

*Influence des Transporteurs
dans l'Absorption des Médicaments :
Exemple de la P-glycoprotéine*

Introduction

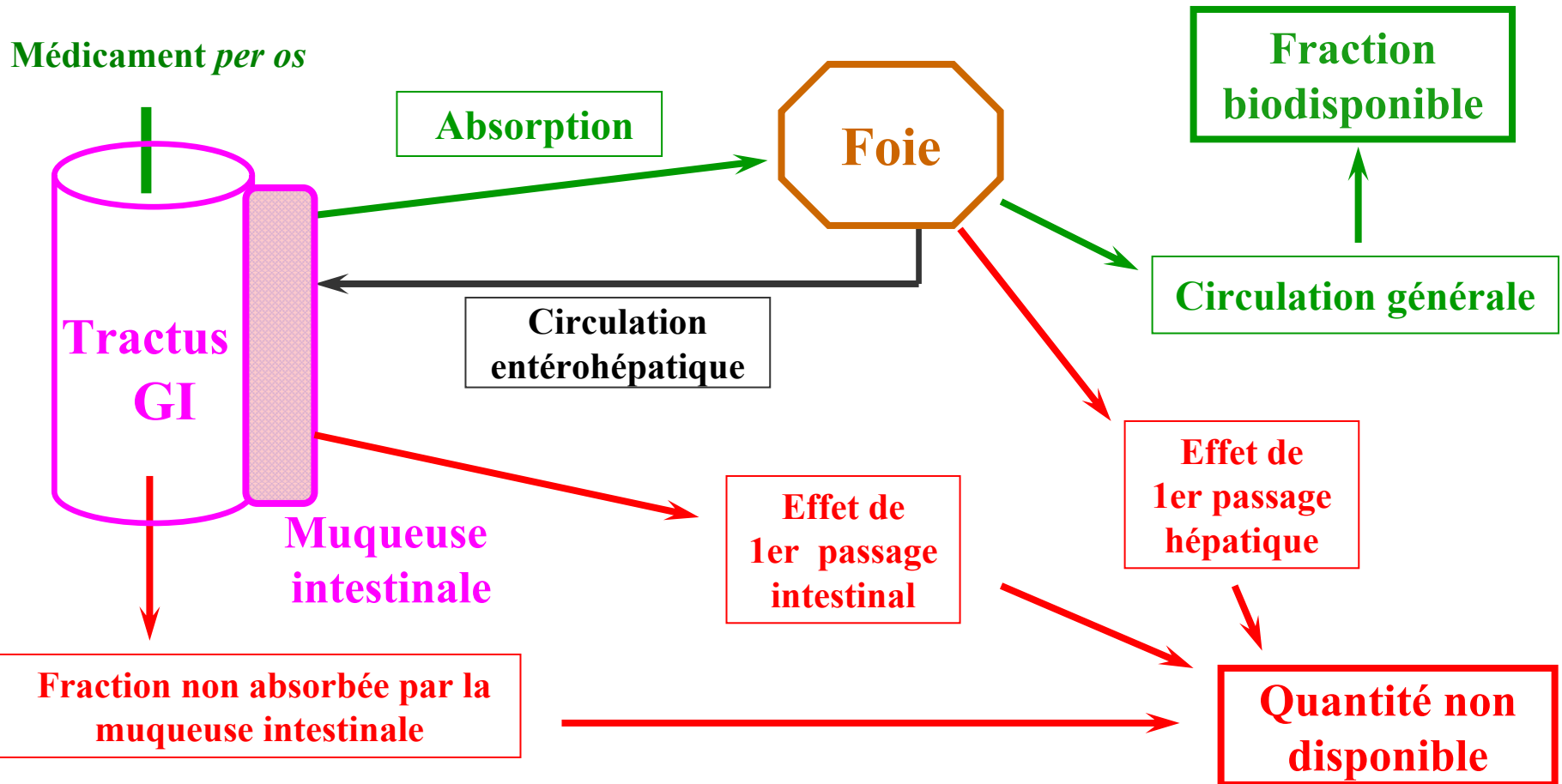
Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Voies d'Administration des Médicaments :

- intraveineuse
- extravasculaire

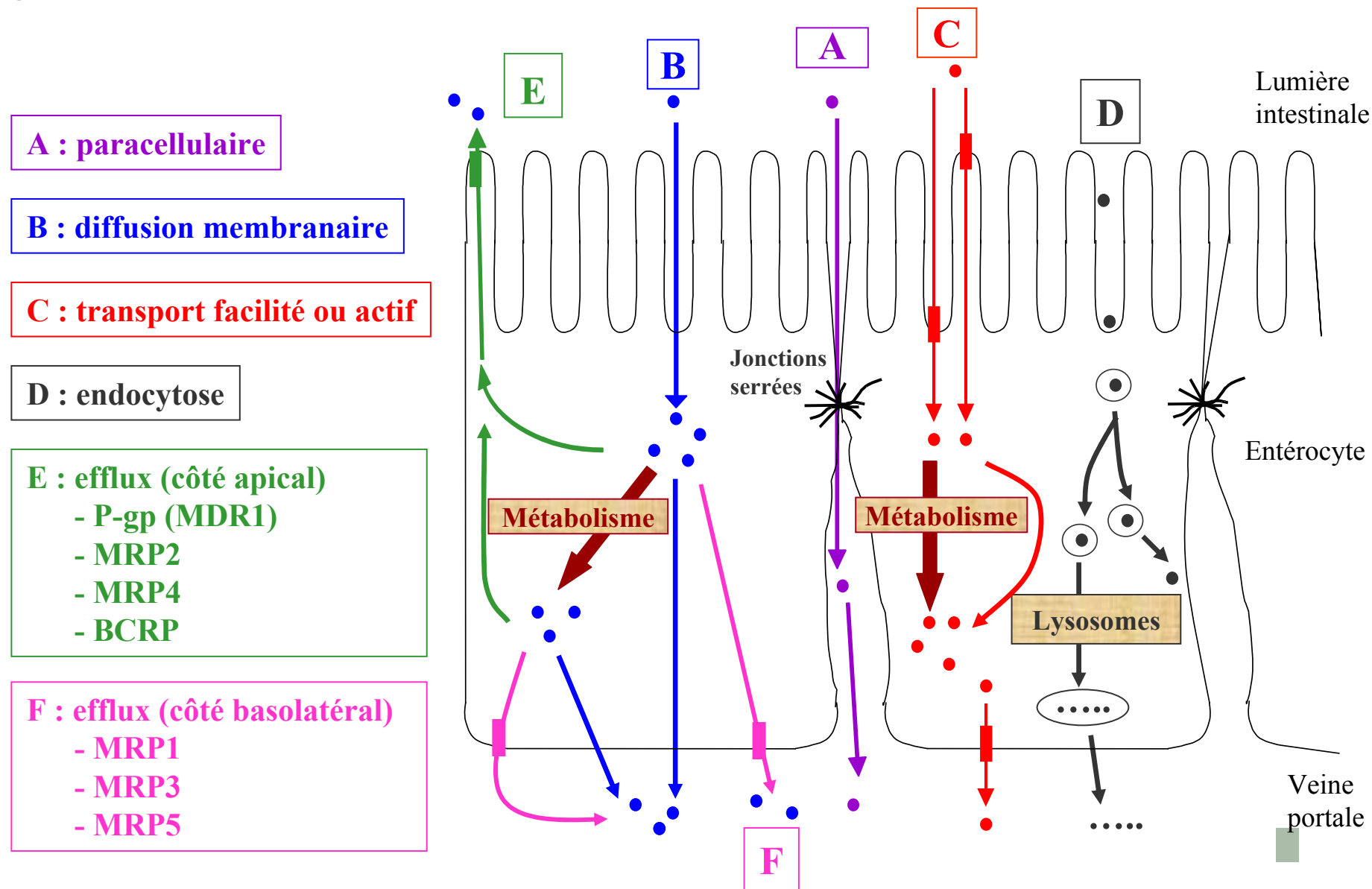
@ Voie la plus utilisée $\Rightarrow$ voie orale:

- Simplicité apparente mais processus complexe



Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Les voies de passage à travers la membrane intestinale :



Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
---------------------	---	-------------------------	------------------------------	------------------------------------

@ Tractus GastroIntestinal $\Rightarrow$ transport actif de médicaments :

Transporteurs favorisant l'absorption	Médicaments
Acides Aminés (Na^+ , K^+ , H^+ , OH^- , Cl^-)	gabapentine, L-DOPA, baclofène
Acides Monocarboxyliques (MCT1) (H^+)	acide benzoïque, pravastatine, ibuprofène
AE2 (HCO_3^-)	acide valproïque, acide nicotinique
Acide Folique (H^+/OH^-)	? méthotrexate
Peptides (pepT1) (H^+)	β -lactamines, IEC (captopril)
Cations organiques : choline (?)	? cimétidine
Nucléosides (N1 à N5) (Na^+)	acyclovir, zidovudine

Transporteurs d'efflux	Médicaments
P-glycoprotéine (P-gp) Breast Cancer Resistant Protein (BCRP)	Très nombreux Anticancéreux, conjugués glucuronides et glutathions, composés anioniques, ? cisplatine
Multiple Resistance Protein	
MRP 1	
MRP 2 (cMOAT, membrane apicale)	
MRP 3 (membrane basolatérale)	
MRP 4,5,6	

La P-Glycoprotéine



gènes - structure - fonction

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Définition de la P-glycoprotéine :

- glycoprotéine membranaire de perméabilité
- PM = 170 kDa
- superfamille des transporteurs ABC (ATP Binding Cassette)
- excrétion ATP-dépendante de xénobiotiques
- responsable de nombreux phénotypes MDR (*multidrug resistance*)

@ Rôles de la P-gp :

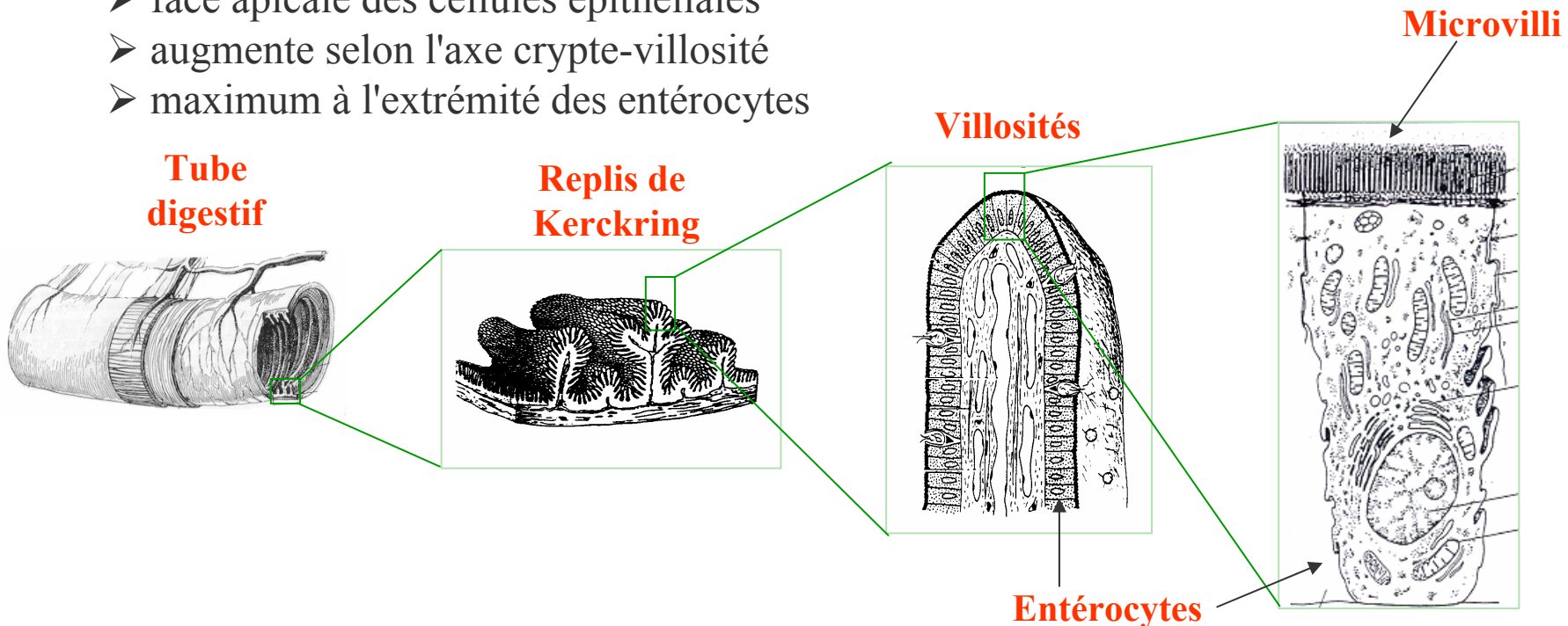
- Physiologique : excrétion de métabolites ou de toxines
 - ⇒ rôle protecteur de l'organisme.
- Dans l'absorption des xénobiotiques
 - ⇒ limitation potentielle de la fraction disponible de nombreux médicaments

@ Expression tissulaire de la P-gp :

- dans les cellules cancéreuses
- au niveau de tissus sains:
 - ↳ épithéliums excrétoires glandulaires
 - ↳ endothélium vasculaire de la barrière hémato-encéphalique (BHE)
 - ↳ cellules souches hématopoïétiques, macrophages activés, polynucléaires
 - ↳ tube digestif, foie, rein, prostate

@ Expression de la P-gp au niveau du tube digestif :

- face apicale des cellules épithéliales
- augmente selon l'axe crypte-villosité
- maximum à l'extrémité des entérocytes



@ Détection de la P-gp :

- anticorps :
 - ➔ Intracellulaires : C219, C494
 - ➔ Extracellulaires : MRK16, UIC2
- efflux de marqueurs fluorescents : rhodamine123
- efflux de substrats avérés (ex de la Digoxine)

@ Exemple de détection de la P-gp par l'anticorps MRK16

Table 1. Localization of P-glycoprotein with MRK16

P-glycoprotein detected	P-glycoprotein not detected
Liver, biliary canicular surface of hepatocytes: apical surface of small biliary ductules	Stomach
Jejunum and colon: apical surface of columnar epithelial cells	Lung
Kidney: brush border of proximal tubules	Central nervous system (cerebral cortex, cerebellum, spinal cord)
Pancreas: apical surface of small ductules	Ovary and uterus
Adrenal: diffusely on the surface of cells in medulla and cortex	Spleen
	Skin
	Placenta
	All other cells of liver, jejunum, colon, kidney, and pancreas

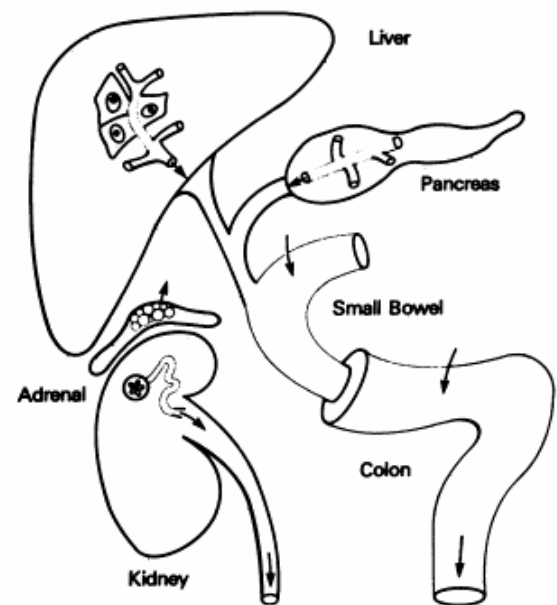


FIG. 2. Schematic drawing of the organ distributions of P-glycoprotein found using immunohistochemistry.

F. Thiebaut et al

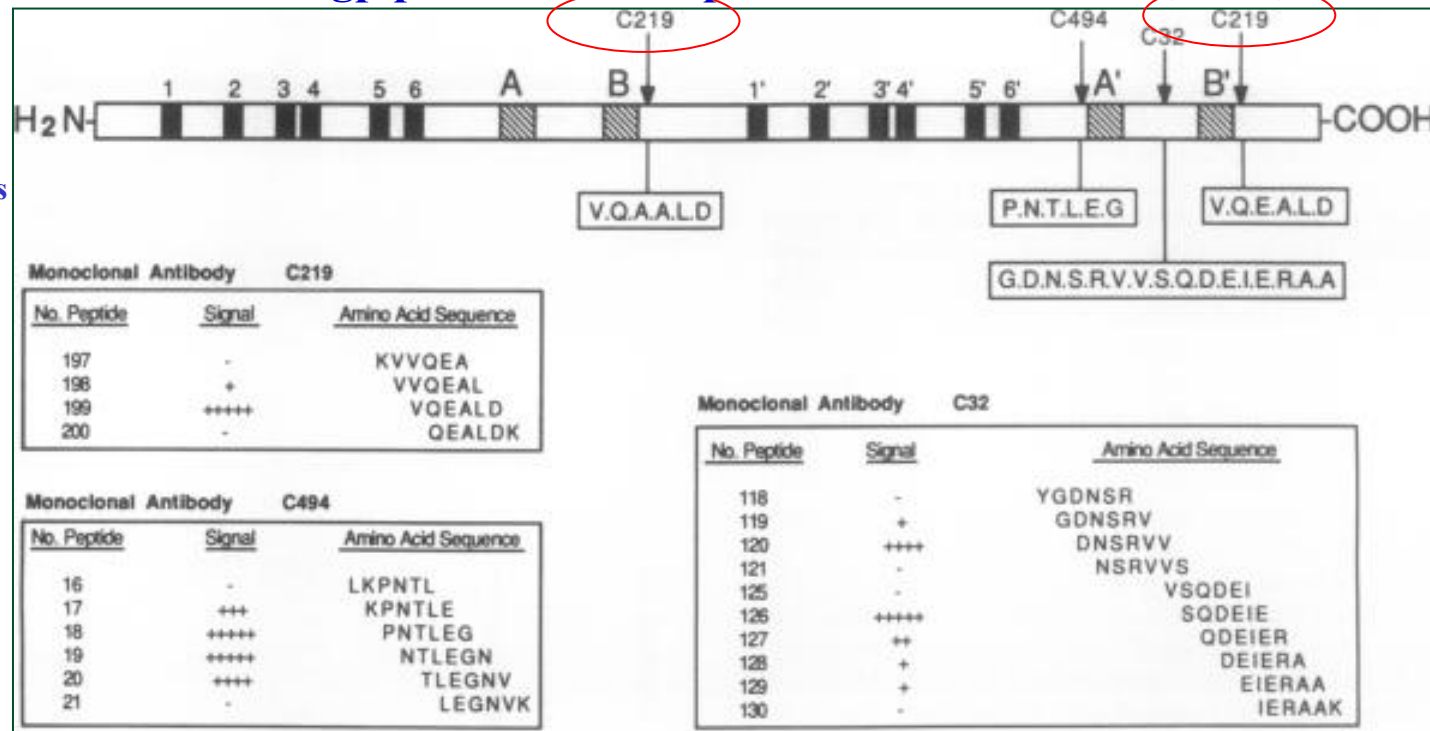
Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 84, 7735-7738, 1987

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Exemple de détection de la P-gp par des anticorps monoclonaux: C219, C32, C494

Représentation d'une molécule
de Pgp chez le hamster (Pgp1)
-12 domaines transmembranaires
(1-6 et 1'-6')
-2 domaines de liaison à l'ATP
(A-B et A'B')



Pgp isoform class	Epitopes		
	mAb C219	mAb C32	mAb C494
Hamster			
I (Pgp1)	+	+	+
II (Pgp2)	+	+	-
III (Pgp3)	+	-	-
Human			
I (mdr1)	+	-	+
III (mdr3)	+	-	-
Mouse			
II (mdr1)	+	-	-
III (mdr2)	+	-	-

E. Georges et al

*Detectoin of P-glycoprotein isoforms by gene-specific monoclonal antibodies.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 87, 152-156, 1990*

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Différentes familles de gènes codant pour la P-gp :

	Classe I	Classe II	Classe III
Humain	MDR1	MDR3/MDR2	MDR3/MDR2
Hamster	Pgp1/mdr1	Pgp2/mdr2	Pgp3
Souris	mdr3/mdr1a mdr1/mdr1b	mdr1	mdr2
Rat	Pgp2/mdr1b	Pgp3/mdr2	Pgp3

> 75% d'homologie avec mdr1

Classe I et II → transport de xénobiotiques

Classe III → transport de phospholipides:
ne confère pas de phénotype MDR

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Transcription du gène *mdr1* régulée par :

- ↳ contact avec des métaux lourds, carcinogènes, solvants organiques et des cytotoxiques
- ↳ processus tumoral (le produit du gène *ras* et la protéine p53 mutée sont des activateurs).

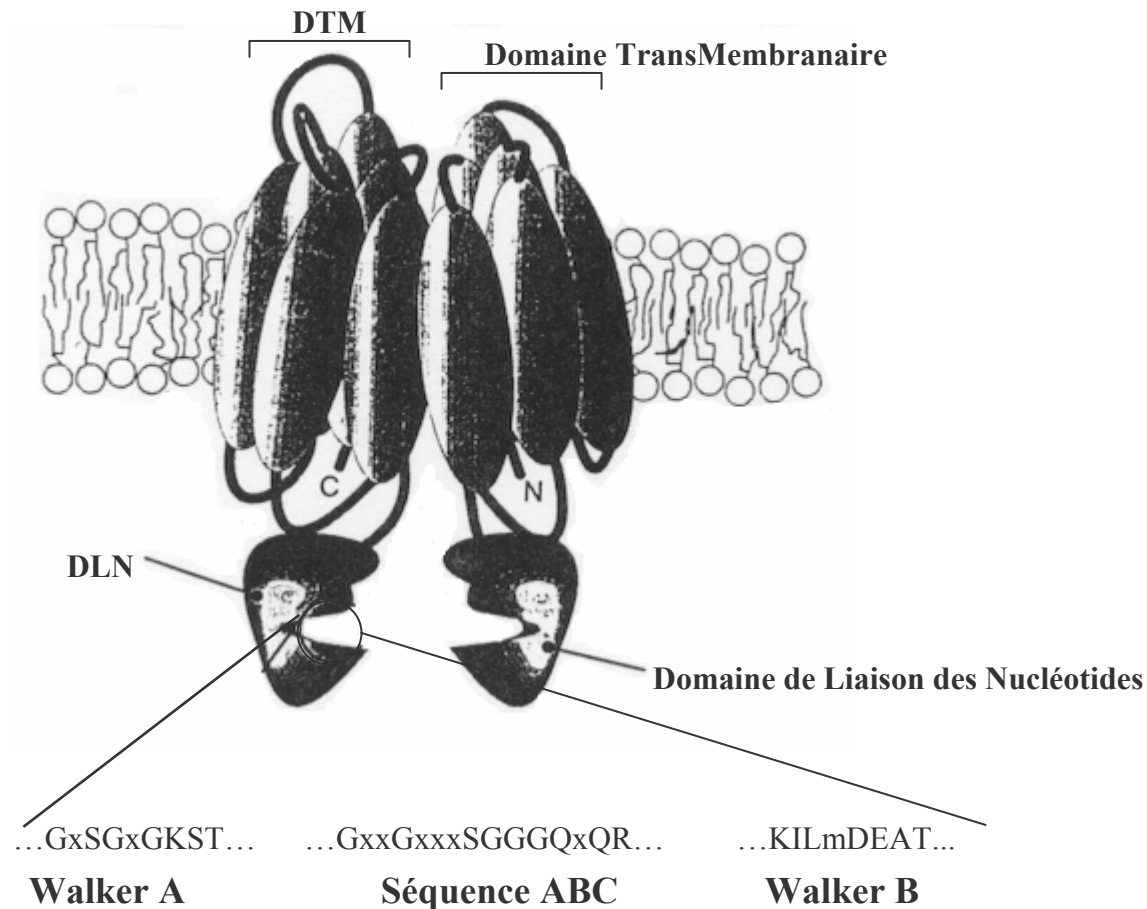
@ Modifications post-traductionnelles :

- ↳ glycosylation :
 - 1ère boucle extracellulaire
 - nécessaire à la translocation de la P-gp
- ↳ phosphorylation :
 - résidus sérine entre les positions 661 et 683
 - protéines kinases A et C
 - effets non déterminés

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Famille des transporteurs ABC et structure générale :

- ↪ gènes de protéines de transport membranaires et se liant à l'ATP.
- ↪ analogues depuis les bactéries jusqu'aux mammifères
- ↪ 20 transporteurs connus : P-gp, MRP et BCRP...



Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Topologie membranaire :

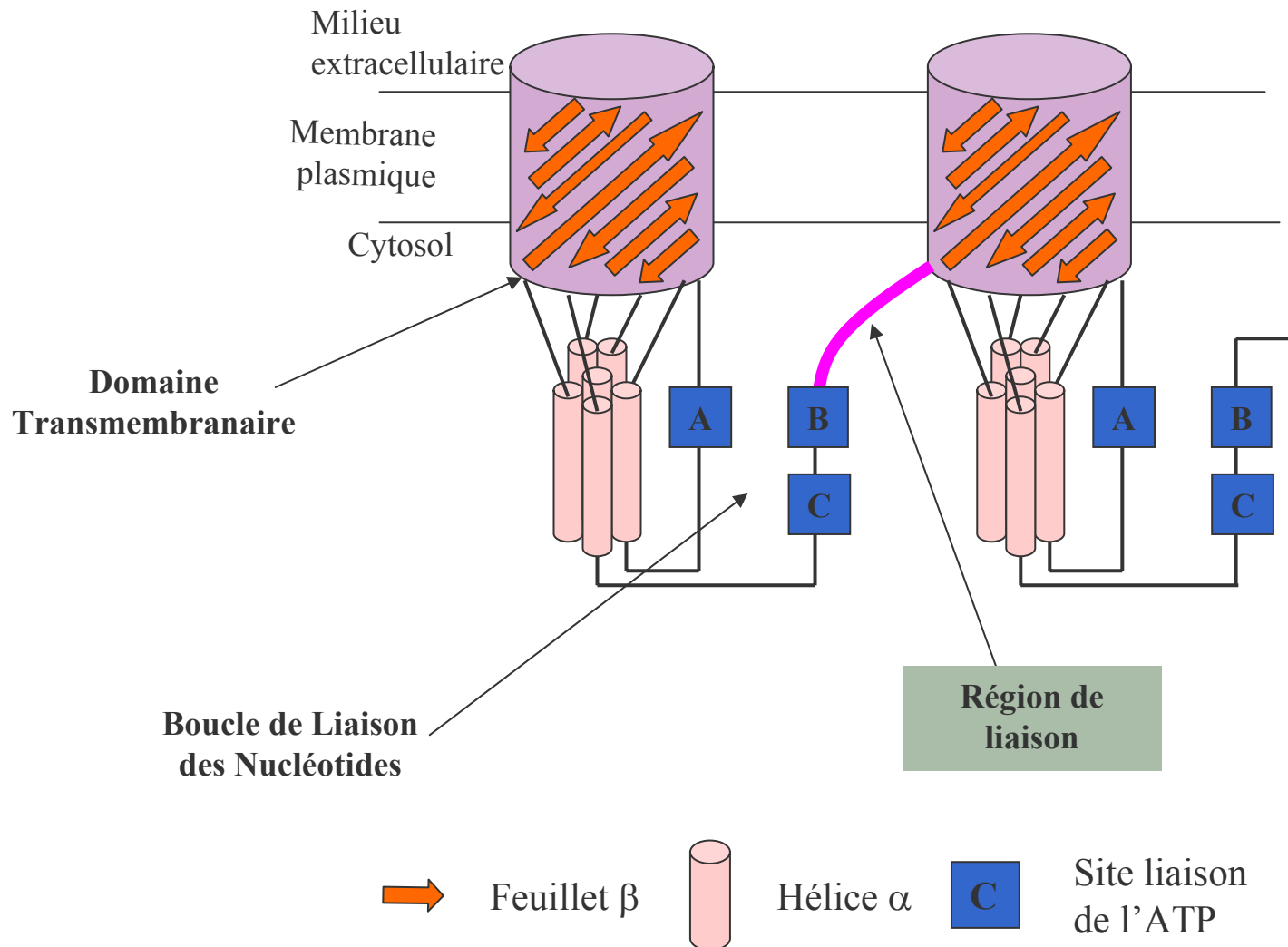
- ↳ conventionnelle (12 hélices α transmembranaires)
 - ↳ non conventionnelle (8 hélices α transmembranaires et 4 hélices extracytoplasmiques)
- Energie du changement conformationnel fournie par l'hydrolyse de 1 'ATP.

@ Activité ATPasique :

- ↳ une molécule de P-gp $\Rightarrow$ 25 ATP / seconde à 37°C
- ↳ les 2 domaines de liaison à l'ATP hydrolysent l'ATP mais pas simultanément
- ↳ stimulée par la fixation du substrat (domaines transmembranaires 4,5,6 et 10,11,12)
- ↳ la présence des deux sites de liaison de l'ATP est indispensable au transport

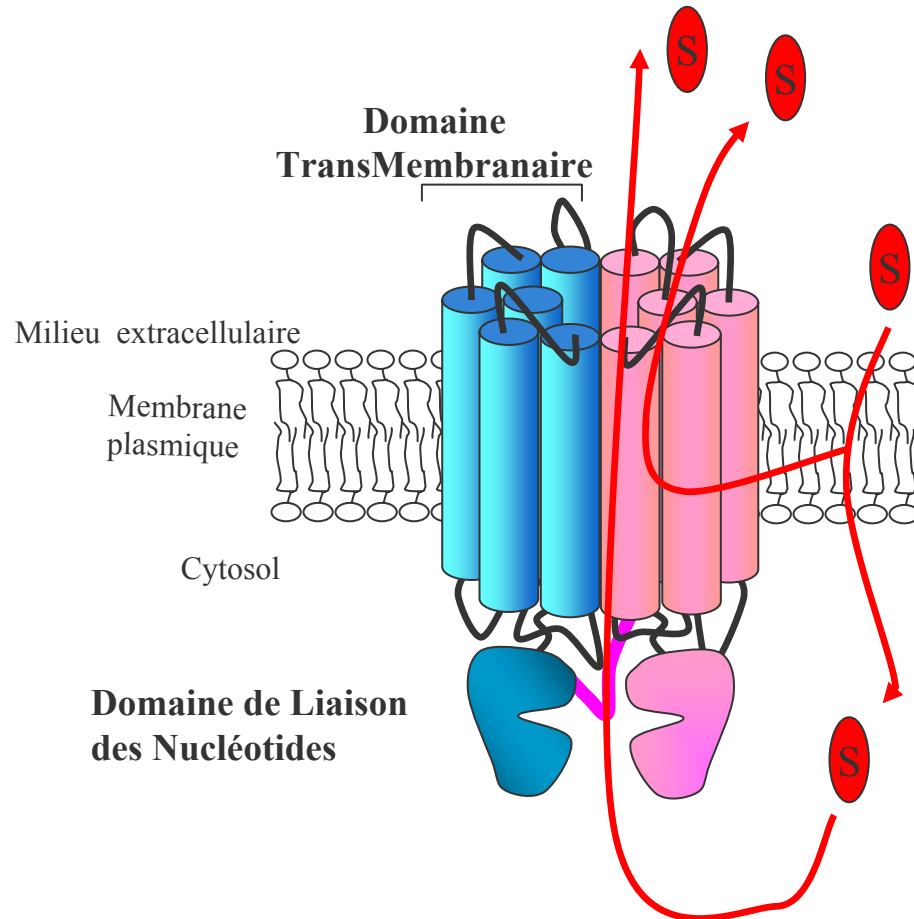
Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Structure secondaire de la P-gp :

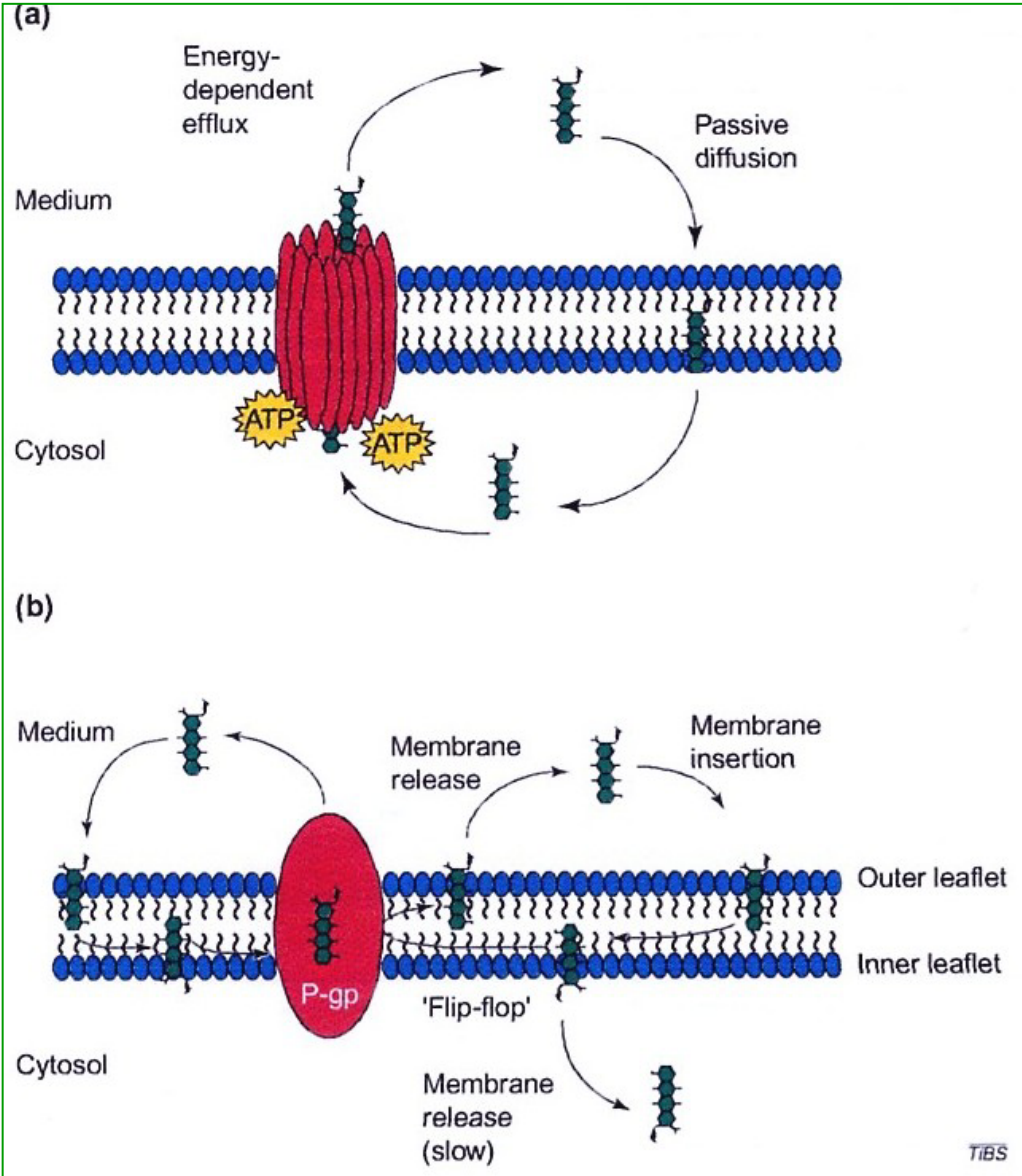


Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

P-gp = "aspirateur plasmique"



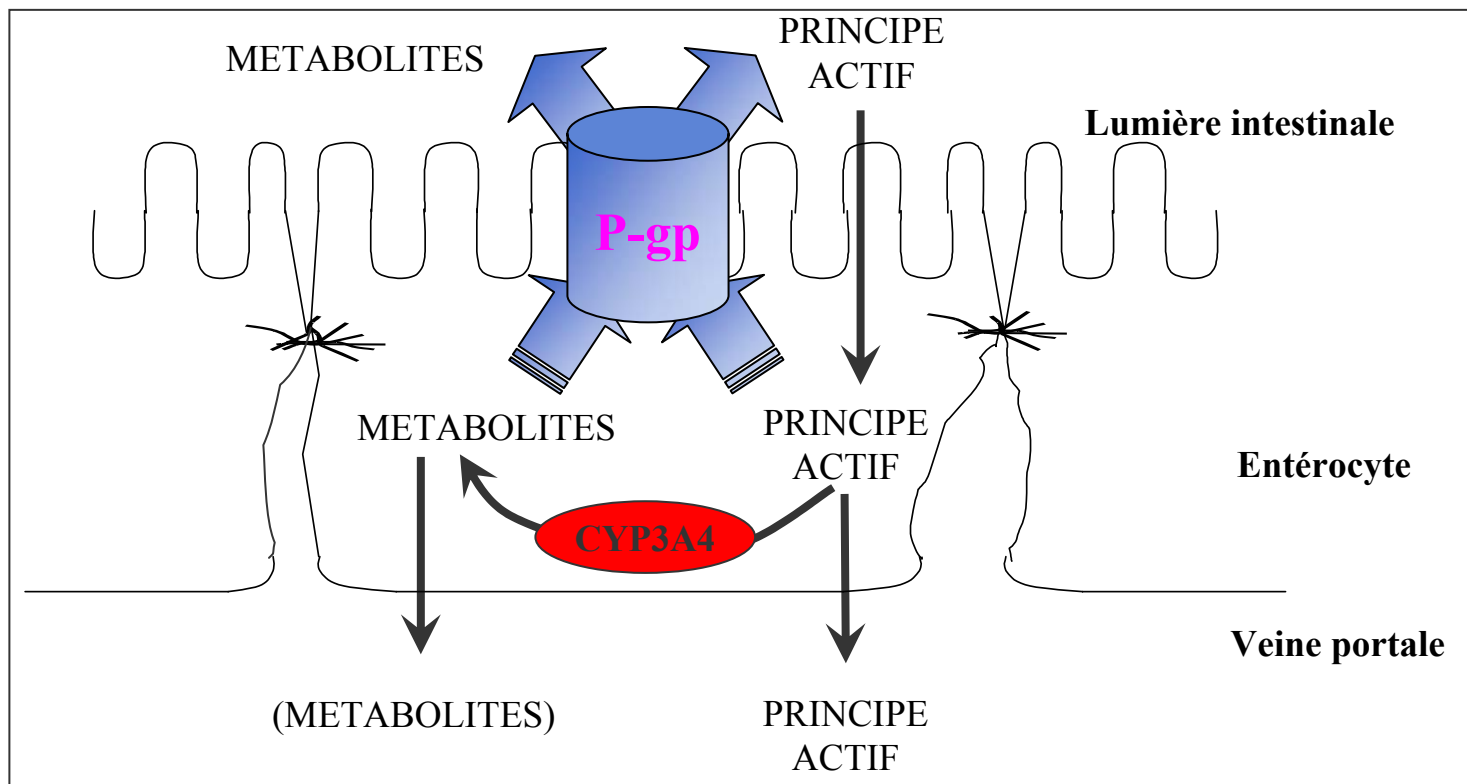
P-gp = "aspirateur plasmique"



@ Interaction entre la P-gp et le métabolisme : exemple au niveau intestinal

Spécificités communes
entre P-gp et CYP3A4

- expressions dans le jéjunum, le colon et le rein,
- substrats (cyclosporine, étoposide, saquinavir...),
- inducteurs (rifampicine), inhibiteurs (ketoconazole)



⇒ Diminution de l'exposition de l'organisme aux xénobiotiques.

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

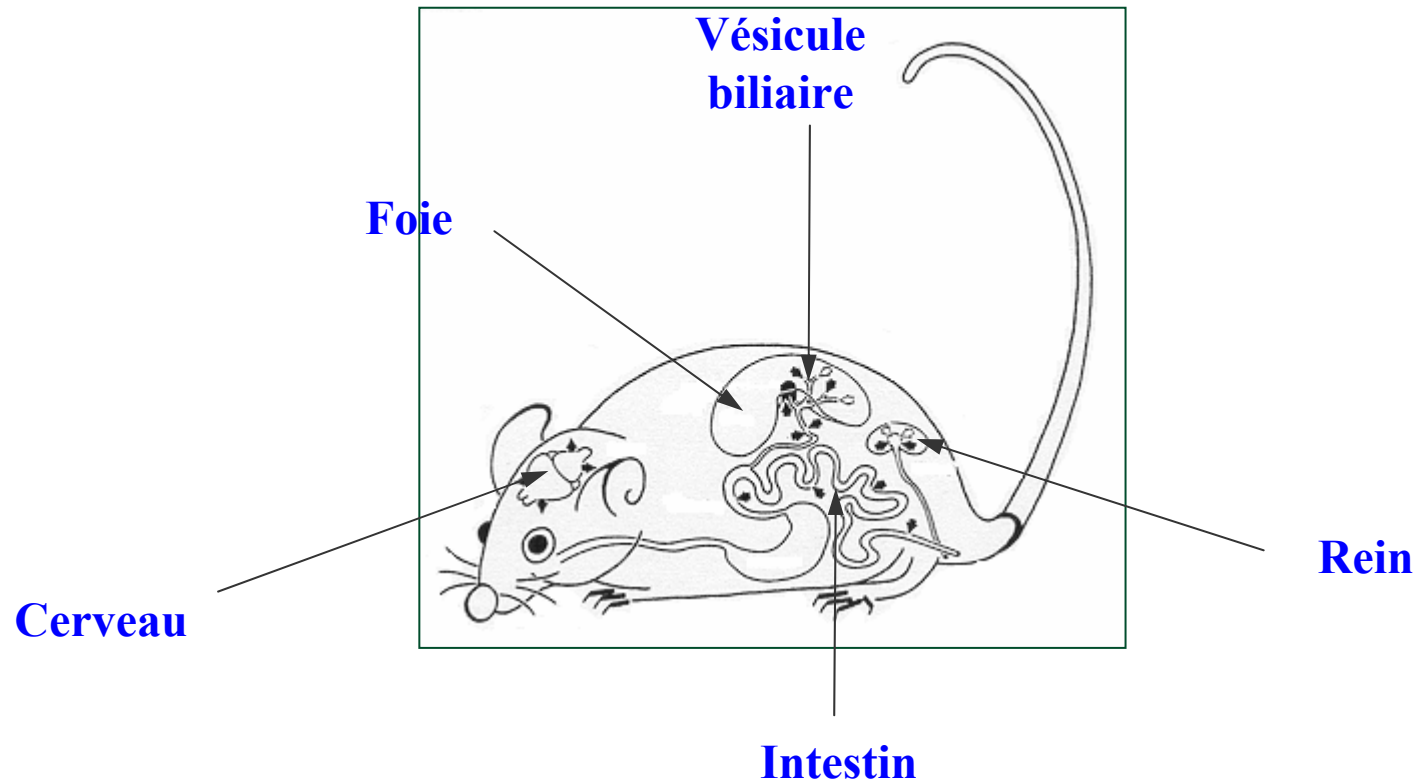
@ Interaction entre
la P-gp et
le métabolisme :
exemples

S ou I du CYP3A4	P-gp	S ou I du CYP3A4	P-gp
Antiarhythmiques			
Amiodarone	I	Quinidine	I
Antifongiques			
Itraconazole	I	Ketoconazole	I
Antagonistes calcium			
Diltiazem	S , I	Felodipine	I
Nicardipine	S , I	Nifedipine	I
Nitrendipine	I	Vérapamil	S, I
Chemothérapeutiques			
Etoposide	S	Doxorubicine	S
Paclitaxel	S	Vinblastine	S
Vincristine	S	Vindestine	S
Hormones			
Dexaméthasone	S	Hydrocortisone	S, I
Progestérone	I	Testostérone	I
Immunosuppresseurs			
Cyclosporine	S, I	Tacrolimus	S, I
Sirolimus	S		
Inhibiteurs protéase HIV			
Indinavir	S, I	Ritonavir	S, I
Nelfinavir	S, I	Saquinavir	S, I
Autres			
Digoxine	S	Mifépristone	I
Erythromycine	I	Terfénadine	S , I
(S = Substrat ; I = Inhibiteur)			

Rôles de la P-gp

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

- Distribution du gène *mdr1* chez la souris similaire à celle du gène équivalent chez l'homme :



Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Rôle dans les tissus sains :

➤ Foie :

↳ gène de classe III ou mdr 2

↳ membrane de canalicules biliaires.

↳ souris mdr2 (-/-) :

- absence de sécrétion de phosphatidylcholine
- forte diminution des taux plasmatiques de cholestérol-HDL.

↳ α -tocophérol :

- cycle entérohépatique dépendant de la présence du gène mdr2
- sécrétion inhibée par le vérapamil.

⇒ P-gp hépatique : transport de phospholipides.

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Rôle dans les tissus sains :

➤ Barrière hémato-encéphalique :

↳ souris *mdr1a* (-/-) 100 fois plus sensibles à l'ivermectine

que les souris *mdr1a* (+/+)

↳ souris *mdr1a*(-/-) : accumulation cérébrale de substrats de la P-gp

↳ étude de transport de médicaments :

- vinblastine ou digoxine + PSC 833
 - inhibiteurs de protéase de VIH-1 + quinidine
- } augmentation du passage

↳ implications pharmacocinétiques :

- co-administration de principes actifs substrats de la P-gp

⇒ risques d'effets indésirables importants.

⇒ P-gp : excrétion de xénobiotiques toxiques

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Rôle dans les tissus sains :

➤ Barrière hémato-placentaire:

↳ Etude de l'apparition de malformations chez des embryons de souris de la lignée CF-1:

- lignée CF-1 : 25 % *mdr1a* (+/+), 50 % *mdr1a* (+/-), **25 % *mdr1a* (-/-)**.
- traitement par un dérivé de l'ivermectine :
 ⇒ apparition de malformations chez les embryons *mdr1a*(-/-).

⇒ P-gp : rôle essentiel en régulant la dose administrée au fœtus.

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Rôle dans les tissus sains :

➤ Rein :

↪ gène *mdr1a* (exprimé au niveau des cellules rénales proximales) :

- substrat P-gp : nonylphénol éthoxylate
 - ⇒ sécrété dans l'urine par la P-gp rénale
 - ⇒ inhibe la sécrétion de cyclosporine par la P-gp rénale

↪ conséquences pharmacocinétiques :

- digoxine + clarithromycine : ↗ concentration sérique digoxine
- interaction dans l'élimination des médicaments.

⇒ **P-gp rénale : sécrétion de xénobiotiques vers l'urine.**

⇒ **P-gp = protection de l'organisme.**

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Phénomènes de résistance aux anti-tumoraux :

1- Phénotype MDR :

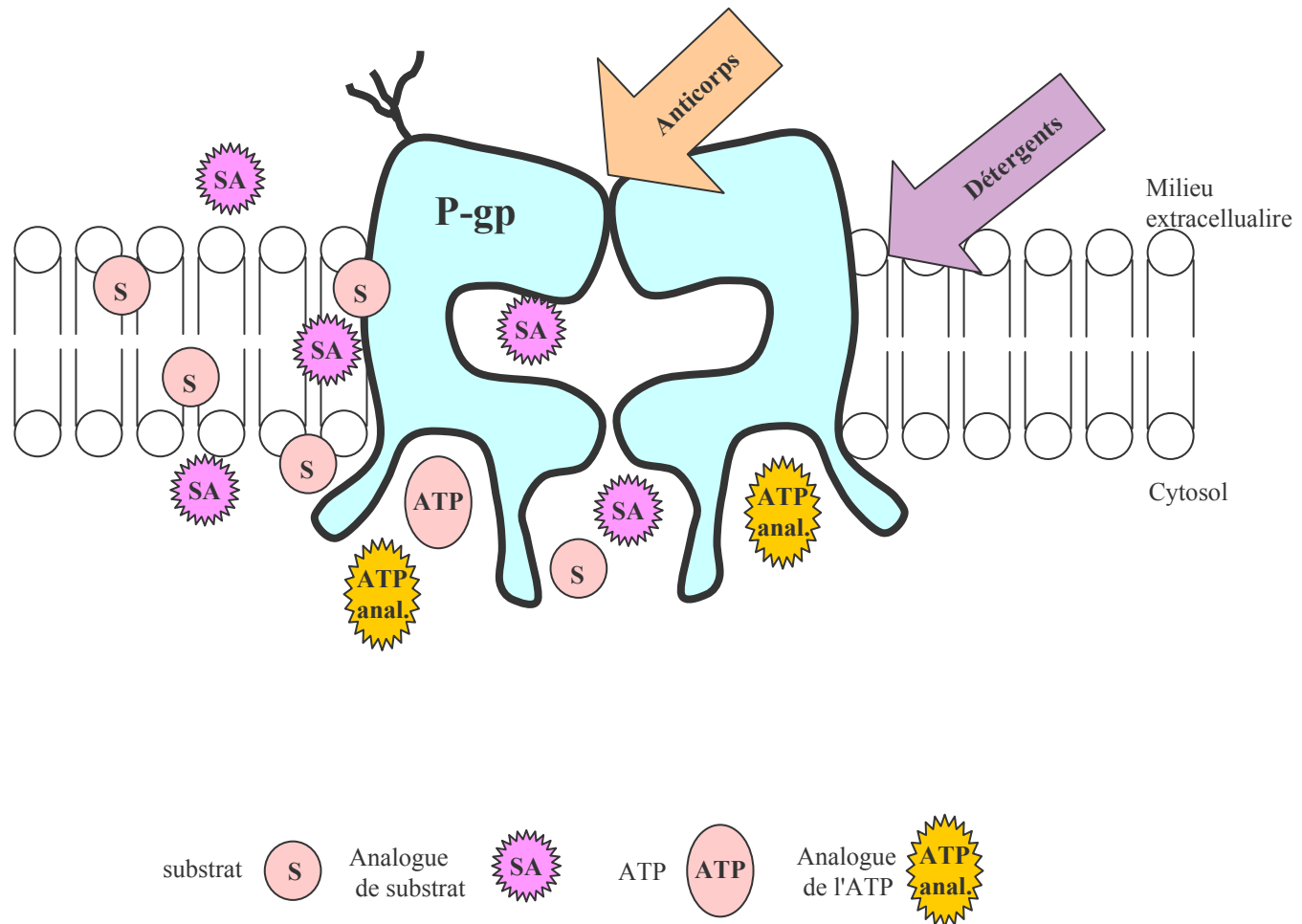
- résistance croisée vis à vis de composés très variés après exposition à un seul cytotoxique
- surexpression de la P-gp
- diminution de la concentration intracellulaire des cytotoxiques

⇒ P-gp = cible de choix pour améliorer les thérapeutiques anti-tumorales.

Modulation de la P-gp

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Stratégies possibles pour inhiber la P-gp :



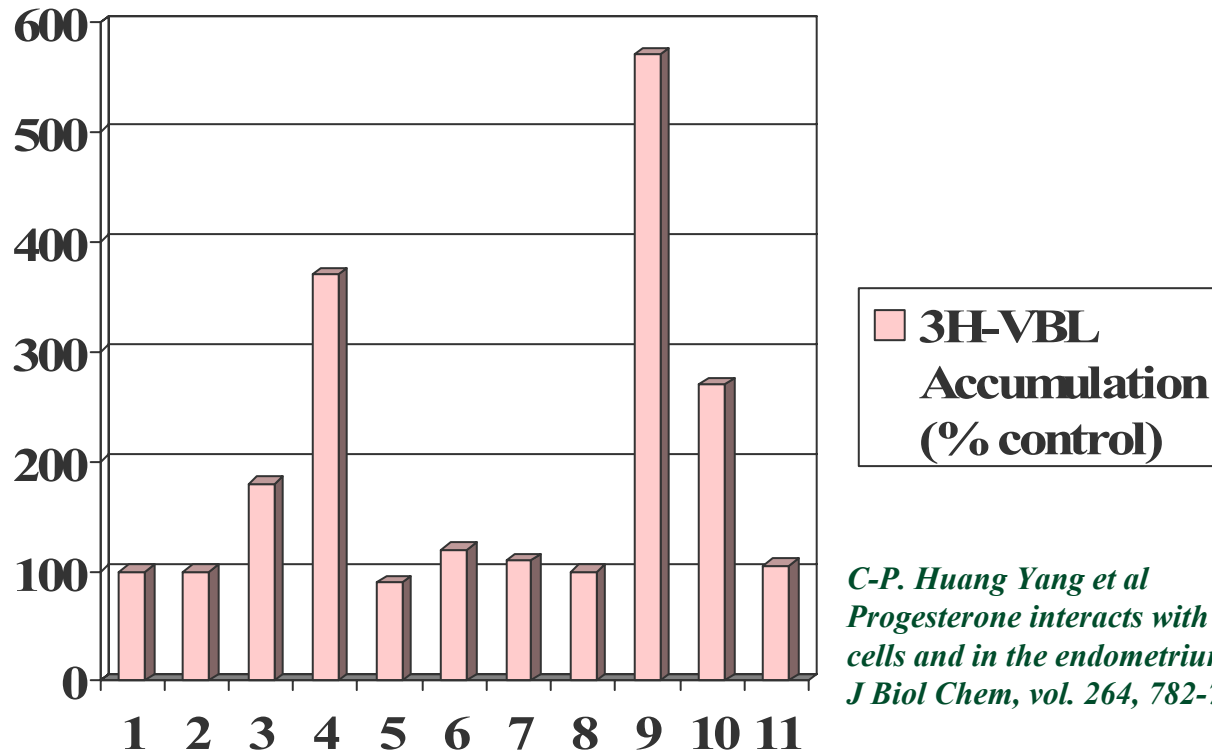
Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Utilisation de modulateurs pharmacologiques

Modulateurs	Concentrations optimales in vitro	Concentrations plasmatiques atteintes en clinique
<i>1ère génération</i>		
Vérapamil*	6-10 μM	1-2 μM
Quinidine	4-6 μM	3-10 μM
Cyclosporine A	5 μM	2-7 μM
Tamoxifène	10 μM	6 μM
<i>2ème génération</i>		
Dexvérapamil	6-10 μM	3 μM
Dexniguldipine	0,5-1 μM	0,3 μM
Valspodar ou PSC833	0,5-1 μM	2-4 μM
<i>3ème génération</i>		
GG918	<0,1 μM	?

*: la progestérone serait une alternative au vérapamil
 -mêmes concentrations optimales
 -absence de toxicité

@ Utilisation de modulateurs pharmacologiques: cas de la progestérone



C-P. Huang Yang et al
Progesterone interacts with P-glycoprotein in multidrug-resistant cells and in the endometrium of gravid uterus.
J Biol Chem, vol. 264, 782-788, 1989

Effect of steroids on [³H]-Vinblastine accumulation in J7 V1-1 cells:

1 control; **2** aldosterone (50 µl); **3** corticosterone (50 µl); **4** deoxycorticosterone (50 µl); **5** dexamethasone (50 µl);
6 α-estradiol (50 µl); **7** β-estradiol (50 µl); **8** hydrocortisone (50 µl); **9** progesterone (50 µl); **10** testoterone (50 µl);
11 sodium deoxycholate

@ Utilisation de modulateurs pharmacologiques

*: la progestérone serait
 une alternative au vérapamil
 -mêmes concentrations optimales
 -pas de toxicité

Modulateurs	Concentrations optimales in vitro	Concentrations plasmatiques atteintes en clinique
<i>1ère génération</i>		
Vérapamil*	6-10 µM	1-2 µM
Quinidine	4-6 µM	3-10 µM
Cyclosporine A	5 µM	2-7 µM
Tamoxifène	10 µM	6 µM
<i>2ème génération</i>		
Dexvérapamil	6-10µM	3 µM
Dexniguldipine	0,5-1 µM	0,3 µM
Valspodar ou PSC833	0,5-1 µM	2-4 µM
<i>3ème génération</i>		
GG918	<0,1µM	?

@ Autres possibilités

- Détergents
 ➤ Analogues de l'ATP
 ➤ Anticorps
 ➤ Désoxyoligonucléotides antisens : stabilité insuffisante et ciblage des cellules.

}
 Problèmes de spécificités

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	------------------------------	-----------------------------

@ Biodisponibilité orale de substrats de la P-gp :

↳ Co-administration substrats + modulateur pharmacologique :

- effets positifs :

⇒ inhibition de la P-gp intestinale (et du CYP 3A4)

⇒ ↗ quantité absorbée et/ou vitesse d'absorption

- effets négatifs :

⇒ blocage de la P-gp dans d'autres tissus

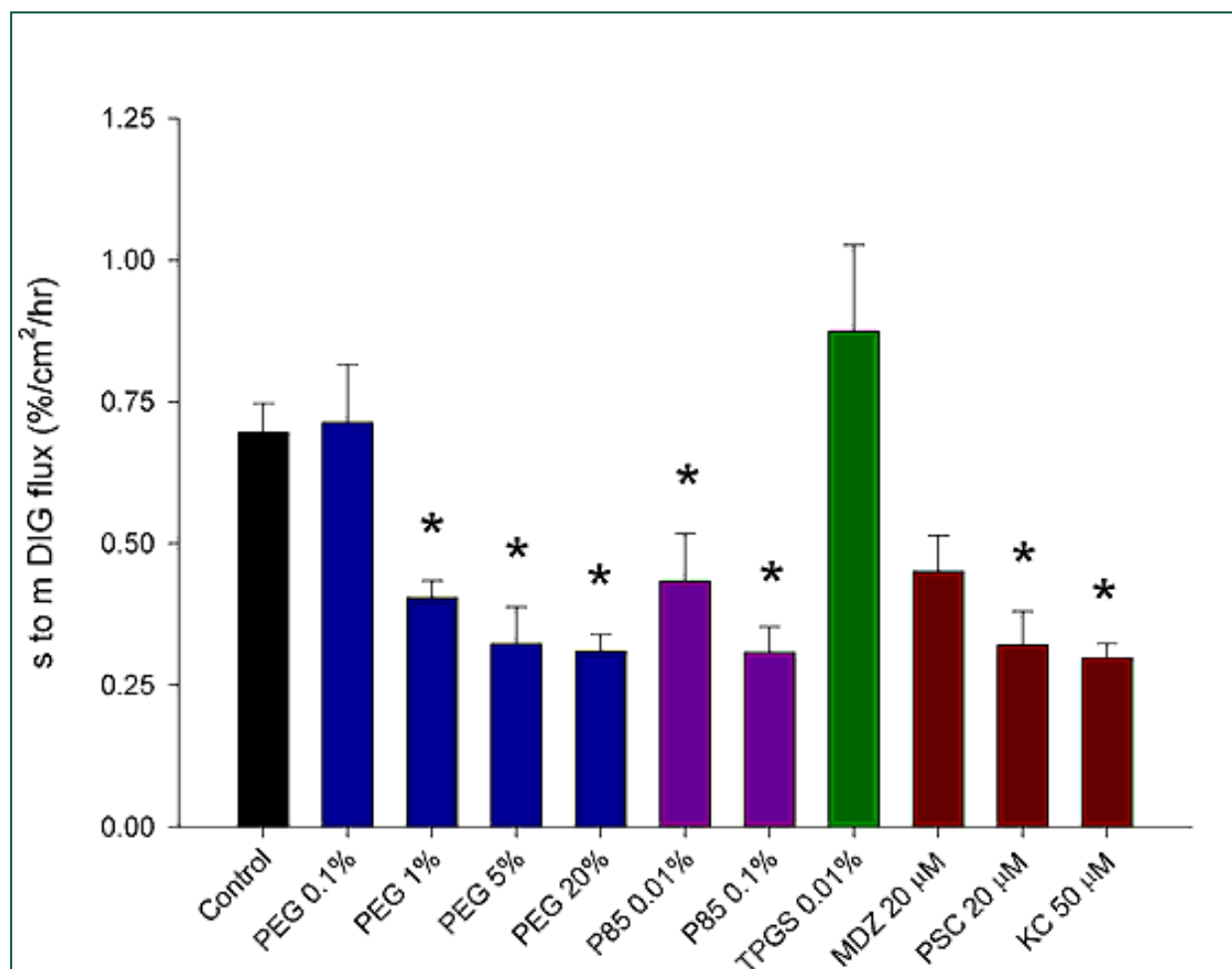
⇒ risques d'effets adverses des 2 molécules

↳ Solution:

- co-administration d'agents inhibiteurs spécifiques de la P-gp intestinale
- composés non absorbés

▶ exemple en cours de développement: les excipients

@ Exemple de modulation de la P-gp : les excipients



B-M. Johnson et al

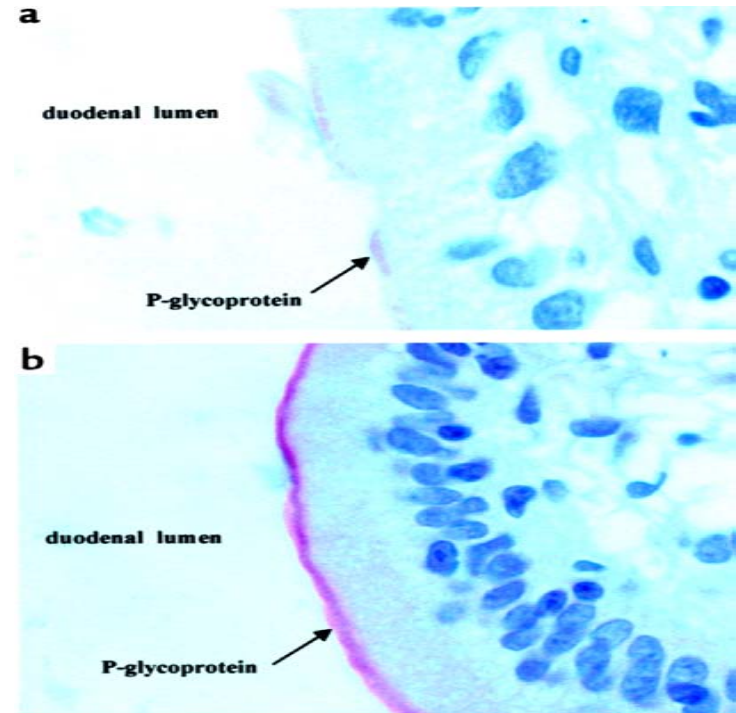
An in vitro examination of the impact of polyethylene glycol 400, Pluronic P85, and vitamin E d-alpha-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate on P-glycoprotein efflux and enterocyte-based metabolism in excised rat intestine.. AAPS Pharm Sci, vol. 4(4), E40, 2002

@ exemple de modulation de la P-gp : co-administration de rifampicine

Greiner et al. *J. Clin. Invest.* (1999); 104 : 147-153

- interaction DIGOXINE / RIFAMPICINE : études sur volontaires sains.

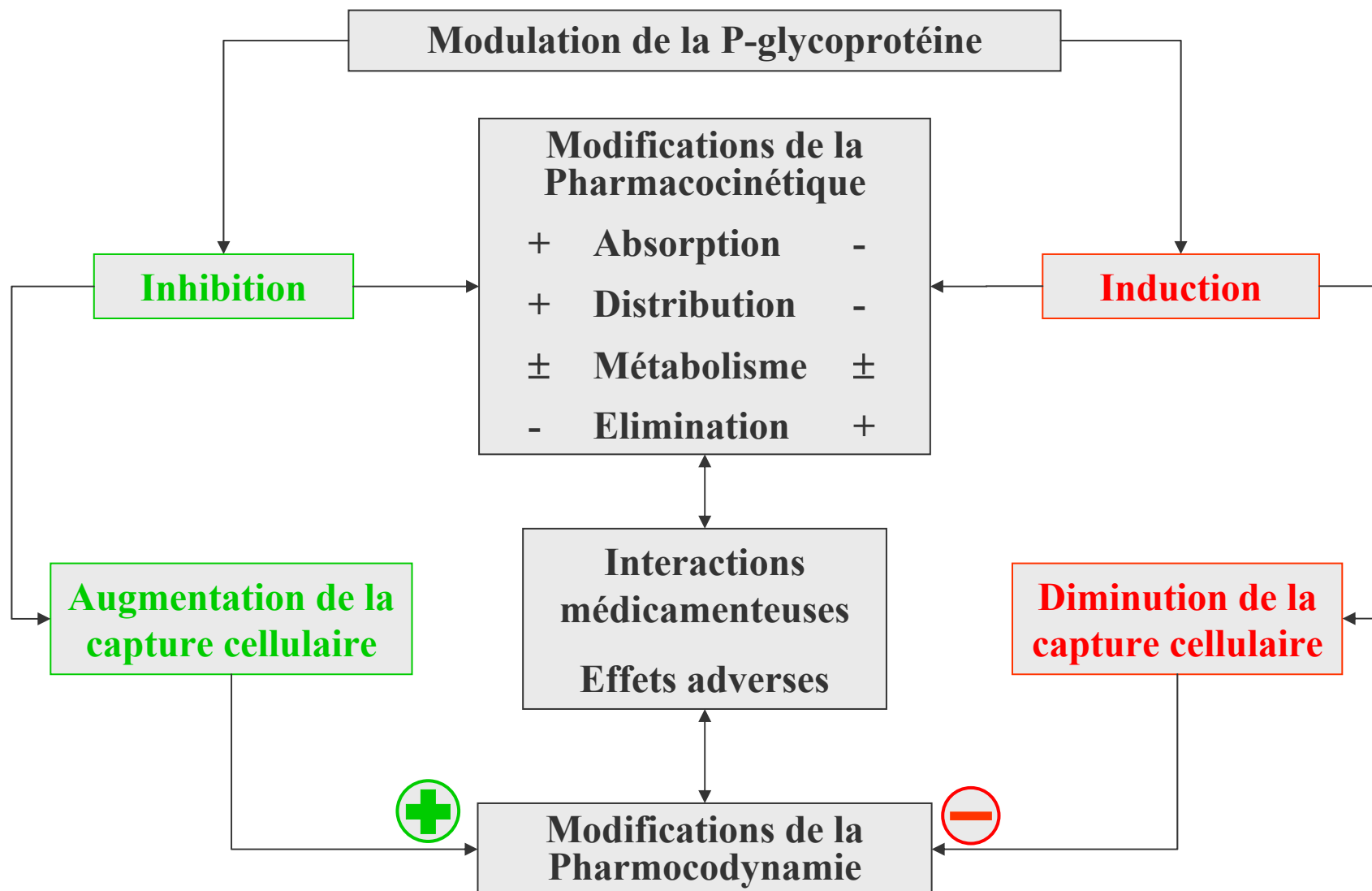
- Biopsies duodénales immunomarquées pour la P-gp

Avant
administration
de rifampicineAprès
administration
de rifampicine

- Effets de la rifampicine sur la pharmacocinétique *per os* de la digoxine :

 $\Rightarrow T_{\max} \uparrow$ $\Rightarrow AUC_{PO(0-3h)}, AUC_{(0-144h)}, F, C_{\max} \downarrow$ **$\Rightarrow$ rifampicine : inducteur de la P-gp intestinale** **$\Rightarrow$ conséquences en termes d'interactions médicamenteuses**

➤ Influence de la P-gp sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamie d'un substrat:



Méthodes d'étude

de la P-gp

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Méthodes d'études *in vitro* :

1- Cultures cellulaires : cellules en monocouche Caco-2

Dérivent de carcinomes de colon humain

+ * Différenciation en entérocytes avec des jonctions (**tr**op) serrées, des microvillosités, des enzymes de la bordure en brosse (phases I et II du métabolisme)

* Etude du flux bidirectionnel des substrats de la P-gp

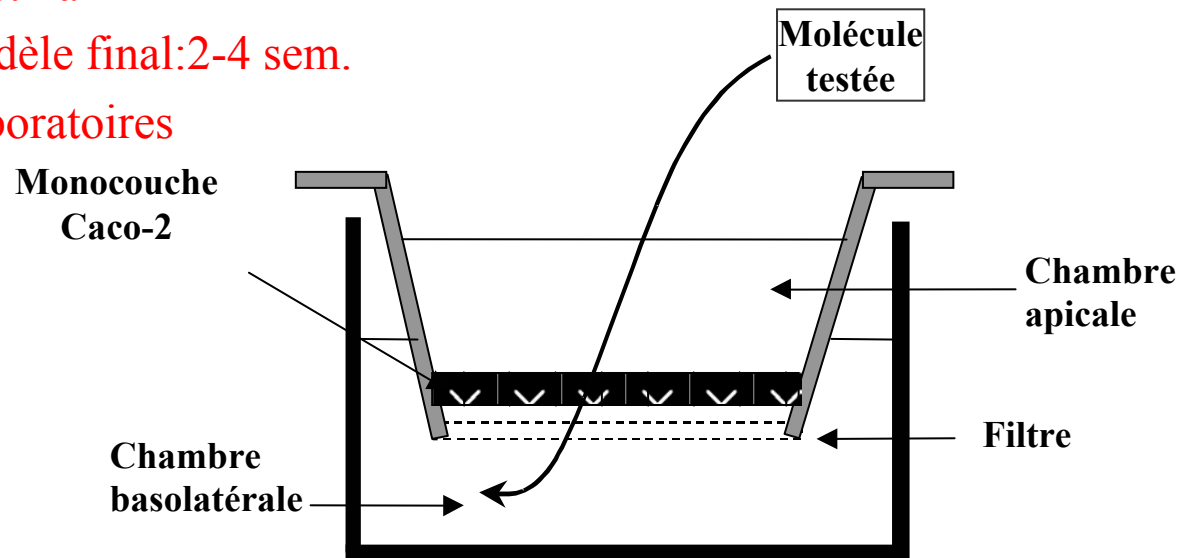
- * Expression de la P-gp sur la face apicale (pb de surexpression)

* Pas de sécrétion de mucus (pb pour PepT-1)

* Pas de péristaltisme intestinal

* Délai d'obtention du modèle final:2-4 sem.

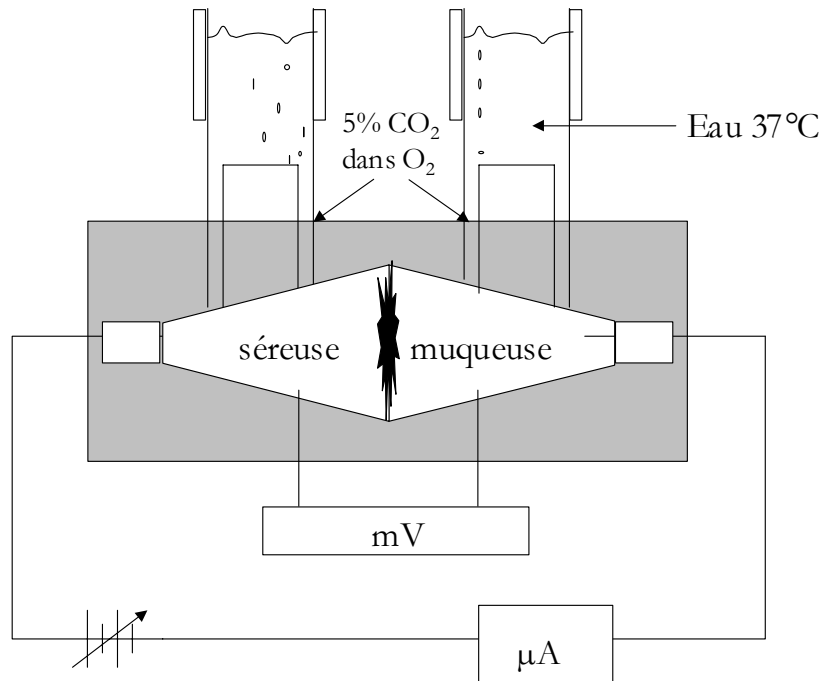
* Forte variabilité inter-laboratoires



Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Méthodes d'études *in vitro/ex-vivo* :

2- Chambre de Ussing



* Surface du segment intestinal:

-0.5 cm² rat

-1.13 cm² cobaye

-3.14 cm² lapin

*Mucus



* Milieux de cultures simplistes (tampons)

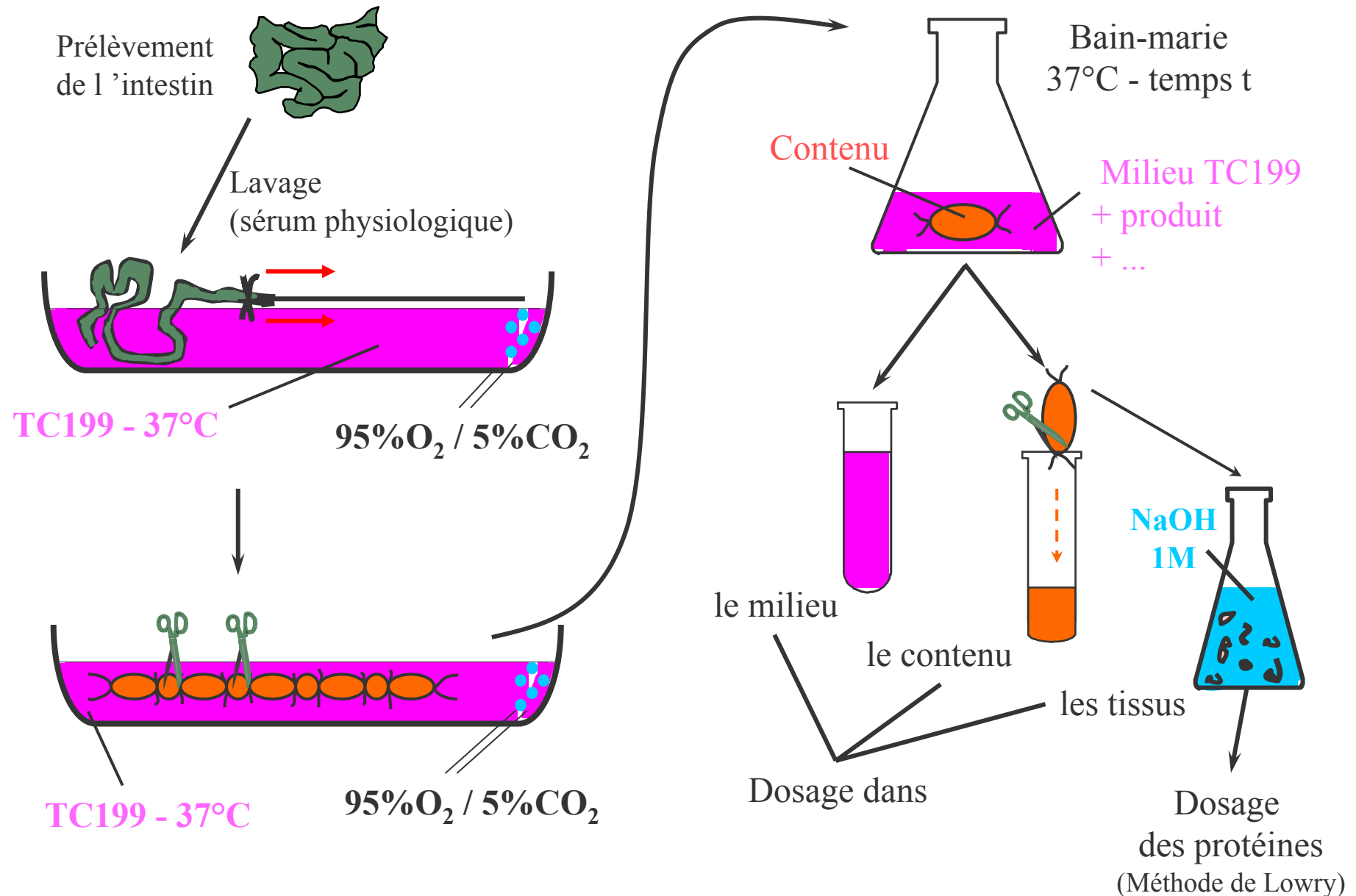
* Œdème sévère de l'épithélium +
disparition des villosités épithéliales après
20 min d'incubation

* Disparition de 50-75% de l'épithélium
après 30 min d'incubation

* Rupture de la bordure épithéliale après
1h d'incubation

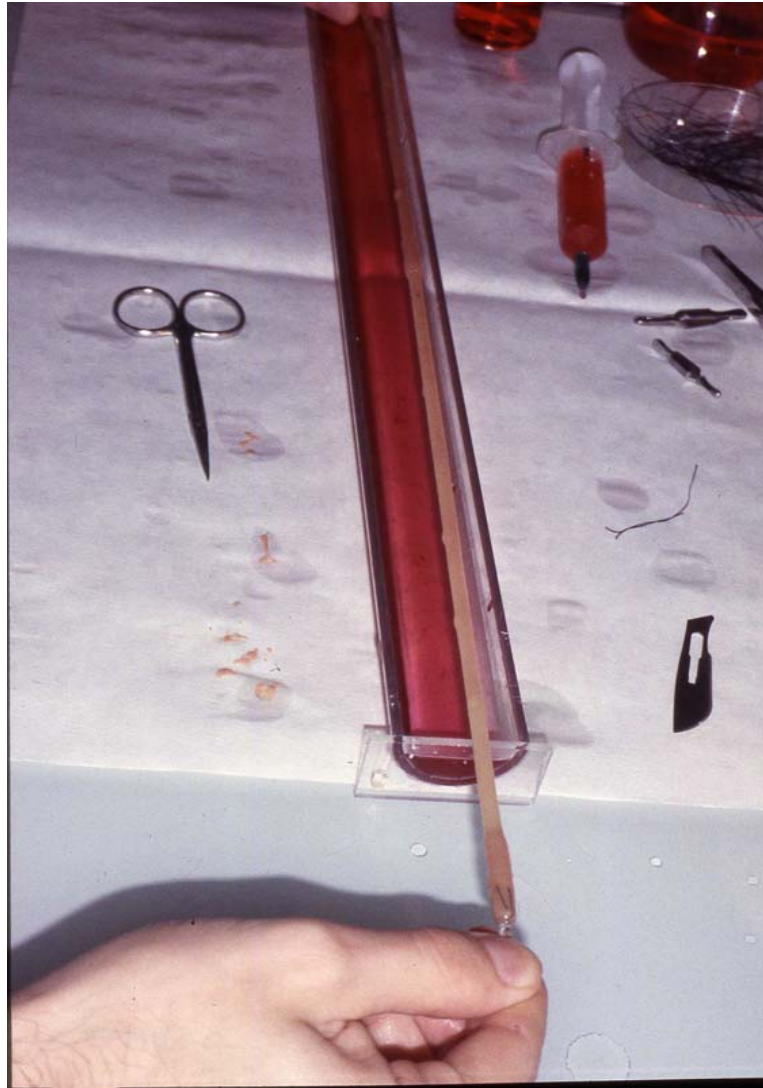
Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Méthodes d'études *in vitro/ex-vivo* : 3- Méthode du sac intestinal éversé



Technique du sac éversé

Eversion



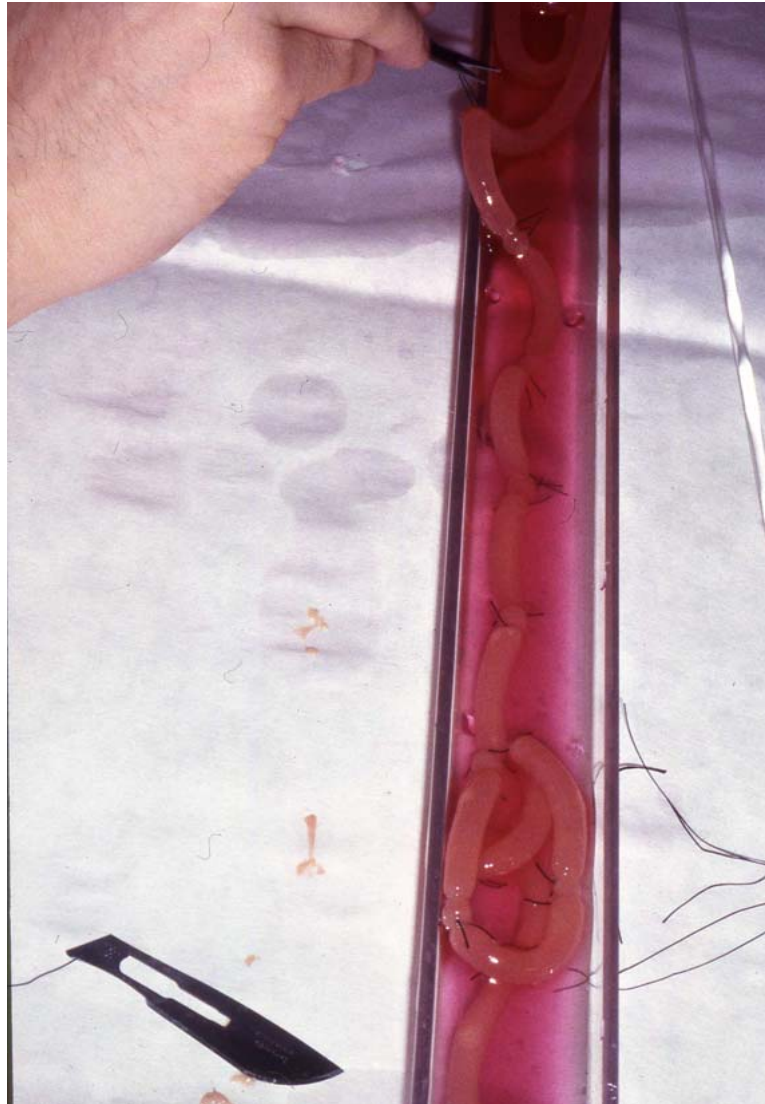
Technique du sac éversé

Remplissage



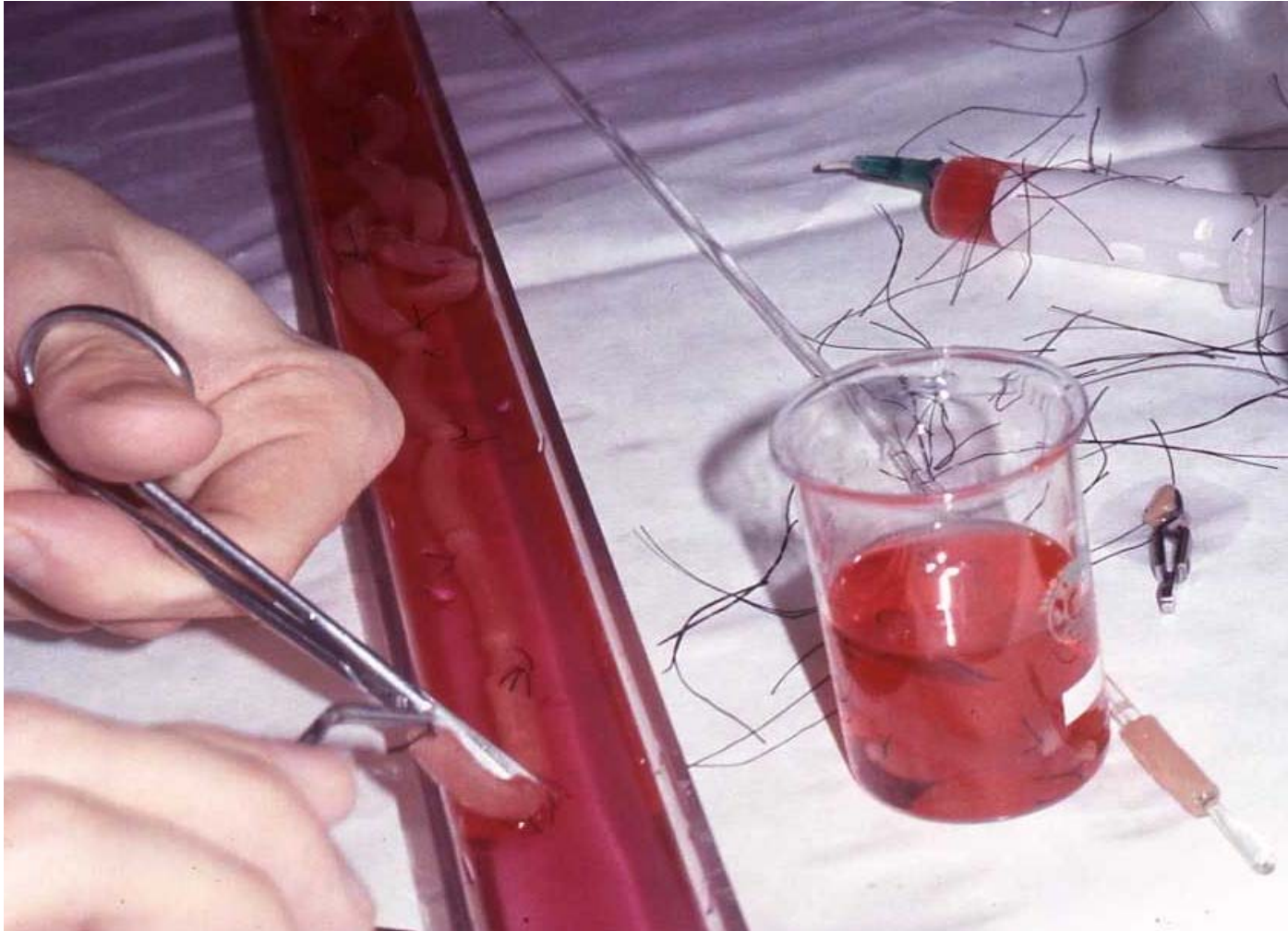
Technique du sac éversé

Préparation
des sacs (1)



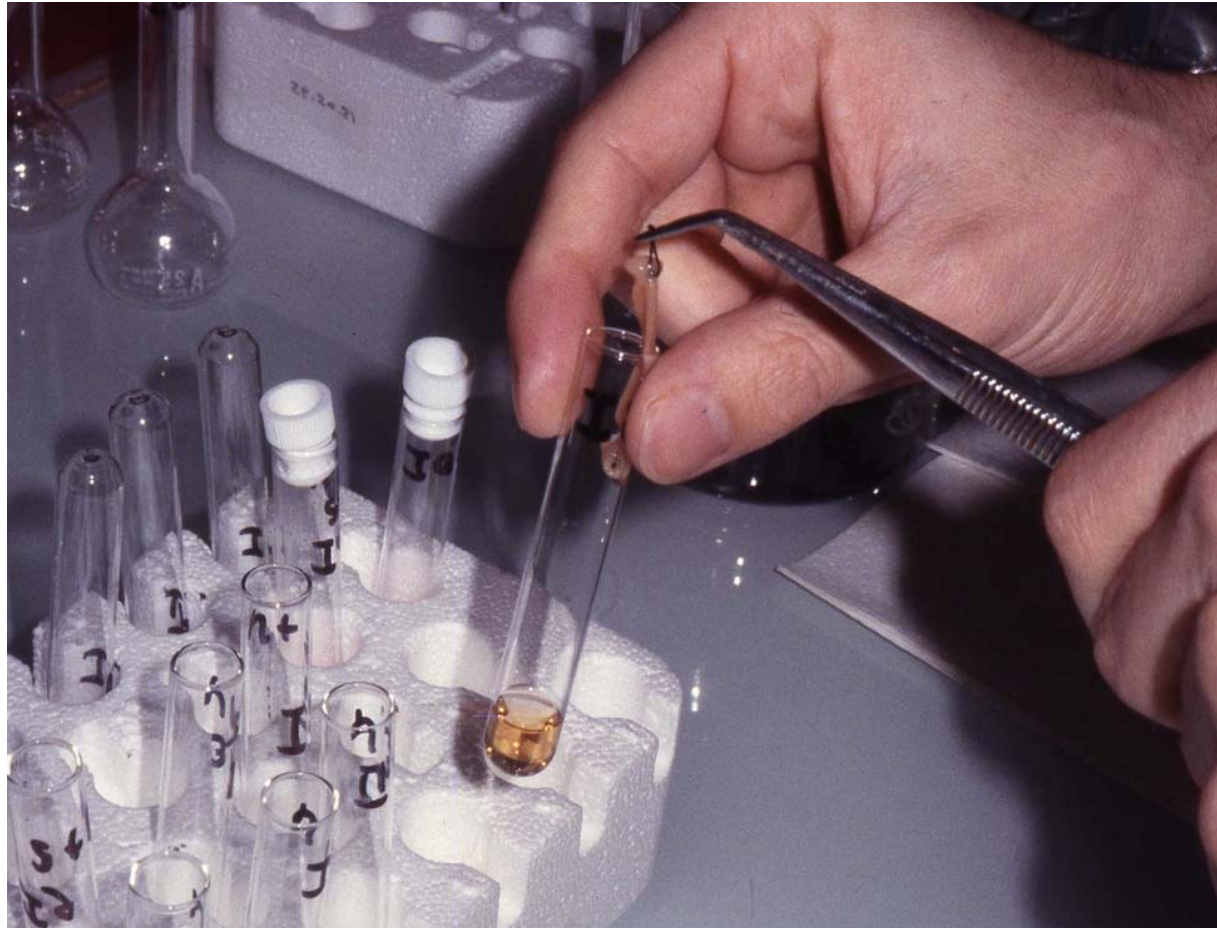
Technique du sac éversé

Préparation des sacs (2)



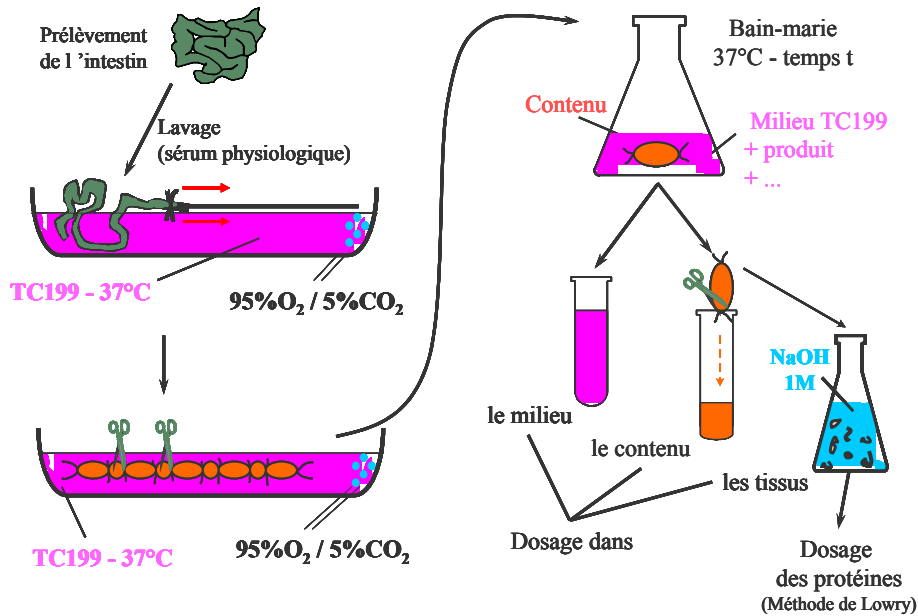
Technique du sac éversé

Récupération du contenu

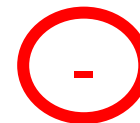


Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Méthodes d'études *in vitro/ex-vivo* : 3- Méthode du sac intestinal éversé



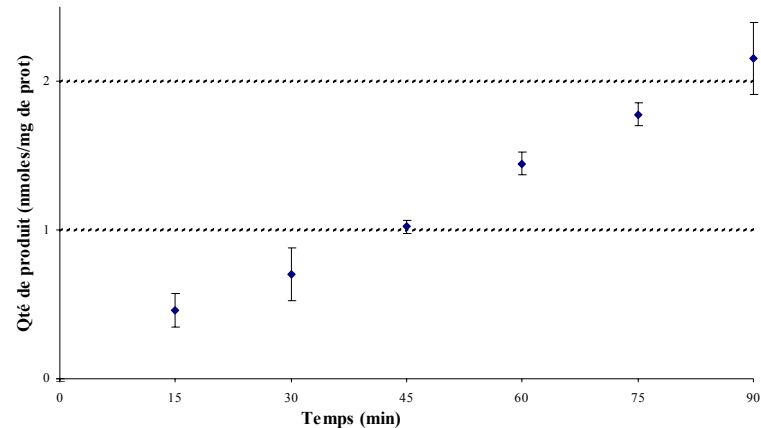
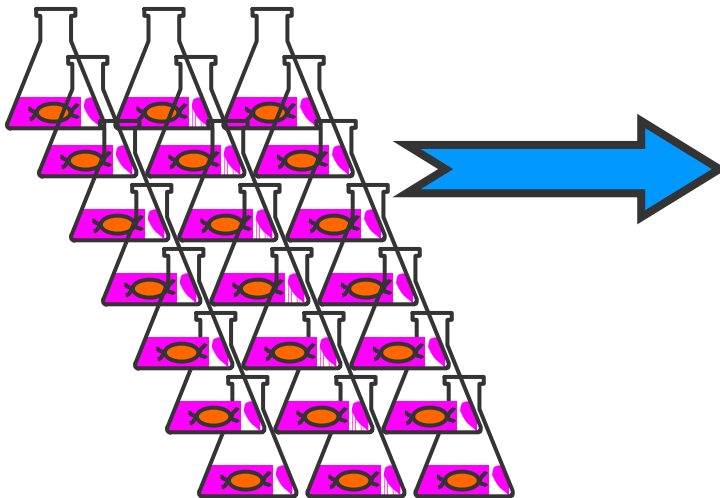
- * Segment intestinal
- * Mucus
- * Péristaltisme intestinal
- * Milieu de culture riche (glucose + ac. aminés) et oxygéné
- * Concentration des molécules dans le milieu sérosal → intérêt pour analytique
- * Modèle validé chez le rat, la souris (expl: KO) et le porc (anatomie intestinale proche de celle homme)



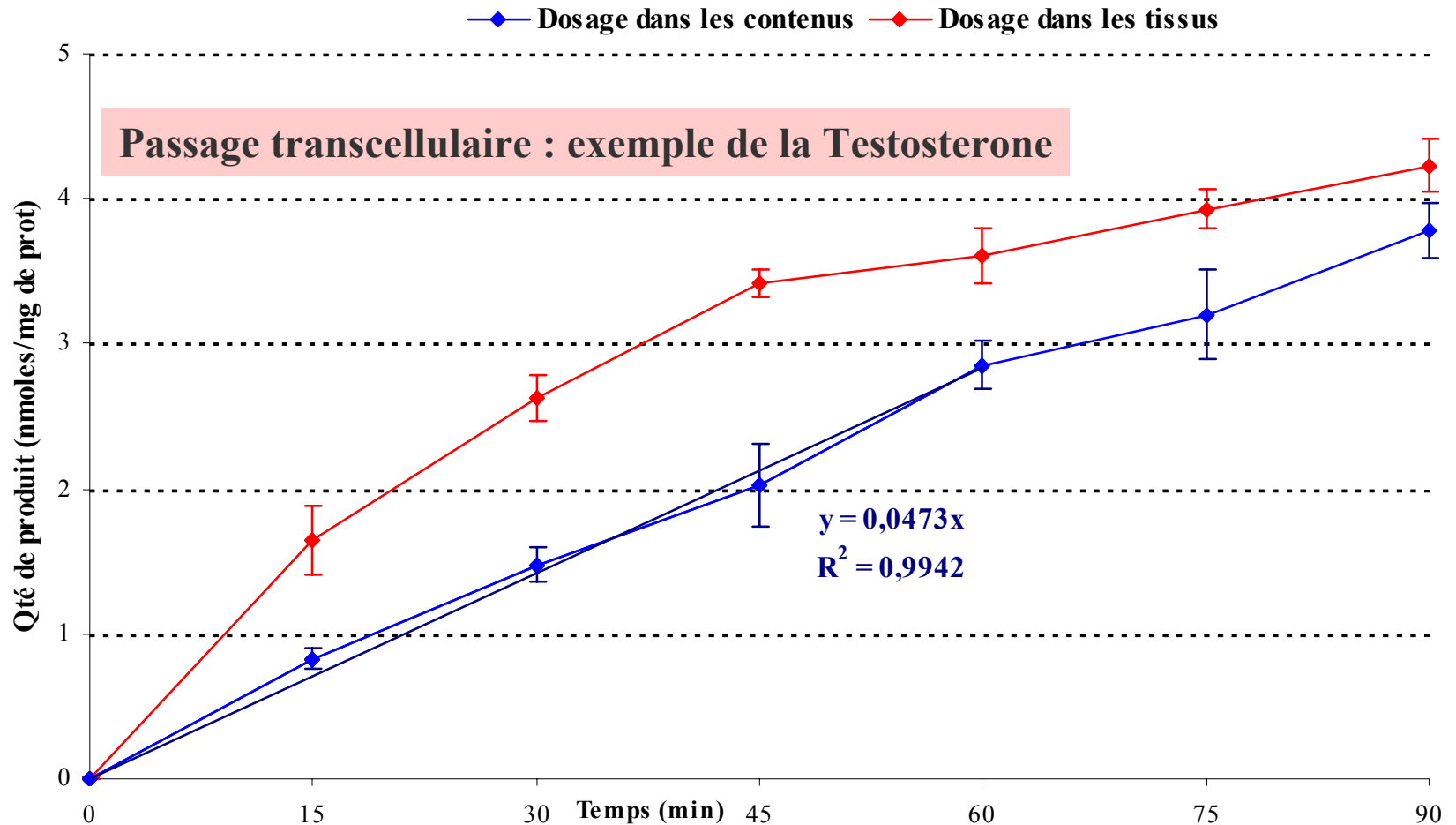
- * Sac = milieu clos (pas de système porte)

Applications du Sac Eversé

- Cinétiques d'absorption
- Identification des voies de passage
- Environ 24-25 sacs disponibles par intestin
- 7 temps en triplicate (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 min)



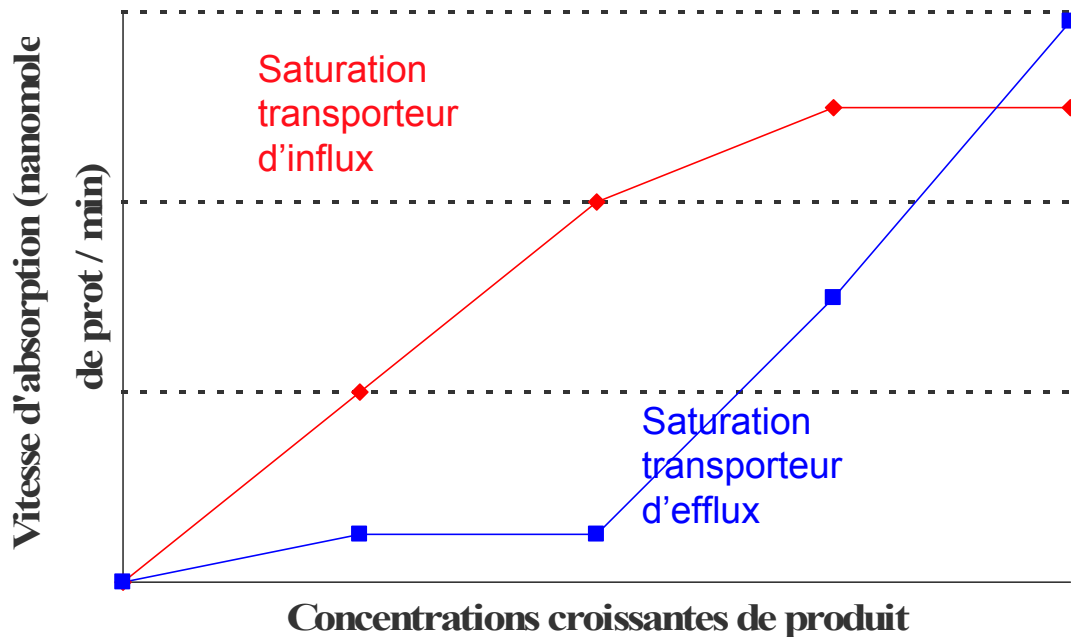
Diffusion Passive Trans-Cellulaire



Transporteurs

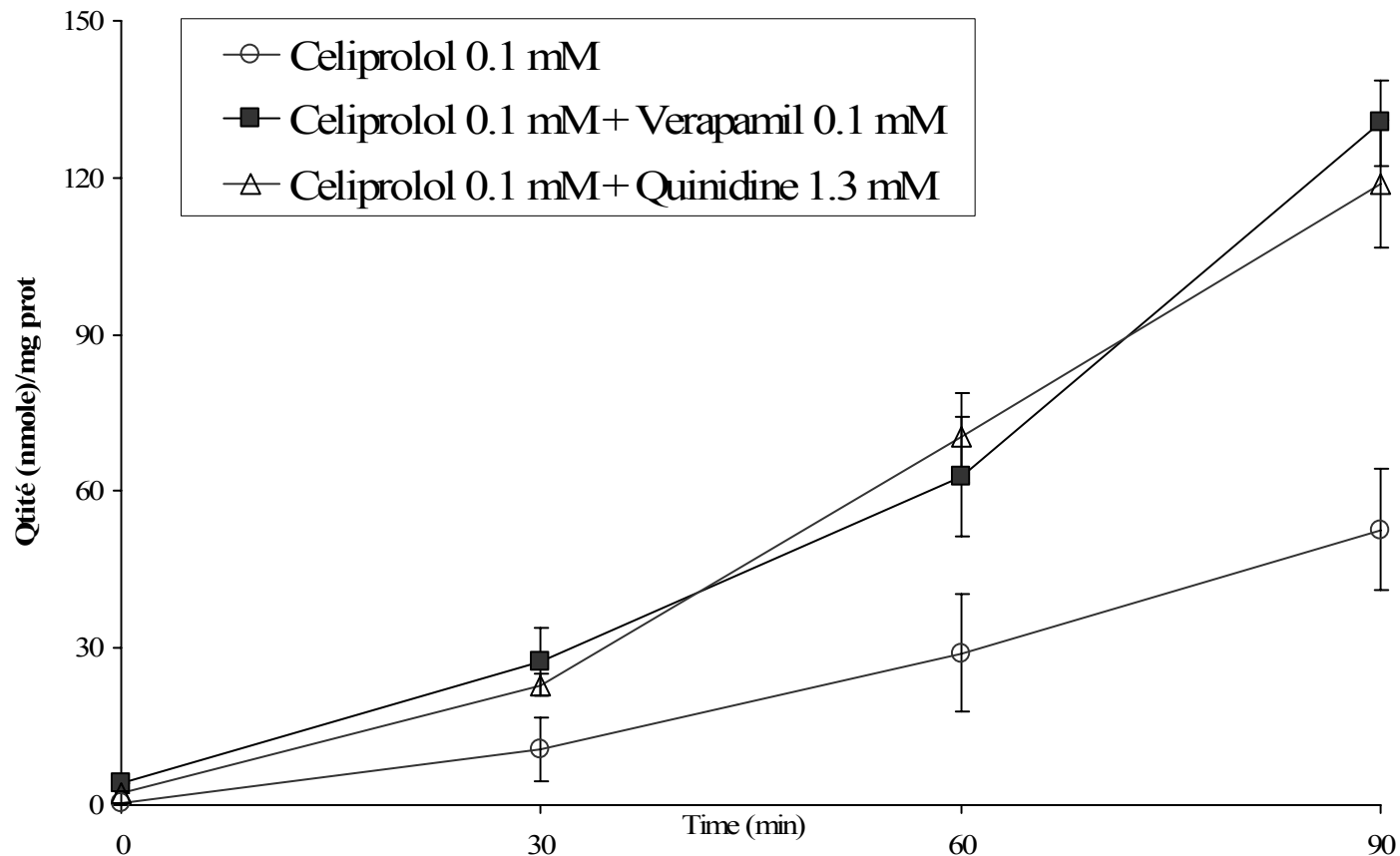
➤ d'influx : PepT1, acides aminés, MCT, AE2, OATPs...

➤ d'efflux : Pgp, MRP, BCRP, ...



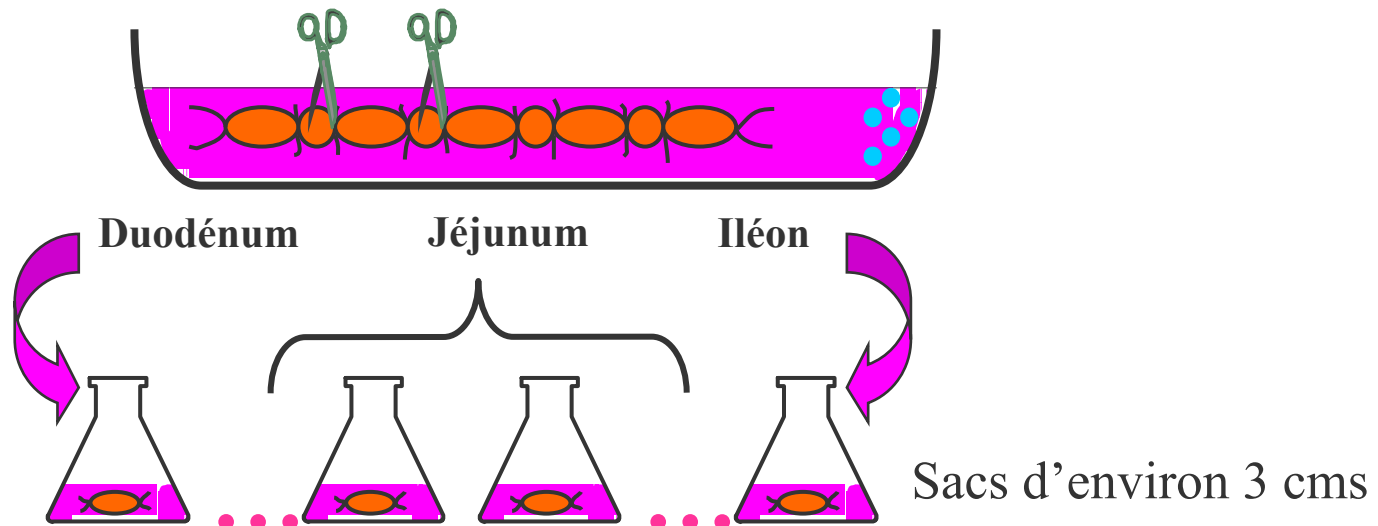
**Résultats théoriques
d'étude de transporteurs
 $vitesse = f(concentration)$**

Transporteurs d'Efflux (P-gp): exemple du Céliprolol

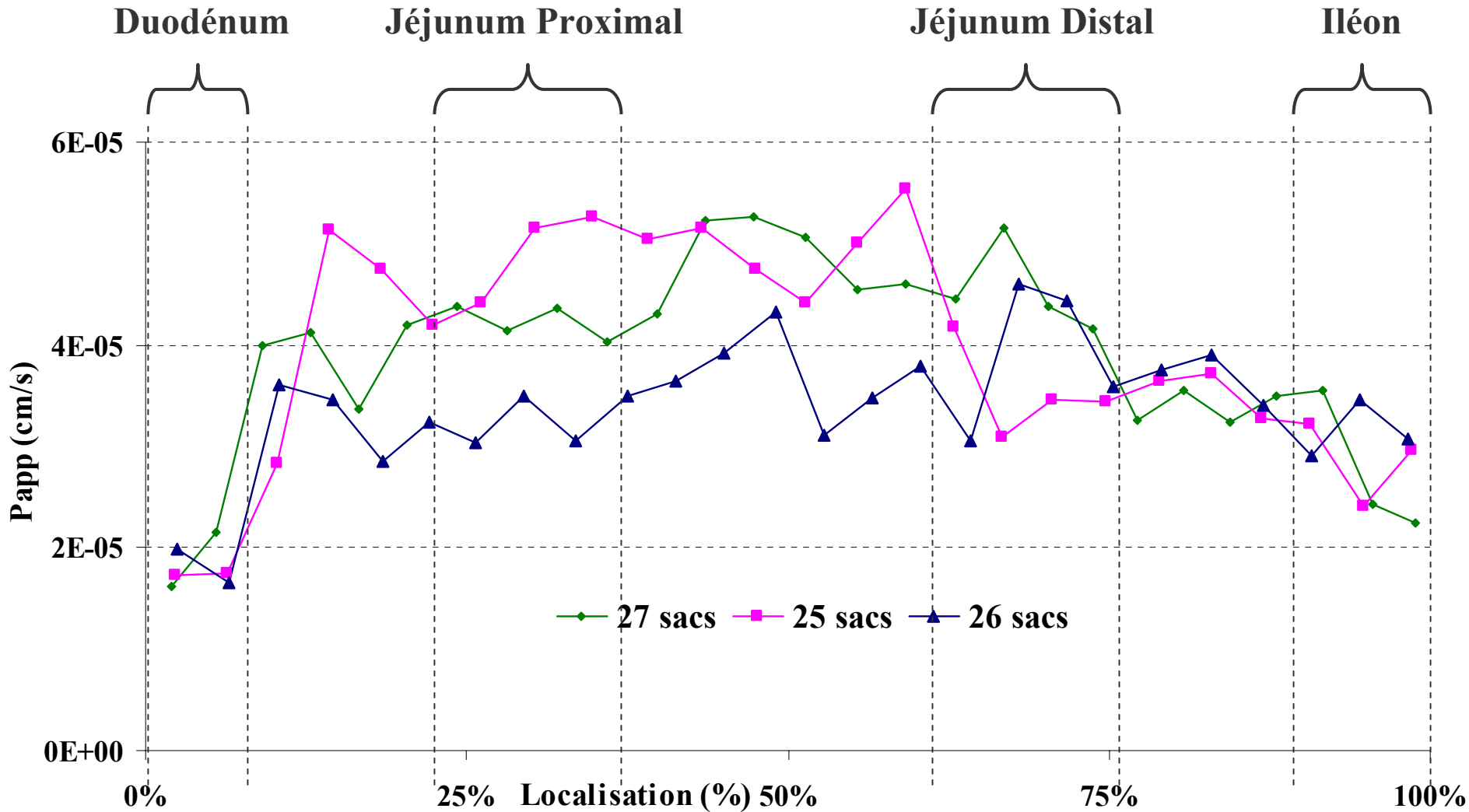


Etude de localisation: transport des marqueurs de voies différentes

Les sacs sont conservés dans l'ordre de leur prélèvement, du duodénum à l'iléon, et incubés pendant la même durée (60min)

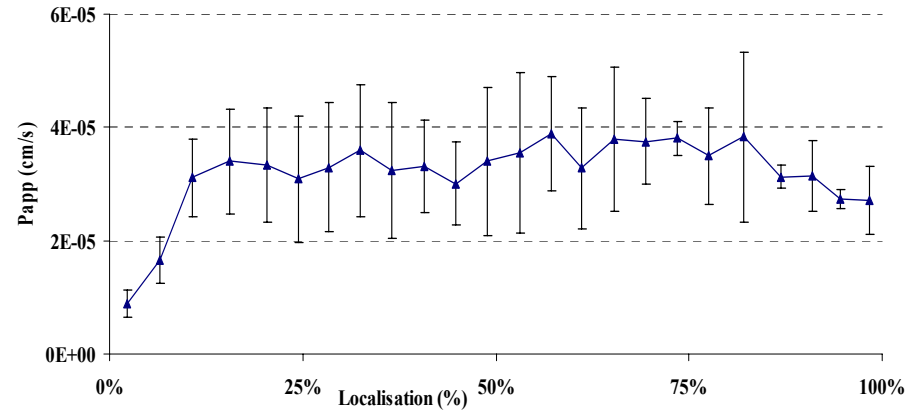
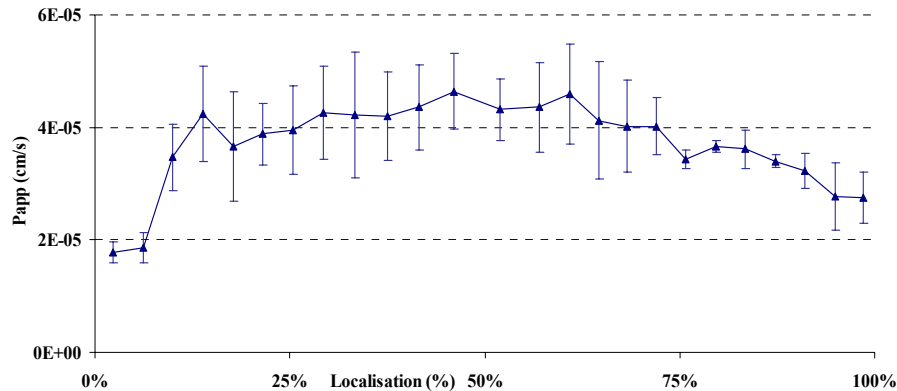


Etude de localisation: transport des marqueurs de voies différentes



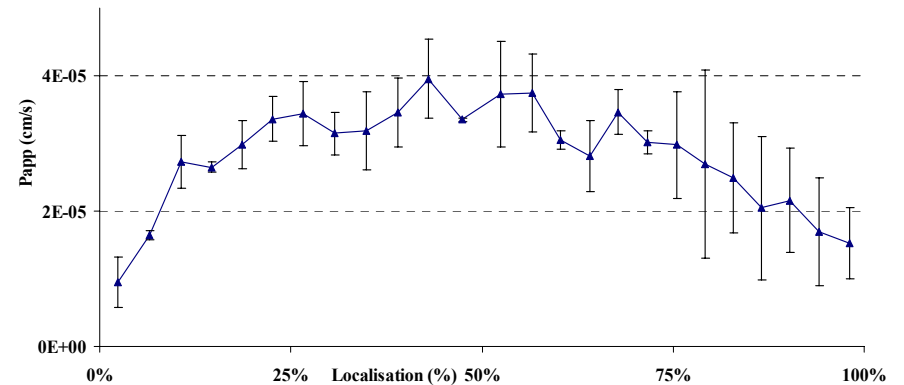
Voie Paracellulaire

Lucifer Yellow (anion)



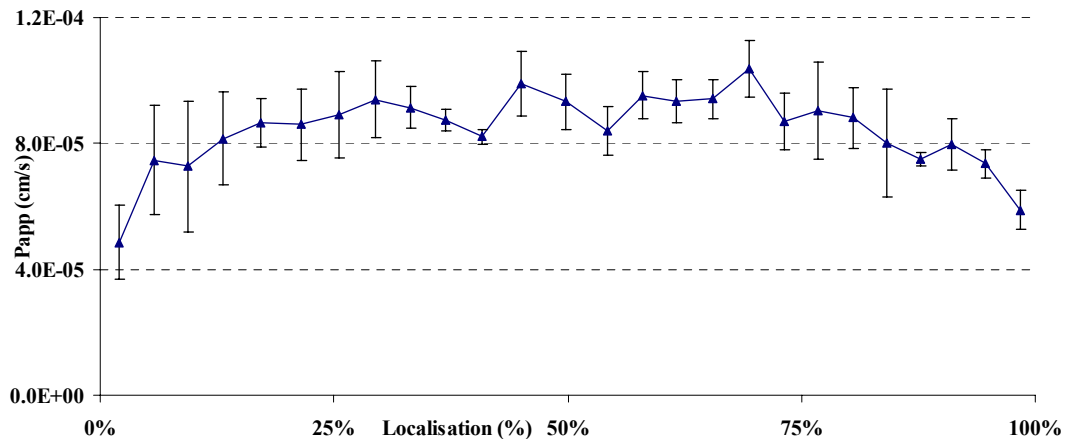
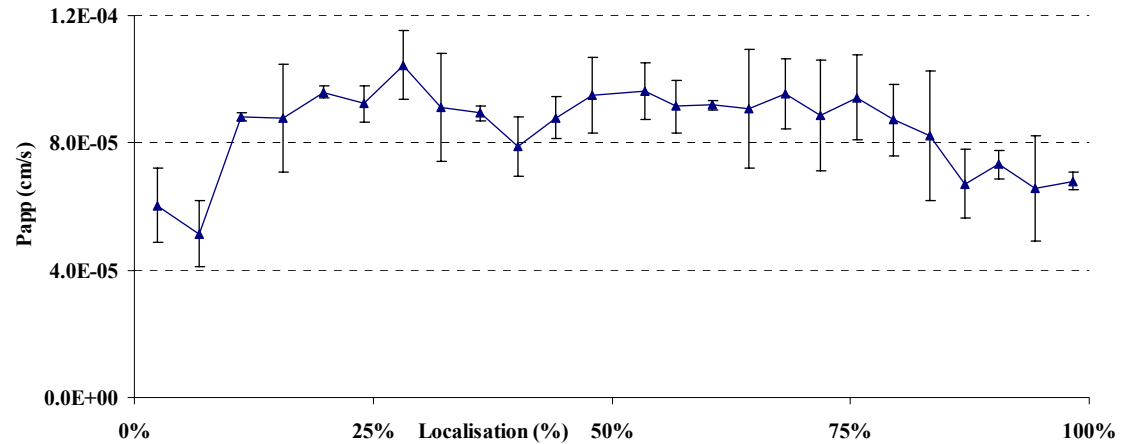
Mannitol (neutre)

Ranitidine (cation)



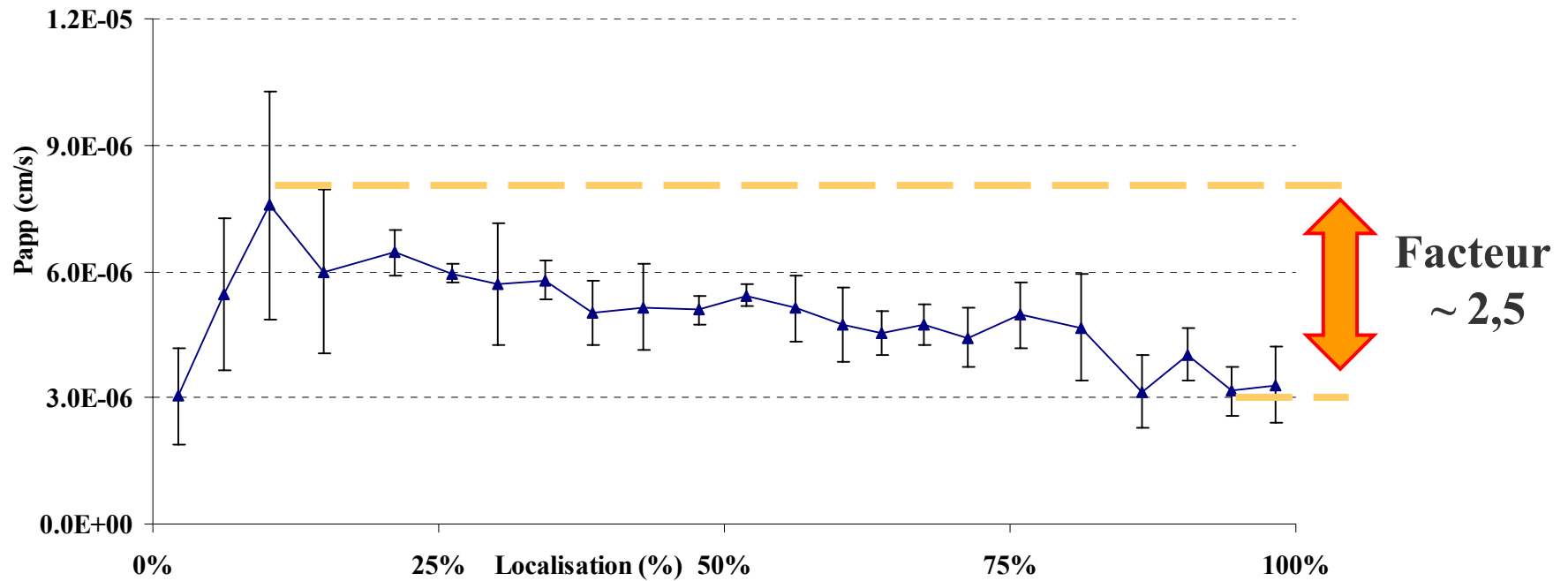
Voie Transcellulaire passive

Testosterone
($\log P = 3.32$)



Antipyrine
($\log P = 0.4$)

Efflux (Pgp) - Digoxine

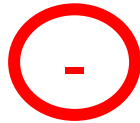


Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

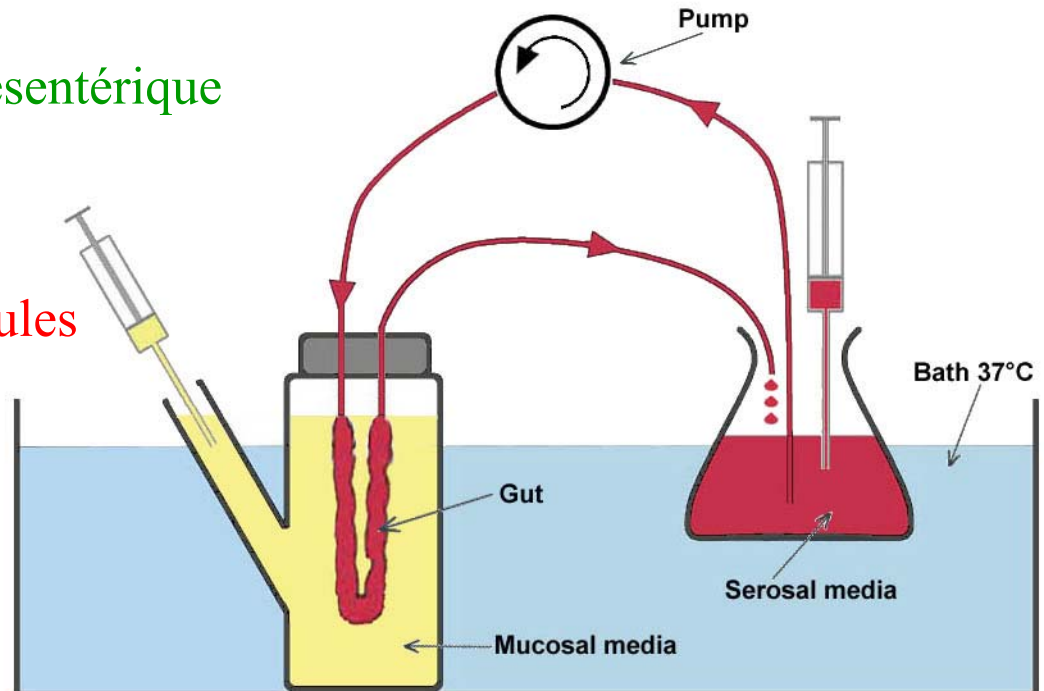
@ Méthodes d'études *in vitro/ex-vivo* :

4- Méthode du segment intestinal éversé perfusé

- * Segment intestinal unique
- * Mucus
- * Péristaltisme intestinal+++
- * Milieu de culture riche (glucose + ac. aminés) et oxygéné
- * Modèle validé chez le rat et le porc (anatomie intestinale proche de celle homme)
- * Simulation irrigation sanguine mésentérique



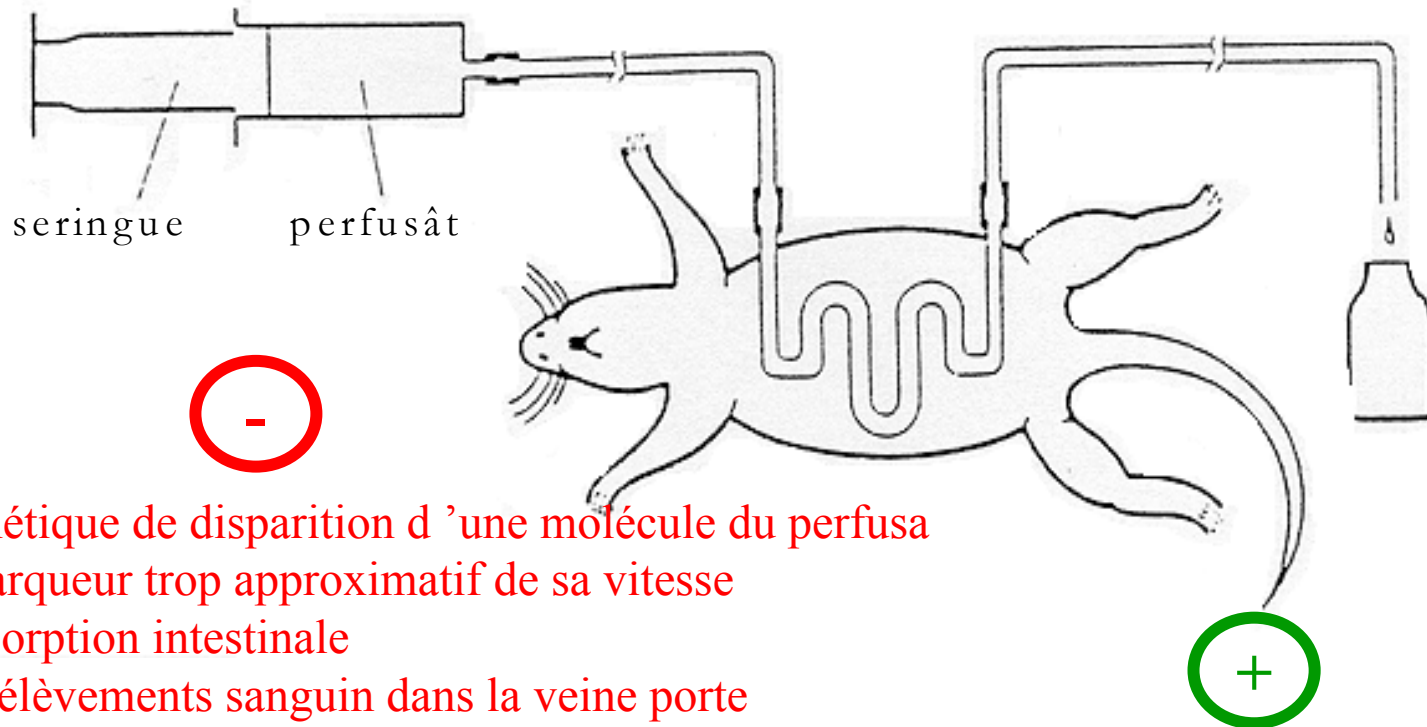
- * Moindre concentration des molécules
 - ▶ pb analytique?
- * 1 animal = 1 segment = 1 donnée
 - ▶ reproduire la manip.



Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Méthodes d'études *in situ* :

1- Système de perfusion *in situ* chez le rat



* Cinétique de disparition d'une molécule du perfusât
= marqueur trop approximatif de sa vitesse d'absorption intestinale

► prélèvements sanguin dans la veine porte

* Débit de perfusion $\gg$ valeurs physiologiques

► distension du segment intestinal

* 1 animal = 1 donnée

► reproduire la manip.

* Anesthésie + laparotomie

► diminution du débit sanguin intestinal + absorption

* Maintien des conditions physiologiques

• irrigation mésentérique

• innervation

• capacités métaboliques

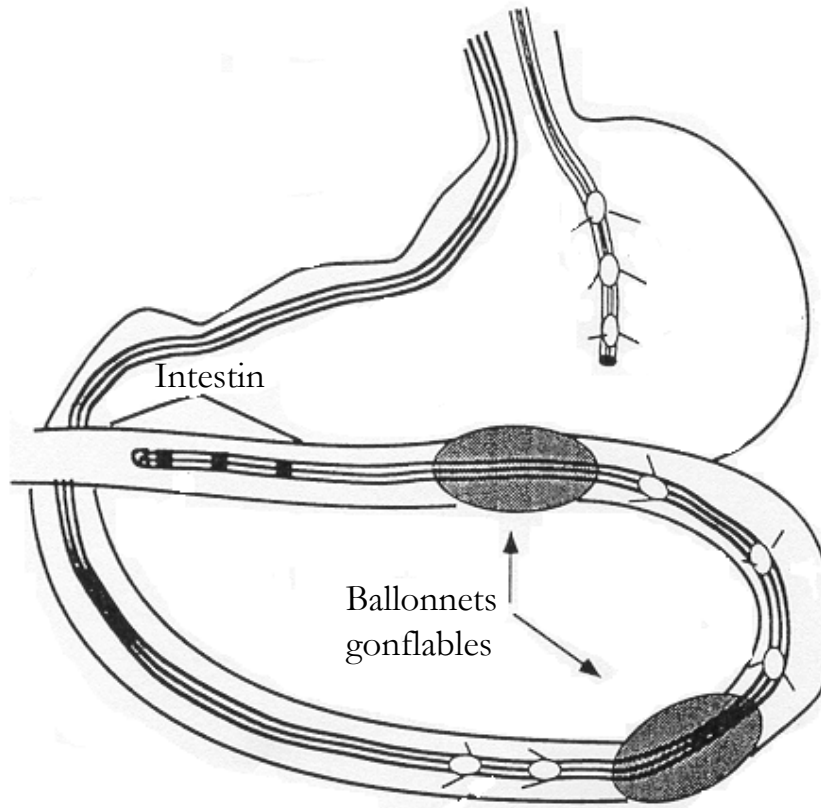
* Modèle applicable à toutes espèces

Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

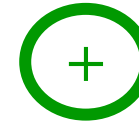
@ Méthodes d'études *in situ* :

2- Perfusion segmentaire *in situ* chez l'homme :

Système de tube multicanaux avec doubles ballonnets



Segment isolé: 10 cm



* Bonne corrélation entre le coefficient de perméabilité et la biodisponibilité *per os*



* Manip. trop lourde (anesthésie du patient)

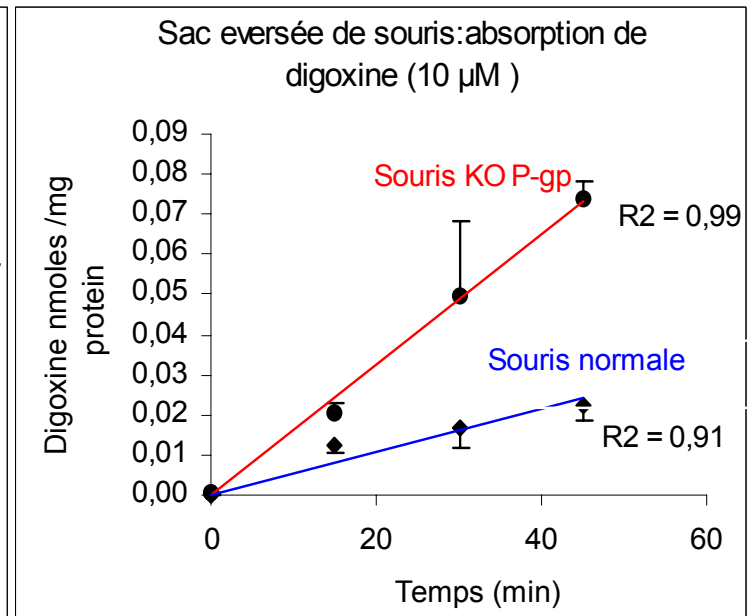
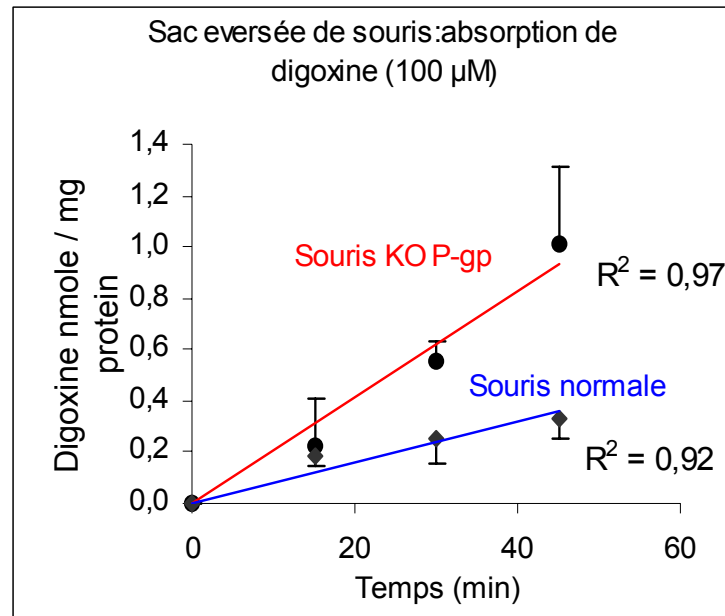
Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Méthodes d'études *in vivo* :

1- Utilisation de souris transgéniques :

Souris « knock-out », ne possédant pas les gènes exprimant la P-gp

Absorption de digoxine (substrat de P-gp) chez la souris 'Knockout'



Introduction	La P-glycoprotéine : gènes, structure et fonctions	Rôles de la P-gp	Modulation de la P-gp	Méthodes d'étude de la P-gp
--------------	---	------------------	-----------------------	-----------------------------

@ Méthodes d'études *in vivo* :

2- Etudes cliniques :

Dosage du produit étudiée administré seul ou avec un modulateur de la P-gp

exple: Ciclosporine + Sirolimus

- pas de variation de la C_{max} ni de l'AUC de la Ciclosporine
- augmentation de la C_{max} et de l'AUC du Sirolimus

➔ forte affinité de la Ciclosporine pour la P-gp

➔ augmentation du passage trans-intestinal du Sirolimus

B. Kaplan et al

The effects of relative timing of sirolimus and cyclosporine microemulsion formulation coadministration on the pharmacokinetics of each agent.

Clin Pharmacol Ther, vol 63(1), 48-53, 1998

Peggy Gandia-Mailly

Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie Clinique
Institut Fédératif de Biologie
Hôpital Purpan, Toulouse

Tél laboratoire : 05.67.69.03.83

E-mail : gandia.p@chu-toulouse.fr