque molécule.

Nous disposons pour les benzimidazoles d'un recul suffisant pour les considérer comme très sûrs d'utilisation. Cependant lors de leur lancement, comme pour celui du mibéfradil, les études menées *in vitro* n'étaient pas suffisantes pour évaluer les possibles interactions. Celles-ci ont été mises en évidence par la pharmacovigilance, ce qui démontre tout le bénéfice attendu par cette surveillance post-marketing des médicaments, organisée très récemment en France pour les médicaments vétérinaires.

Bibliographie

- (1) ALBENGRES E., LE LOUET H., TILLEMENT J-P :
Systemic antifungal agents Drug interactions of clinical significance, In *Drug safety* 1998;
18(2), pp : 83-97.
- (2) ASTEINZA J., CAMACHO-CARRANZA R., REYES- REYES R. E., DORADO-
GONZALEZ V., ESPINOSA-AGUIRRE J. J. :
Induction of cytochrome P450 enzymes by albendazole treatment in the rat, In
Environmental Toxicology and Pharmacology , 2000, **9**, pp : 31-37.
- (3) BALIHAROVA V., VELIK J., LAMKA J., BALARINOVA R., SKALOVA L. :
The effects of albendazole and its metabolites on hepatic cytochromes P450 activities in
mouflon and rat, In *Research in veterinary science*, 2003, **75**, pp : 231-239.
- (4) BAPIRO T. E., EGNELL A., HASLER J. A., MASIMIREMBWA C. M. :
Application of higher throughput screening inhibition assays to evaluate the interaction of
antiparasitic drugs with cytochrome P450s, In *Drug Metabolism and Disposition* , 2001, **29**
(1), pp : 30-35.
- (5) BENCHAOUI H.A., MCKELLAR Q.A. :
Interaction between fenbendazole and piperonyl butoxide pharmacokinetic and
pharmacodynamic implications, In *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1996, **48**,
pp: 753-759.
- (6) BRUNTON L. L.
Médicaments du contrôle de l'acidité gastrique et du traitement des ulcères gastro-
intestinaux, in Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments (Hardman,
Kunkel, Limbird), Legoprint SRL, Lavis (Italie), 1998, pp:912
- (7) CHAURET N., GAUTHIER N., MARTIN J., NICOLL-GRIFFITH DA.
In Vitro comparison of cytochrome P450-mediated metabolic activities in human, dog, cat,
and horse, In *Drug Metabolism and Disposition*, 1997, **25(10)**, 1130-1135.

(8) DAYAN A.D. :

Albendazole, mebendazole and praziquantel. In *Review of non-clinical Toxicity and Pharmacokinetics : Acta Tropica* , 2003, **86** , pp : 141-159.

(9) DRESSER G. K. :

Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition, In *Clinical pharmacokinetics*, 2000, **38 (1)**, pp : 41-57.

(10) ERNST M. E., KELLY M. W. :

Mibefradil, a pharmacologically distinct calcium antagonist, In *Pharmacotherapy*, 1998, **18(3)**, pp : 463-85.

(11) FOURNIER A. :

L'induction des monooxygénases à cytochrome P450 par les agents chimiques. Thèse de doctorat présentée à l'université Paul Sabatier (Toulouse), 1991.

(12) GALTIER P., REY-GROBELLET X., ALVINERIE M., PINEAU T. :

Compared cytochrome P450 induction properties of benzimidazole anthelmintics by using cultured rabbit hepatocytes, In *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997, **20**, pp : 87-109.

(13) GALTIER P. :

Métabolisme des benzimidazoles et activité inductrice enzymatique, In *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1991, **142** , pp : 633-636.

(14) GLEIZES C., EECKHOUTTE C., PINEAU T., ALVINERIE M., GALTIER P. :

Inducing effect of oxfendazole on cytochrome P4501A2 in rabbit liver, In *Biochemical Pharmacology*, 1991, **41(12)** , pp : 1813-1820.

(16) GROBELLET R. :

Interactions des benzimidazoles avec les systèmes de biotransformation hépatique : approche métabolique et pharmacocinétique .

Thèse de doctorat présentée à l'université Paul Sabatier (Toulouse), 1998.

(17) GUENGUERICH F. :

Role of cytochrome P450 enzymes in drug-drug interactions. In *Advances in Pharmacology*, 1997, **43**, pp : 7-35.

(18) HEIT M. C., RIVIERE J. E.

Antifungal and antiviral drugs, in *Veterinary pharmacology and therapeutics* (ADAMS R.), Université de l'iowa, Ames, 1995, pp: 861-863

(18) HOMEIDA M., LEAHY W., COPELAND S., ALI M. M. M., HARRON D. W. G. :

Pharmacokinetic interaction between praziquantel and albendazole in Sudanese men, In *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1994, **88 (5)** , pp : 551-559.

(19) ISHIZAKI T., HORAI Y. :

Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors-emphasis on rabeprazole. In *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 1999, **13 (suppl.3)**, pp : 27-36.

(20) JUNGNICHEL P. W. :

Pantoprazole: a new proton pump inhibitor, In *Clinical Therapeutics*, 2000, **22(11)**.

(21) KO J.-W., SUKHOVA N., THACKER D., CHEN P., FLOCKHART D. :

Evaluation of omeprazole and lansoprazole as inhibitors of cytochrome P450 isoforms, In *Drug Metabolism and Disposition*, 1997, **25(7)**, 653-662.

(22) KRAVENBUHL S., MENAFOGLIO A., GIOSTRA E., GALLINO A. :

Serious interaction between mibefradil and tacrolimus, In *Transplantation*, 1998, **66(8)**, pp : 1113- 1115.

(23) KRAYENBUHL J.C., VOZEH S. , KONDO -OESTREICHEZ M., DAYER P. :

Drug-drug interactions of new active substances: mibefradil example, In *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1999, **55**, pp : 559-565.

(24) KUROHA M., KUZE Y., SHIMONA M., KOKUE E. :

In vitro characterisation of the inhibitory effects of ketoconazole on metabolic activities of cytochrome P450 in canine hepatic microsomes, In *American journal of veterinary research* , 2002 , **63 (6)**, pp : 900-905.

(25) KUROHA M, AZUMANO A, KUZE Y, SHIMODA M, KOKUE E :

Effect of multiple dosing of ketoconazole on pharmacokinetics of midazolam, a cytochrome P-450 3A substrate in beagle dogs , In *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 2002 , **30 (1)**, pp : 63-68.

(26) LANCHOTE V. L., GARCIA F. S., DREOSI S. A. C., TAKAYANAQUI O. M. :

Pharmacokinetic interaction between albendazole sulfoxide enantiomers and antiepileptic drugs in patients with neurocysticercosis, In *Therapeutic Drug Monitoring* , 2202, **24**, pp : 338-345 .

(27) LIN J.H., LU A.Y.H. :

Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications, In *Clinical pharmacokinetics* , 1998, **35 (5)**, pp : 361-390.

(28) LU C., LI A. P. :

Species comparison in P450 induction : effets of dexamethasone, omeprazole, and rifampin on P450 isoforms 1A and 3A in primary cultured hepatocytes from man, Sprague-Dawley rat, minipig, and beagle dog, In *Chemico-Biological Interactions* , 2001, **134** , pp : 271-281.

(29) MARTIN R. J. :

Review: Modes of action of anthelmintic drugs, In *The Veterinary Journal*, 1997, **154**, pp : 11-34.

(30) MCKELLAR Q.A., SCOTT E. W. :

The benzimidazole anthelmintic agents, In *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1990, **13**, pp : 223-247.

- (31) MACKELLAR Q. A., GOKBULUT C., MUZANDU K., BENCHAOUI H. :
Fenbendazole pharmacokinetics, metabolism, and potentiation in horses, In *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, **30**, pp : 1230-1239.
- (32) MEYER E. K. :
Adverse events associated with albendazole and other products used for treatment of giardiasis in dogs, In *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1998, **212** (1), pp : 44-46.
- (33) MEYER U. A. A :
Metabolic interactions of the proton-pump inhibitors lansoprazole, omeprazole and pantoprazole with other drugs, In *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* , 1996, **8 (suppl.1)**, pp : S21-S25.
- (34) MEYER U. A. B :
interaction of proton pump inhibitors with cytochromes P450: Consequences for drug interactions, In *Yale Journal Of Biology And Medicine* , 1996, **69** , pp : 203-209.
- (35) MOUATT J.G. :
Cyclosporin and ketoconazole interaction for treatment of perianal fistulas in the dog, In *Australian Veterinary Journal*, 2002, **80(4)**, pp : 207-211.
- (36) NAGY J., SCHIPPER H.G., KOOPMANS R.P., BUTTER J.J., VAN BOXTEL C.J., KAGER P.A. :
Effect of grapefruit juice or cimetidine coadministration on albendazole bioavailability, In *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2002, **66(3)**, pp : 260-263.
- (37) PETERSEN K.-U. :
Review article: omeprazole and the cytochrome P450 system, In *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 1995, **9**, pp : 1-9.

- (38) RICHARD D. M., BROGDEN R.N., HEEL R.C., SPEIGHT T.M., AVERY G.S.:
Astemizole. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy, In *Drugs*, 1984, 28, pp: 38-61.
- (39) ROBSON D. :
Review of the pharmacokinetics interactions and adverse reactions of cyclosporine in people, dogs and cats, In *The Veterinary Record*, 2003, **14**, pp : 739-748.
- (40) SANCHEZ S., SMALL J., JONES D.G., MCKELLAR Q.A. :
Dexamethasone decreases plasma levels of the prochiral fenbendazole and its chiral and achiral metabolites in sheep, in *Xenobiotica*, 2003, 33, pp: 731-742
- (41) SANCHEZ S., SMALL J., JONES D. G., MCKELLAR Q. A.:
Plasma achiral and chiral pharmacokinetic behaviour in intravenous oxfendazole co-administered with piperonyl butoxide in sheep, In *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2002, **25**, pp : 7-13.
- (42) SCHIPPER H. G., KOOPMANS R. P., NAGY J., BUTTER J. J., KAGER P. A., VAN BOXTEL C. J.
Effect of dose increase or cimetidine co-administration on albendazole bioavailability, in *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2000, 63, pp: 270-273
- (43) SHARPE M., JARVIS B., GOA K. L.
Telmisartan. A review of its use in hypertension, In *Drugs*, 2001, **61**, pp: 1501-1529
- (44) SHOU M., NORCROSS R. , SANDIGG., LU P., LI Y., LIN Y., MEI Q. RODRIGUES A. D. :
Substrate specificity and kinetic properties of seven heterogously expressed dog cytochromes P450, In *Drug Metabolism and Disposition* , 2003, **31**, pp : 1161-1169.
- (45) SOTELO J., JUNG H. :
Pharmacokinetic optimisation of the treatment of neurocytotoxicosis, In *Clinical pharmacokinetics*, 1998 ,**34 (6)**, pp : 503-515.

(46) STRNAD C. F.

Programme des produits thérapeutiques de la direction générale des produits de santé et des aliments : Document d'orientation. Interactions médicamenteuses : Etudes in vitro et in vivo, 21 septembre 2000.

http://www.hc-sc.gc.ca/hpfb-dgpsa/tpd-dpt/drug_int_f.html Page visitée le 19/10/04

(47) SZKLARZT G., PAULSEN M. :

Molecular modelling of cytochrome P450 1A1 : Enzyme-substrate interactions and substrate binding affinities, *In Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2002, **20 (2)** .

(48) SZOTAKOYA B., BALIHAVORA V., LAMKA J., NOZINOVA E., WSOL V., VELIK J., MACHALA M., NECA J., SOUCEK P., SUSOVA S., SKALOVA L. :

Comparison of in vitro activities of biotransformation enzymes in pig, cattle, goat and sheep, *In Research in Veterinary Science* , 2004, 76, pp : 43-51.

(49) TAKAYANAGUY O. M., LANCHOTE V. L. :

Therapy for neurocysticercosis : Pharmacokinetic interaction of albendazole sulfoxide with dexamethasone, *In Therapeutic Drug Monitoring* , 1997, **19**, pp : 51-55 .

(50) TUCKER G.T., HOUSTON J.B., HUANG S.M.

EUFEPS Conference report-Optimising drug development : strategies to assess drug metabolism/ transporter interaction potential-towards a consensus, *In European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001, **13**, pp : 417-428.

(51) UNGE P., ANDERSON T. :

Drug Interactions with proton pump inhibitors, *In Drug Safety* ,1997 , **16(3)**, pp : 171-179.

(52) VELIK J., BALIHAVORA V., FINK-GREMMELS J., BULL S., LAMKA J., SKALOVA L. Benzimidazole drugs and modulation of biotransformation enzymes, In *Research in Veterinary Science*, 2004, **76**, pp : 95-108.

(53) WANDEL C., KIM R. B., GUENGERICH F. P., WOOD A. J. J. : Milbepfradil is a P-glycoprotein substrate and a potent inhibitor of both P-glycoprotein and CYP3A in vitro, In *Drug Metabolism and Disposition*, 2000, **28 (8)**, pp : 895-898.

(54) WANG J.S., WEN X., BACKMAN J.T., TAAVITSAINEN P., NEUVONEN P.J., KIVISTO K.T. : Midazolam alpha-hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by calcium channel blockers, itraconazole and ketoconazole. In *Pharmacology & toxicology*, 1999, **85(4)**, pp : 157-61.

(55) WANG E., LEW K., CASCIANO C., CLEMENT R., JOHNSON W. : Interaction of common azole antifungals with P glycoprotein, In *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 2002, **46 (1)** , pp : 160-165.

(56) WELKER H. A., WILTSHIRE H., BULLINGHAM R. : Clinical pharmacokinetics of mibepfradil, In *Clinical pharmacokinetics*, 1998, **35(6)**, pp : 405-423

(57) WHITLOCK J. P. : Induction of cytochrome P4501A1, In *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* , 1999, **39**, pp:103-125.