

ETUDE DE LA VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE
DES PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES DE
L'ANTIPYRINE CHEZ DES BOVINS JUMEAUX.

Nous adressons des remerciements tout particuliers,

A notre président de thèse,

A Monsieur le Professeur SALVAYRE,
Professeur des Universités.
Praticien hospitalier.
Biochimie et Biologie moléculaire.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommage respectueux.

A notre jury de thèse,

A Monsieur le Professeur LEFEBVRE,
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
Physiologie et Thérapeutique.

Pour nous avoir guidé tout au long de ce travail et pour nous avoir toujours aidé et soutenu lors de nos orientations professionnelles.

A Monsieur le Professeur CONCORDET,
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
Mathématiques, Statistiques, Modélisation.

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.
Sincères remerciements.

A Madame LAROUTE,
UMR 181, INRA-ENVT.
Physiopathologie et Toxicologie expérimentales.

D'avoir accepté notre invitation à participer au jury de notre thèse.
Sincères remerciements.

A mes parents, pour votre amour et votre soutien dans tous mes choix.

A Emeline, plus ça va, plus on se rapproche, plus on se comprend, c'est trop bien.

A toute ma famille, en particulier Manou, Bernard et Janine, Julie et Camille, Bruno et Dominique. A Mamie et Papi.

A ma Tamarââââââ, toi qui me connais si bien, pour tout ce que tu es, pour tout ce que tu m'apportes (surtout la babelou pour le boutchi).

A ma globe trotteuse préférée Christelle.

Aux Blérots : Pascal, Rahan, Ghost et KO pour ces deux années passées ensemble, et pour les autres.

A AGDP, Sandra, Sabrina et Alexia, quatre drôles de dames.

A mes autres co-promos : Didier, Chantal, Agnès, JL, Laurent, Mélo, les Joe Bars, Anouk, Jenny, Marie, Blanche, Manue.

A Laure et Camille, pour l'Afvac Jr et surtout pour le reste.

A mes Docteurs : Franck, Giovanni, Isa et Fred.

A mes Poulots de week-end.

A Yves et Michèle pour tous les moments équestres et autres passés ensemble.

A Christophe pour son accueil toujours chaleureux.

A mes collègues tumbleurs et trampolinistes : Ravo, Stéph, Guillaume, Gaëlle, Paul et aux deux expat' Olivier et Delphine.

A l'équipe de cancéro : Didier, Mylène, Laure et en particulier Cathy pour ta bienveillance, ton soutien et tes conseils.

A ceux avec qui j'ai aimé travailler aux cliniques : Estelle, JD, Thomas, Nathalie.

Au Boutchi le Boutchi et à l'Alfred.

SOMMAIRE

Introduction.....	5
PREMIERE PARTIE : Etude bibliographique.....	7
I- Pharmacogénétique : « la bonne dose au bon patient ».....	7
1- A quoi est due la variabilité inter-individuelle ?.....	8
2- Adapter la dose au patient : approche pharmacogénétique.....	9
3- Enjeux et exemples en pharmacologie humaine.....	9
II- Clairance hépatique.....	15
1- Définition et intérêt du calcul de clairance.....	15
2- Propriétés d'un bon marqueur de fonction hépatique.....	16
III- Antipyrine.....	17
1- Propriétés physico-chimiques et dosage.....	17
2- Métabolisme.....	18
3- Facteurs de variations du métabolisme de l'antipyrine.....	20
i. Données chez l'homme.....	20
ii. Données chez les bovins.....	21
iii. Données chez d'autres espèces.....	23
4- A quoi peut servir le test à l'antipyrine ?.....	23

DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale	25
I- Matériels et méthodes	25
1- Animaux inclus dans l'étude.....	25
2- Mise en place des cathéters intraveineux.....	25
3- Administration de l'antipyrine.....	25
4- Prélèvements sanguins.....	26
5- Dosage de l'antipyrine et de la 4-hydroxyantipyrine dans les échantillons.....	26
6- Analyse pharmacocinétique.....	27
7- Analyse statistique.....	27
II- Résultats	28
1- Données brutes.....	28
2- Paramètres pharmacocinétiques.....	35
3- Etude de la variabilité intra- et interpaire.....	41
III- Discussion	42
.	47
Conclusion	51
Références bibliographiques	57
Annexes	
...	

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures :

Figure 1. Relation entre génotype et phénotype à l'échelle moléculaire.....	8
Figure 2. Formule chimique de l'antipyrine.....	17
Figure 3. Principales voies métaboliques de l'antipyrine.	19
Figure 4. Exemple de chromatogramme obtenu par chromatographie liquide à haute performance sur le plasma d'un bovin après administration d'un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.....	29
Figure 5. Profils des concentrations plasmatiques d'antipyrine chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.	31
Figure 6. Profils des concentrations plasmatiques d'antipyrine des paires 1, 2 et 3 de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg....	32
Figure 7. Profils des concentrations plasmatiques d'antipyrine des paires 4, 5 et 6 de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg....	33
Figure 8. Profils des concentrations plasmatiques en 4-hydroxyantipyrine chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.	34
Figure 9. Représentation graphique des différents paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de son principal métabolite obtenus chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg : temps de demi-vie, clairance plasmatique et volume de distribution de l'antipyrine. Chaque droite relie les valeurs de deux jumeaux d'une même paire.	39
Figure 10. Représentation graphique des différents paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de son principal métabolite obtenus chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg : temps moyen de résidence de l'antipyrine, concentration maximale et aire sous la courbe du métabolite ramenées à la dose d'antipyrine administrée. Chaque droite relie les valeurs de deux jumeaux d'une même paire.	40

Tableaux :

Tableau I. Liste non exhaustive de molécules qui posent des problèmes d'ordre pharmacogénétique en médecine humaine.	10
Tableau II. Correspondance entre génotype et phénotype de la ThioPurine MéthylTransférase (TPMT), prévalence chez les Caucasiens et Africains et conséquences cliniques sur la base d'un traitement quotidien par voie orale de 2,5 ans.....	12
Tableau III. Avantages et inconvénients du test de mesure de l'activité	

Tableau IV. Quantité d'antipyrine et de ses métabolites retrouvée après administration intraveineuse d'antipyrine dans les urines de 10 bovins femelles et de 10 bovins mâles de 18 mois (collection sur 24h). Les valeurs moyennes sont exprimées en % de la dose injectée, l'écart-type est indiqué entre parenthèses	20
Tableau V. Valeurs moyennes des clairances plasmatiques et des temps de demi-vie de l'antipyrine déterminées dans deux études portant sur des bovins adultes, en fonction du sexe (l'écart-type est indiqué entre parenthèses).....	22
Tableau VI. Variation des valeurs moyennes du temps de demi-vie d'élimination plasmatique ($T_{1/2}$) de l'antipyrine due à l'administration de dexaméthasone, de griséofulvine, d'oxytétracycline ou de chloramphénicol chez des veaux de 25 à 90 jours (l'écart-type est indiqué entre parenthèses).....	23
Tableau VII. Paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.	35
Tableau VIII. Paramètres pharmacocinétiques de la 4-hydroxyantipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.....	36
Tableau IX. Statistiques descriptives des paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.....	37
Tableau X. Résultats statistiques des paramètres pharmacocinétiques de la 4-hydroxyantipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.....	38
Tableau XI. Calcul des coefficients de variation (CV) intra- et interpaire des paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de la 4-hydroxyantipyrine.....	41
Tableau XII. Valeurs moyennes des clairances plasmatiques et des temps de demi-vie de l'antipyrine obtenues dans plusieurs études sur des bovins d'âge et sexe différents (l'écart-type est indiqué entre parenthèses).....	43
Tableau XIII. Exemples de cytochromes P450 possédant des allèles associés à des variations d'activités de l'enzyme et de molécules qu'ils prennent en charge.....	44

Introduction

« If it were not for the great variability among individuals medicine might as well be a science and not an art ». En 1892, Sir William Osler présentait déjà les débats qui animent le début du 21^{ème} siècle.

En effet, les exemples parfois dramatiques de la variabilité inter-individuelle dans le métabolisme des xénobiotiques se multiplient. Actuellement, la plupart des ajustements posologiques dans la prescription de médicaments tient compte des variations pathologiques de l'élimination hépatique ou rénale lors d'insuffisance organique. Mais il existe aussi et surtout des variations physiologiques du métabolisme des xénobiotiques. Les concentrations plasmatiques des molécules prescrites sont donc mal maîtrisées, ce qui peut conduire dans certains cas à de sérieux effets secondaires, voire au décès du patient.

Les variations inter-individuelles peuvent être d'origine génétique ou environnementale. Les études portant sur des jumeaux homozygotes permettent d'apprécier l'origine génétique de telles variations. De nombreuses molécules ont ainsi été testées, mais le déterminisme génétique de leur métabolisme a souvent été surestimé.

La présente étude propose une comparaison du métabolisme hépatique chez des bovins jumeaux en utilisant un marqueur de la fonction oxydative du foie : l'antipyrine. Les animaux utilisés ont tous été élevés dans des conditions strictement identiques depuis leur naissance. Le facteur environnemental a donc été totalement maîtrisé afin de mettre en évidence un éventuel rôle des facteurs génétiques dans le déterminisme de la fonction hépatique.

PREMIERE PARTIE : Etude bibliographique

I- Pharmacogénétique : « la bonne dose au bon patient »

Au sein d'une même espèce, chaque individu est unique et possède ses propres particularités. Le domaine de la pharmacocinétique n'échappe pas à la règle et de plus en plus d'exemples mettant en évidence cette variabilité inter-individuelle sont connus en médecine vétérinaire. Par exemple, la moxidectine a une pénétration transcutanée plus lente chez les veaux de race Angus Aberdeen que chez les veaux Holstein (Sallovitz et coll, 2002). Une anesthésie aux thiobarbiturates sur des chiens de race Greyhound dure plus longtemps que sur des chiens tout-venant (Sams et coll, 1985).

Le schéma traditionnel associant une posologie unique pour une espèce paraît donc hasardeux car il n'y a pas de contrôle de l'exposition du malade à la molécule prescrite. La pharmacocinétique d'une molécule est différente selon les individus. Dans une population traitée, trois sous-ensembles se dessinent :

- les individus qui sont correctement exposés à la molécule administrée et qui profitent d'un traitement efficace ;
- les individus sur-exposés. Le risque de voir apparaître des effets toxiques est majoré. Citons simplement un exemple bien connu en médecine vétérinaire : les réactions idiosyncrasiques chez les Colleys exposés à l'ivermectine sont dues à un déficit dans cette race en glycoprotéine P de la barrière hémato-méningée qui relargue normalement cette molécule dans le sang. Un Colley exposé aux doses thérapeutiques recommandées pour les autres races de chiens s'expose à la neurotoxicité de la molécule (Mealey et coll, 2001) ;
- les individus sous-exposés. Le traitement prescrit peut être inefficace. D'autre part, des résistances à la molécule administrée risquent de se développer. Par exemple, l'exposition d'une population bactérienne à une concentration en antibiotique inférieure à la concentration minimale inhibitrice favorise l'apparition de souches antibiorésistantes particulièrement difficiles et parfois impossibles à combattre.

1- A quoi est due la variabilité inter-individuelle ?

La variabilité qui existe entre deux individus sur la pharmacocinétique d'une molécule peut s'exprimer à différents niveaux : le polymorphisme génétique, les facteurs environnementaux (et en particulier l'administration concomitante d'autres molécules), le statut physiologique et l'existence de maladies intercurrentes. Le polymorphisme génétique et les facteurs environnementaux sont les deux causes principales dans la survenue d'effets indésirables ou d'inefficacité de traitement (Ingelman-Sundberg, 2001a).

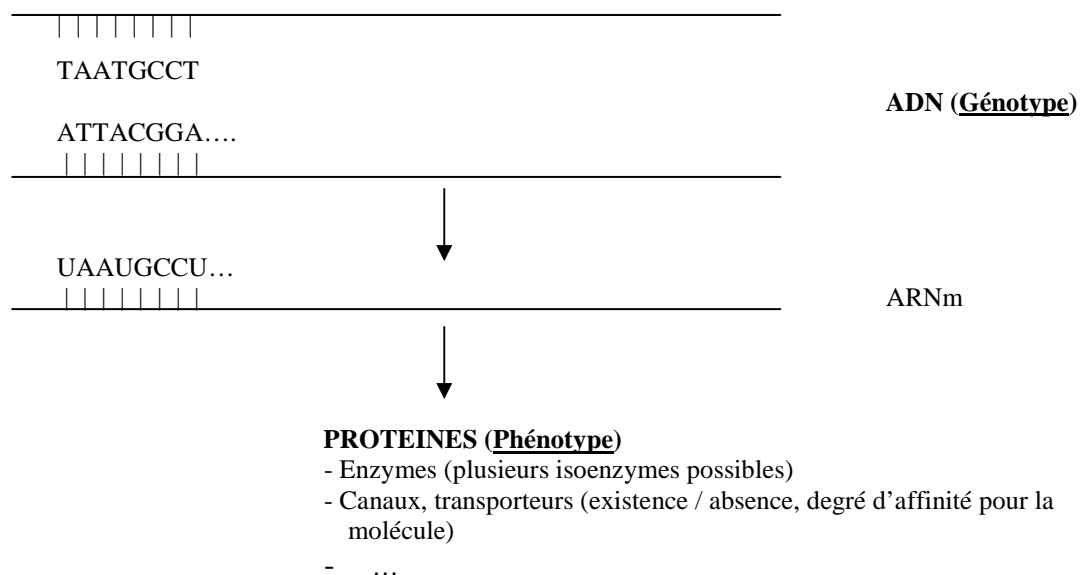


Figure 1 : Relation entre génotype et phénotype à l'échelle moléculaire.

L'étude du polymorphisme génétique concerne soit l'étude des variations de phénotype protéinique, soit l'étude directe de l'ADN. Le problème du phénotype est qu'il est soumis aux facteurs de variation ayant un effet sur l'expression du génome et en particulier les facteurs environnementaux (Lefebvre et coll, 2002). Le génome ne change pas avec le temps, ce qui fait de lui un objet d'étude invariant pour un individu donné.

Le génotype de deux individus d'une même espèce ne diffère que par un faible pourcentage de bases azotées : seuls 0,1% des 3,2 milliards de paires de bases constituant le

génomique de deux humains suffisent à les différencier (Lefebvre et coll, 2002). Les différences les plus souvent observées se résument à une seule base azotée (substitution, délétion, addition) : on parle alors de « Single Nucleotide Polymorphism » (SNP). Le nombre de SNP entre deux humains est de l'ordre de 2,5 millions (1 pour 1250 paires de bases) : ils sont en grande partie répertoriés et classés pour l'espèce humaine (Ingelman-Sundberg, 2001a). Les SNP sont de différentes sortes : certains sont situés sur les régions codantes de l'ADN (coding SNPs), d'autres sont situés sur les introns (perigenic SNPs) et d'autres se trouvent dans les régions intergénomiques (intergenic SNPs). Bien entendu, tous n'entraînent pas de variations phénotypiques (la majorité est d'ailleurs silencieuse).

2- Adapter la dose au patient : approche pharmacogénétique

La pharmacogénétique est définie comme la science des réponses pharmacologiques et de leurs modifications d'origine génétique (Kalow, 1962). Cette définition peut se résumer par le concept émergent de « la bonne dose au bon patient » (Brouwer et Pollack, 2002).

Le séquençage intégral du génome humain et bientôt de celui de la plupart des espèces animales domestiques devrait permettre une avancée considérable en la matière. La méthode classique de détermination d'un effet pharmacogénétique suit trois étapes : identifier le gène responsable du polymorphisme phénotypique, identifier les SNP et évaluer leur intérêt (Gurwitz, 1999). Deux types de SNP sont particulièrement intéressants : ceux dont la mutation entraîne une modification fonctionnelle ou structurale de la protéine correspondante et ceux dont la mutation est silencieuse mais qui sont tellement proches des premiers qu'ils en font de bons marqueurs.

L'ultime étape de mise au point d'un test pharmacogénétique est de trouver un moyen de mettre en évidence un SNP d'intérêt et de le commercialiser. Ces tests sont amenés à se développer au cours des prochaines années.

3- Enjeux et exemples en pharmacologie humaine

Outre le défi théorique, la pharmacogénétique a des implications cliniques et économiques majeures. Il a été estimé aux Etats-Unis que 6,7% des hospitalisations (dont 100.000 décès) sont dus aux effets indésirables des médicaments, avec un coût annuel de 100 milliards de dollars (Lazarou et coll, 1998). Le tableau I donne une liste non exhaustive de molécules qui posent des

problèmes d'ordre pharmacogénétique en médecine humaine. Le polymorphisme d'origine génétique d'une des enzymes de leur métabolisme est responsable

Tableau I : Liste non exhaustive de molécules qui posent des problèmes d'ordre pharmacogénétique en médecine humaine (Baker, 2003 ; Seidman, 2003 ; Innocenti et coll, 2000 ; Aithal et coll, 1999 ; Veenstra et coll, 2000).

Molécule	Maladie traitée	Enzyme	Effets secondaires les plus courants	Létalité	Prévalence du phénotype (%)	Test de routine	Utilité d'un test *
Azathioprine	LAL, maladies auto-immunes, prévention des rejets de greffes	TPMT	Aplasie médullaire, hépatotoxicité, pancréatite aiguë	Oui	AER : 10 AEA : 0.3	Oui	Idéale
5-FU	Cancers : sein, colon, rectum	DPD	Toxicité neurologique, hématologique, gastro-intestinale	Oui	AER : 3 à 5 AEA : 0.1	Oui	Médiocre
Warfarine	Fibrillation atriale	CYP 2C9	Hémorragie sévère	Oui	AER : 30 AEA : <1	Disponible en recherche	Moyenne
Interféron + ribavirine	Hépatite C	(Dépend du génotype viral)	Rechute si la durée du traitement n'est pas doublée face au génotype 1	Oui	Non évaluée (Génotype 1 : 60%)	Oui : Génotypage viral	Bonne
Pravastatine	Hyperlipidémie	CETP	Infarctus du myocarde à long terme	Oui	AER : 49 AEA : 16	Non	Douteuse
Amonafide	Cancer du sein, leucémie	NAT2	Myélotoxicité (chez les métaboliseurs rapides)	Oui	Non évaluée	Disponible en recherche	Bonne
Irinotecan	Cancer colorectal métastasé résistant au 5-FU	UGT 1A1	Diarrhée et neutropénie sévère	Non décrite	AER : 0.5 à 19	Non	Potentiellement bonne

* L'utilité des tests a été évaluée selon une approche coût-efficacité (Veenstra et coll, 2000).

Abréviations utilisées :

- LAL : leucémie aiguë lymphoblastique de l'enfant
- TPMT : thiopurine S-méthyl-transférase
- AER : activité enzymatique réduite
- AEA : activité enzymatique absente
- 5-FU : 5-fluorouracile
- DPD : dihydropyrimidine déshydrogénase
- CYP 2C9 : cytochrome P450 de type 2C9
- CETP : cholesteryl-ester transfer protein
- NAT2 : N-acétyl-transférase 2
- UGT 1A1 : UDP-glucosyl-transférase 1A1

de fortes variations dans l'exposition des patients. Pour la plupart de ces exemples, le polymorphisme s'exprime sur les enzymes qui inactivent les métabolites toxiques (ou potentiellement toxiques), les effets secondaires sont donc observés chez les individus dont l'activité enzymatique est réduite voire nulle (métaboliseurs « lents »).

Dans le cas de l'amonafide, le métabolite toxique est obtenu après acétylation par la N-acétyl-transférase 2 (NAT2). Ce sont donc les métaboliseurs « rapides » qui sont exposés à une toxicité accrue de l'amonafide. Pour l'infection par le virus de l'hépatite C, le génome de l'hôte ne modifie pas l'efficacité du traitement, mais le génome viral peut conditionner la durée de traitement. Si le virus a le génotype 1, l'association interféron et ribavirine doit être administrée deux fois plus longtemps pour éviter des rechutes pouvant être fatales.

Deux molécules sont intéressantes et méritent une étude plus approfondie : l'azathioprine (AZA) et le 5-fluorouracile (5-FU).

L'AZA (Imurel[®]) est une pro-drogue de la 6-mercaptopurine (6-MP, Purinéthol[®]) aux propriétés immunosuppressives. Ces deux médicaments sont employés par voie orale dans le traitement des maladies auto-immunes, des maladies inflammatoires de l'intestin, des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant (prévention des rechutes) et des rejets de greffe d'organe. Le traitement peut durer jusqu'à trois ans (Innocenti et coll, 2000). Une partie de l'AZA est activée en 6-MP dans le plasma et les tissus. La 6-MP est métabolisée dans les cellules de la moelle osseuse (normales ou cancéreuses) : une partie est inactivée par la thiopurine S-méthyl-transférase (TPMT), le reste est transformé en thioguanine, un antagoniste de la purine potentiellement toxique (Baker, 2003). Un tiers des traitements des maladies inflammatoires de l'intestin s'avère soit inefficace, soit toxique (Seidman, 2003). Les principaux effets secondaires observés sont une aplasie médullaire d'apparition progressive (le plus fréquent), une hépatotoxicité et une pancréatite aiguë (Baker, 2003). L'incidence de ces effets secondaires a été évaluée de 5 à 25% des patients traités (Baker, 2003). Dans une étude portant sur 90 cas d'aplasie médullaire due à l'AZA, la mortalité atteint 18% (Anstey et coll, 1992). Le traitement est momentanément ou définitivement arrêté si des signes de toxicité apparaissent. La reprise du traitement s'accompagne d'une diminution de la dose. La pression thérapeutique est donc relâchée et le patient est plus exposé aux rechutes. Les effets indésirables peuvent être rattachés à des modifications de l'activité de la TPMT dont l'origine génétique a été mise en évidence (Yates et coll, 1997). A l'heure actuelle, dix allèles mutants du gène codant pour la TPMT ont été associés à un déficit dans son activité. Trois d'entre eux sont retrouvés dans 80 à 95% des personnes déficientes en TPMT : TPMT*3A (le plus courant), TPMT*2 et TPMT*3C. Des différences ethniques importantes ont été observées dans la répartition des allèles : TPMT*3C est l'unique variant présent dans la population chinoise, tandis qu'il n'y a que TPMT*3A chez les Indiens et les Pakistanais (Innocenti et coll, 2000). La fréquence de l'allèle TPMT*3A dans la population totale varie de 0% chez les Kenyans, Ghanéens, Chinois, Japonais et Thaïlandais à 5,7% chez les Caucasiens français (Baker, 2003). La transmission d'un allèle mutant s'effectue selon un mode autosomal codominant. D'autre part il est possible de mesurer l'activité de la

TPMT dans les globules rouges. La population peut être classée en trois catégories selon l'activité de la TPMT : haute, intermédiaire ou basse. Cette activité enzymatique est fortement corrélée au génotype (Yates et coll, 1997) :

Tableau II : Correspondance entre génotype et phénotype de la ThioPurine MéthylTransférase (TPMT), prévalence chez les Caucasiens et Africains et conséquences cliniques sur la base d'un traitement quotidien par voie orale de 2,5 ans (Relling et coll, 1999).

Génotype	Phénotype = activité TPMT	Prévalence du phénotype	Durée moyenne à partir de laquelle le traitement doit être modifié à cause des effets secondaires (étude rétrospective).
Homozygote sauvage	Haute	90 à 95%	2 ans et 1 mois
Hétérozygote	Intermédiaire*	5 à 10%	1 an et 9 mois
Homozygote mutant	Basse*	0,3%	9 semaines

* Personnes exposées à un risque toxique accru

Au vue de ces considérations, un test PCR de génotypage de la TPMT a été commercialisé et est utilisé en routine. Le fait de connaître le degré d'activité de la TPMT permet d'adapter la dose administrée et de rendre plus sûre l'administration d'AZA. Ainsi, un patient déficient en TPMT a 90% de chances de subir une aplasie médullaire sans test, contre 10% si le test a été réalisé avant le début du traitement (Veenstra et coll, 2000). L'Office de Pharmacologie et de Biopharmaceutique Clinique américain, affilié à la Food and Drug Administration, a proposé d'ajouter à la notice des médicaments concernés la mention : « Les tests de génotypage et de phénotypage de la TPMT sont disponibles dans le commerce. Une attention particulière doit être portée au dépistage systématique du statut des patients vis-à-vis de la TPMT. Les patients ayant une activité TPMT basse ou intermédiaire tolèrent seulement un dixième et la moitié de la dose moyenne de 6-MP, respectivement » (Lesko, 2003).

Le 5-FU (Fluorouracile Dakota®) est un médicament anti-cancéreux analogue des bases pyrimidiques. Il est utilisé en formulation injectable dans le traitement de nombreux cancers (sein, voies aériennes, colon, rectum). 10-20% seulement de la dose administrée est disponible, tandis que les 80-90% restants sont inactivés dans le foie par la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) (Innocenti et coll, 2000). Les effets secondaires majoritairement observés sont neurologiques, hématologiques et gastro-intestinaux. Ils sont associés notamment à une déficience partielle (3 à 5% de la population) ou totale (0,1%) en DPD. Le

premier cas de déficit en DPD a été décrit en 1988 chez une femme de 40 ans, traitée pour un cancer du sein avec des doses usuelles de 5-FU, et ayant présenté des troubles neurologiques (Diasio et coll, 1988).

Le gène codant pour la DPD a été identifié et baptisé DPYD. A l'heure actuelle quatorze allèles mutants sont répertoriés, dont huit sont rares et n'ont pas d'influence sur l'activité de la DPD. Les trois allèles les plus fréquents sont DPYD*2A, DPYD*4 et DPYD*6. Leur transmission suit un mode autosomal récessif. Le génotype homozygote pour l'allèle DPYD*6 est associé à une activité DPD basse. Les variations de génotype impliquant les allèles DPYD*2A et DPYD*4 sont moins systématiquement associées à des variations d'activité enzymatique. Leur rôle dans la baisse d'activité de la DPD n'est pas clair pour l'instant (Collie-Duguid et coll, 2000). Actuellement les recherches s'orientent vers le promoteur du DPYD pour expliquer le polymorphisme phénotypique.

L'activité de la DPD peut être mesurée sur biopsie hépatique (DPD_{FOIE}) et sur les cellules sanguines mononucléées (DPD_{SANG}). Le tableau III donne les avantages et les inconvénients de l'utilisation du test DPD_{SANG} .

Malgré ses inconvénients, la mesure de l'activité DPD dans le sang est le seul test réalisable en routine. Excepté pour les homozygotes DPYD*6, aucune relation claire n'a été établie entre la présence d'allèles mutants de DPYD et une activité DPD diminuée. Un test génétique n'est donc pas justifié à l'heure actuelle. En revanche des solutions alternatives sont recherchées, comme l'étude pharmacocinétique du métabolisme du 5-FU après administration d'une dose test (Bocci et coll, 2000) ou la co-administration de 5-FU à faible dose et d'inhibiteur de la DPD mimant une déficience totale de cette enzyme (Schilsky et Kindler, 2000).

Tableau III : Avantages et inconvénients du test de mesure de l'activité DihydroPyrimidine Déshydrogénase (DPD) sur les cellules sanguines mononucléées (Innocenti et coll, 2000 ; Chazal et coll, 1996).

Avantages	Inconvénients
Corrélation positive entre les activités DPD_{SANG} et DPD_{FOIE} .*	Corrélation moyenne entre les activités DPD_{SANG} et DPD_{FOIE} ($r=0,56$).*

Corrélation négative entre activité DPD_{SANG} et l'apparition d'effets secondaires.	Variabilité individuelle (circadienne) et inter-individuelle (composition sanguine en cellules mononucléées).
Méthode non invasive.	Seuil critique difficile à fixer (dépend de la méthode de dosage). Cher, lourd à gérer.

* DPD_{SANG} : activité DPD mesurée sur les cellules sanguines mononucléées,
 DPD_{FOIE} : activité DPD mesurée sur biopsie hépatique.

Le polymorphisme génétique de la fonction hépatique a déjà été le sujet de nombreuses études. Le temps de demi-vie d'élimination plasmatique de l'antipyrine (qui est un marqueur de fonction hépatique, cf. infra) a été déterminé chez des jumeaux humains homozygotes et hétérozygotes. La variabilité intrapaire de ce paramètre était significativement plus faible chez les jumeaux homozygotes que chez les jumeaux hétérozygotes (Vesell et Page, 1968b). De tels résultats suggèrent une forte participation génétique au déterminisme de la fonction hépatique chez l'homme.

De nombreuses études pharmacogénétiques concernent des molécules éliminées par voie hépatique. L'administration de certaines molécules était liée à une incidence élevée d'effets secondaires voire de décès, ceux-ci survenant de manière imprévisible. L'origine de ces accidents a donc été recherchée et la responsabilité du polymorphisme génétique d'une étape du métabolisme hépatique a été mise en évidence. C'est le cas par exemple du 5-FU, de l'irinotecan et de la warfarine, cités dans le tableau I. Ces exemples suggèrent que le déterminisme du métabolisme hépatique est principalement génétique.

La présente étude considère la fonction oxydative du foie, en étudiant son déterminisme génétique grâce à un marqueur de cette fonction qui est l'antipyrine.

II- Clairance hépatique

1- Définition et intérêt du calcul de clairance

Dans les sinusoides hépatiques, les échanges se produisent entre le sang et les hépatocytes. Une molécule présente dans le sang et dont le métabolisme fait intervenir le foie

sera captée et métabolisée par les hépatocytes. Cette activité d'épuration sanguine est mesurée en particulier par la clairance hépatique.

La clairance hépatique d'une substance représente le volume de sang traversant le foie totalement débarrassé de cette substance par minute. D'après cette définition, la clairance va dépendre de deux paramètres : la capacité du foie à extraire la substance du sang, et le débit sanguin hépatique.

$$Cl_H = Q_H \cdot E_H$$

Cl_H : clairance hépatique,

Q_H : débit sanguin hépatique (variable physiologique),

E_H : coefficient d'extraction hépatique (dépend de la molécule).

Selon la molécule concernée, deux cas de figure peuvent se présenter.

Dans le premier cas la molécule est fortement captée et métabolisée par le foie (E_H est élevé) : le facteur limitant est dans ce cas le débit sanguin hépatique (E_H tend vers 1 donc Cl_H tend vers Q_H). Le calcul de la clairance de la molécule sera un moyen indirect d'estimer le débit sanguin hépatique (Schoemaker et coll, 1998 ; Jalan et Hayes, 1995). Un exemple de substance possédant ces propriétés et utilisée dans l'estimation du débit sanguin hépatique est le vert d'indocyanine.

Dans le deuxième cas, la molécule est faiblement captée et métabolisée par le foie (E_H est faible) : le facteur limitant est dans ce cas la capacité intrinsèque du foie à métaboliser cette substance. La clairance hépatique dépend donc de la clairance intrinsèque du foie qui est la capacité des hépatocytes à éliminer irréversiblement une substance véhiculée par le sang en dehors de toute influence du débit sanguin hépatique. Une molécule possédant ces propriétés est par exemple l'antipyrine.

IV-

Après administration intraveineuse d'une molécule, sa clairance plasmatique est calculée par la formule suivante :

$$Cl = \text{Dose} / \text{AUC}$$

Dose : dose injectée par voie intraveineuse,

AUC : aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps.

Pour une molécule à élimination exclusivement hépatique, la clairance extrahépatique étant nulle, la clairance plasmatique est égale à la clairance hépatique. Pour une molécule possédant d'autres voies d'élimination, il faut calculer sa clairance pour les autres voies d'élimination et les soustraire à la clairance totale.

2- Propriétés d'un bon marqueur de fonction hépatique

Un marqueur de fonction hépatique est une molécule possédant les propriétés suivantes :

- métabolisme exclusivement hépatique ;
- coefficient d'extraction faible pour pouvoir négliger la participation du débit sanguin hépatique à la clairance hépatique ;
- fraction libre plasmatique forte, c'est-à-dire faible pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques.

Les molécules à fort coefficient d'extraction sont donc exclues : sorbitol, vert d'indocyanine, galactose.

Plusieurs molécules possédant un faible coefficient d'extraction ont été utilisées (Jalan et Hayes, 1995). L'antipyrine est la plus souvent citée, son utilisation est détaillée dans la troisième partie.

L'aminopyrine marquée au ^{14}C a été utilisée : administrée par voie orale ou intraveineuse, elle est exclusivement métabolisée par les oxydases hépatiques et l'élimination se fait sous la forme de $^{14}\text{CO}_2$ qui est dosé dans l'air expiré. Ce test est plus rapide que le test à l'antipyrine car les échantillons sont prélevés toutes les 15 minutes pendant deux heures. Par contre, la radioactivité administrée n'est pas négligeable, ce qui contre-indique le test chez certaines personnes (femmes enceintes, enfants). De plus, un personnel qualifié en radioprotection, des locaux et un matériel agréés sont requis.

La caféine possède également les caractéristiques d'un bon marqueur de la fonction oxydative hépatique : elle ne se lie pas aux protéines plasmatiques, elle est presque exclusivement éliminée par les oxydases hépatiques et possède un faible coefficient d'extraction hépatique. Après l'administration de caféine, des échantillons de différentes sortes peuvent être prélevés : air expiré (de la caféine marquée au ^{14}C est utilisée), salive ou

plasma. Le seul problème réside dans les inductions et inhibitions auxquelles sont soumises les enzymes métabolisant la caféine, ce qui aboutit à une relative imprécision de la méthode. De plus, dans le cadre de l'utilisation en médecine humaine, il faut veiller à ce que les personnes incluses dans ces études ne consomment pas de caféine avant et pendant le test.

III- Antipyrine

1- Propriétés physico-chimiques et dosage

L'antipyrine ou phénazone (figure 2) a été synthétisée pour la première fois en 1884. Elle appartient à la même famille que la phénylbutazone : c'est un anti-inflammatoire non stéroïdien de la famille des pyrazolés.

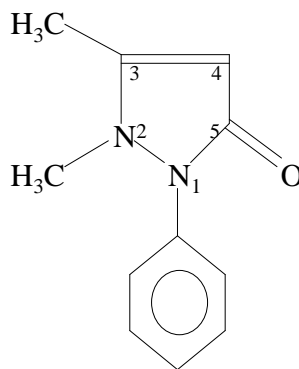


Figure 2 : Formule chimique de l'antipyrine.

Elle a été historiquement utilisée pour ses propriétés analgésiques et antipyrétiques mais son utilisation principale de nos jours est la réalisation du test à l'antipyrine pour l'évaluation de la fonction oxydative du foie.

Le dosage de l'antipyrine a été effectué de diverses manières : spectrophotométrie, chromatographie en phase gazeuse, test radioimmunologique, mais c'est la méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) décrite par Teunissen et coll en 1983 qui est reconnue comme la méthode de référence.

2- Métabolisme

Lorsqu'elle est administrée par voie orale (utilisation historique), l'antipyrine est rapidement et totalement absorbée par le tube digestif. Ensuite sa distribution se fait dans l'eau totale, et la fraction fixée aux protéines plasmatiques est négligeable.

L'antipyrine est une molécule à métabolisme presque exclusivement hépatique : elle est prise en charge par les mono-oxygénases, qui sont des enzymes liées au cytochrome P450. Chez l'homme, moins de 5% de la dose administrée se retrouve inchangée dans les urines (Pautet et coll, 1985). Sa particularité est d'avoir un coefficient d'extraction hépatique faible ($E_H < 0,3$), ce qui signifie que le facteur limitant de son métabolisme sera la capacité du foie à la dégrader. Les principales voies métaboliques de dégradation de l'antipyrine ont bien été décrites (figure 3). Chez l'homme, les voies du métabolisme de l'antipyrine sont les suivantes (Pautet et coll, 1985) :

- la **4-hydroxyantipyrine (4-OHA)** est formée par C-hydroxylation de l'atome de carbone C₄ du cycle pyrazolone. Elle est éliminée exclusivement sous les formes glucurono- et sulfoconjuguées. 30 à 40 % de la dose d'antipyrine est transformée en 4-hydroxyantipyrine ;
- la **3-hydroxyméthylantipyrine (HMA)** est obtenue par C-hydroxylation du groupement méthyle fixé sur l'atome de carbone C₃. Elle est principalement éliminée sous forme libre. 10 à 30% de la dose d'antipyrine suit cette voie ;
- la **norantipyrine (NORA)** ou N-déméthylantipyrine est formée par N-déméthylation sur l'atome d'azote N₂. Elle est éliminée sous forme glucurono- et sulfoconjuguée. 10 à 20% de la dose d'antipyrine est transformée en norantipyrine.

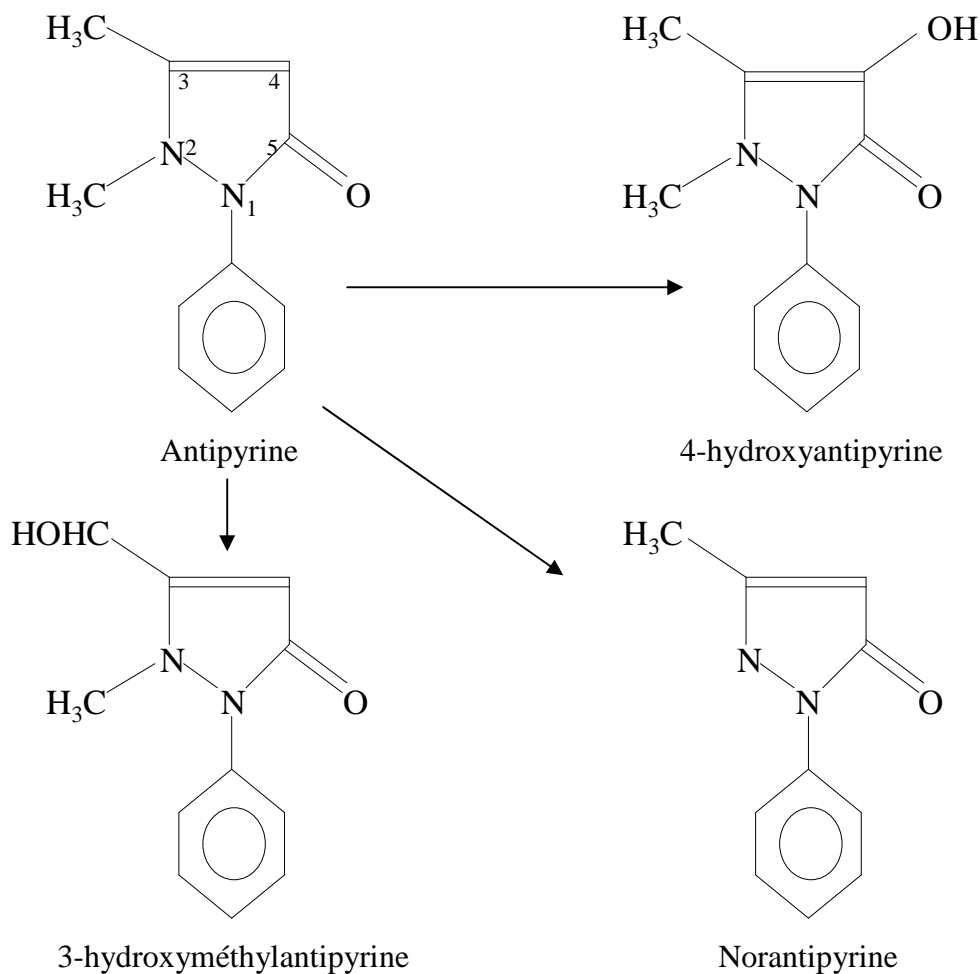


Figure 3 : Principales voies métaboliques de l'antipyrine.

Outre les trois métabolites majeurs de la phase I, six métabolites mineurs ont également été décrits. Ils ne sont pas développés ici.

Une partie du métabolisme de l'antipyrine reste inconnue. Après administration d'antipyrine, la somme de ses métabolites et de la fraction excrétée inchangée dans l'urine est inférieure à la dose administrée (Pautet et coll, 1985). La différence entre ces deux valeurs correspond à une ou plusieurs voies métaboliques inconnues incluant au moins une N-déméthylation (Uchino et coll, 1983).

Chez les bovins, les trois métabolites majeurs sont également la 4-hydroxyantipyrine, la 3-hydroxyméthylantipyrine et la norantipyrine. Chez des bovins de 18 mois, 41,1 à 45,1% de la dose d'antipyrine (selon le sexe) a été retrouvée dans l'urine sous la forme de 4-hydroxyantipyrine, qui est le métabolite majoritaire (Janus et Antoszek, 1999). En additionnant les quantités recueillies dans l'urine des trois métabolites et d'antipyrine (fraction excrétée inchangée), la dose totale administrée n'est pas retrouvée, ce qui montre qu'une partie du

métabolisme de l'antipyrine chez les bovins reste également inconnue (tableau IV).

Tableau IV : Quantité d'antipyrine et de ses métabolites retrouvée après administration intraveineuse d'antipyrine dans les urines de 10 bovins femelles et de 10 bovins mâles de 18 mois (collection sur 24h). Les valeurs moyennes sont exprimées en % de la dose injectée, l'écart-type est indiqué entre parenthèses (Janus et Antoszek, 1999).

	4 - O H A (%))	H M A (%)	N O R A (%)	Antip yrine (%)	T o ta l (%)
Femelles	4 5 , 1 (5 , 8)	3 1, 5 (4 ,1)	6,0 (1, 2)	2,5 (0,2)	8 5 , 1 (8 , 4)
Mâles	4 1 , 1 (6 , 0)	2 8, 0 (3 ,8)	5,8 (1, 0)	2,7 (0,4)	7 7 , 6 (8 , 2)

Légende du tableau IV :

4-OHA : 4-hydroxyantipyrine,

HMA : 3-hydroxyméthylantipyrine,

NORA : norantipyrine.

3- Facteurs de variations du métabolisme de l'antipyrine

i. Données chez l'homme.

Chez l'homme, il a été montré que le métabolisme de l'antipyrine est réduit chez les personnes âgées. Ainsi, Jorquera et coll en 1995 ont trouvé une diminution de la clairance de l'antipyrine de 38% et une augmentation de son temps de demi-vie de 64% chez un groupe de 177 personnes âgées (82 ans en moyenne) par rapport à un groupe de 25 adultes jeunes (29 ans en moyenne).

Des variations d'origine alimentaire ont été identifiées :

- Une diminution de l'apport énergétique journalier minore la clairance et majore le temps de demi-vie de l'antipyrine ; de plus, une réalimentation par voie parentérale (acides aminés et dextrose) permet de restaurer la valeur initiale de ces paramètres (Walter-Sack et Klotz, 1996) ;
- Une augmentation de la teneur en protéine du régime alimentaire a pour effet de stimuler le métabolisme de l'antipyrine (diminution du temps de demi-vie et augmentation de la clairance) (Walter-Sack et Klotz, 1996) ;
- La consommation régulière et en quantité de caféine est associée à une élimination accrue de l'antipyrine (Hartleb, 1991).

Le test à l'antipyrine étant beaucoup utilisé pour évaluer l'effet inducteur ou inhibiteur d'une molécule sur le métabolisme oxydatif du foie, beaucoup de données sont donc disponibles sur les substances qui font varier la clairance de l'antipyrine. Par exemple, le phénobarbital, l'hydrocortisone ou la spironolactone appartiennent aux inducteurs (ceux qui font augmenter cette clairance), et l'allopurinol appartient aux inhibiteurs (ceux qui font baisser cette clairance) (Vesell, 1979).

Teunissen et coll en 1982 ont comparé les paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine chez un groupe d'hommes et chez un groupe de femmes. Les valeurs de la clairance de l'antipyrine étaient identiques, même si le temps de demi-vie et le volume de distribution étaient plus élevés chez les hommes.

ii. *Données chez les bovins.*

Janus et Suszycka en 1996 ont déterminé la clairance plasmatique de l'antipyrine après administration d'un bolus intraveineux chez des lots de bovins de 1, 2, 4, 6, 8 et 12 semaines. Une augmentation significative des valeurs de la clairance a été constatée chez les lots de bovins de 6, 8 et 12 semaines (avec un facteur 1,6 entre le lot de 12 semaines et celui de 1 semaine).

Sur le même principe, la clairance plasmatique de l'antipyrine a été déterminée chez un lot de bovins à l'âge de 1 mois, puis 2, 4, 6, 8, 12 et 18 mois. Une augmentation significative des valeurs de la clairance avec l'âge des bovins a également été constatée, avec un facteur de 1,9 à 2,2 entre le lot de bovins à 1 mois et à 18 mois (Janus et Antoszek, 1999). Dans cette même étude, l'effet du sexe a été évalué pour chaque tranche d'âge. A partir du douzième mois, la clairance plasmatique de l'antipyrine était significativement plus élevée chez les femelles (facteur 1,2 au 18^{ème} mois), et le temps de demie-vie significativement plus court. L'effet du sexe a également été évalué chez des bovins plus âgés. Les femelles avaient des valeurs de clairance plasmatique de l'antipyrine plus élevées d'un facteur 1,45 environ (Witkamp et coll, 1991). Cependant les femelles étaient en moyenne plus âgées que les mâles ($5,1 \pm 1,9$ ans contre $2 \pm 0,2$ ans pour les mâles). L'effet de l'âge n'ayant pas été déterminé sur des lots de bovins matures, ce résultat doit être interprété avec précaution.

Le tableau V reprend les valeurs de la clairance plasmatique de l'antipyrine et de son temps de demi-vie trouvées par Janus et Antoszek, 1999 et Witkamp et coll, 1991 sur des bovins adultes.

Tableau V : Valeurs moyennes des clairances plasmatiques et des temps de demi-vie de l'antipyrine déterminées dans deux études portant sur des bovins adultes, en fonction du sexe (l'écart-type est indiqué entre parenthèses) (Witkamp et coll, 1991 ; Janus et Antoszek, 1999).

	Witkamp et coll, 1991		Janus et Antoszek, 1999	
	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles
Age des bovins (ans)	5,1 (1,9)	2,0 (0,2)	1,5	1,5
Clairance	5,83 (1,16)	4,00 (0,30)	1,73 (0,19)	1,40 (0,15)

(mL/kg/min)				
Demi-vie (h)	1,69 (0,27)	2,69 (0,44)	3,80 (0,40)	5,00 (0,50)

Enfin, une diminution rapide de la clairance de l'antipyrine a été mise en évidence lors d'une restriction hydrique de courte durée chez des veaux de 25 jours. En 96 heures, la clairance plasmatique de l'antipyrine était passée de 0,75 (\pm 0,07) mL/min/kg à 0,56 (\pm 0,05) mL/min/kg (Janus et coll, 1997).

L'effet de nombreuses molécules sur les paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine a été évalué. Dans l'étude menée par Depelchin et coll en 1987, le temps de demi-vie de l'antipyrine a été déterminé avant et après administration de dexaméthasone (une dose intraveineuse 3 heures avant le test) ou de griséofulvine (administration *per os* pendant 5 jours avant le test) chez des veaux de 14 à 90 jours. Sur le même principe, l'effet de l'oxytétracycline et du chloramphénicol (une dose intraveineuse 3 heures avant le test) a été testé. Le tableau VI expose l'évolution des valeurs du temps de demi-vie obtenues avant et après administration de ces composés.

Tableau VI : Variation des valeurs moyennes du temps de demi-vie d'élimination plasmatique de l'antipyrine ($T_{1/2}$) due à l'administration de dexaméthasone, de griséofulvine, d'oxytétracycline ou de chloramphénicol chez des veaux de 25 à 90 jours (l'écart-type est indiqué entre parenthèses) (Depelchin et coll, 1987).

Age des veaux	n	Molécule	$T_{1/2}$ avant administration	$T_{1/2}$ après administration	Variation du $T_{1/2}$
28-72 j	4	dexaméthasone	4,45 (0,92)	3,21 (0,98)	- 28%
25-34 j	4	griséofulvine	5,59 (2,15)	2,93 (1,89)	- 48%
25-42 j	4	oxytétracycline	4,91 (1,43)	7,92 (3,72)	+ 61%
34-90 j	5	chloramphénicol	3,40 (1,44)	14,28 (4,33)	+320%

Le temps de demi-vie a significativement diminué après l'administration de dexaméthasone et de griséofulvine, ce qui confirme un effet d'induction de ces molécules sur les mono-oxygénases hépatiques métabolisant l'antipyrine. Au contraire, ce paramètre a significativement augmenté après l'administration d'oxytétracycline et de chloramphénicol, ce qui montre un effet inhibiteur de ces molécules sur le métabolisme oxydatif du foie.

V-

iii. Données chez d'autres espèces

La mise en place de cathéters intraveineux pendant une durée prolongée (48h) a eu un effet négatif sur le métabolisme de l'antipyrine chez le rat : la clairance a diminué tandis que le temps de demi-vie a augmenté (Chindavijack et coll, 1988).

Un jeûne de 3 jours chez des chevaux a fait significativement baisser la clairance de l'antipyrine de $5,8 \pm 2,2$ à $4,6 \pm 1,7$ mL/kg/min, soit une diminution d'environ 22% (Engelking et coll, 1987).

4- A quoi peut servir le test à l'antipyrine ?

Parce que l'antipyrine est métabolisée exclusivement par les oxydases hépatiques, le test à l'antipyrine peut servir à estimer la capacité oxydative du foie (Hartleb, 1991). Cependant ce test n'est pas très spécifique et les résultats ne peuvent pas être extrapolés pour d'autres molécules (Vesell, 1979) : il ne sert pas à prédire la fonction hépatique ou à diagnostiquer une dysfonction. Par contre, il peut être utilisé dans le suivi de pathologies hépatiques, lorsque le malade constitue ses propres valeurs de référence, en effectuant des mesures répétées de clairance (Hartleb, 1991).

Le test à l'antipyrine a été largement utilisé pour évaluer le statut inducteur ou inhibiteur de certaines molécules sur le métabolisme oxydatif du foie, en effectuant un test avant et après administration de la molécule à tester. Sur le même principe, l'effet d'une modification environnementale peut être évalué.

L'étude présentée ici propose une évaluation de la variabilité inter-individuelle de la fonction oxydative du foie chez les bovins grâce au test à l'antipyrine. Un modèle original a été utilisé afin de s'affranchir de la variabilité inter-individuelle d'origine environnementale.

DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale

I- Matériels et méthodes

1- Animaux inclus dans l'étude

Six paires de bovins jumeaux ont été utilisées. Tous étaient des mâles castrés de race Prim'Holstein, âgés de 34 mois et pesant en moyenne 604 ± 33 kg.

Ces bovins ont été conçus par micromanipulation sur des embryons de 6 à 7 jours : extraction du blastocyste de la zone pellucide, séparation en deux moitiés égales, réintégration de chaque moitié dans une zone pellucide différente. Les deux embryons de chaque paire ont été implantés chez la même vache porteuse (Ozil et coll, 1982).

Depuis leur naissance les bovins n'avaient jamais été séparés et avaient donc vécu dans des conditions environnementales strictement identiques. Ils avaient également reçu la même alimentation et les mêmes traitements antiparasitaires.

Les animaux étaient logés dans une stabulation entravée, groupés par paires.

2- Mise en place des cathéters intraveineux

Un cathéter veineux central de 45 cm de longueur et de 1 mm de diamètre intérieur a été posé dans les veines jugulaires droite et gauche de chaque bovin. Ces cathéters ont été rincés avec une solution de chlorure de sodium isotonique hépariné (10 U/mL) et bouchés à la flamme.

Le jour de l'expérimentation, un embout d'aiguille de 19 G a été posé à l'extrémité des cathéters et adapté à un bouchon multiponction.

3- Administration de l'antipyrine

Une solution d'antipyrine a été préparée en rajoutant de l'antipyrine (Sigma A-5882, St Louis, USA) à de l'eau pour préparations injectables (Eau ppi Aguetant, Lyon, France) pour obtenir une concentration finale de 200 mg/mL. L'antipyrine a été administrée à la veine jugulaire gauche à raison de 3 mg/kg. Après l'administration, le cathéter a été rincé au chlorure de sodium isotonique.

4- Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins ont été effectués à partir du cathéter placé dans la veine jugulaire droite et selon le procédé suivant : élimination du sang contenu dans l'espace mort (2 mL), prélèvement de l'échantillon sanguin (5 mL), rinçage du cathéter (2 mL de chlorure de sodium isotonique hépariné à 10 U/mL). L'échantillon sanguin était placé dans un tube hépariné puis réfrigéré (glace pilée).

Les prélèvements ont été réalisés aux temps suivants : 0, 2, 8, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480, 600, 720, 1440, et 2880 min après l'administration de l'antipyrine.

Les échantillons ont été centrifugés à 3000 tours par minute, puis le plasma a été extrait, aliquoté et congelé à -20°C jusqu'au dosage.

5- Dosage de l'antipyrine et de la 4-hydroxyantipyrine dans les échantillons

L'antipyrine et son métabolite principal, la 4-hydroxyantipyrine, ont été dosés selon une méthode par CLHP. Dans un premier temps, l'échantillon de plasma (200 μL) en présence de 100 μL de standard interne (acétophénétidine à 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a subi une extraction sur cartouche C_8 . Après conditionnement et dépôt de l'échantillon, l'élution a été réalisée avec un mélange dichlorométhane/méthanol (95/5, v/v). L'éluat a été évaporé à 40°C sous azote et l'extrait sec a été repris par 100 μL d'un mélange méthanol/hydrosulfite de sodium (50/50, v/v). La séparation des composés contenus dans l'extrait sec (10 μL) a été réalisée en utilisant une colonne Inertsil ODS3 (150 x 4,0 mm) éluée par un mélange tampon phosphate 25 mM $\text{pH}=7,2/\text{acétonitrile}$ (85/15, v/v) à un débit de 0,5 mL/min. La détection a été assurée par un spectrophotomètre d'absorption à une longueur d'onde de 254 nm.

La limite de détection était de 0,2 µg/mL pour l'antipyrine et de 0,5 µg/mL pour la 4-hydroxyantipyrine.

6- Analyse pharmacocinétique

L'analyse pharmacocinétique a été réalisée à l'aide du logiciel Winonlin (Version 4.0.1, Scientific Consulting Inc, Apex, USA) selon un modèle non compartimental. L'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps a été calculée par la méthode des trapèzes avec extrapolation à l'infini à partir des 3 à 6 dernières valeurs.

Pour l'antipyrine, les paramètres pharmacocinétiques calculés étaient la clairance plasmatique, le temps de demi-vie, le volume de distribution et le temps moyen de résidence. La clairance plasmatique a été déterminée en divisant la dose administrée par voie intraveineuse par l'aire sous la courbe. Le temps de demi-vie, le temps moyen de résidence et le volume de distribution ont été calculés grâce aux équations classiques (Gibladi et Perrier, 1982).

Pour la 4-hydroxyantipyrine, les paramètres pharmacocinétiques étaient sa concentration plasmatique maximale et l'aire sous la courbe, qui ont été corrigés par la dose d'antipyrine injectée.

7- Analyse statistique

Pour l'analyse statistique, le logiciel Systat (Version 5.03, SPSS Inc, Evanston, USA) a été utilisé.

Pour chaque paramètre pharmacocinétique, la moyenne, la médiane, l'écart-type et les valeurs minimum et maximum ont été déterminés.

Les hypothèses sont :

H_0 : il n'y a pas de différence significative entre la variabilité intrapaire et la variabilité interpaire du paramètre pharmacocinétique testé.

H_1 : il y a une différence significative entre la variabilité intrapaire et la variabilité interpaire du paramètre pharmacocinétique testé.

Nous fixons le risque P de rejeter H_0 alors qu'elle est vraie à 5%.

Les variables dont la variabilité a été étudiée sont les paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de son métabolite. Les sources de variation prises en compte sont la variabilité intrinsèque de chaque bovin et l'effet « paire ».

Le modèle statistique correspond à une analyse de variance à un facteur qui peut s'écrire :

$$Y_{i,j} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{i,j}$$

$Y_{i,j}$ est la valeur du paramètre considéré pour le bovin j de la paire i.

μ est l'effet moyen général.

α_i est l'effet différentiel de la paire i.

$\varepsilon_{i,j}$ est le résidu de l'analyse (écart du paramètre du bovin j à la moyenne de la paire i).

La variance des α_i mesure la variabilité interpaire.

La variance des $\varepsilon_{i,j}$ mesure la variabilité intrapaire.

Les coefficients de variation (CV) intrapaire et interpaire ont été calculés pour chaque variable selon les équations suivantes :

$$CV_{\text{intrapaire}} = \sqrt{\text{Variance}_{\text{intrapaire}}} / \text{Moyenne}$$

$$CV_{\text{interpaire}} = \sqrt{\text{Variance}_{\text{interpaire}}} / \text{Moyenne}$$

II- Résultats

1- Données brutes

La dose exacte d'antipyrine administrée était de $3,8 \pm 0,5$ mg/kg. La concentration de la solution d'antipyrine injectée était de 240 mg/mL.

Aucun effet indésirable de l'antipyrine n'a été observé durant l'expérimentation.

Au cours du dosage de l'antipyrine, un autre composé a été isolé et dosé : il s'agissait de la 4-hydroxyantipyrine, son métabolite principal. Lors des chromatographies les coefficients de variation intra- et inter-essai ont été inférieurs à 10%. La figure 4 montre un exemple de chromatogramme obtenu.

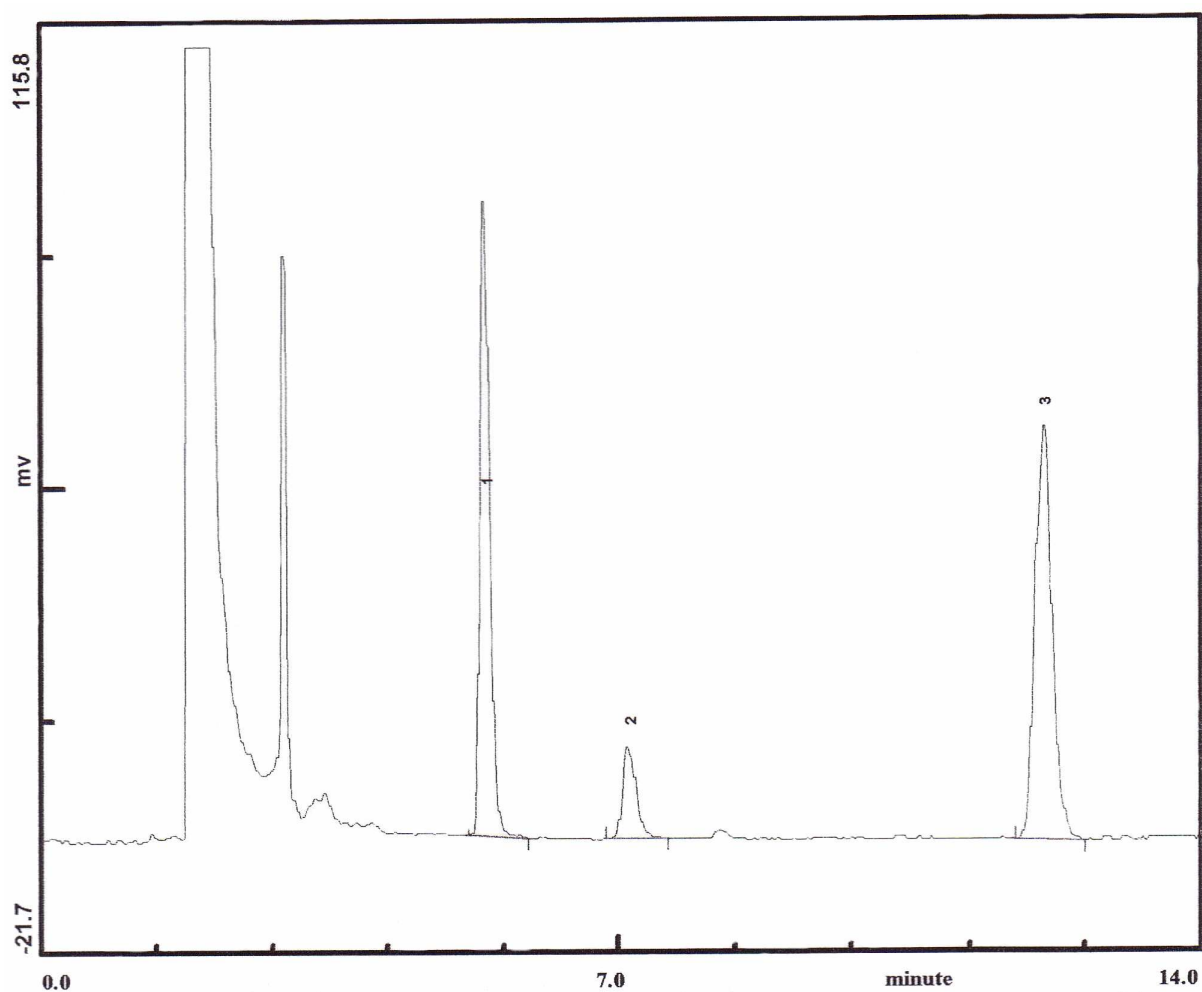


Figure 4 : Exemple de chromatogramme obtenu par chromatographie liquide à haute performance sur le plasma d'un bovin après administration d'un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

Légende de la figure 4 :

- 1 : pic correspondant à l'antipyrine,
- 2 : pic correspondant à la 4-hydroxyantipyrine,
- 3 : pic correspondant à l'acétophénétidine (standard interne).

Les données brutes (résultats des dosages et paramètres pharmacocinétiques) de l'antipyrine sont présentées dans l'annexe 1. Celles de la 4-hydroxyantipyrine sont présentées dans l'annexe 2.

La figure 5 représente les profils plasmatiques de la concentration en antipyrine pour les douze bovins.

L'antipyrine a été détectée dans le plasma de onze bovins jusqu'à 8 heures après son administration. Parmi ces onze bovins, trois avaient une concentration plasmatique en antipyrine plus élevée à 8 heures qu'à 6 heures. L'augmentation de la concentration plasmatique en antipyrine lors des derniers prélèvements étant biologiquement impossible, ces valeurs aberrantes n'ont pas été prises en compte chez les bovins concernés. Elles étaient en outre très proches de la limite de quantification.

Les figures 6 et 7 représentent les profils des concentrations plasmatiques en antipyrine pour chaque paire séparément.

Pour six bovins, la 4-hydroxyantipyrine est dosée dans le plasma jusqu'à 2 heures après l'administration de l'antipyrine. Pour cinq bovins, elle est détectée jusqu'à 4 heures après l'administration d'antipyrine. Pour un bovin, elle est détectée jusqu'à 6 heures après l'administration d'antipyrine.

La figure 8 représente les profils des concentrations plasmatiques en 4-hydroxyantipyrine pour les douze bovins.

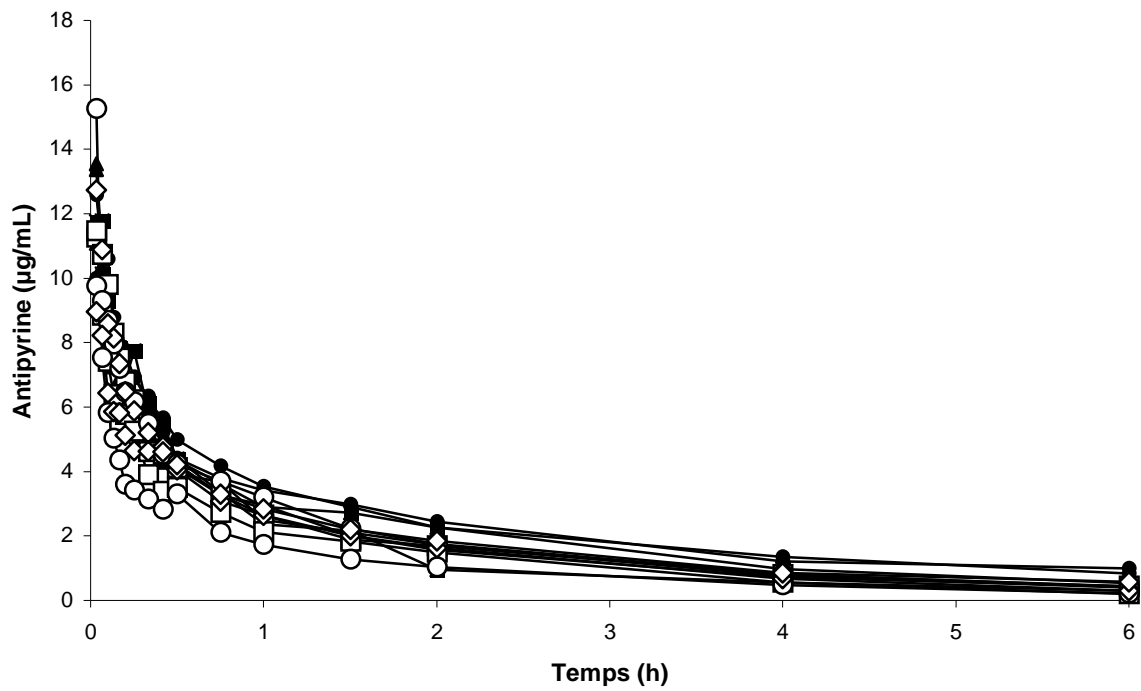


Figure 5 : Profils des concentrations plasmatiques d'antipyrine chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

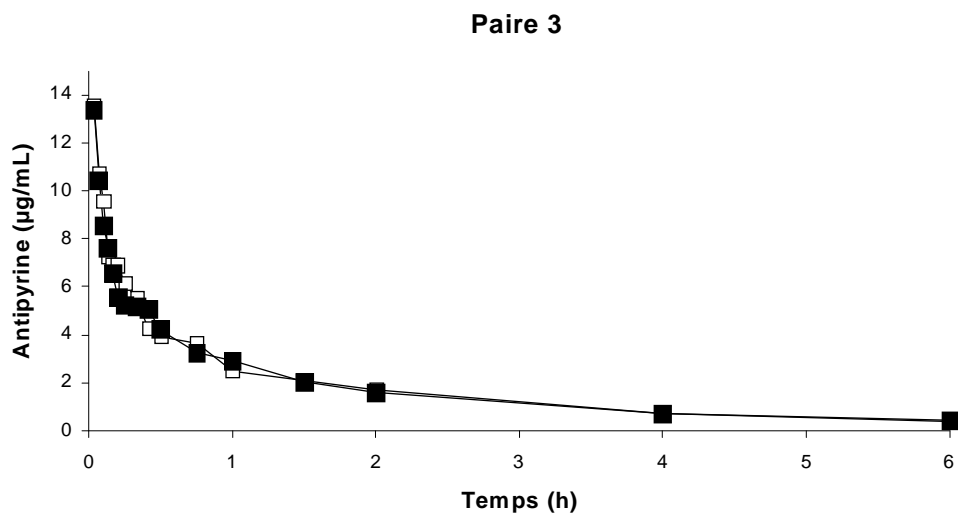
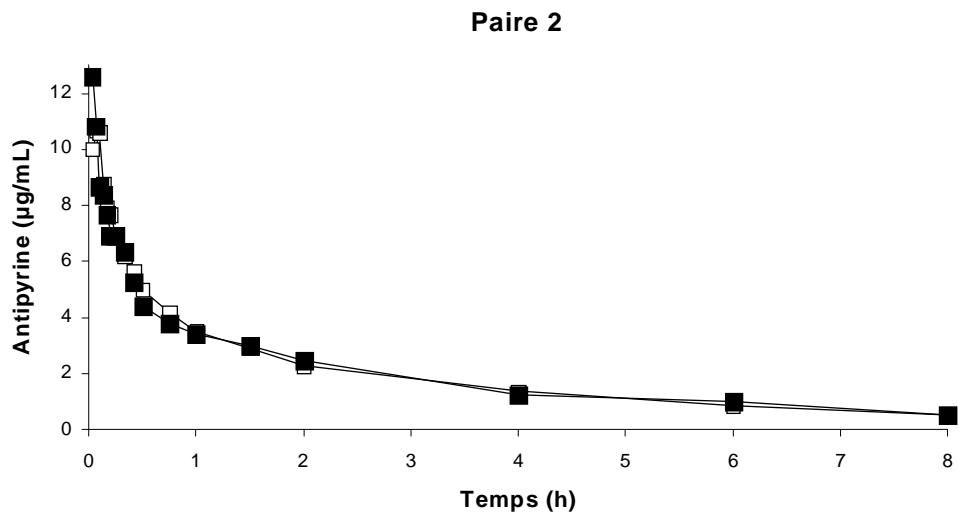
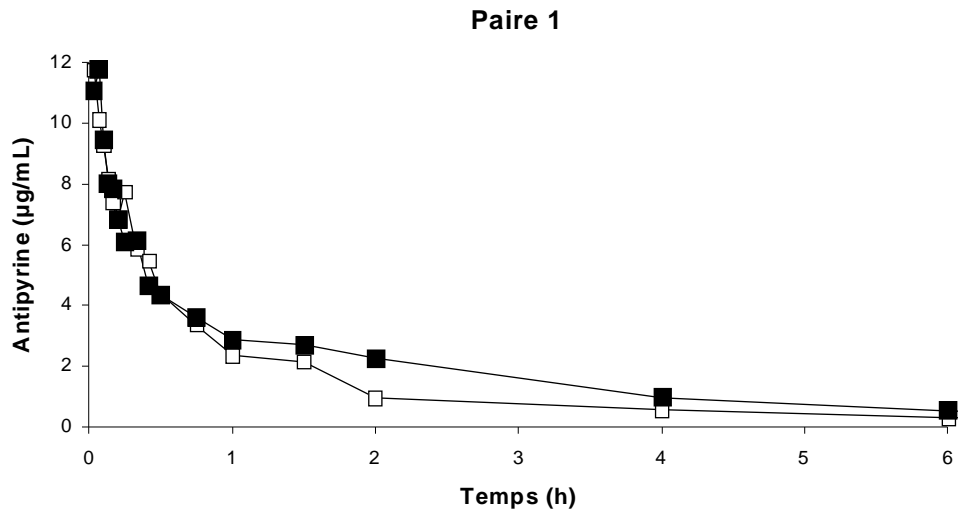


Figure 6 : Profils des concentrations plasmatiques d'antipyrine des paires 1, 2 et 3 de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

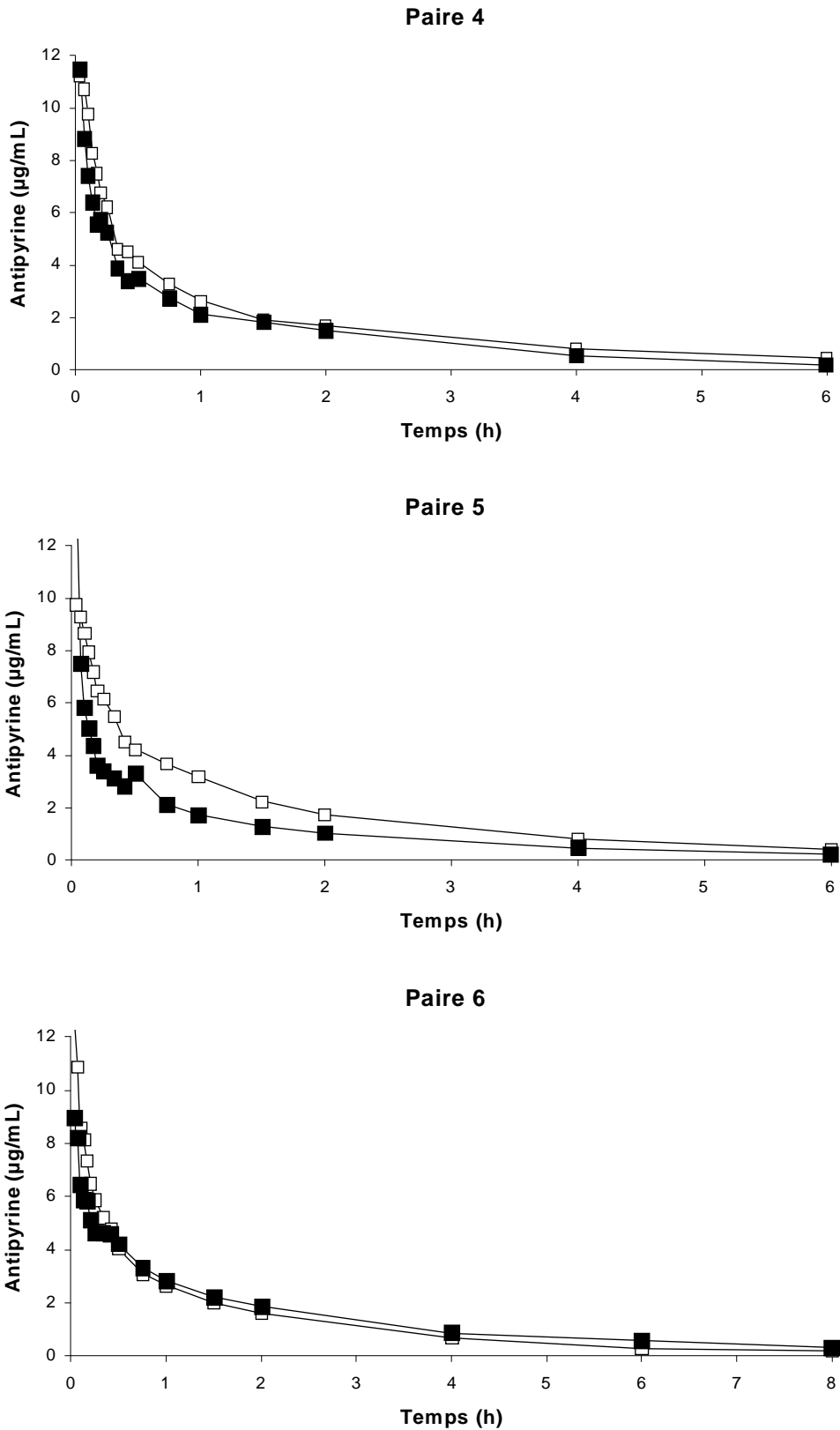


Figure 7 : Profils des concentrations plasmatiques d'antipyrine des paires 4, 5 et 6 de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

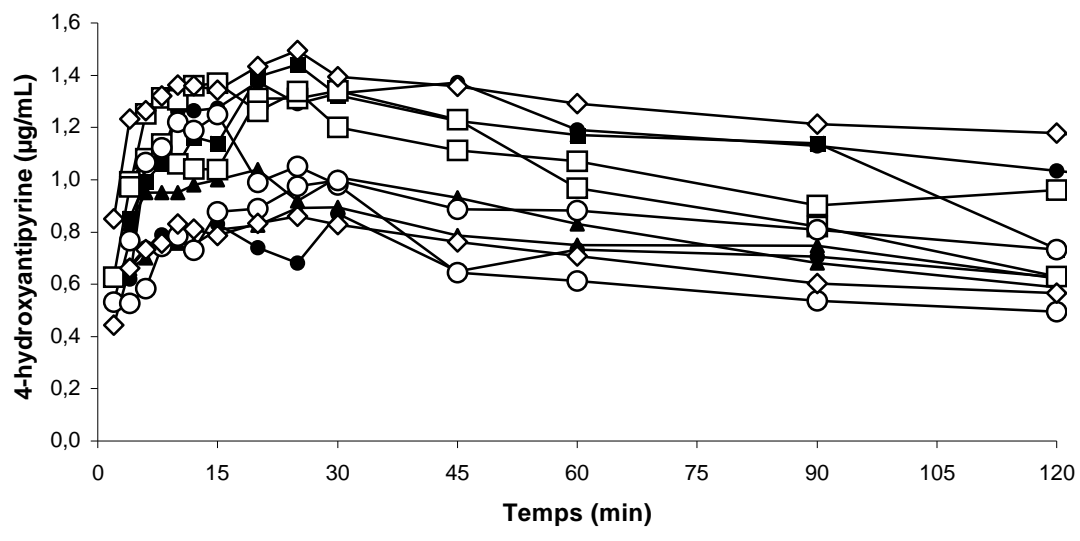


Figure 8 : Profils des concentrations plasmatiques en 4-hydroxyantipyrine chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

2- Paramètres pharmacocinétiques

Le pourcentage d'extrapolation de l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques de l'antipyrine en fonction du temps n'a pas excédé 20 %.

Les paramètres pharmacocinétiques individuels pour l'antipyrine sont indiqués dans le tableau VII.

Tableau VII : Paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

Paire	Bovins	T_{1/2} <i>min</i>	Clairance <i>mL/kg/min</i>	MRT <i>min</i>	V_{ss} <i>mL/kg</i>
1	A	143	6,05	127	767
	B	132	4,39	161	707
2	C	153	3,75	194	729
	D	159	3,42	202	692
3	E	111	5,36	130	695
	F	123	5,19	136	704
4	G	131	5,29	149	787
	H	85	7,00	102	717
5	I	123	5,28	141	745
	J	107	4,36	113	493
6	K	97	5,84	113	658
	L	150	5,12	180	921

Légende du tableau VII :

T_{1/2} : temps de demi-vie d'élimination de l'antipyrine,

Clairance : clairance plasmatique de l'antipyrine,

MRT : temps moyen de résidence de l'antipyrine,

V_{ss} : volume de distribution de l'antipyrine.

Les paramètres pharmacocinétiques individuels pour la 4-hydroxyantipyrine sont indiqués dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Paramètres pharmacocinétiques de la 4-hydroxyantipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

Paire	Bovins	Cmax/dose	AUCmet/dose
		kg/L	min.kg/L
1	A	0,37	34,62
	B	0,35	82,31
2	C	0,22	38,75
	D	0,24	43,24
3	E	0,27	25,13
	F	0,35	31,32
4	G	0,35	56,67
	H	0,32	21,79
5	I	0,25	25,00
	J	0,41	39,52
6	K	0,38	69,49
	L	0,34	68,25

Légende du tableau VIII :

Dose : dose d'antipyrine injectée,

Cmax : concentration plasmatique maximale du métabolite de l'antipyrine (4-hydroxyantipyrine),

AUC met : aire sous la courbe des concentrations plasmatiques du métabolite de l'antipyrine en fonction du temps.

Les statistiques descriptives des paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine sont présentées dans le tableau IX.

Tableau IX : Statistiques descriptives des paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

	T_{1/2}	Clairance	MRT	V_{ss}
	<i>min</i>	<i>mL/kg/min</i>	<i>min</i>	<i>mL/kg</i>
VI- Moyenne	126	5,10	146	718
SD	23,1	1,00	32,6	97,7
Minimum	85	3,42	102	493
Maximum	159	7,00	202	921
Médiane	127	5,24	139	712

Légende du tableau IX :

T_{1/2} : temps de demi-vie d'élimination de l'antipyrine,
 Clairance : clairance plasmatique de l'antipyrine,
 MRT : temps moyen de résidence de l'antipyrine,
 V_{ss} : volume de distribution de l'antipyrine,
 SD : écart-type (standard deviation).

Les résultats statistiques des paramètres pharmacocinétiques de la 4-hydroxyantipyrine sont présentés dans le tableau X.

Tableau X : Résultats statistiques des paramètres pharmacocinétiques de la 4-hydroxyantipyrine chez 12 bovins ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg.

	Cmax/dose	AUCmet/dose
	<i>kg/L</i>	<i>min.kg/L</i>
Moyenne	0,321	44,7
SD	0,062	19,9
Minimum	0,218	21,8
Maximum	0,410	82,3
Médiane	0,344	39,1

Légende du tableau X :

Dose : dose d'antipyrine injectée,

Cmax : concentration plasmatique maximale du métabolite de l'antipyrine (4-hydroxyantipyrine),

AUCmet : aire sous la courbe des concentrations plasmatiques du métabolite de l'antipyrine en fonction du temps,

SD : écart-type (standard deviation).

Le graphe représentant chaque paramètre individuel pour chaque paire de bovins est donné dans les figures 9 et 10.

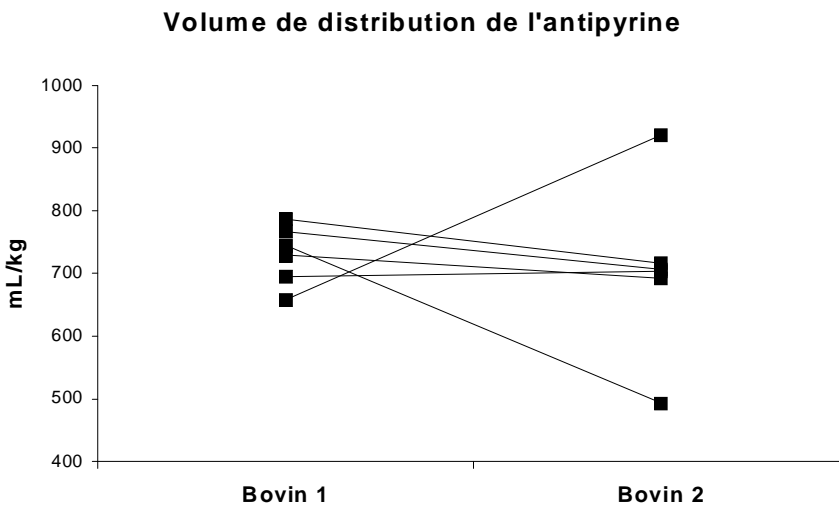
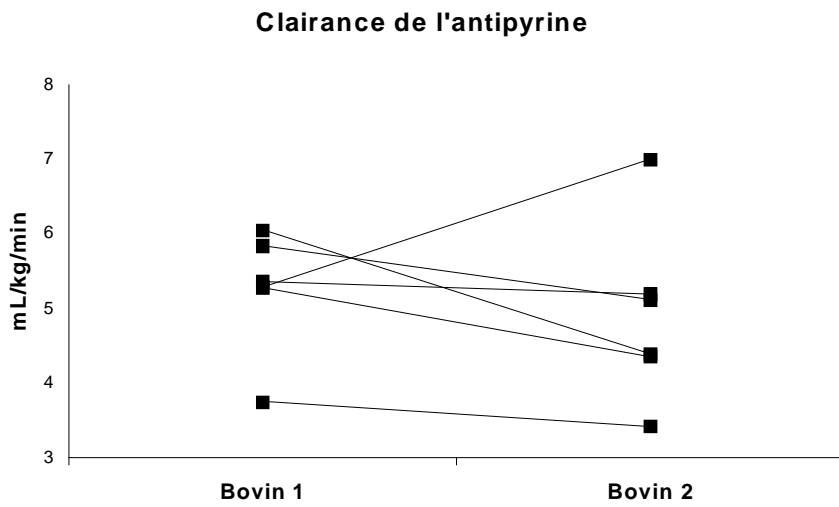
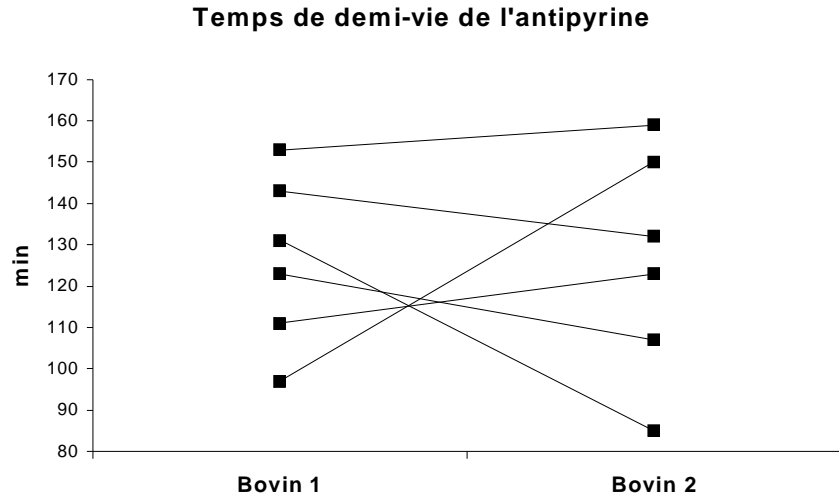


Figure 9 : Représentation graphique des différents paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de son principal métabolite obtenus chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg : temps de demi-vie, clairance plasmatique et volume de distribution de l'antipyrine. Chaque droite relie les valeurs de deux jumeaux d'une même paire.

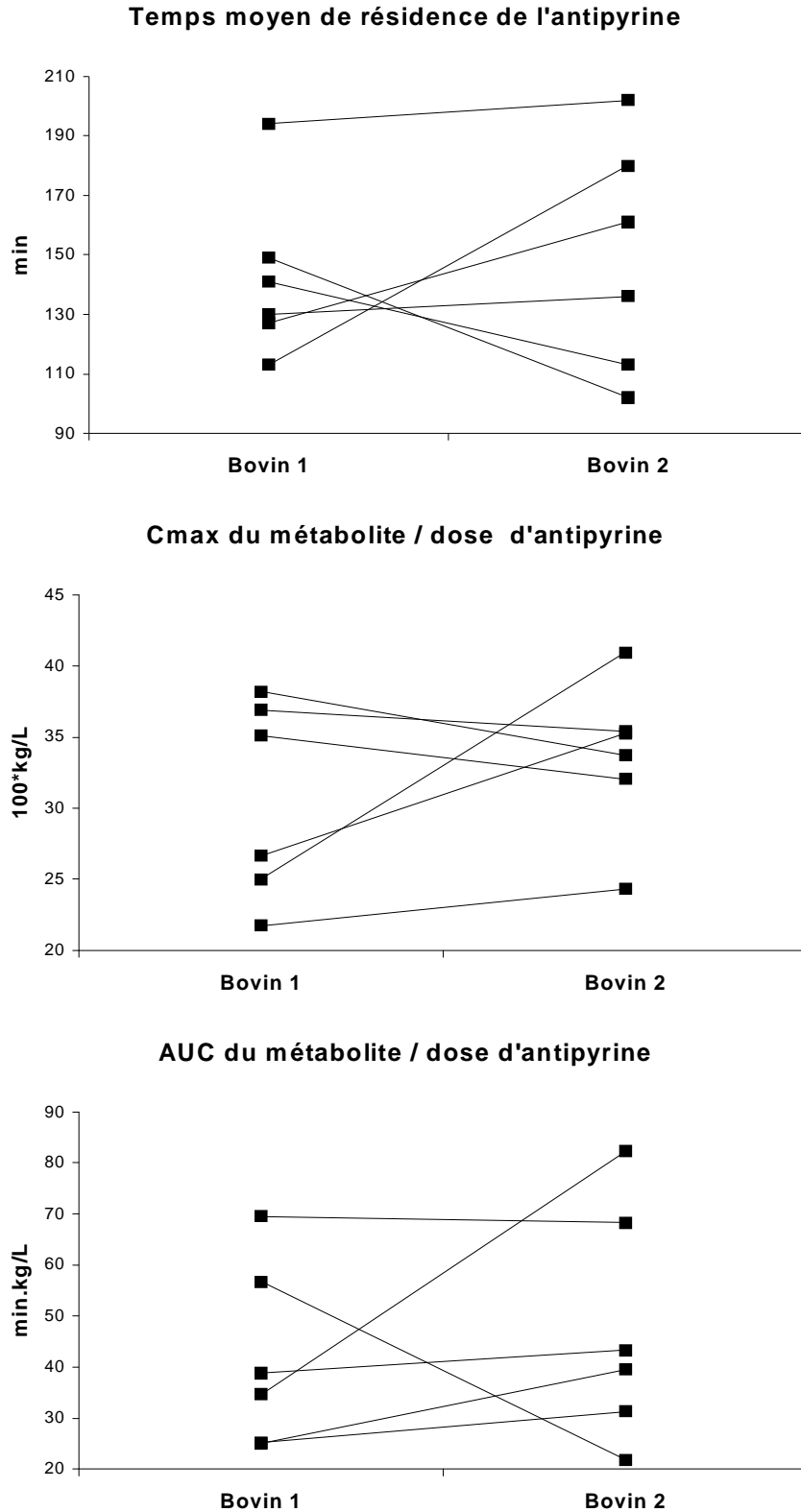


Figure 10 : Représentation graphique des différents paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de son principal métabolite obtenus chez 6 paires de bovins jumeaux ayant reçu un bolus intraveineux d'antipyrine à la dose de 3,8 mg/kg : temps moyen de résidence de l'antipyrine, concentration maximale et aire sous la courbe du métabolite ramenées à la dose d'antipyrine administrée. Chaque droite relie les valeurs de deux jumeaux d'une même paire.

3- Etude de la variabilité intra- et interpaire

L'annexe 3 présente le calcul des variances fourni par le logiciel Systat.

Le tableau XI présente le calcul des coefficients de variation (CV) intra- et interpaire de chaque paramètre pharmacocinétique. Le P pour tous les coefficients de variation était supérieur à 0,05.

Tableau XI: Calcul des coefficients de variation (CV) intra- et interpaire des paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de la 4-hydroxyantipyrine.

		Variance	SD	Moyenne	CV %
T_{1/2}	inter	626	25,01	126,17	19,8
<i>min</i>	intra	457	21,37	126,17	16,9
Clairance	inter	1,46	1,21	5,09	23,8
<i>mL/kg/min</i>	intra	0,60	0,77	5,09	15,2
MRT	inter	1463	38,25	145,67	26,3
<i>min</i>	intra	728	26,98	145,67	18,5
Vss	inter	6731	82,05	717,92	11,4
<i>mL/kg</i>	intra	11885	109,02	717,92	15,2
Cmax/dose	inter	0,005	0,07	0,32	22,0
<i>kg/L</i>	intra	0,003	0,05	0,32	17,1
AUCmet/dose	inter	497	22,30	44,67	49,9
<i>min.kg/L</i>	intra	313	17,70	44,67	39,6

Légende du tableau XI :

SD : écart-type (standard deviation),

CV % : coefficient de variation exprimé en pourcentage,

T_{1/2} : temps de demi-vie d'élimination de l'antipyrine,

Clairance : clairance plasmatique de l'antipyrine,

MRT : temps moyen de résidence de l'antipyrine,

Vss : volume de distribution de l'antipyrine,

Dose : dose d'antipyrine injectée,

Cmax : concentration plasmatique maximale du métabolite de l'antipyrine (4-hydroxyantipyrine),

AUC met : aire sous la courbe des concentrations plasmatiques du métabolite de l'antipyrine en fonction du temps.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre la variance intrapaire et la variance interpaire pour chaque paramètre pharmacocinétique.

III- Discussion

De nombreuses études ont été menées sur des jumeaux humains, toujours selon le même principe : un xénobiotique est administré à des paires de jumeaux homozygotes et des paires de jumeaux hétérozygotes ou frères. La cinétique de l'élimination du xénobiotique est alors effectuée et les paramètres pharmacocinétiques calculés et comparés. Une variance des paramètres pharmacocinétiques (le plus souvent le temps de demi-vie) chez les jumeaux homozygotes significativement plus faible que celle chez les jumeaux hétérozygotes traduit un déterminisme génétique du métabolisme du xénobiotique testé. Ainsi, il a été montré que les variations inter-individuelles dans le métabolisme des molécules suivantes sont gouvernées par des facteurs génétiques (liste non exhaustive) : l'amobarbital (Endrenyi et coll, 1976), l'antipyrine (Vesell et Page, 1968b), la phénylbutazone (Vesell et Page, 1968a), l'halothane (Cascorbi et coll, 1971). Il existe cependant un biais systématique dans ces études : il a été constaté que de nombreux jumeaux homozygotes vivent dans des conditions environnementales quasi-similaires. Certains vivent ensemble et d'autres ont tendance à créer spontanément les mêmes conditions de vie dans deux habitations différentes (Vesell, 1986). Les habitudes alimentaires et comportementales se rapprochent également. La contribution génétique à la variabilité inter-individuelle dans le métabolisme des molécules testées est donc surestimée (Vesell, 1986).

Dans cette étude, des bovins jumeaux ont été utilisés. Contrairement aux études précédemment décrites, ces animaux ont été élevés dans des conditions environnementales strictement identiques depuis leur naissance. Deux jumeaux ont le même matériel génétique. En comparant la variance intrapaire des paramètres pharmacocinétiques à leur variance interpaire, l'éventuel déterminisme génétique du métabolisme de la molécule étudiée peut être mis en évidence.

Les bovins utilisés étaient âgés de 34 mois soit 2,83 ans. La moyenne des valeurs de clairance plasmatique de l'antipyrine obtenues est de $5,1 \pm 1,0$ mL/kg/min. La moyenne des valeurs du temps de demi-vie de l'antipyrine est $126 \pm 23,1$ min, soit $2,1 \pm 0,4$ h. Le tableau XII expose ces valeurs, en comparaison avec celles obtenues dans d'autres études.

Tableau XII : Valeurs moyennes des clairances plasmatiques et des temps de demi-vie de l'antipyrine obtenues dans plusieurs études sur des bovins d'âge et sexe différents (l'écart-type est indiqué entre parenthèses).
(Janus et Antoszek, 1999 ; Witkamp et coll, 1991)

	Janus et Antoszek, 1999	Witkamp et coll, 1991	Présente étude	Witkamp et coll, 1991
Sexe des bovins	Mâles	Mâles	Mâles castrés	Femelles
Age des bovins (ans)	1,5	2,0 (0,2)	2,83	5,1 (1,9)
Clairance (mL/kg/min)	1,40 (0,15)	4,00 (0,30)	5,10 (1,00)	5,83 (1,16)
Demi-vie (h)	5,00 (0,50)	2,69 (0,44)	2,10 (0,40)	1,69 (0,27)

Les valeurs obtenues dans cette étude traduisent un métabolisme de l'antipyrine plus actif que sur les mâles des précédentes études (clairance plasmatique plus élevée, temps de demi-vie plus faible). Plusieurs hypothèses peuvent être formulées :

- Les bovins utilisés étaient plus âgés que les mâles utilisés dans les études précédentes. L'influence de l'âge sur le métabolisme de l'antipyrine a été étudiée sur des bovins jusqu'à 18 mois. Cependant, aucune donnée n'est disponible sur l'âge auquel ce métabolisme se stabilise. Il est donc possible qu'une augmentation de la clairance et une diminution du temps de demi-vie de l'antipyrine soient physiologiques jusqu'à 3 ans ;
- Les bovins utilisés étaient des mâles castrés, alors que les études précédentes utilisaient des bovins mâles non castrés. En outre, les femelles métabolisent mieux l'antipyrine que les mâles (Janus et Antoszek, 1999), mais l'origine de cette différence n'a pas été découverte. Une inhibition de ce métabolisme par les hormones sexuelles mâles n'est donc pas exclue. De plus, les valeurs obtenues sont intermédiaires entre

celles obtenues sur un groupe de bovins mâles et un groupe de bovins femelles par Witkamp et coll en 1991. Le problème est que l'âge des bovins est également intermédiaire. Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour faire la part des choses.

La comparaison des variances intrapaires et interpaires des paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine et de la 4-hydroxyantipyrine ne révèle aucune différence significative. Le déterminisme génétique de la fonction oxydative du foie chez les bovins ne semble donc pas être sous forte influence génétique. Ce résultat diffère de ce qui est connu chez l'homme, car beaucoup d'études pharmacogénétiques portent sur des molécules métabolisées par les oxydases hépatiques. En effet, de nombreux allèles des différents cytochromes P450 sont connus et associés à des variations de leur activité (Ingelman-Sundberg, 2001b). Par exemple, plus de 30 allèles du CYP 2D6 associés à des cytochromes défectifs ont été identifiés (Ingelman-Sundberg, 2001b). Des différences inter-individuelles d'origine génétique dans le métabolisme des molécules prises en charge par ces cytochromes sont donc observées. Le tableau XIII donne plusieurs exemples de ces molécules.

Tableau XIII : Exemples de cytochromes P450 possédant des allèles associés à des variations d'activités de l'enzyme et de molécules qu'ils prennent en charge (Rogers et coll, 2002).

Cytochromes P450	Molécules prises en charge
CYP2C9	Glypizide, phénytoïne, warfarine.
CYP2C19	Oméprazole, diazépam.
CYP2D6	Codéine, antidépresseurs tricycliques.

Les variabilités de cette fonction observées sur le terrain sont donc principalement dues à des facteurs environnementaux (alimentation, exposition à d'autres molécules), à des changements de statut physiologique (lactation, gestation par exemple), ou à des maladies.

Cette étude a évalué le déterminisme de la fonction oxydative du foie grâce à l'antipyrine. Les résultats obtenus pour cette fonction ne sont pas extrapolables à la fonction hépatique dans son ensemble. Des études utilisant d'autres marqueurs sont nécessaires afin d'explorer les autres voies métaboliques du foie.

Conclusion

Dans un contexte d'engouement de la communauté scientifique pour la pharmacogénétique, le déterminisme génétique de la fonction oxydative du foie a été évalué chez les bovins.

Pour cela, un modèle original a été utilisé afin de s'affranchir de l'influence de l'environnement sur les paramètres testés: les sujets étaient des bovins jumeaux de même âge et sexe ayant toujours vécu dans les mêmes conditions environnementales depuis leur naissance. Ainsi, les biais rencontrés dans les études portant sur des jumeaux humains ont été écartés et la participation des facteurs génétiques à la variabilité inter-individuelle n'a pas été surestimée. Ce modèle mérite donc d'être retenu et réutilisé dans des études futures.

Le métabolisme de l'antipyrine a surtout été étudié sur des bovins immatures. Très peu de données sont disponibles sur les paramètres pharmacocinétiques de l'antipyrine chez les bovins adultes. Cette étude apporte de nouvelles données, dont la comparaison avec les études précédentes soulève quelques questions : l'âge auquel le métabolisme de l'antipyrine se stabilise n'est pas connu et l'influence éventuelle d'hormones sexuelles est à envisager.

La fonction oxydative des bovins ne semble pas être sous contrôle génétique. Ce résultat diffère de ce qui est connu pour l'espèce humaine : le déterminisme génétique de cette fonction est établi et son exploration fait le sujet de nombreuses études.

Sur le même modèle, il est à envisager d'explorer d'autres voies du métabolisme hépatique car les résultats ici obtenus ne sont pas extrapolables à l'ensemble de la fonction hépatique.

Références bibliographiques

AITHAL, G.P., DAY, C.P., KESTEVEN, P.J.L., DALY, A.K.
Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications.
Lancet, 1999, **353**, 717-719.

ANSTEY, A., LENNARD, L., MAYOU, S.C., KIRBY, J.D.
Pancytopenia related to azathioprine – an enzyme deficiency caused by a common genetic polymorphism.
J. R. Soc. Med., 1992, **85**, 752-756.

BAKER, D.E.
Pharmacogenomics of azathioprine and 6-mercaptopurine in gastroenterologic therapy.
Rev. Gastroenterol. Disord., 2003, **3**, 3, 150-157.

BOCCI, G., DANESI, R., DI PAOLO, A.D., INNOCENTI, F., ALLEGRI, G., FALCONE, A., MELOSI, A., BATTISTONI, M., BARSANTI, G., CONTE, P.F., DEL TACCA, M.
Comparative pharmacokinetic analysis of 5-fluorouracil and its major metabolite 5-fluoro-5,6-dihydrouracil after conventional and reduced test dose in cancer patients.
Clin. Cancer Res., 2000, **6**, 3032-3037.

BROUWER, K.L., POLLACK, G.M.
Pharmacogenetics: Is the right drug for the right patient sufficient?
Adv. Drug Deliv. Rev., 2002, **54**, 1243-1244.

CASCORBI, H.F., VESELL, E.S., BALKE, D.A., HELRICH, M.
Genetic and environmental influence on halothane metabolism in twins.
Clin. Pharmacol. Ther., 1971, **12**, 50-55.

CHAZAL, M., ETIENNE, M.C., RENEE, N., BOURGEON, A., RICHELME, H., MILANO, G.
Link between dihydropyrimidine dehydrogenase activity in peripheral blood mononuclear cells and liver.
Clin. Cancer Res., 1996, **2**, 507-510.

CHINDAVIJAK, B., BELPAIRE, F.M., DE SMET, F., BOGAERT, M.G.
Alteration of the pharmacokinetics and metabolism of propranolol and antipyrine elicited by indwelling catheters in the rat.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 1988, **246**, 3, 1075-1079.

COLLIE-DUGUID, E.S., ETIENNE, M.C., MILANO, G., MC LEOD, H.L.
Known variant DPYD alleles do not explain DPD deficiency in cancer patient.
Pharmacogenetics, 2000, **10**, 217-223.

- DEPELCHIN, B.O., BLODEN, S., ANSAY, M.
Antipyrine disposition in calves. I. Effect of some drugs.
J. Vet. Pharmacol. Therap., 1987, **10**, 49-53.
- DIASIO, R.B., BEAVERS, T.L., CARPENTER, J.T.
Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase. Biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity.
J. Clin. Invest., 1988, **81**, 47-51.
- ENDRENYI, L., INABA, T., KALOW, W.
Genetic study of amobarbital elimination based on its kinetics twins.
Clin. Pharmacol. Ther., 1976, **20**, 701-714.
- ENGELKING, L.R., BLYDEN, G.T., LOFSTEDT, J., GREENBLATT, D.J.
Pharmacokinetics of antipyrine, acetaminophen and lidocaine in fed and fasted horses.
J. Vet. Pharmacol. Ther., 1987, **10**, 73-82.
- GIBALDI, M., PERRIER, D.
Pharmacokinetics. 2^e édition.
New York: Marcel Decker, 1982.
- GURWITZ, D.
Pharmacogenetic-oriented drug development.
Drug Discov. Today, 1999, **4**, 151-152.
- HARTLEB, M.
Drugs and the liver. Part II. the role of the antipyrine test in drug metabolism studies.
Biopharm. Drug Dispos., 1991, **12**, 559-570.
- INGELMAN-SUNDBERG, M.
Genetic and environmental causes for interindividual variability in drugs pharmacokinetics.
Int. Congr. Ser., 2001a, **1220**, 175-186.
- INGELMAN-SUNDBERG, M.
Implications of polymorphic cytochrome P450-dependent drug metabolism for drug development.
Drug Metab. Dispos., 2001b, **29**, 570-573.
- INNOCENTI, F., IYER, L., RATAIN, M.J.
Pharmacogenetics: a tool for individualizing antineoplastic therapy.
Clin. Pharmacokinet., 2000, **39**, 5, 315-325.
- JALAN, R., HAYES, P.C.
Review article: quantitative tests of liver function.
Aliment. Pharmacol. Ther., 1995, **9**, 263-270.
- JANUS, K., ANTOSZEK, J.
The effect of sex on antipyrine metabolism in cattle at different ages.
J. Vet. Pharmacol. Ther., 1999, **22**, 163-169.

- JANUS, K., MUSZCZYNSKI, Z., SUSZYCKA, J.
Influence of short-term water deprivation on antipyrine disposition in calves.
Res. Vet. Sci., 1997, **63**, 1-3.
- JANUS, K., SUSZYCKA, J.
Effect of age on the pharmacokinetics of antipyrine in calves.
Res. Vet. Sci., 1996, **60**, 234-237.
- JORQUERA, F., ALMAR, M.M., POZUELO, M., SANSEGUNDO, D., GONZALEZ-SASTRE, M., GONZALEZ-GALLEGO, J.
Effect of aging on antipyrine clearance: predictive factors of metabolizing capacity.
J. Clin. Pharmacol., 1995, **35**, 9, 895-901.
- KALOW, W.
Pharmacogenetics. Heredity and the response to drugs.
Philadelphia : Saunders, 1962.
- LAZAROU, J., POMERANZ, B.H., COREY, P.N.
Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies.
J. Am. Med. Assoc., 1998, **279**, 1200-1205.
- LEFEBVRE, H., TOSSER-KLOP, G., TOUTAIN, P.L., HATEY, F.
Evaluating variability in drug response: pharmacogenetics.
Am. Acad. Vet. Pharmacol. Toxicol., Charlotte, June 2002.
- LESKO, L.J.
Pharmacogenetics: improvement of existing drug treatments. Presentation to the Food and Drug Administration's clinical pharmacology subcommittee advisory committee for pharmaceutical sciences. Rockville, MD, 2003.
<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/03/slides/3947s2.htm> accédé le 20/04/04.
- MEALEY, K.L., BENTJEN, S.A., GAY, J.M., CANTOR, G.H.
Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene.
Pharmacogenetics, 2001, **11**, 727-733.
- OZIL, J.P., HEYMAN, Y., RENARD, J.P.
Production of monozygotic twins by micromanipulation and cervical transfer in the cow.
Vet. Rec., 1982, **110**, 126-127.
- PAUTET, F., BARRET, R., DAUDON, M., MATHIAN, B.
Métabolisme de l'antipyrine chez l'homme
Pathol. Biol., 1985, **33**, 7, 777-780.
- RELLING, M.V., HANCOCK, M.L., RIVERA, G.K., SANDLUND, J.T., RIBEIRO, R.C., KRYNETSKI, E.Y., PUI, C.H., EVANS, W.E.
Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus.
J. Natl. Cancer Inst., 1999, **91**, 2001-2008.

- ROGERS, J.F., NAFZIGER, A.N., BERTINO, J.S.
Pharmacogenetics affects dosing, efficacy, and toxicity of cytochrome P450–metabolized drugs.
Am. J. Med., 2002, **113**, 746-750.
- SALLOVITZ, J., LIFSCHITZ, A., IMPERIALE, F., PIS, A., VIRKEL, G., LANUSSE, C.
Breed differences on the plasma availability of moxidectin administered pour-on to calves.
Vet. J., 2002, **164**, 47-53.
- SAMS, R.A., MUIR, W.W., DETRA, R.L., ROBINSON, E.P.
Comparative pharmacokinetics and anaesthetic effects of methohexital, pentobarbital, thiamylal, and thiopental in Greyhound dogs and non-Greyhound, mixed-breed dogs.
Am. J. Vet. Res., 1985, **46**, 1677-1683.
- SCHILSKY, R.L., KINDLER, H.L.
Eniluracil: an irreversible inhibitor of dihydropyrimidine dehydrogenase..
Expert Opin. Investig. Drugs, 2000, **9**, 1635-1649.
- SCHOEMAKER, R.C., BURGGRAAF, J., COHEN, A.F.
Assessment of hepatic blood flow using continuous infusion of high clearance drugs.
Br. J. Clin. Pharmacol., 1998, **45**, 463-469.
- SEIDMAN, E.G.
Clinical use of TPMT enzyme and 6-mercaptopurine metabolite monitoring in IBD.
Rev. Gastroenterol. Disord., 2003, **3**, 1, 30-38.
- TEUNISSEN, M.W., MEERBURG-VAN DER TORREN, J.E., VERMEULEN, N.P., BREIMER, D.D.
Automated high-performance liquid chromatographic determination of antipyrine and its metabolites in plasma, saliva and urine, including 4,4' hydroxyantipyrine.
J. Chromatogr., 1983, **278**, 367-378.
- TEUNISSEN, M.W., SRIVATAVA, A.K., BREIMER, D.D.
Influence of sex and oral contraceptive steroids on antipyrine metabolite formation.
Clin. Pharmacol. Ther., 1982, **32**, 240-246.
- UCHINO, H., INABA, T., KALOW, W.
Human metabolism of antipyrine labelled with ¹⁴C in the pyrazolone ring or in the N-methyl group.
Xenobiotica, 1983, **13**, 3, 155-162.
- VEENSTRA, D.L., HIGASHI, M.K., PHILLIPS, K.A.
Assessing the cost-effectiveness of pharmacogenomics.
AAPS PharmSci. [on line]. Alexandria (USA): American Association of Pharmaceutical Scientists, 2000. [Cité en 2004]. Trimestriel. Disponible sur Internet:
<http://www.aapspharmsci.org/view.asp?art=ps020329>. ISSN 1522-1059
- VESELL, E.S.
The antipyrine test in clinical pharmacology: Conceptions and misconceptions.
Clin. Pharmacol. Ther., 1979, **26**, 3, 275-286.

VESELL, E.S.

Dynamic interactions among host factors that influence antipyrine metabolism: implications for the design and interpretation of studies on ethnic pharmacokinetic variations.
Prog. Clin. Biol. Res., 1986, **214**, 425-451.

VESELL, E.S., PAGE, J.G.

Genetic control of drug levels in man: phénylbutazone.
Science, 1968a, **159**, 1479-1480.

VESELL, E.S., PAGE, J.G.

Genetic control of drug levels in man: antipyrine.
Science, 1968b, **161**, 72-73.

WALTER-SACK, I., KLOTZ, U.

Influence of diet and nutritional status on drug metabolism.
Clin. Pharmacokinet., 1996, **31**, 1, 47-64.

WITKAMP, R.F., LOHUIS, J.A., NIJMEIJER, S.M., KOLKER, H.J., NOORDHOEK, J., VAN MIERT, A.S.

Species- and sex-related differences in the plasma clearance and metabolite formation of antipyrine. A comparative study in four animal species: cattle, goat, rat and rabbit.
Xenobiotica, 1991, **21**, 11, 1483-1492.

YATES, C.R., KRYNETSKI, E.Y., LOENNECHEN, T., FESSING, M.Y., TAI, H.L., PUI, C.H., RELING, M.V., EVANS, W.E.

Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance.
Ann. Intern. Med., 1997, **126**, 608-614.

Annexe 1 : Analyse pharmacocinétique : données brutes fournies par le logiciel Winonlin pour l'antipyrine.

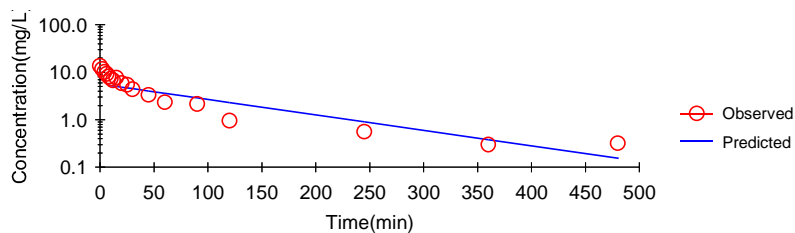
Subject=A

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	13.68			0.0000	0.0000	
2.000	11.77			25.45	23.54	
4.000	10.13			47.35	87.60	
6.000	9.310			66.79	184.0	
8.000 *	8.180	5.334	2.846	84.28	305.3	1.000
10.00 *	7.400	5.254	2.146	99.86	444.7	1.000
12.00 *	6.810	5.176	1.634	114.1	600.4	1.000
15.00 *	7.740	5.061	2.679	135.9	897.2	1.000
20.00 *	5.870	4.875	0.9949	169.9	1481.	1.000
25.00 *	5.480	4.696	0.7841	198.3	2117.	1.000
30.00 *	4.390	4.523	-0.1333	223.0	2789.	1.000
45.00 *	3.360	4.043	-0.6826	281.1	4910.	1.000
60.00 *	2.350	3.613	-1.263	323.9	7102.	1.000
90.00 *	2.160	2.886	-0.7260	391.6	1.213e+004	1.000
120.0 *	0.9600	2.305	-1.345	438.4	1.678e+004	1.000
245.0 *	0.5600	0.9039	-0.3439	533.4	3.255e+004	1.000
360.0 *	0.3000	0.3820	-0.08199	582.8	4.665e+004	1.000
480.0 *	0.3200	0.1555	0.1645	620.0	6.235e+004	1.000

Final Parameters

Rsq	0.8653
Rsq_adjusted	0.8541
Corr_XY	-0.9302
No_points_lambda_z	14
Lambda_z	0.0075
Lambda_z_lower	8.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	92.5465
Tmax	2.0000
Cmax	11.7700
C0	13.6755
Tlast	480.0000
Clast	0.3200
AUClast	620.0155
AUCall	620.0155
AUCINF_obs	662.7407
AUCINF_D_obs	169.9335
AUC_%Extrap_obs	6.4467
AUC_%Back_Ext_obs	3.8394
Vz_obs	0.7857
Cl_obs	0.0059
AUCINF_pred	640.7768
AUCINF_D_pred	164.3017
AUC_%Extrap_pred	3.2400
AUC_%Back_Ext_pred	3.9710
Vz_pred	0.8126
Cl_pred	0.0061
AUMClast	62346.9200
AUMCINF_obs	88559.5479
AUMC_%Extrap_obs	29.5989
AUMCINF_pred	75084.3131
AUMC_%Extrap_pred	16.9641
MRTlast	100.5570
MRTINF_obs	133.6262
MRTINF_pred	117.1770
Vss_obs	0.7863
Vss_pred	0.7132

Subject=A
 Rsq=0.8653 Rsq_adjusted=0.8541 HL_Lambda_z=92.5465
 (14 points used in calculation)
 Uniform Weighting

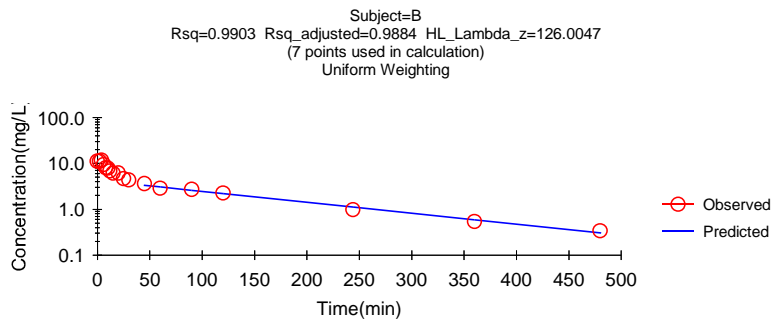


Subject=B

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	11.09			0.0000	0.0000	
2.000	11.09			22.18	22.18	
4.000	11.79			45.06	91.52	
6.000	9.490			66.34	195.6	
8.000	8.030			83.86	316.8	
10.00	7.840			99.73	459.4	
12.00	6.860			114.4	620.2	
15.00	6.120			133.9	881.3	
20.00	6.150			164.6	1418.	
25.00	4.660			191.6	2017.	
30.00	4.360			214.2	2635.	
45.00 *	3.630	3.325	0.3048	274.1	4841.	1.000
60.00 *	2.890	3.062	-0.1718	323.0	7367.	1.000
90.00 *	2.710	2.596	0.1140	407.0	1.363e+004	1.000
120.0 *	2.260	2.201	0.05892	481.5	2.135e+004	1.000
244.0 *	0.9800	1.113	-0.1327	682.4	5.299e+004	1.000
360.0 *	0.5400	0.5879	-0.04785	770.6	7.814e+004	1.000
480.0 *	0.3400	0.3038	0.03620	823.4	9.959e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9903
Rsqr_adjusted	0.9884
Corr_XY	-0.9952
No_points_lambda_z	7
Lambda_z	0.0055
Lambda_z_lower	45.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	126.0047
Tmax	4.0000
Cmax	11.7900
C0	11.0900
Tlast	480.0000
Clast	0.3400
AUClast	823.3650
AUCall	823.3650
AUCINF_obs	885.1724
AUCINF_D_obs	226.9673
AUC_%Extrap_obs	6.9825
AUC_%Back_Ext_obs	2.5057
Vz_obs	0.8009
Cl_obs	0.0044
AUCINF_pred	878.5911
AUCINF_D_pred	225.2798
AUC_%Extrap_pred	6.2858
AUC_%Back_Ext_pred	2.5245
Vz_pred	0.8069
Cl_pred	0.0044
AUMclast	99593.0900
AUMCINF_obs	140496.3743
AUMC_%Extrap_obs	29.1134
AUMCINF_pred	136140.9547
AUMC_%Extrap_pred	26.8456
MRTlast	120.9586
MRTINF_obs	158.7220
MRTINF_pred	154.9537
Vss_obs	0.6993
Vss_pred	0.6878



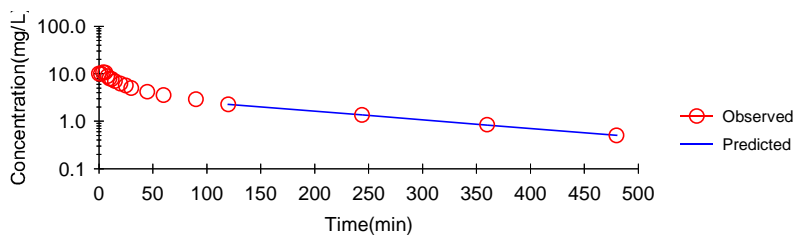
Subject=C

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	10.00			0.0000	0.0000	
2.000	10.00			20.00	20.00	
4.000	10.66			40.66	82.64	
6.000	10.60			61.92	188.9	
8.000	8.780			81.30	322.7	
10.00	7.930			98.01	472.3	
12.00	7.660			113.6	643.5	
15.00	6.940			135.5	937.5	
20.00	6.160			168.3	1506.	
25.00	5.660			197.8	2168.	
30.00	4.980			224.4	2895.	
45.00	4.170			293.0	5423.	
60.00	3.530			350.8	8419.	
90.00	2.900			447.2	1.551e+004	
120.0 *	2.270	2.275	-0.004608	524.8	2.351e+004	1.000
244.0 *	1.350	1.353	-0.002598	749.2	6.082e+004	1.000
360.0 *	0.8400	0.8318	0.008246	876.2	9.747e+004	1.000
480.0 *	0.5000	0.5030	-0.002966	956.6	1.300e+005	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9999
Rsqr_adjusted	0.9998
Corr_XY	-0.9999
No_points_lambda_z	4
Lambda_z	0.0042
Lambda_z_lower	120.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	165.3587
Tmax	4.0000
Cmax	10.6600
C0	10.0000
Tlast	480.0000
Clast	0.5000
AUClast	956.6350
AUCall	956.6350
AUCINF_obs	1075.9161
AUCINF_D_obs	268.9790
AUC_%Extrap_obs	11.0865
AUC_%Back_Ext_obs	1.8589
Vz_obs	0.8869
Cl_obs	0.0037
AUCINF_pred	1076.6237
AUCINF_D_pred	269.1559
AUC_%Extrap_pred	11.1449
AUC_%Back_Ext_pred	1.8577
Vz_pred	0.8863
Cl_pred	0.0037
AUMClast	130011.5100
AUMCINF_obs	215722.4084
AUMC_%Extrap_obs	39.7320
AUMCINF_pred	216230.8714
AUMC_%Extrap_pred	39.8738
MRTlast	135.9050
MRTINF_obs	200.5011
MRTINF_pred	200.8416
Vss_obs	0.7454
Vss_pred	0.7462

Subject=C
 Rsqr=0.9999 Rsqr_adjusted=0.9998 HL_Lambda_z=165.3587
 (4 points used in calculation)
 Uniform Weighting

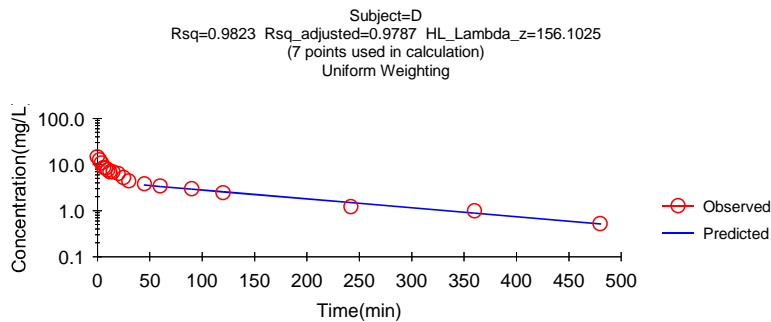


Subject=D

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	14.64			0.0000	0.0000	
2.000	12.58			27.22	25.16	
4.000	10.81			50.61	93.56	
6.000	8.640			70.06	188.6	
8.000	8.360			87.06	307.4	
10.00	7.670			103.1	450.9	
12.00	6.910			117.7	610.6	
15.00	6.900			138.4	890.2	
20.00	6.350			171.5	1466.	
25.00	5.230			200.5	2111.	
30.00	4.410			224.6	2768.	
45.00 *	3.800	3.562	0.2381	286.1	5043.	1.000
60.00 *	3.420	3.332	0.08766	340.3	7865.	1.000
90.00 *	2.980	2.917	0.06326	436.3	1.497e+004	1.000
120.0 *	2.450	2.553	-0.1030	517.7	2.340e+004	1.000
242.0 *	1.220	1.485	-0.2652	741.6	5.934e+004	1.000
360.0 *	0.9900	0.8795	0.1105	872.0	9.779e+004	1.000
480.0 *	0.5200	0.5162	0.003801	962.6	1.341e+005	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9823
Rsqr_adjusted	0.9787
Corr_XY	-0.9911
No_points_lambda_z	7
Lambda_z	0.0044
Lambda_z_lower	45.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	156.1025
Tmax	2.0000
Cmax	12.5800
C0	14.6398
Tlast	480.0000
Clast	0.5200
AUClast	962.5948
AUCall	962.5948
AUCINF_obs	1079.7031
AUCINF_D_obs	291.8117
AUC_%Extrap_obs	10.8463
AUC_%Back_Ext_obs	2.5210
Vz_obs	0.7718
Cl_obs	0.0034
AUCINF_pred	1078.8470
AUCINF_D_pred	291.5803
AUC_%Extrap_pred	10.7756
AUC_%Back_Ext_pred	2.5230
Vz_pred	0.7724
Cl_pred	0.0034
AUMclast	134149.0900
AUMCINF_obs	216734.8602
AUMC_%Extrap_obs	38.1045
AUMCINF_pred	216131.1147
AUMC_%Extrap_pred	37.9316
MRTlast	139.3619
MRTINF_obs	200.7356
MRTINF_pred	200.3353
Vss_obs	0.6879
Vss_pred	0.6871

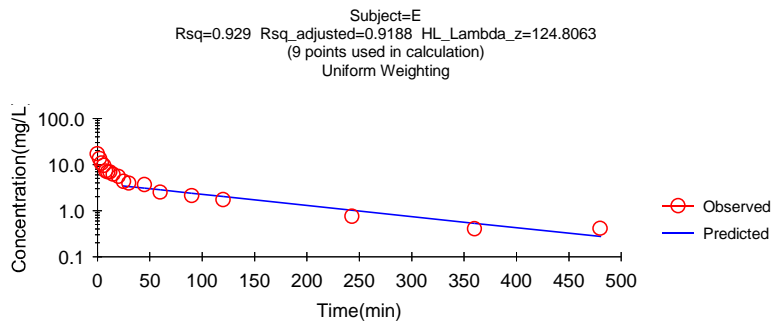


Subject=E

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	17.11			0.0000	0.0000	
2.000	13.55			30.66	27.10	
4.000	10.73			54.94	97.12	
6.000	9.570			75.24	197.5	
8.000	7.250			92.06	312.9	
10.00	6.920			106.2	440.1	
12.00	6.900			120.1	592.1	
15.00	6.150			139.6	854.7	
20.00	5.520			168.8	1361.	
25.00 *	4.290	3.420	0.8698	193.3	1905.	1.000
30.00 *	3.940	3.327	0.6135	213.9	2469.	1.000
45.00 *	3.670	3.061	0.6094	271.0	4594.	1.000
60.00 *	2.510	2.816	-0.3060	317.3	6962.	1.000
90.00 *	2.110	2.384	-0.2738	386.6	1.207e+004	1.000
120.0 *	1.730	2.018	-0.2880	444.2	1.803e+004	1.000
243.0 *	0.7500	1.019	-0.2691	596.7	4.201e+004	1.000
360.0 *	0.4000	0.5322	-0.1322	664.0	6.109e+004	1.000
480.0 *	0.4100	0.2733	0.1367	712.6	8.154e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9290
Rsqr_adjusted	0.9188
Corr_XY	-0.9638
No_points_lambda_z	9
Lambda_z	0.0056
Lambda_z_lower	25.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	124.8063
Tmax	2.0000
Cmax	13.5500
C0	17.1111
Tlast	480.0000
Clast	0.4100
AUClast	712.6211
AUCall	712.6211
AUCINF_obs	786.4447
AUCINF_D_obs	201.6525
AUC_%Extrap_obs	9.3870
AUC_%Back_Ext_obs	3.8987
Vz_obs	0.8929
Cl_obs	0.0050
AUCINF_pred	761.8262
AUCINF_D_pred	195.3400
AUC_%Extrap_pred	6.4588
AUC_%Back_Ext_pred	4.0247
Vz_pred	0.9218
Cl_pred	0.0051
AUMclast	81541.6800
AUMCINF_obs	130269.4536
AUMC_%Extrap_obs	37.4054
AUMCINF_pred	114019.8250
AUMC_%Extrap_pred	28.4846
MRTlast	114.4250
MRTINF_obs	165.6435
MRTINF_pred	149.6665
Vss_obs	0.8214
Vss_pred	0.7662

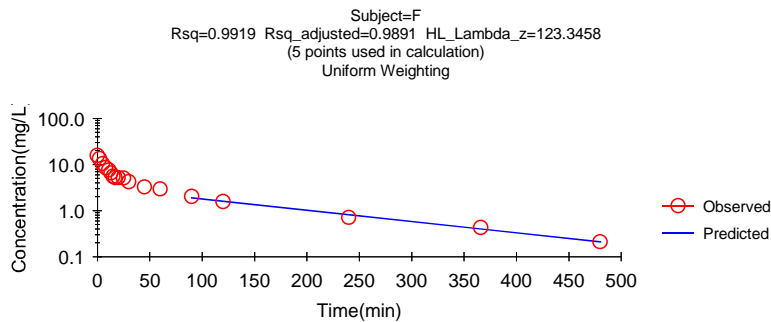


Subject=F

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	15.77			0.0000	0.0000	
2.000	13.36			29.13	26.72	
5.000	10.42			64.80	145.0	
8.000	8.550			93.25	325.7	
11.00	7.590			117.5	553.5	
13.00	6.560			131.6	722.3	
15.00	5.580			143.8	891.3	
17.00	5.230			154.6	1064.	
20.00	5.190			170.2	1353.	
25.00	5.080			195.9	1930.	
30.00	4.220			219.1	2564.	
45.00	3.270			275.3	4617.	
60.00	2.950			321.9	7048.	
90.00 *	2.020	1.882	0.1382	396.5	1.243e+004	1.000
120.0 *	1.570	1.590	-0.01987	450.3	1.798e+004	1.000
240.0 *	0.7100	0.8100	-0.1000	587.1	3.951e+004	1.000
366.0 *	0.4300	0.3990	0.03098	659.0	6.016e+004	1.000
480.0 *	0.2100	0.2103	-0.0002658	695.4	7.488e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9919
Rsqr_adjusted	0.9891
Corr_XY	-0.9959
No_points_lambda_z	5
Lambda_z	0.0056
Lambda_z_lower	90.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	123.3458
Tmax	2.0000
Cmax	13.3600
C0	15.7676
Tlast	480.0000
Clast	0.2100
AUClast	695.4426
AUCall	695.4426
AUCINF_obs	732.8122
AUCINF_D_obs	192.8453
AUC_%Extrap_obs	5.0995
AUC_%Back_Ext_obs	3.9748
Vz_obs	0.9228
Cl_obs	0.0052
AUCINF_pred	732.8595
AUCINF_D_pred	192.8578
AUC_%Extrap_pred	5.1056
AUC_%Back_Ext_pred	3.9745
Vz_pred	0.9227
Cl_pred	0.0052
AUMclast	74877.6100
AUMCINF_obs	99464.9297
AUMC_%Extrap_obs	24.7196
AUMCINF_pred	99496.0534
AUMC_%Extrap_pred	24.7431
MRTlast	107.6690
MRTINF_obs	135.7305
MRTINF_pred	135.7642
Vss_obs	0.7038
Vss_pred	0.7040

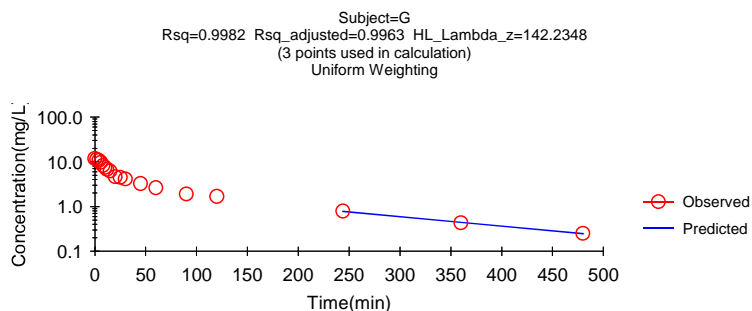


Subject=G

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	11.85			0.0000	0.0000	
2.000	11.27			23.12	22.54	
4.000	10.72			45.11	87.96	
6.000	9.790			65.62	189.6	
8.000	8.280			83.69	314.6	
10.00	7.500			99.47	455.8	
12.00	6.780			113.7	612.2	
15.00	6.220			133.2	874.2	
20.00	4.610			160.3	1338.	
25.00	4.520			183.1	1851.	
30.00	4.120			204.7	2442.	
45.00	3.270			260.2	4473.	
60.00	2.630			304.4	6760.	
90.00	1.900			372.4	1.169e+004	
120.0	1.680			426.1	1.728e+004	
244.0 *	0.7900	0.7786	0.01135	579.2	4.173e+004	1.000
360.0 *	0.4300	0.4424	-0.01242	650.0	6.189e+004	1.000
480.0 *	0.2500	0.2465	0.003474	690.8	7.838e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9982
Rsqr_adjusted	0.9963
Corr_XY	-0.9991
No_points_lambda_z	3
Lambda_z	0.0049
Lambda_z_lower	244.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	142.2348
Tmax	2.0000
Cmax	11.2700
C0	11.8482
Tlast	480.0000
Clast	0.2500
AUClast	690.7732
AUCall	690.7732
AUCINF_obs	742.0736
AUCINF_D_obs	190.2753
AUC_%Extrap_obs	6.9131
AUC_%Back_Ext_obs	3.1154
Vz_obs	1.0784
Cl_obs	0.0053
AUCINF_pred	741.3606
AUCINF_D_pred	190.0925
AUC_%Extrap_pred	6.8236
AUC_%Back_Ext_pred	3.1183
Vz_pred	1.0795
Cl_pred	0.0053
AUMclast	78377.9500
AUMCINF_obs	113529.0284
AUMC_%Extrap_obs	30.9622
AUMCINF_pred	113040.5226
AUMC_%Extrap_pred	30.6638
MRTlast	113.4641
MRTINF_obs	152.9889
MRTINF_pred	152.4771
Vss_obs	0.8040
Vss_pred	0.8021

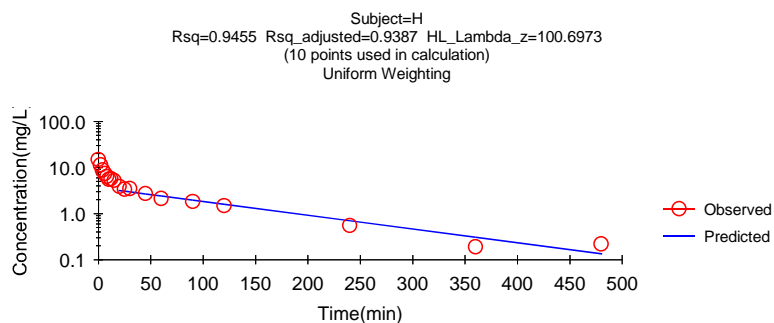


Subject=H

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	14.86			0.0000	0.0000	
2.000	11.46			26.32	22.92	
4.000	8.840			46.62	81.20	
6.000	7.400			62.86	161.0	
8.000	6.390			76.65	256.5	
10.00	5.570			88.61	363.3	
12.00	5.760			99.94	488.1	
15.00	5.250			116.5	709.9	
20.00 *	3.890	3.176	0.7143	139.3	1101.	1.000
25.00 *	3.380	3.068	0.3117	157.5	1507.	1.000
30.00 *	3.490	2.964	0.5255	174.7	1980.	1.000
45.00 *	2.720	2.674	0.04634	221.2	3683.	1.000
60.00 *	2.130	2.411	-0.2814	257.6	5560.	1.000
90.00 *	1.830	1.961	-0.1315	317.0	9947.	1.000
120.0 *	1.490	1.596	-0.1055	366.8	1.510e+004	1.000
240.0 *	0.5500	0.6985	-0.1485	489.2	3.375e+004	1.000
360.0 *	0.1900	0.3058	-0.1158	533.6	4.577e+004	1.000
480.0 *	0.2200	0.1339	0.08613	558.2	5.621e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9455
Rsqr_adjusted	0.9387
Corr_XY	-0.9724
No_points_lambda_z	10
Lambda_z	0.0069
Lambda_z_lower	20.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	100.6973
Tmax	2.0000
Cmax	11.4600
C0	14.8565
Tlast	480.0000
Clast	0.2200
AUClast	558.2015
AUCall	558.2015
AUCINF_obs	590.1621
AUCINF_D_obs	151.3236
AUC_%Extrap_obs	5.4156
AUC_%Back_Ext_obs	4.4592
Vz_obs	0.9600
Cl_obs	0.0066
AUCINF_pred	577.6500
AUCINF_D_pred	148.1154
AUC_%Extrap_pred	3.3668
AUC_%Back_Ext_pred	4.5558
Vz_pred	0.9808
Cl_pred	0.0068
AUMclast	56211.8000
AUMCINF_obs	76195.9954
AUMC_%Extrap_obs	26.2274
AUMCINF_pred	68372.4753
AUMC_%Extrap_pred	17.7859
MRTlast	100.7016
MRTINF_obs	129.1103
MRTINF_pred	118.3631
Vss_obs	0.8532
Vss_pred	0.7991

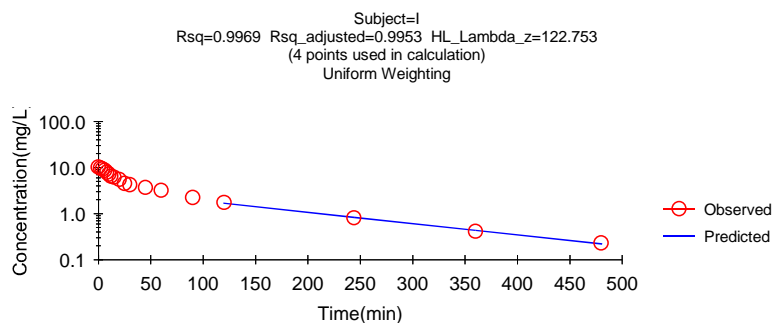


Subject=I

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	10.25			0.0000	0.0000	
2.000	9.760			20.01	19.52	
4.000	9.290			39.06	76.20	
6.000	8.680			57.03	165.4	
8.000	7.940			73.65	281.0	
10.00	7.190			88.78	416.5	
12.00	6.460			102.4	565.9	
15.00	6.150			121.3	820.5	
20.00	5.490			150.4	1326.	
25.00	4.520			175.5	1883.	
30.00	4.220			197.3	2482.	
45.00	3.690			256.6	4677.	
60.00	3.200			308.3	7362.	
90.00	2.230			389.8	1.325e+004	
120.0 *	1.740	1.678	0.06214	449.3	1.939e+004	1.000
244.0 *	0.8100	0.8330	-0.02305	607.4	4.459e+004	1.000
360.0 *	0.4100	0.4327	-0.02271	678.2	6.462e+004	1.000
480.0 *	0.2300	0.2197	0.01025	716.6	8.010e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9969
Rsqr_adjusted	0.9953
Corr_XY	-0.9984
No_points_lambda_z	4
Lambda_z	0.0056
Lambda_z_lower	120.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	122.7530
Tmax	2.0000
Cmax	9.7600
C0	10.2538
Tlast	480.0000
Clast	0.2300
AUClast	716.5838
AUCall	716.5838
AUCINF_obs	757.3157
AUCINF_D_obs	189.3289
AUC_%Extrap_obs	5.3785
AUC_%Back_Ext_obs	2.6427
Vz_obs	0.9354
Cl_obs	0.0053
AUCINF_pred	755.4997
AUCINF_D_pred	188.8749
AUC_%Extrap_pred	5.1510
AUC_%Back_Ext_pred	2.6491
Vz_pred	0.9376
Cl_pred	0.0053
AUMclast	80098.1100
AUMCINF_obs	106862.8392
AUMC_%Extrap_obs	25.0459
AUMCINF_pred	105669.5855
AUMC_%Extrap_pred	24.1995
MRTlast	111.7777
MRTINF_obs	141.1074
MRTINF_pred	139.8671
Vss_obs	0.7453
Vss_pred	0.7405



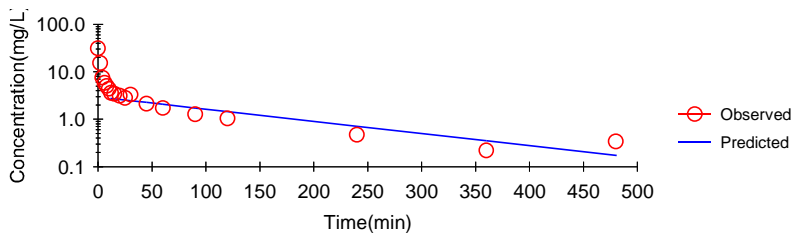
Subject=J

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	30.97			0.0000	0.0000	
2.000	15.26			46.23	30.52	
4.000	7.520			69.01	91.12	
6.000	5.810			82.34	156.1	
8.000	5.020			93.17	231.1	
10.00	4.350			102.5	314.7	
12.00 *	3.600	2.741	0.8594	110.5	401.4	1.000
15.00 *	3.410	2.692	0.7176	121.0	543.0	1.000
20.00 *	3.130	2.614	0.5160	137.4	827.3	1.000
25.00 *	2.820	2.538	0.2821	152.2	1160.	1.000
30.00 *	3.300	2.464	0.8361	167.5	1584.	1.000
45.00 *	2.110	2.255	-0.1448	208.1	3038.	1.000
60.00 *	1.720	2.063	-0.3435	236.8	4525.	1.000
90.00 *	1.270	1.728	-0.4581	281.7	7787.	1.000
120.0 *	1.040	1.447	-0.4072	316.3	1.137e+004	1.000
240.0 *	0.4700	0.7119	-0.2419	406.9	2.563e+004	1.000
360.0 *	0.2200	0.3502	-0.1302	448.3	3.715e+004	1.000
480.0 *	0.3400	0.1722	0.1678	481.9	5.169e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.8711
Rsqr_adjusted	0.8582
Corr_XY	-0.9333
No_points_lambda_z	12
Lambda_z	0.0059
Lambda_z_lower	12.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	117.2351
Tmax	2.0000
Cmax	15.2600
C0	30.9664
Tlast	480.0000
Clast	0.3400
AUClast	481.9264
AUCall	481.9264
AUCINF_obs	539.4322
AUCINF_D_obs	256.8725
AUC_%Extrap_obs	10.6604
AUC_%Back_Ext_obs	8.5695
Vz_obs	0.6584
Cl_obs	0.0039
AUCINF_pred	511.0587
AUCINF_D_pred	243.3613
AUC_%Extrap_pred	5.7004
AUC_%Back_Ext_pred	9.0452
Vz_pred	0.6950
Cl_pred	0.0041
AUMClast	51693.5900
AUMCINF_obs	89022.5349
AUMC_%Extrap_obs	41.9320
AUMCINF_pred	70604.3541
AUMC_%Extrap_pred	26.7841
MRTlast	107.2645
MRTINF_obs	165.0301
MRTINF_pred	138.1531
Vss_obs	0.6425
Vss_pred	0.5677

Subject=J
 Rsqr=0.8711 Rsqr_adjusted=0.8582 HL_Lambda_z=117.2351
 (12 points used in calculation)
 Uniform Weighting

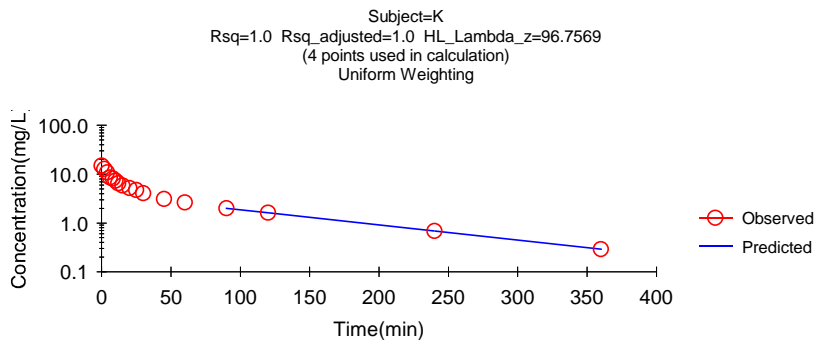


Subject=K

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	14.92			0.0000	0.0000	
2.000	12.74			27.66	25.48	
4.000	10.88			51.28	94.48	
6.000	8.590			70.75	189.5	
8.000	8.140			87.48	306.2	
10.00	7.350			103.0	444.8	
12.00	6.480			116.8	596.1	
15.00	5.870			135.3	844.8	
20.00	5.210			163.0	1325.	
25.00	4.760			187.9	1883.	
30.00	4.050			210.0	2485.	
45.00	3.090			263.5	4439.	
60.00	2.650			306.6	6674.	
90.00 *	2.000	2.002	-0.001581	376.3	1.176e+004	1.000
120.0 *	1.620	1.614	0.005504	430.6	1.738e+004	1.000
240.0 *	0.6800	0.6834	-0.003428	568.6	3.883e+004	1.000
360.0 *	0.2900	0.2893	0.0006997	626.8	5.489e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	1.0000
Rsqr_adjusted	1.0000
Corr_XY	-1.0000
No_points_lambda_z	4
Lambda_z	0.0072
Lambda_z_lower	90.0000
Lambda_z_upper	360.0000
HL_Lambda_z	96.7569
Tmax	2.0000
Cmax	12.7400
C0	14.9180
Tlast	360.0000
Clast	0.2900
AUClast	626.8230
AUCall	626.8230
AUCINF_obs	667.3043
AUCINF_D_obs	171.1037
AUC_%Extrap_obs	6.0664
AUC_%Back_Ext_obs	4.1447
Vz_obs	0.8158
Cl_obs	0.0058
AUCINF_pred	667.2066
AUCINF_D_pred	171.0786
AUC_%Extrap_pred	6.0526
AUC_%Back_Ext_pred	4.1453
Vz_pred	0.8159
Cl_pred	0.0058
AUMClast	54887.1700
AUMCINF_obs	75111.2401
AUMC_%Extrap_obs	26.9255
AUMCINF_pred	75062.4432
AUMC_%Extrap_pred	26.8780
MRTlast	87.5641
MRTINF_obs	112.5592
MRTINF_pred	112.5026
Vss_obs	0.6578
Vss_pred	0.6576

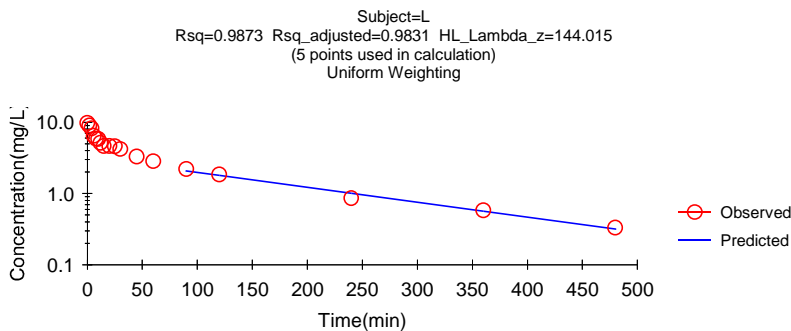


Subject=L

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	9.788			0.0000	0.0000	
2.000	8.970			18.76	17.94	
4.000	8.220			35.95	68.76	
6.000	6.440			50.61	140.3	
8.000	5.870			62.92	225.9	
10.00	5.830			74.62	331.1	
12.00	5.130			85.58	451.0	
15.00	4.650			100.2	648.0	
20.00	4.630			123.4	1054.	
25.00	4.600			146.5	1573.	
30.00	4.210			168.5	2176.	
45.00	3.300			224.9	4237.	
60.00	2.840			270.9	6629.	
90.00 *	2.210	2.072	0.1385	346.7	1.217e+004	1.000
120.0 *	1.840	1.793	0.04697	407.4	1.846e+004	1.000
240.0 *	0.8600	1.006	-0.1464	569.4	4.410e+004	1.000
360.0 *	0.5800	0.5648	0.01516	655.8	6.901e+004	1.000
480.0 *	0.3300	0.3170	0.01298	710.4	9.104e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9873
Rsqr_adjusted	0.9831
Corr_XY	-0.9936
No_points_lambda_z	5
Lambda_z	0.0048
Lambda_z_lower	90.0000
Lambda_z_upper	480.0000
HL_Lambda_z	144.0150
Tmax	2.0000
Cmax	8.9700
C0	9.7884
Tlast	480.0000
Clast	0.3300
AUClast	710.4234
AUCall	710.4234
AUCINF_obs	778.9874
AUCINF_D_obs	194.7469
AUC_%Extrap_obs	8.8017
AUC_%Back_Ext_obs	2.4081
Vz_obs	1.0669
Cl_obs	0.0051
AUCINF_pred	776.2912
AUCINF_D_pred	194.0728
AUC_%Extrap_pred	8.4849
AUC_%Back_Ext_pred	2.4164
Vz_pred	1.0706
Cl_pred	0.0052
AUMclast	91039.8400
AUMCINF_obs	138196.0914
AUMC_%Extrap_obs	34.1227
AUMCINF_pred	136341.6826
AUMC_%Extrap_pred	33.2267
MRTlast	128.1487
MRTINF_obs	177.4048
MRTINF_pred	175.6321
Vss_obs	0.9110
Vss_pred	0.9050



Annexe 2 : Analyse pharmacocinétique : données brutes fournies par le logiciel Winonlin pour la 4-hydroxyantipyrine.

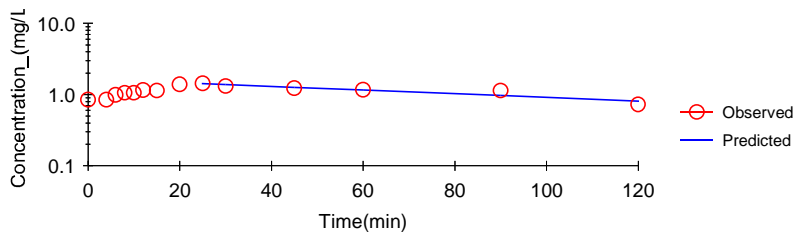
Subject=A

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.8500			0.0000	0.0000	
4.000	0.8500			3.400	6.800	
6.000	0.9900			5.240	16.14	
8.000	1.060			7.290	30.56	
10.00	1.060			9.410	49.64	
12.00	1.160			11.63	74.16	
15.00	1.140			15.08	120.7	
20.00	1.390			21.41	232.9	
25.00 *	1.440	1.426	0.01450	28.48	392.4	1.000
30.00 *	1.320	1.384	-0.06386	35.38	581.4	1.000
45.00 *	1.230	1.266	-0.03609	54.51	1294.	1.000
60.00 *	1.170	1.158	0.01166	72.51	2235.	1.000
90.00 *	1.140	0.9696	0.1704	107.2	4827.	1.000
120.0 *	0.7300	0.8116	-0.08156	135.2	7680.	1.000

Final Parameters

Rsq	0.8551
Rsq_adjusted	0.8189
Corr_XY	-0.9247
No_points_lambda_z	6
Lambda_z	0.0059
Lambda_z_lower	25.0000
Lambda_z_upper	120.0000
HL_Lambda_z	116.8945
Tmax	25.0000
Cmax	1.4400
C0	0.8500
Tlast	120.0000
Clast	0.7300
AUClast	135.2050
AUCall	135.2050
AUCINF_obs	258.3145
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	47.6588
AUC_%Back_Ext_obs	1.3162
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	272.0691
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	50.3049
AUC_%Back_Ext_pred	1.2497
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	7680.1900
AUMCINF_obs	43214.8981
AUMC_%Extrap_obs	82.2279
AUMCINF_pred	47185.0738
AUMC_%Extrap_pred	83.7233
MRTlast	56.8040
MRTINF_obs	167.2957
MRTINF_pred	173.4305
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

Subject=A
 Rsq=0.8551 Rsq_adjusted=0.8189 HL_Lambda_z=116.8945
 (6 points used in calculation)
 Uniform Weighting



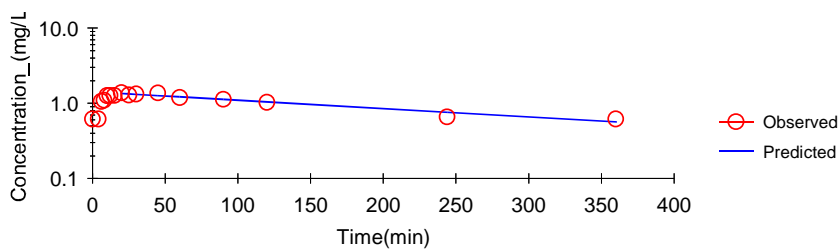
Subject=B

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.6200			0.0000	0.0000	
4.000	0.6200			2.480	4.960	
6.000	1.060			4.160	13.80	
8.000	1.100			6.320	28.96	
10.00	1.260			8.680	50.36	
12.00	1.270			11.21	78.20	
15.00	1.270			15.02	129.6	
20.00 *	1.380	1.349	0.03108	21.65	246.3	1.000
25.00 *	1.290	1.332	-0.04176	28.32	395.9	1.000
30.00 *	1.330	1.315	0.01519	34.87	576.3	1.000
45.00 *	1.370	1.265	0.1047	55.12	1338.	1.000
60.00 *	1.190	1.218	-0.02757	74.32	2336.	1.000
90.00 *	1.130	1.128	0.002482	109.1	4932.	1.000
120.0 *	1.030	1.044	-0.01413	141.5	8312.	1.000
244.0 *	0.6600	0.7600	-0.1000	246.3	2.596e+004	1.000
360.0 *	0.6200	0.5647	0.05534	320.5	4.825e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9505
Rsqr_adjusted	0.9435
Corr_XY	-0.9749
No_points_lambda_z	9
Lambda_z	0.0026
Lambda_z_lower	20.0000
Lambda_z_upper	360.0000
HL_Lambda_z	270.6259
Tmax	20.0000
Cmax	1.3800
C0	0.6200
Tlast	360.0000
Clast	0.6200
AUClast	320.5400
AUCall	320.5400
AUCINF_obs	562.6070
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	43.0260
AUC_%Back_Ext_obs	0.4408
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	541.0020
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	40.7507
AUC_%Back_Ext_pred	0.4584
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	48245.3600
AUMCINF_obs	229899.8972
AUMC_%Extrap_obs	79.0146
AUMCINF_pred	213686.7953
AUMC_%Extrap_pred	77.4224
MRTlast	150.5128
MRTINF_obs	408.6332
MRTINF_pred	394.9834
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

Subject=B
 Rsqr=0.9505 Rsqr_adjusted=0.9435 HL_Lambda_z=270.6259
 (9 points used in calculation)
 Uniform Weighting



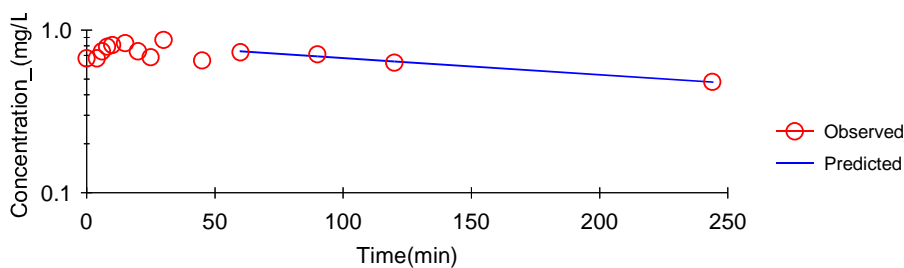
Subject=C

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.6700			0.0000	0.0000	
4.000	0.6700			2.680	5.360	
6.000	0.7400			4.090	12.48	
8.000	0.7900			5.620	23.24	
10.00	0.8100			7.220	37.66	
15.00	0.8300			11.32	89.04	
20.00	0.7400			15.25	157.2	
25.00	0.6800			18.80	236.7	
30.00	0.8700			22.67	344.4	
45.00	0.6500			34.07	759.5	
60.00 *	0.7300	0.7393	-0.009286	44.42	1307.	1.000
90.00 *	0.7100	0.6889	0.02112	66.02	2923.	1.000
120.0 *	0.6300	0.6419	-0.01192	86.12	5015.	1.000
244.0 *	0.4800	0.4794	0.0005701	154.9	1.696e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9870
Rsqr_adjusted	0.9806
Corr_XY	-0.9935
No_points_lambda_z	4
Lambda_z	0.0024
Lambda_z_lower	60.0000
Lambda_z_upper	244.0000
HL_Lambda_z	294.4884
Tmax	30.0000
Cmax	0.8700
C0	0.6700
Tlast	244.0000
Clast	0.4800
AUClast	154.9400
AUCall	154.9400
AUCINF_obs	358.8713
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	56.8258
AUC_%Back_Ext_obs	0.7468
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	358.6291
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	56.7966
AUC_%Back_Ext_pred	0.7473
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	16964.0500
AUMCINF_obs	153364.9463
AUMC_%Extrap_obs	88.9388
AUMCINF_pred	153202.9369
AUMC_%Extrap_pred	88.9271
MRTlast	109.4879
MRTINF_obs	427.3536
MRTINF_pred	427.1905
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

Subject=C
 Rsqr=0.987 Rsqr_adjusted=0.9806 HL_Lambda_z=294.4884
 (4 points used in calculation)
 Uniform Weighting

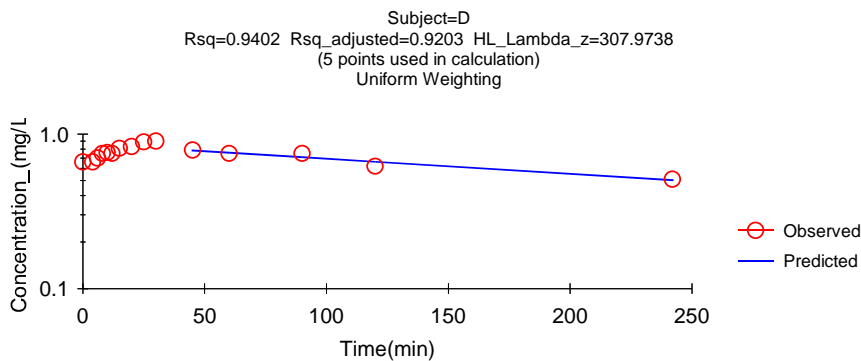


Subject=D

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.6600			0.0000	0.0000	
4.000	0.6600			2.640	5.280	
6.000	0.7000			4.000	12.12	
8.000	0.7500			5.450	22.32	
10.00	0.7600			6.960	35.92	
12.00	0.7500			8.470	52.52	
15.00	0.8100			10.81	84.25	
20.00	0.8300			14.91	156.1	
25.00	0.8900			19.21	253.2	
30.00	0.9000			23.69	376.4	
45.00 *	0.7900	0.7842	0.005767	36.36	845.5	1.000
60.00 *	0.7500	0.7582	-0.008199	47.91	1450.	1.000
90.00 *	0.7500	0.7087	0.04130	70.41	3137.	1.000
120.0 *	0.6200	0.6624	-0.04242	90.96	5266.	1.000
242.0 *	0.5100	0.5034	0.006630	159.9	1.733e+004	1.000

Final Parameters

Rsq	0.9402
Rsq_adjusted	0.9203
Corr_XY	-0.9697
No_points_lambda_z	5
Lambda_z	0.0023
Lambda_z_lower	45.0000
Lambda_z_upper	242.0000
HL_Lambda_z	307.9738
Tmax	30.0000
Cmax	0.9000
C0	0.6600
Tlast	242.0000
Clast	0.5100
AUClast	159.8900
AUCall	159.8900
AUCINF_obs	386.4893
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	58.6302
AUC_%Back_Ext_obs	0.6831
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	383.5433
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	58.3124
AUC_%Back_Ext_pred	0.6883
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	17332.6400
AUMCINF_obs	172850.5052
AUMC_%Extrap_obs	89.9725
AUMCINF_pred	170828.6237
AUMC_%Extrap_pred	89.8538
MRTlast	108.4035
MRTINF_obs	447.2324
MRTINF_pred	445.3960
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000



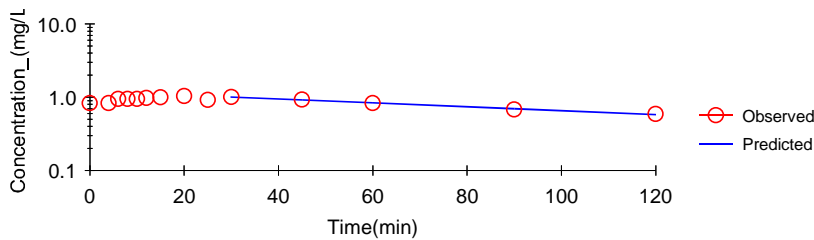
Subject=E

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.8300			0.0000	0.0000	
4.000	0.8300			3.320	6.640	
6.000	0.9500			5.100	15.66	
8.000	0.9500			7.000	28.96	
10.00	0.9500			8.900	46.06	
12.00	0.9800			10.83	67.32	
15.00	1.000			13.80	107.5	
20.00	1.040			18.90	197.0	
25.00	0.9200			23.80	306.5	
30.00 *	1.010	1.006	0.003515	28.63	439.7	1.000
45.00 *	0.9300	0.9181	0.01188	43.18	980.8	1.000
60.00 *	0.8300	0.8375	-0.007516	56.38	1668.	1.000
90.00 *	0.6800	0.6969	-0.01691	79.03	3333.	1.000
120.0 *	0.5900	0.5799	0.01008	98.08	5313.	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9941
Rsqr_adjusted	0.9922
Corr_XY	-0.9971
No_points_lambda_z	5
Lambda_z	0.0061
Lambda_z_lower	30.0000
Lambda_z_upper	120.0000
HL_Lambda_z	113.1489
Tmax	20.0000
Cmax	1.0400
C0	0.8300
Tlast	120.0000
Clast	0.5900
AUClast	98.0750
AUCall	98.0750
AUCINF_obs	194.3862
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	49.5463
AUC_%Back_Ext_obs	1.7079
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	192.7400
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	49.1154
AUC_%Back_Ext_pred	1.7225
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	5313.2100
AUMCINF_obs	32592.3388
AUMC_%Extrap_obs	83.6980
AUMCINF_pred	32126.0521
AUMC_%Extrap_pred	83.4614
MRTlast	54.1750
MRTINF_obs	167.6679
MRTINF_pred	166.6808
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

Subject=E
 Rsqr=0.9941 Rsqr_adjusted=0.9922 HL_Lambda_z=113.1489
 (5 points used in calculation)
 Uniform Weighting



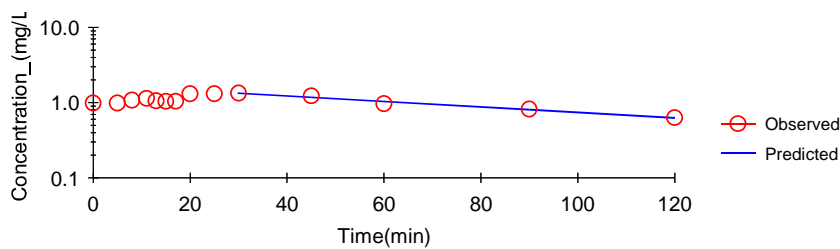
Subject=F

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.9900			0.0000	0.0000	
5.000	0.9900			4.950	12.38	
8.000	1.080			8.055	32.76	
11.00	1.140			11.39	64.53	
13.00	1.060			13.59	90.85	
15.00	1.040			15.69	120.2	
17.00	1.040			17.77	153.5	
20.00	1.310			21.29	219.3	
25.00	1.310			27.84	366.7	
30.00 *	1.340	1.335	0.004528	34.47	549.1	1.000
45.00 *	1.230	1.177	0.05260	53.74	1266.	1.000
60.00 *	0.9700	1.038	-0.06804	70.24	2117.	1.000
90.00 *	0.8200	0.8068	0.01315	97.09	4097.	1.000
120.0 *	0.6300	0.6271	0.002850	118.8	6338.	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9819
Rsqr_adjusted	0.9758
Corr_XY	-0.9909
No_points_lambda_z	5
Lambda_z	0.0084
Lambda_z_lower	30.0000
Lambda_z_upper	120.0000
HL_Lambda_z	82.5333
Tmax	30.0000
Cmax	1.3400
C0	0.9900
Tlast	120.0000
Clast	0.6300
AUClast	118.8400
AUCall	118.8400
AUCINF_obs	193.8544
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	38.6962
AUC_%Back_Ext_obs	2.5535
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	193.5150
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	38.5887
AUC_%Back_Ext_pred	2.5579
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	6338.3300
AUMCINF_obs	24272.0476
AUMC_%Extrap_obs	73.8863
AUMCINF_pred	24190.9052
AUMC_%Extrap_pred	73.7987
MRTlast	53.3350
MRTINF_obs	125.2076
MRTINF_pred	125.0079
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

Subject=F
 Rsqr=0.9819 Rsqr_adjusted=0.9758 HL_Lambda_z=82.5333
 (5 points used in calculation)
 Uniform Weighting

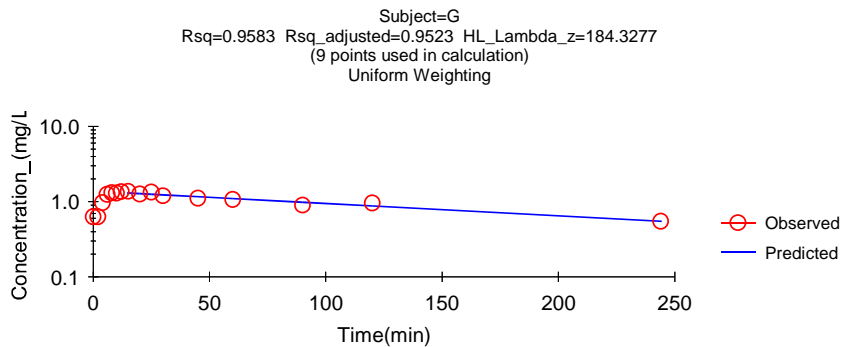


Subject=G

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.6300			0.0000	0.0000	
2.000	0.6300			1.260	1.260	
4.000	0.9700			2.860	6.400	
6.000	1.250			5.080	17.78	
8.000	1.310			7.640	35.76	
10.00	1.300			10.25	59.24	
12.00	1.360			12.91	88.56	
15.00 *	1.370	1.303	0.06704	17.01	143.9	1.000
20.00 *	1.260	1.279	-0.01869	23.58	258.2	1.000
25.00 *	1.340	1.255	0.08512	30.08	405.0	1.000
30.00 *	1.200	1.232	-0.03150	36.43	578.7	1.000
45.00 *	1.110	1.164	-0.05396	53.76	1223.	1.000
60.00 *	1.070	1.100	-0.03012	70.11	2079.	1.000
90.00 *	0.9000	0.9828	-0.08276	99.66	4257.	1.000
120.0 *	0.9600	0.8779	0.08208	127.6	7200.	1.000
244.0 *	0.5500	0.5507	-0.0007398	221.2	2.266e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9583
Rsqr_adjusted	0.9523
Corr_XY	-0.9789
No_points_lambda_z	9
Lambda_z	0.0038
Lambda_z_lower	15.0000
Lambda_z_upper	244.0000
HL_Lambda_z	184.3277
Tmax	15.0000
Cmax	1.3700
C0	0.6300
Tlast	244.0000
Clast	0.5500
AUClast	221.1750
AUCall	221.1750
AUCINF_obs	367.4358
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	39.8058
AUC_%Back_Ext_obs	0.3429
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	367.6325
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	39.8380
AUC_%Back_Ext_pred	0.3427
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	22663.2900
AUMCINF_obs	97245.8709
AUMC_%Extrap_obs	76.6949
AUMCINF_pred	97346.1894
AUMC_%Extrap_pred	76.7189
MRTlast	102.4677
MRTINF_obs	264.6609
MRTINF_pred	264.7921
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000



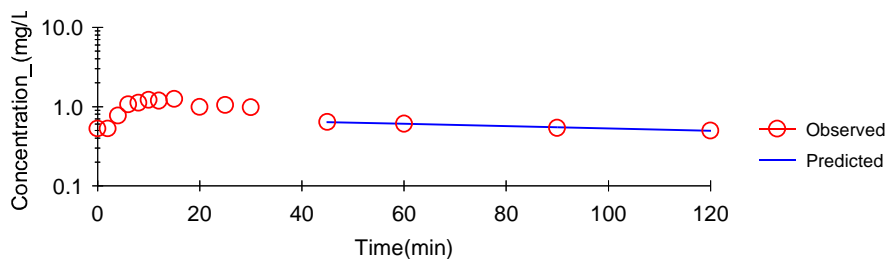
Subject=H

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.5300			0.0000	0.0000	
2.000	0.5300			1.060	1.060	
4.000	0.7700			2.360	5.200	
6.000	1.070			4.200	14.70	
8.000	1.120			6.390	30.08	
10.00	1.220			8.730	51.24	
12.00	1.190			11.14	77.72	
15.00	1.250			14.80	127.3	
20.00	0.9900			20.40	223.6	
25.00	1.050			25.50	338.8	
30.00	0.9800			30.58	477.9	
45.00 *	0.6400	0.6385	0.001504	42.73	914.4	1.000
60.00 *	0.6100	0.6070	0.003005	52.10	1405.	1.000
90.00 *	0.5400	0.5486	-0.008578	69.35	2683.	1.000
120.0 *	0.5000	0.4958	0.004216	84.95	4312.	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9908
Rsqr_adjusted	0.9862
Corr_XY	-0.9954
No_points_lambda_z	4
Lambda_z	0.0034
Lambda_z_lower	45.0000
Lambda_z_upper	120.0000
HL_Lambda_z	205.4982
Tmax	15.0000
Cmax	1.2500
C0	0.5300
Tlast	120.0000
Clast	0.5000
AUClast	84.9500
AUCall	84.9500
AUCINF_obs	233.1857
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	63.5698
AUC_%Back_Ext_obs	0.4546
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	231.9356
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	63.3735
AUC_%Back_Ext_pred	0.4570
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	4311.8900
AUMCINF_obs	66047.7842
AUMC_%Extrap_obs	93.4716
AUMCINF_pred	65527.1766
AUMC_%Extrap_pred	93.4197
MRTlast	50.7580
MRTINF_obs	283.2412
MRTINF_pred	282.5231
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

Subject=H
 Rsqr=0.9908 Rsqr_adjusted=0.9862 HL_Lambda_z=205.4982
 (4 points used in calculation)
 Uniform Weighting

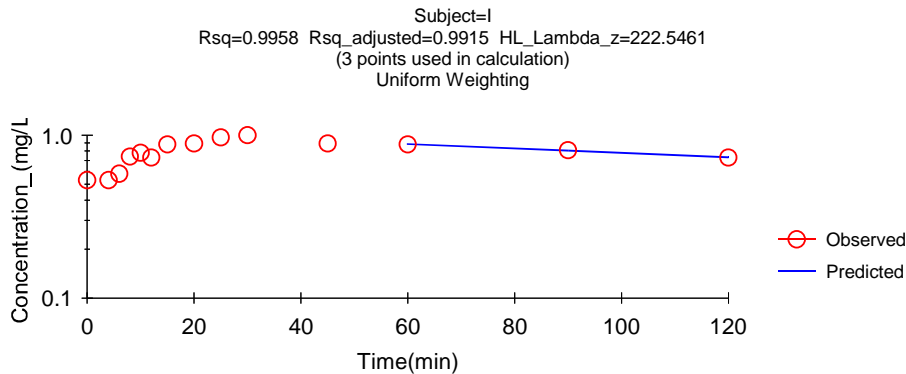


Subject=I

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.5300			0.0000	0.0000	
4.000	0.5300			2.120	4.240	
6.000	0.5800			3.230	9.840	
8.000	0.7400			4.550	19.24	
10.00	0.7800			6.070	32.96	
12.00	0.7300			7.580	49.52	
15.00	0.8800			9.995	82.46	
20.00	0.8900			14.42	160.0	
25.00	0.9700			19.07	265.1	
30.00	1.000			24.00	400.7	
45.00	0.8900			38.17	926.1	
60.00 *	0.8800	0.8831	-0.003100	51.45	1622.	1.000
90.00 *	0.8100	0.8043	0.005678	76.80	3508.	1.000
120.0 *	0.7300	0.7326	-0.002572	99.90	5915.	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9958
Rsqr_adjusted	0.9915
Corr_XY	-0.9979
No_points_lambda_z	3
Lambda_z	0.0031
Lambda_z_lower	60.0000
Lambda_z_upper	120.0000
HL_Lambda_z	222.5461
Tmax	30.0000
Cmax	1.0000
C0	0.5300
Tlast	120.0000
Clast	0.7300
AUClast	99.8950
AUCall	99.8950
AUCINF_obs	334.2733
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	70.1158
AUC_%Back_Ext_obs	0.6342
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	335.0991
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	70.1894
AUC_%Back_Ext_pred	0.6326
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	5915.4600
AUMCINF_obs	109291.7934
AUMC_%Extrap_obs	94.5875
AUMCINF_pred	109656.0090
AUMC_%Extrap_pred	94.6054
MRTlast	59.2168
MRTINF_obs	326.9534
MRTINF_pred	327.2346
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

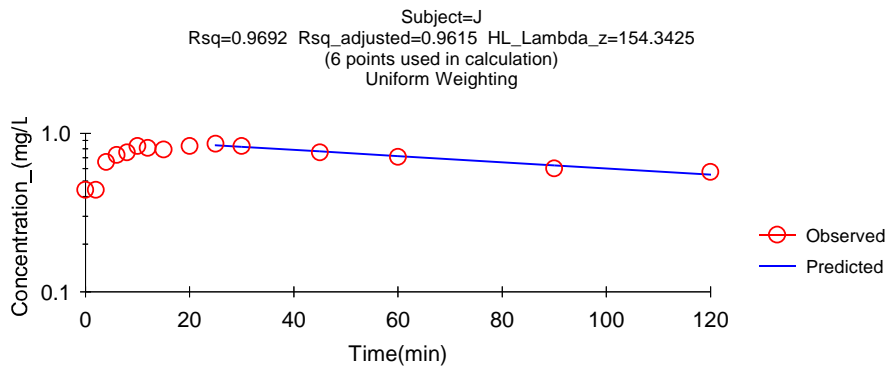


Subject=J

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.4400			0.0000	0.0000	
2.000	0.4400			0.8800	0.8800	
4.000	0.6600			1.980	4.400	
6.000	0.7300			3.370	11.42	
8.000	0.7600			4.860	21.88	
10.00	0.8300			6.450	36.26	
12.00	0.8100			8.090	54.28	
15.00	0.7900			10.49	86.64	
20.00	0.8300			14.54	157.8	
25.00 *	0.8600	0.8410	0.01900	18.77	253.0	1.000
30.00 *	0.8300	0.8223	0.007678	22.99	369.0	1.000
45.00 *	0.7600	0.7688	-0.008751	34.92	812.3	1.000
60.00 *	0.7100	0.7187	-0.008670	45.94	1388.	1.000
90.00 *	0.6000	0.6281	-0.02808	65.59	2837.	1.000
120.0 *	0.5700	0.5489	0.02108	83.14	4673.	1.000

Final Parameters

Rsq	0.9692
Rsq_adjusted	0.9615
Corr_XY	-0.9845
No_points_lambda_z	6
Lambda_z	0.0045
Lambda_z_lower	25.0000
Lambda_z_upper	120.0000
HL_Lambda_z	154.3425
Tmax	25.0000
Cmax	0.8600
C0	0.4400
Tlast	120.0000
Clast	0.5700
AUClast	83.1400
AUCall	83.1400
AUCINF_obs	210.0614
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	60.4211
AUC_%Back_Ext_obs	0.4189
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	205.3665
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	59.5163
AUC_%Back_Ext_pred	0.4285
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	4673.2600
AUMCINF_obs	48165.2936
AUMC_%Extrap_obs	90.2975
AUMCINF_pred	46556.5167
AUMC_%Extrap_pred	89.9622
MRTlast	56.2095
MRTINF_obs	229.2915
MRTINF_pred	226.6996
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000



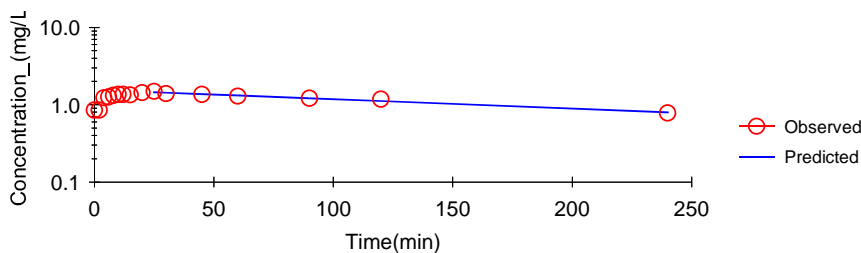
Subject=K

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	0.8500			0.0000	0.0000	
2.000	0.8500			1.700	1.700	
4.000	1.230			3.780	8.320	
6.000	1.260			6.270	20.80	
8.000	1.320			8.850	38.92	
10.00	1.360			11.53	63.08	
12.00	1.360			14.25	93.00	
15.00	1.340			18.30	147.6	
20.00	1.430			25.23	269.4	
25.00 *	1.490	1.453	0.03689	32.53	434.0	1.000
30.00 *	1.390	1.433	-0.04291	39.73	631.4	1.000
45.00 *	1.360	1.374	-0.01397	60.35	1403.	1.000
60.00 *	1.290	1.317	-0.02745	80.23	2443.	1.000
90.00 *	1.210	1.211	-0.001303	117.7	5237.	1.000
120.0 *	1.180	1.114	0.06629	153.6	8995.	1.000
240.0 *	0.7800	0.7959	-0.01587	271.2	2.872e+004	1.000

Final Parameters

Rsqr	0.9786
Rsqr_adjusted	0.9743
Corr_XY	-0.9892
No_points_lambda_z	7
Lambda_z	0.0028
Lambda_z_lower	25.0000
Lambda_z_upper	240.0000
HL_Lambda_z	247.5407
Tmax	25.0000
Cmax	1.4900
C0	0.8500
Tlast	240.0000
Clast	0.7800
AUClast	271.1750
AUCall	271.1750
AUCINF_obs	549.7331
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	50.6715
AUC_%Back_Ext_obs	0.3092
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	555.3995
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	51.1748
AUC_%Back_Ext_pred	0.3061
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	28722.6300
AUMCINF_obs	195056.8211
AUMC_%Extrap_obs	85.2747
AUMCINF_pred	198440.4156
AUMC_%Extrap_pred	85.5258
MRTlast	105.9192
MRTINF_obs	354.8210
MRTINF_pred	357.2931
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000

Subject=K
 Rsqr=0.9786 Rsqr_adjusted=0.9743 HL_Lambda_z=247.5407
 (7 points used in calculation)
 Uniform Weighting

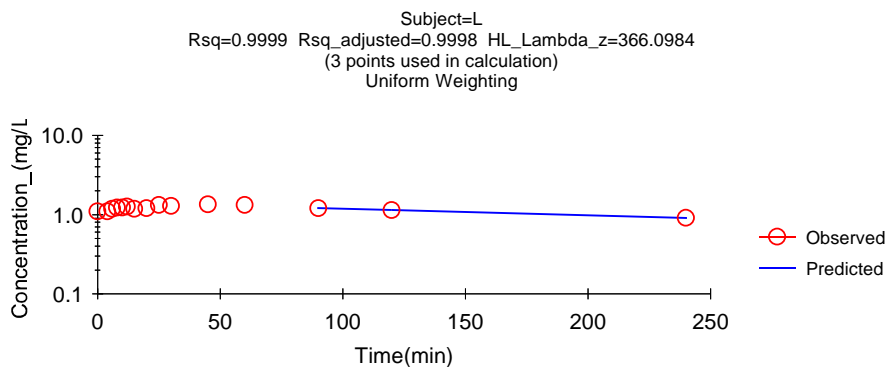


Subject=L

Time	Conc.	Pred.	Residual	AUC	AUMC	Weight
0.0000 @	1.100			0.0000	0.0000	
4.000	1.100			4.400	8.800	
6.000	1.180			6.680	20.28	
8.000	1.230			9.090	37.20	
10.00	1.230			11.55	59.34	
12.00	1.260			14.04	86.76	
15.00	1.180			17.70	136.0	
20.00	1.210			23.68	240.7	
25.00	1.330			30.03	384.4	
30.00	1.290			36.58	564.2	
45.00	1.350			56.38	1310.	
60.00	1.330			76.48	2364.	
90.00 *	1.210	1.208	0.001501	114.6	5195.	1.000
120.0 *	1.140	1.142	-0.001770	149.8	8880.	1.000
240.0 *	0.9100	0.9097	0.0002823	272.8	3.019e+004	1.000

Final Parameters

Rsq	0.9999
Rsq_adjusted	0.9998
Corr_XY	-1.0000
No_points_lambda_z	3
Lambda_z	0.0019
Lambda_z_lower	90.0000
Lambda_z_upper	240.0000
HL_Lambda_z	366.0984
Tmax	45.0000
Cmax	1.3500
C0	1.1000
Tlast	240.0000
Clast	0.9100
AUClast	272.8250
AUCall	272.8250
AUCINF_obs	753.4582
AUCINF_D_obs	Missing
AUC_%Extrap_obs	63.7903
AUC_%Back_Ext_obs	0.5840
Vz_obs	0.0000
Cl_obs	0.0000
AUCINF_pred	753.3091
AUCINF_D_pred	Missing
AUC_%Extrap_pred	63.7831
AUC_%Back_Ext_pred	0.5841
Vz_pred	0.0000
Cl_pred	0.0000
AUMClast	30192.2400
AUMCINF_obs	399399.4352
AUMC_%Extrap_obs	92.4406
AUMCINF_pred	399284.9157
AUMC_%Extrap_pred	92.4384
MRTlast	110.6652
MRTINF_obs	530.0884
MRTINF_pred	530.0413
Vss_obs	0.0000
Vss_pred	0.0000



Annexe 3 : Analyse de variances par le logiciel Systat

TUE 2/03/04 12:30:47

SYSTAT VERSION 5.0
COPYRIGHT, 1990-1992
SYSTAT, INC.

Welcome to SYSTAT!
WORKSPACE CLEAR FOR CREATING NEW DATASET
WORKSPACE CLEAR FOR CREATING NEW DATASET

TUE 2/03/04 12:48:30

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

PAIR
1.000 2.000 3.000 4.000 5.000
6.000

DEP VAR: **DEMIVIE** N: 12 MULTIPLE R: 0.730 SQUARED MULTIPLE R:
0.533

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
PAIR	3128.667	5	625.733	1.370	0.353
ERROR	2741.000	6	456.833		

TUE 2/03/04 12:48:40

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

PAIR
1.000 2.000 3.000 4.000 5.000
6.000

DEP VAR: **CLAIRANC** N: 12 MULTIPLE R: 0.819 SQUARED MULTIPLE R:
0.671

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
PAIR	7.308	5	1.462	2.442	0.154
ERROR	3.591	6	0.599		

TUE 2/03/04 12:48:47

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

PAIR
1.000 2.000 3.000 4.000 5.000
6.000

DEP VAR: **MRT** N: 12 MULTIPLE R: 0.791 SQUARED MULTIPLE R:
0.626

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
PAIR	7315.667	5	1463.133	2.009	0.210
ERROR	4369.000	6	728.167		

TUE 2/03/04 12:49:29

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

PAIR
1.000 2.000 3.000 4.000 5.000
6.000

DEP VAR: **VSS** N: 12 MULTIPLE R: 0.566 SQUARED MULTIPLE R:
0.321

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
PAIR	33657.417	5	6731.483	0.566	0.725
ERROR	71311.500	6	11885.250		

TUE 2/03/04 12:49:41

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

PAIR
1.000 2.000 3.000 4.000 5.000
6.000

DEP VAR: **CMAX** N: 12 MULTIPLE R: 0.750 SQUARED MULTIPLE R:
0.563

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
PAIR	0.024	5	0.005	1.543	0.304
ERROR	0.018	6	0.003		

TUE 2/03/04 12:49:48

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

PAIR
 1.000 2.000 3.000 4.000 5.000
 6.000

DEP VAR: **AUCMET** N: 12 MULTIPLE R: 0.755 SQUARED MULTIPLE R:
0.569

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
PAIR	2486.710	5	497.342	1.587	0.294
ERROR	1880.773	6	313.462		