



HAL
open science

Etude de l'efficacité des Pluronic Lecithin Organogels en tant que véhicules de principes actifs administrés par voie transcutanée

Pierre Joseph Chaigneau

► To cite this version:

Pierre Joseph Chaigneau. Etude de l'efficacité des Pluronic Lecithin Organogels en tant que véhicules de principes actifs administrés par voie transcutanée. Médecine vétérinaire et santé animale. 2018. dumas-04885258

HAL Id: dumas-04885258

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04885258v1>

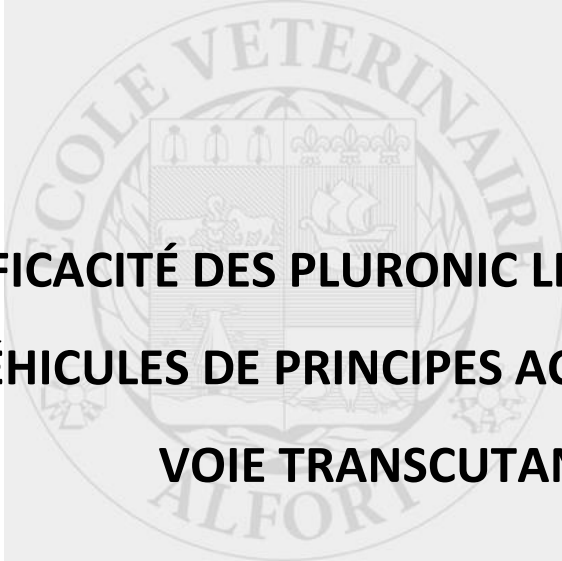
Submitted on 14 Jan 2025

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

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

Copyright

Année 2018



**ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ DES PLURONIC LECITHIN ORGANOGELS EN
TANT QUE VÉHICULES DE PRINCIPES ACTIFS ADMINISTRÉS PAR
VOIE TRANSCUTANÉE**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le...18 janvier 2018

par

Pierre Joseph CHAIGNEAU

JURY

Président : Pr.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL
BRESSION

Membres

Directeur : Dr. Perrot Sébastien

Maître de conférences à l'école nationale vétérinaire d'Alfort.

Assesseur : Dr. Maignac Geneviève

Maître de conférences à l'école nationale vétérinaire d'Alfort.

Liste des membres du corps enseignant

Directeur : M. le Professeur Degueurce Christophe

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : Cotard Jean-Pierre, Mialot Jean-Paul, Moraillon Robert, Parodi André-Laurent, Pilet Charles, Toma Bernard.

Professeurs émérites : Mme et MM. : Bénét Jean-Jacques, Chermette René, Combrisson Hélène, Courreau Jean-François, Deputte Bertrand, Niebauer Gert, Paragon Bernard, Pouchelon Jean-Louis.

Département d'élevage et de pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique de cardiologie - Pr Chetboul Valérie[§] - Dr Gkouni Vassiliki, Praticien hospitalier</p> <p>Unité pédagogique de clinique équine - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Maître de conférences contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier [§] - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespouhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier</p> <p>Unité pédagogique de médecine interne - Dr Benckroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane[§] - Dr Canonne-Guibert Morgane Maître de conférences contractuelle - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guéneac Christelle, Maître de conférences</p> <p>Discipline : imagerie médicale -</p>	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport - Dr Cléro Delphine, Maître de conférences - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique[§] - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale - Pr Fayolle Pascal - Dr Mailhac Jean-Marie, Maître de conférences - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Moissonnier Pierre - Pr Viateau-Duval Véronique[§]</p> <p>Discipline : anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs - Dr Zilberstein Luca, Maître de conférences</p> <p>Discipline : ophtalmologie - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</p> <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier</p>
--	---

Département des Productions Animales et de la Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments - Pr Augustin Jean-Christophe - Dr Bolnot François, Maître de conférences [§] - Pr Carlier Vincent</p> <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie - Pr Dufour Barbara[§] - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Praud Anne, Maître de conférences - Dr Rivière Julie, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production - Pr Adjou Karim[§] - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences - Dr Maxime Delsart, , Maître de conférences associé - Pr Millemann Yves - Dr Ravary-Plumioën Bérangère, Maître de conférences - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier</p>	<p>Unité pédagogique de reproduction animale - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences[§] - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr El Bay Sarah, Praticien hospitalier - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe[§] - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Ponter Andrew - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier</p>
---	--

Département des sciences biologiques et pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Chateau Henry - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques - Dr Boissady Emilie, Maître de conférences contractuelle - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Robert Céline[§]</p> <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie - Pr Boulouis Henri-Jean[§] - Pr Eloit Marc - Dr Le Poder Sophie, Maître de conférences - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de biochimie - Pr Bellier Sylvain[§] - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier - Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences</p> <p>Discipline : éducation physique et sportive - M. Philips Pascal, Professeur certifié</p> <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques[§] - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences</p>	<p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Dr Desquilbet Loïc, Maître de conférences (Biostatistique, Epidémiologie) [§] - Dr Fournel Christelle, Maître de conférences contractuelle (Gestion et management) - Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences</p> <p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC) - Dr Darmon Céline, Maître de conférences contractuelle (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques[§] - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Verónica, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie - Pr Enriquez Brigitte, - Dr Kohlhauser Mathias, Maître de conférences contractuel - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences [§] - Pr Tissier Renaud</p> <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Dr Gilbert Caroline, Maître de conférences (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent, (Physiologie, Pharmacologie) [§]</p>
---	--

[§] responsable d'unité pédagogique

REMERCIEMENTS

Au Professeur de la faculté de Médecine de Créteil,

Pour avoir accepté la présidence de mon jury de thèse,
Qu'il voit ici l'expression de mes sincères remerciements.

À M. Sébastien PERROT,

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui m'a proposé ce sujet passionnant et a accepté de diriger cette thèse.
Merci pour vos conseils avisés et votre soutien tout au long de cette thèse.

À Mme. Geneviève MARIGNAC,

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui a accepté d'être assesseur de cette thèse.
Merci pour votre aide précieuse et vos conseils avisés.

À mon père, ma mère, mes frères, ma sœur, et au reste de ma famille.

**À Mazuet, Vannucci, Hardy, Laugier, Tortosa, Robin, Charbonneaux, Geiger, Schlax, Brion, Troupel,
Faure, Baer et tous mes autres amis.**

À Alice et Mithril

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	0
TABLE DES MATIERES	1
Liste des figures.....	4
Liste des tableaux.....	6
Liste des abréviations	7
INTRODUCTION	9
I. La peau des carnivores domestiques et des principaux nouveaux animaux de compagnie	11
A. Anatomie de la peau du chien et du chat.....	11
1. Aspect extérieur	11
2. Structure générale de la peau	11
3. Variations locorégionales	12
B. Histologie de la peau du chien et du chat.....	13
1. Epiderme	13
2. Derme.....	19
3. Tissu sous-cutané	19
4. Annexes cutanées.....	20
C. Spécificités tégumentaires des autres mammifères de compagnie, des reptiles et des oiseaux.....	22
1. Spécificités de la peau du lapin.....	22
2. Spécificités de la peau du furet.....	23
3. Spécificités de la peau des rongeurs.....	23
4. Spécificités de la peau du serpent	24
5. Spécificités de la peau des lézards.....	27
6. Spécificité de la peau des tortues	28
7. Spécificités de la peau des oiseaux.....	29
D. Le passage des principes actifs à travers la peau.....	30
1. Les mécanismes physiques de l'absorption transcutanée	31
2. Chemins de diffusion à travers la peau.....	33
3. Métabolisation cutanée et transport actif des molécules dans la peau	37

4.	Méthodes d'étude du passage transcutané	39
5.	Avantages et inconvénients de l'utilisation de la voie transcutanée	40
II.	Nature et propriétés des PLO gels	41
A.	Place des PLO gels au sein des traitements par voie cutanée.....	41
1.	Etat des lieux concernant l'utilisation de la voie transcutanée en médecine vétérinaire	41
2.	Présentation des formes émergentes de véhicule pour le traitement transcutané	42
B.	Composition et préparation des PLO-gels	42
1.	Composition des PLO gels.....	42
2.	Préparation et mécanismes de formation du gel	44
3.	Avantages et propriétés physiques des organogels.....	47
C.	Facteurs technologiques intervenant dans la pénétration cutanée	48
1.	Critères de choix pour un principe actif formulé par voie transdermique.....	48
2.	Facteurs technologiques intervenant dans l'optimisation de l'activité thermodynamique du principe actif.....	49
3.	Interactions des PLO gels avec la peau et augmentation du pouvoir de pénétration	50
III.	Etude rétrospective de l'absorption transdermique des principes actifs contenus dans des PLO-gels	53
A.	Méthodologie de recherche et base de données	53
1.	Méthodologie de recherche	53
2.	Base de données.....	53
B.	Etude de l'absorption des principes actifs incorporés dans des PLO-gels chez le chat	55
1.	Méthimazole.....	55
2.	Buspirone	64
3.	Amitriptyline.....	66
4.	Cyclosporine	68
5.	Dexaméthasone.....	70
6.	Fentanyl.....	72
7.	Fluoxétine	73
8.	Glipizide.....	75
9.	Phénobarbital	77
10.	Tramadol	79
C.	Etude de l'absorption des principes actifs incorporés dans des PLO-gels chez le chien	81
1.	Fentanyl.....	81

2. Morphine.....	82
D. Synthèse des résultats des études présentées	84
CONCLUSION	89
BIBLIOGRAPHIE.....	91

Liste des figures

<u>Figure 1</u> : Structure de la peau du chien et du chat, modifié d'après Miller <i>et al.</i> (2012).....	12
<u>Figure 2</u> : Structure de l'épiderme du chat et du chien, modifié d'après l'encyclopédie médicale en ligne (Basicmedical Key, 2016).....	13
<u>Figure 3</u> : Représentation d'un mélanocyte modifié d'après Miller <i>et al.</i> , (2012).	15
<u>Figure 4</u> : Mécanismes de production, sécrétion, et transformation des corps lamellaires (Miller <i>et al.</i> , 2012).....	18
<u>Figure 5</u> : Structure d'un follicule pileux, doté d'un poil primaire, modifié d'après Miller et son équipe (2012).....	20
<u>Figure 6</u> : Photographie d'un pavillon auriculaire de chinchilla (Paterson, 2007).....	24
<u>Figure 7</u> : Structure des écailles de serpent, modifiée d'après (Bereiter-Hahn <i>et al.</i> , 1986)	25
<u>Figure 8</u> : Photographie en microscopie électronique de l'épiderme de serpent montrant les couches α (α) et β (β)et la couche intermédiaire (m), d'après (Torri <i>et al.</i> , 2014)	26
<u>Figure 9</u> : Les étapes de la mue, modifiée d'après (Vitt et Caldwell, 2014)	27
<u>Figure 10</u> : Localisation des pores fémoraux chez un <i>Sceloporus undulatus</i> (Vitt et Caldwell, 2014)	28
<u>Figure 11</u> : Coupe histologique accompagné d'un schéma explicatif d'une section de peau sans plume d'un oiseau, modifiée d'après (Paterson, 2007).....	29
<u>Figure 12</u> : Photographie d'une coupe histologique de follicule de plume à la coloration coloration hématoxyline, éosine, safran, observée au microscope, d'après (Couteaudier et Denesvre, 2014).	30
<u>Figure 13</u> : Les différentes étapes de l'absorption transcutanée (Lane, 2013)	31
<u>Figure 14</u> : Chemins de diffusion possibles à travers la peau, modifiée d'après (Dancik <i>et al.</i> , 2007).....	34
<u>Figure 15</u> : Présentation des chemins d'absorption intercellulaire préférentiels en fonction de la lipophilie d'une substance, modifiée d'après (Lane <i>et al.</i> , 2011).....	35
Les enzymes présentes dans la peau sont les familles CYP1, CYP2 et CYP3 des cytochromes P450, des mono-oxygénases, des transférases, des hydrolases et des déshydrogénases, comme l'alcool déshydrogénase (ADH) et aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Leur répartition chez l'homme est détaillée dans la figure ci-dessous. <u>Figure 16</u> : Localisation des enzymes connues de la peau humaine, modifiée d'après (Dancik <i>et al.</i> , 2010)	37
<u>Figure 17</u> : Cellule de Franz, modifiée d'après (Zhang <i>et al.</i> , 2014)	40
<u>Figure 18</u> : Formule générale du Poloxamer (Alsaab <i>et al.</i> , 2016)	43

<u>Figure 19</u> : Formule et structure de la lécithine, modifiée d'après (Shchipunov, 2001)	44
<u>Figure 20</u> : Formule de l'isopropyl palmitate (à gauche) et de l'isopropyl myristate (à droite) (Pubchem, s. d.)	44
<u>Figure 21</u> : Etapes de fabrication d'un organogel, modifiée d'après (Kumar et Katare, 2005)	46
<u>Figure 22</u> : Mécanismes d'organogélation, modifié d'après (Kumar et Katare, 2005).....	46
<u>Figure 23</u> : Mécanisme de formation d'un gel de poloxamer dans de l'eau (Alsaab <i>et al.</i> , 2016)	47
<u>Figure 24</u> : Intégration de l'isopropyl myristate dans les lamelle de lipides du <i>stratum corneum</i> , et modification de la forme des chaines alkyles, modifiée d'après (Engelbrecht <i>et al.</i> , 2012)	51
<u>Figure 25</u> : Réorganisation de la barrière lipidique lors de l'hydratation de la peau (Tan <i>et al.</i> , 2010)	52
<u>Figure 26</u> : Caractéristiques physico-chimiques des principes actifs dont l'absorption transcutanée a été évaluée comme satisfaisante (carrés bleus) ou insatisfaisante (rond gris) après plusieurs jours d'application.	85
<u>Figure 27</u> : Caractéristiques physico-chimiques des principes actifs dont l'absorption transcutanée a été évaluée comme satisfaisante (carré bleu <i>in vivo</i> , triangle orange <i>in vitro</i>) ou insatisfaisante (rond gris) après une unique application.....	85

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition lipidique (%) des différentes couches de l'épiderme humain (Elias <i>et al.</i> , 1983; Seiller et Martini, 1996).....	17
Tableau 2 : Composition lipidique de la substance fondamentale de l'épiderme du lapin et du porc en pourcentage de l'extrait analysé, d'après (Nicoli <i>et al.</i> , 2008)	23
Tableau 3 : Epaisseurs du <i>stratum corneum</i> et de l'épiderme des espèces étudiées mesurées sur des coupes de peaux gelées (surligné en gris) et sur des coupes de paraffine, d'après (Monteiro-Riviere <i>et al.</i> , 1990)	33
Tableau 4 : Caractéristiques physicochimiques du méthimazole (Pubchem, s. d.)	56
Tableau 5 : Caractéristiques physicochimiques de la buspirone (Pubchem, s. d.).....	64
Tableau 6 : Caractéristiques physicochimiques de l'amitriptyline.....	67
Tableau 12 : Caractéristiques physicochimiques de la cyclosporine (Pubchem, s. d.).....	69
Tableau 7 : Caractéristiques physicochimiques de la dexaméthasone (Pubchem, s. d.)	70
Tableau 11 : Caractéristiques physicochimiques du fentanyl (Pubchem, s. d.)	72
Tableau 9 : Caractéristiques physicochimiques de la fluoxétine (Pubchem, s. d.).....	73
Tableau 10 : Caractéristiques physicochimiques du glipizide (Pubchem).....	75
Tableau 8 : Caractéristiques physicochimiques du phénobarbital (Pubchem, s. d.).....	77
Tableau 13 : Caractéristiques physicochimiques du tramadol (Pubchem, s. d.).....	79
Tableau 14 : Posologie conseillée en fentanyl en fonction du poids de l'animal (Plumb, 2008)	81
Tableau 15 : Caractéristiques physicochimiques de la morphine (Pubchem, s. d.)	83
Tableau 16 : Synthèse des principales données issues des études sur les PLO gels	86

Liste des abréviations

ABC: Adénosine triphosphate Binding Cassette

PLO: Pluronic Lecithin Organogel

MDR1: Multi Drug Resistance Gene 1

OATP: Polypeptide de transport d'anions organiques

INTRODUCTION

En médecine vétérinaire, l'indocilité de l'animal peut représenter un obstacle critique à l'administration d'un traitement par voie orale ou parentérale, en particulier chez le chat et certains nouveaux animaux de compagnie. La difficulté à utiliser ces voies d'administration peut affecter la qualité de l'observance des soins du fait d'administrations incomplètes, et du découragement du propriétaire pouvant aller jusqu'à l'abandon des soins. Ceci est en particulier vrai pour les traitements de longue durée qui peuvent nuire à la qualité de la relation entre le propriétaire et son animal. Pour ces raisons, le développement d'une alternative aux voies d'administration orale et parentérale représente un intérêt majeur. En plus des difficultés d'administration, la voie transdermique permet de s'affranchir de la dégradation et de la métabolisation du principe actif par le système digestif et porte-hépatique. La voie transdermique est aujourd'hui utilisée de façon courante en médecine vétérinaire, mais est réservée presque exclusivement aux antiparasitaires. Le développement de la voie transdermique repose sur le contournement d'une fonction majeure de la peau, son rôle de barrière. Peu de principes actifs ont la capacité de traverser la peau, et de nouveaux excipients, ou véhicules, sont donc développés pour optimiser cette voie d'absorption. Parmi ces véhicules, les microémulsions à base de lécithine et de Pluronic® ou PLO gels suscitent un intérêt croissant en raison de la variété de principes actifs qu'ils peuvent accueillir, de leur structure, de leur facilité de préparation, et de leur biocompatibilité.

L'objectif de ce travail est de présenter l'état actuel des connaissances concernant les propriétés des PLO gels, et leur efficacité en tant que véhicule de traitements transdermiques. Ce travail se limitera à leur utilisation en médecine vétérinaire.

Dans cette perspective, la structure de la peau des chiens, des chats, et les spécificités tégumentaires des principaux nouveaux animaux de compagnie, lapins, furets, rongeurs, serpents, tortues et oiseaux seront présentées dans un premier temps. La composition, la structure, et les propriétés des PLO gels, ainsi que les facteurs technologiques à prendre en compte pour optimiser leur pénétration cutanée seront présentés ensuite. En dernier lieu, l'ensemble des travaux de recherches testant l'efficacité des PLO gels sera présenté, dans les limites du cadre de ce travail.

I. La peau des carnivores domestiques et des principaux nouveaux animaux de compagnie

A. Anatomie de la peau du chien et du chat

1. Aspect extérieur

La peau est le premier organe visible chez les vertébrés et le plus lourd. Elle s'étend sur toute la surface du corps jusqu'aux cavités nasales, aux yeux, à la bouche et à l'anus où elle se termine en continuité avec leur muqueuse respective.

La peau des carnivores domestiques est recouverte de poils formant des robes variées en couleur, densité, et longueur. Elle représente près d'un quart du poids du chiot, et sa part diminue de moitié chez l'adulte. (Miller *et al.*, 2012). Le pelage des chiots évolue jusqu'à 6 mois environ grâce à la production de poils secondaires. Les chiens produisent annuellement 60 à 180 g/kg de poils selon la race, contre 33 g/kg chez les chats à poils court (Hendriks *et al.*, 1997). Cela correspond à une pousse d'environ 0,10 mm/j chez le Greyhound, 0,50 mm/j chez le Beagle, et de 0,06 à 0,3mm/j chez le chat. La taille moyenne du poil chez le chat varie de 4,5 cm chez les races à poils courts contre plus de 12,5 cm chez les races à poils longs.

En face palmaire de l'extrémité des membres, les coussinets sont formés par un épaissement de l'épiderme et du tissu adipeux sous-cutané. Ils protègent de lésions traumatiques et amortissent les chocs subits lors d'un déplacement.

On trouve dans la peau des glandes spécialisées comme les glandes circumanales, les glandes du canal auditif externe, de la queue et les sacs anaux. La glande de la base de la queue est vestigiale chez de nombreux chiens. On la retrouve chez 5 % d'entre eux, et chez tous les canidés sauvages (Miller *et al.*, 2012).

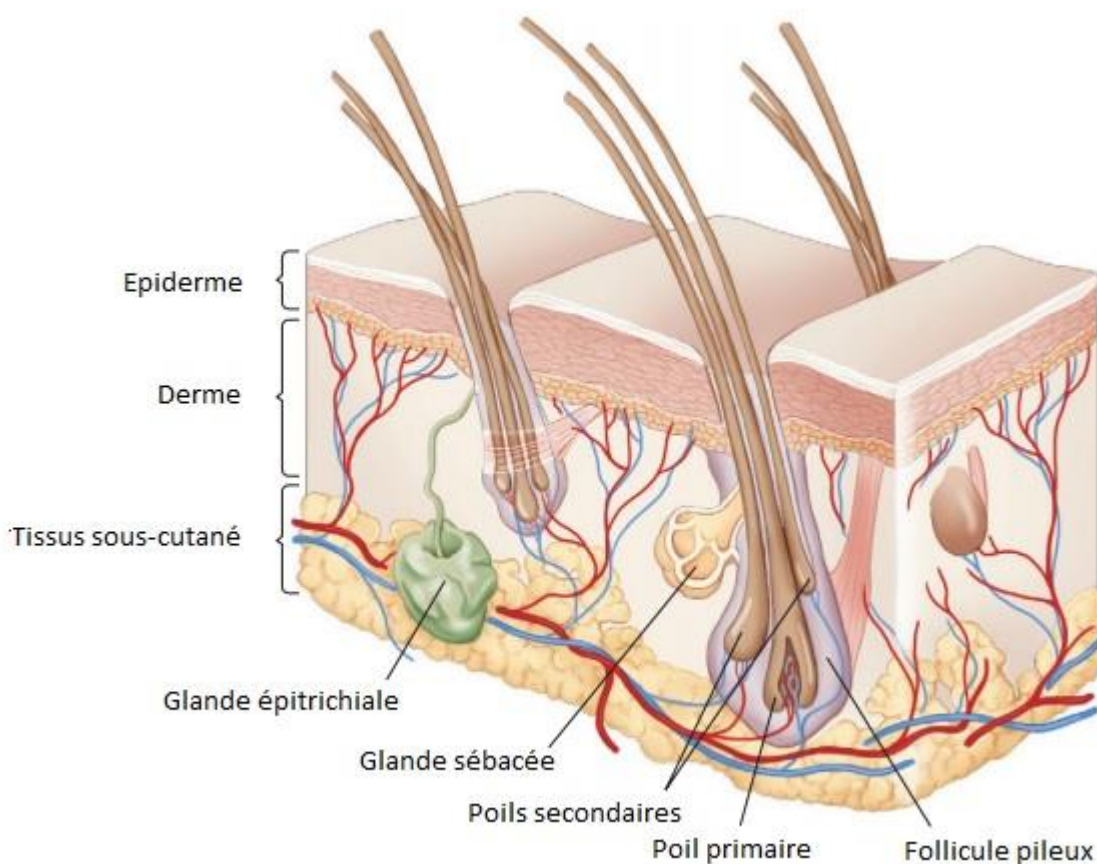
2. Structure générale de la peau

La peau est constituée de trois tissus différents, l'épiderme, le derme et le tissu sous-cutané, qui sont elles-mêmes constituées de formations de nature variée. La structure de la peau du chat et du chien est présentée ci-dessous (figure 1). Les vaisseaux cutanés sont répartis en trois plexus (Schummer, 1981). Le plexus profond prend naissance dans le tissu sous-cutané et irrigue les follicules pileux et les glandes épitrichiales en profondeur. Ces vaisseaux forment en continuité le plexus moyen qui irrigue les follicules et les glandes sébacées en partie intermédiaire, ainsi que les muscles arrecteurs des poils. Enfin, le plexus superficiel forme un réseau de capillaires situés sous l'épiderme. Ces trois plexus constituent la microcirculation de la peau et jouent un rôle important dans le métabolisme, l'immunité et la régulation thermique de la peau. Le flux sanguin est modulé par le système nerveux et par des facteurs paracrines. La circulation dans les capillaires peut être court-circuité pour diminuer les pertes de chaleur. La perfusion du

derme peut ainsi varier d'un facteur cent (Riviere et Papich, 2001). La vasoconstriction de la microcirculation de la peau limite l'absorption systémique des molécules traversant la peau mais peut augmenter leur activité locale. Par exemple, par association avec l'adrénaline, on augmente l'effet anesthésique locale de la lidocaïne.

La peau est innervée par des nerfs sensoriels responsables de la sensation du toucher, de la chaleur, de la pression, de la proprioception, de la douleur et du prurit, et par des nerfs moteurs contrôlant la résistance vasculaire, l'arrection des poils et la sécrétion des glandes.

Figure 1 : Structure de la peau du chien et du chat, modifié d'après Miller *et al.* (2012)



3. Variations locorégionales

L'épaisseur de la peau varie en fonction de sa localisation. Elle est plus fine en région ventrale du tronc. La peau des membres est plus fine à leur extrémité. Elle est la plus épaisse sur le front, et la partie dorsale du cou, du thorax, de la croupe et de la queue. La peau est la plus fine sur le pavillon auriculaire interne, et en région axillaire, inguinale et péri-anale. L'épaisseur moyenne de la peau du chat est de 0,4 à 2,0 mm, et celle du chien de 0,5 à 3,7mm (Miller *et al.*, 2012). L'épiderme de la face palmaire des membres est cornifiée et est donc plus épais.

La circulation sanguine de la peau peut grandement varier en fonction de sa localisation. D'après Monteiro-Riviere et son équipe (1990), le flux sanguin mesuré sur le pavillon auriculaire et en région abdominale ventrale peut être jusqu'à trois fois et demi plus importante qu'en région scapulaire chez le chat. Chez le chien, les résultats montrent que la circulation est maximale au niveau de l'abdomen ventral et peut être quatre fois et demi supérieure à celle de l'abdomen dorsal au niveau de la jonction lombosacrée.

B. Histologie de la peau du chien et du chat

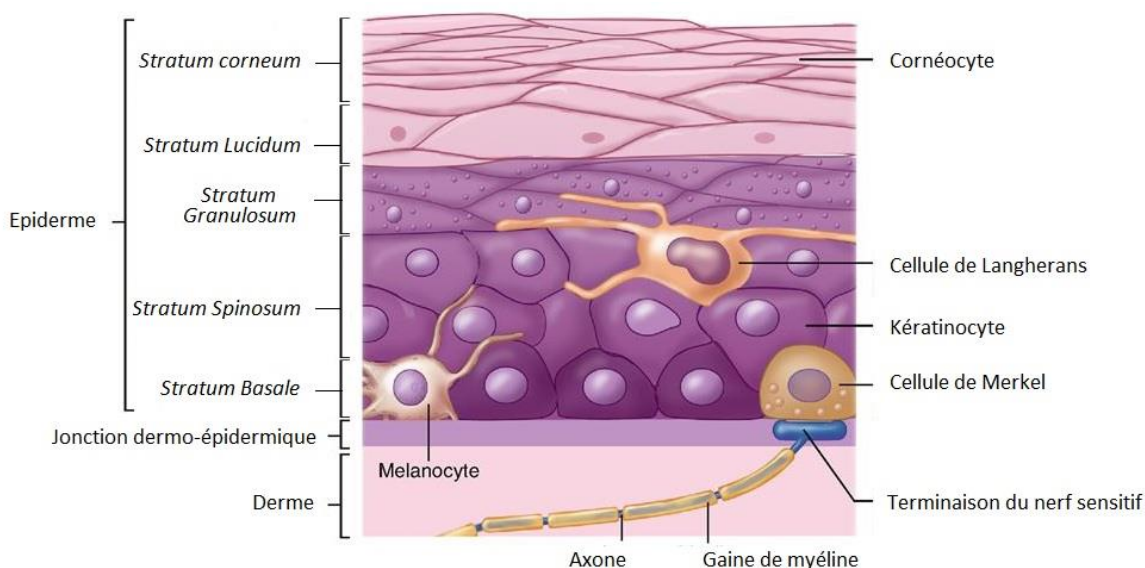
1. Epiderme

L'épiderme, couche la plus externe de la peau, est composé de plusieurs épaisseurs que l'on distingue par le stade de différenciation des kératinocytes. De la couche la plus interne à la plus externe, on distingue : le *stratum basale*, le *stratum spinosum*, le *stratum granulosum*, le *stratum lucidum* et le *stratum corneum* (figure 2).

Cinq types cellulaires composent l'épiderme : les kératinocytes (85 %), les mélanocytes (5 %), les cellules de Langherans (3 à 8 %), les cellules de Merkel (2 %) et les lymphocytes γ - δ .

Généralement, l'épiderme du chien forme une couche fine de 0.1 à 0.5mm d'épaisseur. L'épiderme le plus épais est rencontré au niveau des coussinets et de la truffe où il mesure près de 1.5mm (Miller *et al.*, 2012). Chez le chat, l'épaisseur moyenne de l'épiderme varie peu entre l'abdomen, le dos, la croupe, et les oreilles (Monteiro-Riviere *et al.*, 1990).

Figure 2: Structure de l'épiderme du chat et du chien, modifié d'après l'encyclopédie médicale en ligne (Basicmedical Key, 2016)



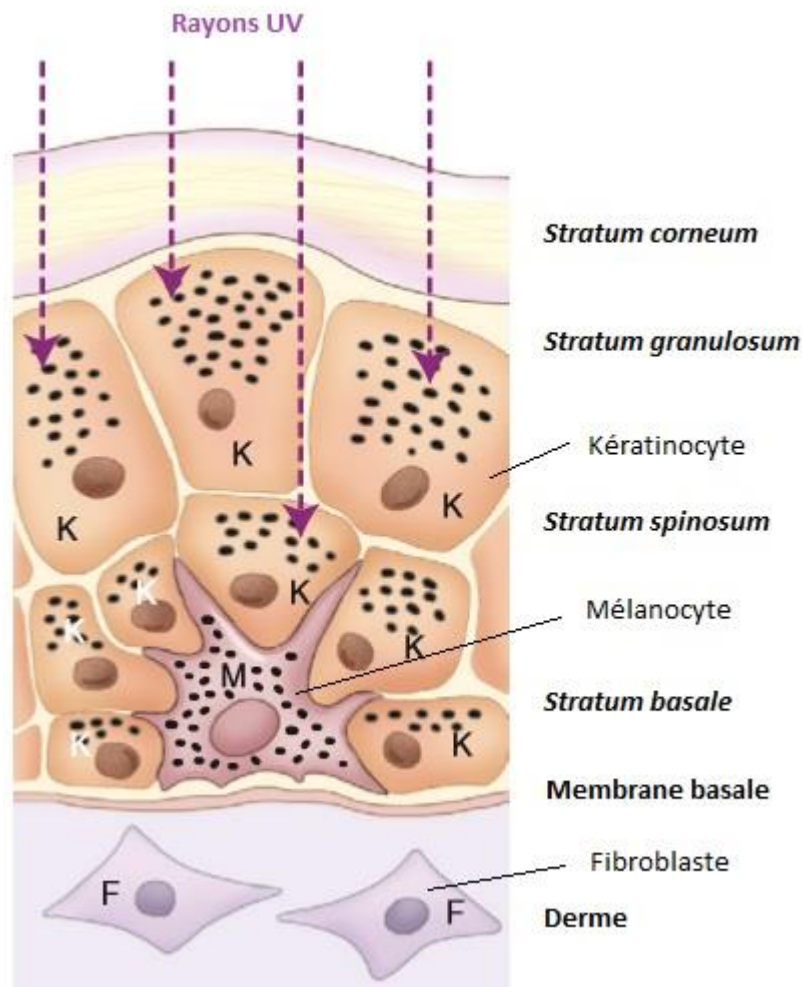
a) **Stratum Basale ou couche basale**

Le *stratum basale* est constitué d'une couche de cellules cubiques basophiles de petite taille. Ce sont principalement des kératinocytes ayant pour fonction la régénération de l'épiderme et son ancrage, via des hémidesmosomes et des intégrines, à la membrane basale située entre l'épiderme et le derme. La malformation des hémidesmosomes entraîne différentes formes d'épidermolyse bulleuse, de pemphigoïde bulleuse et de lupus érythémateux. A chaque instant, la moitié des kératinocytes sont en mitose, produisant une cellule fille attachée à la membrane basale qui conserve la position et le rôle de la cellule mère, et une autre cellule fille qui est poussée vers le *stratum spinosum* où elle subira encore deux à trois mitoses.

Les mélanocytes forment, en nombre, la seconde population de cellule du *stratum basale*. Provenant du neuroderme, ils sont pourvus de dendrites qui communiquent avec le cytoplasme d'une vingtaine de kératinocytes adjacents, permettant l'apport dans ces cellules de mélanosomes contenant de la mélanine (figure 3). Outre leur rôle dans la pigmentation de la peau, ils ont une fonction protectrice face aux rayonnements lumineux, en particulier ultra-violets, un rôle de protection face aux radicaux libres cytotoxiques et ils participent à l'inflammation (Miller *et al.*, 2012).

Les cellules de Merkel sont des cellules neuroendocrines qui jouent un rôle dans la perception du toucher et probablement dans le contrôle du flux sanguin, de la prolifération des kératinocytes et du cycle pileux. On les trouve en grande quantité à la base des vibrisses ou des «tylotrich hair» où elles sont associées à des cellules nerveuses.

Figure 3 : Représentation d'un mélanocyte modifié d'après Miller *et al.*, (2012).



b) *Stratum Spinosum* ou couche épineuse

Le *stratum spinosum* est une couche d'épaisseur variable, d'une à deux cellules dans les zones poilues, et jusqu'à vingt cellules dans les coussinets, la truffe ou les jonctions cutanéomuqueuses. Elle est composée de cellules légèrement basophiles à éosinophiles, de formes polyédriques à pavimenteuses et encore pourvues d'un noyau. Il s'agit principalement de kératinocytes.

L'adhésion des kératinocytes est permise dans cette couche, et les couches les plus externes, par deux structures : les desmosomes, et les jonctions adhérentes à cadhérine. Les jonctions GAP forment un troisième type de jonctions intercellulaires et jouent un rôle de communication intercellulaire. Les desmosomes sont composés de filaments intermédiaires de kératine solidaire de la membrane plasmique par une plaque d'attachement où sont ancrées des protéines d'attachement formant une adhérence avec les protéines d'attachement de la cellule voisine. Le dysfonctionnement des desmosomes est à l'origine des différentes formes de pemphigus. Les kératinocytes synthétisent, en fonction de leur stade de

différenciation et de la localisation du tissu dans lequel ils se trouvent, une vingtaine de sous-types de kératine différents.

Dans le *stratum spinosum*, les kératinocytes synthétisent des granules lipidiques hydrophobes riches en céramides se présentant sous forme de lamelles caractéristiques nommées corps d'Odland ou corps lamellaires. Les corps lamellaires sont un mélange d'enzymes hydrolytiques et de lipides polaires : des glycosylcéramides, des sphingomyélines, des stérols libres, et des phospholipides. Leur contenu joue un rôle crucial dans l'acquisition de l'imperméabilité cutanée.

Les cellules de Langerhans forment la seconde population de cellules du *stratum spinosum*. Ce sont des cellules dendritiques présentatrices d'antigènes provenant de la moelle osseuse. Elles jouent avec les kératinocytes un rôle actif dans l'immunité de l'épiderme.

Les lymphocytes γ - δ participent à l'immunité innée. Leur nom provient des deux chaînes spécifiques qui constituent leurs récepteurs de cellule T. Ces derniers diffèrent de ceux des lymphocytes α - β , et restent identiques toute la vie du lymphocyte.

c) *Stratum granulosum* ou couche granuleuse

Le *stratum granulosum* n'est pas présent partout. Il est constitué d'une à deux cellules d'épaisseur, contre quatre à huit dans les zones glabres ou près de l'infundibulum des follicules pileux. Les kératinocytes qui la composent sont aplatis, avec un noyau picnotique et des granules de kératohyaline. Les granules de kératohyaline sont des agrégats insolubles de pro-filagrine, précurseurs de la filagrine, et de loricrine. La filagrine agrège, empaquète et aligne les filaments de kératine dans la couche cornée. Elle joue aussi un rôle important dans la bonne hydratation de la couche cornée. La loricrine participe à l'attache des filaments de kératine dans les cornéocytes.

Les corps lamellaires fusionnent avec la membrane plasmique dans le *stratum granulosum*, et déversent leur contenu lipidique et enzymatique dans le milieu extracellulaire. Commence alors un processus de différenciation de la matrice extracellulaire qui se termine dans le *stratum corneum*, durant lequel, les lipides polaires sont hydrolysés et convertis en lipides apolaires comme les céramides, les acides gras libres et le cholestérol.

d) *Stratum Lucidum* ou couche claire

Le *stratum lucidum* est présent uniquement au niveau de la truffe et des coussinets chez le chien. C'est une fine couche de cellules mortes, entièrement kératinisées, compactes, sans noyaux et transparentes à l'observation microscopique. Elle se différencie du *stratum corneum* par sa richesse en lipides reliés par des protéines.

e) *Stratum corneum* ou couche cornée

Le *stratum corneum* est la couche la plus externe de la peau. Les kératinocytes présentent leur stade final de différenciation, celui de cornéocyte. Ce sont des cellules éosinophiliques, aplaties et sans noyau, disposées en de multiples couches et entourées d'une matrice extracellulaire lipidique telles des briques dans du mortier. La desquamation des cornéocytes est permanente et est contrebalancée par la prolifération de cellules basales qui régule l'épaisseur de la peau proche d'une valeur constante dépendante de sa localisation. Le *stratum corneum* est plus épais dans les zones glabres ou au poil diffus. Il mesure chez le chat entre 3 et 35µm contre de 5 à 1500µm chez le chien. En moyenne, son épaisseur est de 20 µm chez le chien environ (Mills et Cross, 2006). Le temps de renouvellement cellulaire est de 22 jours en moyenne chez le chien.

Les cornéocytes ne sont pas entourés d'une véritable membrane cellulaire mais d'une enveloppe protéique composée de polymères hydrophobes dont les précurseurs sont synthétisés dans le *stratum spinosum*. On trouve parmi eux l'involucrine, la keratoline, la pancornuline, la cornifine et la loricine (Downing, 1992). Les cornéocytes sont reliés entre eux par des cornéo-desmosomes assurant la cohésion du *stratum corneum*. En conséquence de la sécrétion des corps lamellaires synthétisés dans le *stratum spinosum* (figure 4) et des remaniements enzymatiques, la composition lipidique change radicalement au cours du processus de kératinisation, passant d'une prédominance de phospholipides à un mélange de céramides, de cholestérol, et d'acides gras (tableau 1). Les acides gras sont incorporés aux céramides qui sont les principaux responsables de l'effet barrière de la peau et de la stratification de la couche cornée. La composition lipidique permet l'imperméabilisation de l'épiderme, et un maintien de l'hydratation et de la souplesse de la peau. Les lipides extra-cellulaires s'organisent en lamelles parallèles à la surface de la peau.

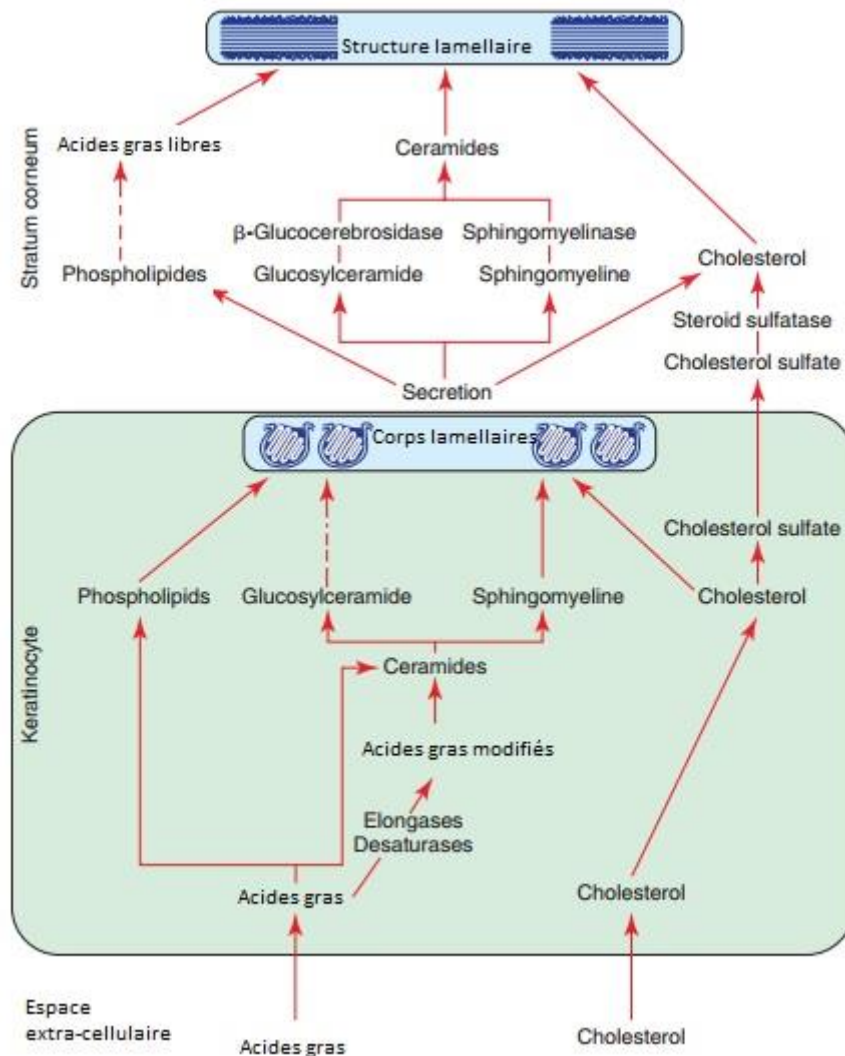
Tableau 1 : Composition lipidique (%) des différentes couches de l'épiderme humain (Elias *et al.*, 1983 ; Seiller et Martini, 1996)

	S. Germinativum / S. Spinosum	S. Granulosum	S. Corneum
Lipides polaires (phospholipides)	44,5	25,3	4,9
Cholestérol sulfate	2,6	5,5	1,5
Lipides neutres	51	56,5	77,7
Stérols libres	11,2	11,5	14
Acides gras libres	7	9,2	19,3
Triglycérides	12,4	24,7	25,2
Stérol et « wax esters »	5,3	4,7	5,4

Squalène	4,9	4,7	4,8
Sphingolipides	7,3	11,7	18,1
Glycosyl céramides	3,5	5,3	Traces
Céramides	3,8	8,8	18,1

La surface de la peau du chien et du chat est plus riche que celle de l'homme en cholestérol libre, en « wax esters », et en esters de cholestérol. Cette différence de composition laisse à penser que ces lipides proviennent en majorité de la différenciation de l'épiderme et non de la sécrétion des glandes sébacées comme chez l'Homme (Miller et al., 2012).

Figure 4 : Mécanismes de production, sécrétion, et transformation des corps lamellaires (Miller et al., 2012)



f) Jonction dermo-épidermique

La jonction dermo-épidermique est une zone d'ancrage entre l'épiderme et le derme permettant le maintien de la structure et du renouvellement de la peau. Elle est composée du pôle basal des cellules du *stratum basale*, de la *lamina lucida* (membrane basale épidermique stricto sensu), de la *lamina densa* et de la région la plus superficielle du derme. La *lamina densa* fait 20 fois l'épaisseur de la *lamina lucida*.

2. Derme

Le derme est composé de fibres insolubles, d'une substance fondamentale, et de cellules, principalement des fibroblastes. Les fibres insolubles, le collagène et l'élastine, lui confèrent une résistance aux forces d'étirements, et la substance fondamentale, les protéoglycanes et l'acide hyaluronique, confèrent à la peau une résistance à l'écrasement. On y trouve, contrairement à l'épiderme, des vaisseaux sanguins organisés en trois plexus, des canaux lymphatiques et des nerfs.

La matrice extracellulaire est composée à 80 % de collagène et à 4 % d'élastine. Dix-sept formes de collagène ont été différenciées. Parmi elles on trouve principalement des fibres de type I (86 %), de type III (10 %) et de type V (3 %) uniformément réparties dans tous le derme. Au niveau des zones peu mobiles comme les oreilles, les fibres de collagène sont plus épaisses et plus denses et la proportion de fibres élastiques est plus faible.

La substance fondamentale forme un gel viscoélastique qui occupe l'espace entre les différentes structures du derme et permet la diffusion des nutriments et de cellules. Les glycosaminoglycanes et protéoglycanes ne représentent que 1 % du poids sec de la peau, mais attirent plus de 100 fois leur poids en eau.

Les fibroblastes sont présents de façon diffuse dans le derme. Des mastocytes sont présents en périphérie des vaisseaux sanguins et des annexes. D'autres types cellulaires peuvent être localisés dans le derme mais sont plus rares.

3. Tissu sous-cutané

Le tissu sous-cutané ou hypoderme, est composé à 90 % de triglycérides. Il permet le stockage de réserve énergétique, donne à la peau une mobilité vis à vis des structures sous-jacentes, isole thermiquement le reste du corps et le protège. C'est aussi un réservoir et un site de métabolisation des hormones stéroïdes et de production d'œstrogène. Les fibres de collagène présentes dans le tissu sous-cutané permettent l'attache des fibres du derme au fascia ou au périoste sous-jacent. L'épaisseur du tissu sous-cutané est inversement proportionnelle à son débit de perfusion. Le tissu sous-cutané peut être absent à certains endroits comme les paupières, l'anus, le pavillon auriculaire et les lèvres.

4. Annexes cutanées

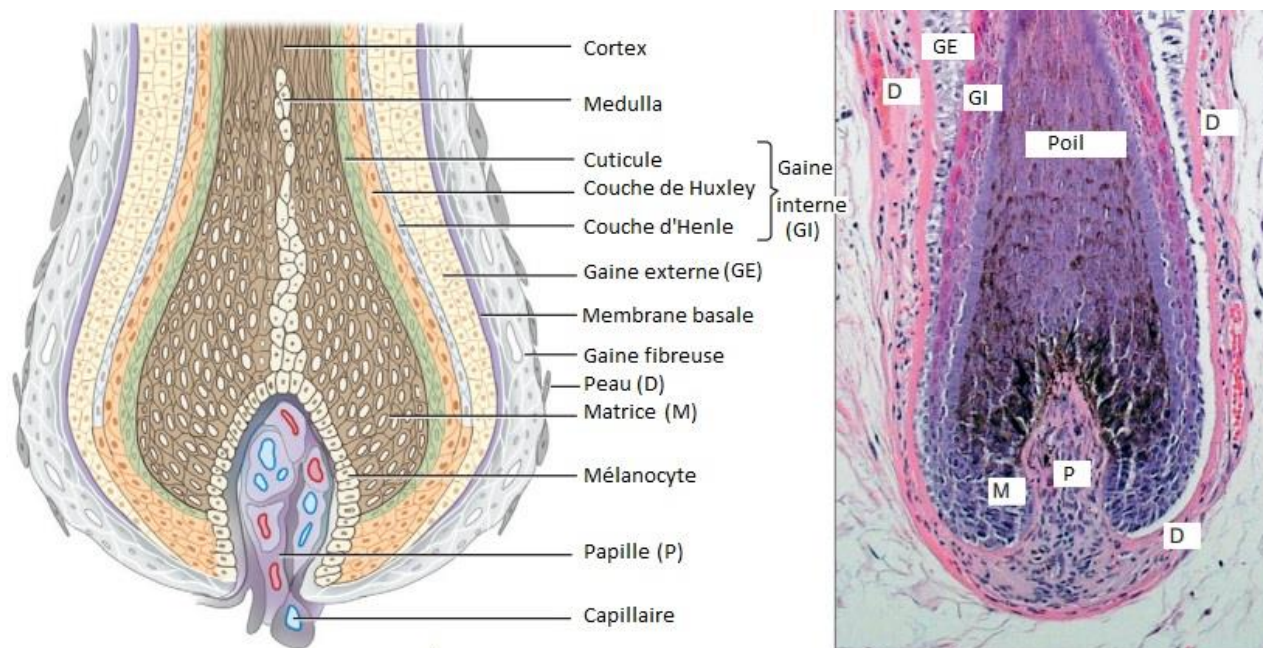
a) Le follicule pileux

Le follicule pileux est une invagination épidermique à l'origine de la production des poils et de leur port. Chez le chien et le chat, les follicules pileux sont associés en complexes où 2 à 5 poils primaires centraux de grande taille sont entourés par des poils secondaires. Les poils centraux sont accompagnés d'une glande sébacée et d'un muscle arrecteur, alors que les poils secondaires ont, parfois seulement, une glande sébacée.

Le follicule pileux comprend trois régions : la racine, partie la plus profonde, l'isthme situé entre l'insertion du muscle arrecteur et l'abouchement de la glande sébacée, et l'infundibulum, situé entre cet abouchement et la surface de la peau

Le poil est constitué d'une tige pileuse et d'un bulbe. Le bulbe est composé d'une matrice et d'une médulla, alors que la tige pileuse est composée d'un cortex et parfois d'une moelle pour les poils les plus larges. Le poil est entouré par une gaine interne et externe (figure 5). La gaine interne est constituée de la cuticule du poil, et des couches de Huxley et de Henle. Elle est absente de la partie la plus superficielle du follicule pileux, l'infundibulum. La gaine externe est kératinisée et fusionne avec l'épiderme.

Figure 5 : Structure d'un follicule pileux, doté d'un poil primaire, modifié d'après Miller et son équipe (2012)



Les poils secondaires partagent des pores en commun. Chaque poil central est accompagné de 5 à 20 poils secondaires. La robe du chien est composée de 100 à 600 groupes de 15 poils par centimètre carré. La densité des groupes folliculaires est variable suivant les races : de 100 à 300/cm² chez les chiens à pelage classique type berger allemand, et de 400 à 600/cm² chez les races à poils fins comme le chow-chow. Chez le

chat, le poil est plus dense avec de 800 à 1600 groupes de 10 à 20 poils par centimètre carré. Le diamètre des follicules pileux du chien est d'environ 155µm, contre 85µm chez le chat d'après une étude (Mangelsdorf *et al.*, 2014).

Le chien et le chat ont une croissance du poil qui n'est pas synchronisée : les follicules pileux sont chacun à un moment différent de leur cycle. Le cycle pileux comporte trois phases : une phase anagène de croissance active du poil, puis une phase de catagène où la croissance s'arrête et où la racine régresse brutalement, et enfin une phase télogène où le poil reste en place avant de tomber (Bouhanna, 1998).

Les vibrisses et les « trylotrich hairs » sont deux types de poils spécialisés dans la perception du toucher.

Les vibrisses sont situées sur le museau, le contour des yeux, la face et le cou, et en face palmaire des carpes chez le chat. La gaine externe des vibrisses est entourée de sinus veineux dont certains sont traversés par des travées nerveuses qui contribuent avec les corpuscules de Pacini situés à proximité à la fonction sensorielle des vibrisses.

Les « tylotrich hairs » sont répartis sur l'ensemble de la robe. Ce sont des poils larges, issus d'un follicule spécialisé sans aucun poil secondaire et entouré d'un tissu neuro-vasculaire au niveau de la glande sébacée. Ce sont comme les vibrisses des mécanorécepteurs. Chacun est associé à un « tylotrich pad », une zone de peau spécialisée composée d'un épiderme épaissi sous lequel la vascularisation et l'innervation sont particulièrement développées. Des fibres nerveuses non myélinisées se terminent en de fines plaques associées à des cellules de Merkel (Miller *et al.*, 2012).

b) Les glandes sébacées

Les glandes sébacées sont situées dans le derme et leur canal débouche dans la portion moyenne du follicule pileux. Elles sécrètent, le long du poil, du sébum qui est issu de la dégénérescence de cellules de réserve lipidique. Le sébum protège la peau contre la déshydratation et assure ainsi sa souplesse, en formant un film lipidique à sa surface. Le sébum participe aussi à l'imperméabilisation du pelage. Il s'agit d'un mélange de triglycérides (45 %), de cérides ou « wax esters » (25 %), de squalènes (12 %), d'acides gras libres (10 %), de cholestérols en partie estérifiés (4 %) (Pappas, 2009). Ces pourcentages sont des moyennes établies chez l'Homme. Les triglycérides sont en partie transformés par la flore commensale sécrétant des lipases, *Staphylococcus spp.* et *Popionibacterium spp.*, en acides gras dont l'acide linoléique, myristique, oléique et palmitique. Ce dernier entre dans la composition des PLO gels.

c) Les glandes sudoripares

Il existe deux types de glandes sudoripares. Elles n'interviennent pas dans la thermo-régulation des carnivores domestiques.

Les glandes épitrichiales ou apocrines sont réparties dans toutes les zones avec du poil. Elles sont situées sous les glandes sébacées mais débouchent généralement au-dessus, dans l'infundibulum. Leur sécrétion lipido-protéique contient des agents anti-microbiens et intervient dans la formation du film lipidique à la surface de la peau, ainsi que dans les interactions entre individus par des phéromones.

Les glandes atrichiales ou eccrines sont situées exclusivement dans le derme profond et l'hypoderme des coussinets. L'abouchement de leur canal se situe directement à la surface des coussinets. On les retrouve sur l'ensemble de la robe du cheval chez qui elles jouent un rôle thermorégulateur par sudation.

d) Autres glandes

Il existe des glandes spécialisées que l'on ne trouve que dans des régions spécifiques comme les glandes circumanales, ou les glandes du conduit auriculaire, et qui ne seront pas décrites ici.

C. Spécificités tégumentaires des autres mammifères de compagnie, des reptiles et des oiseaux.

1. Spécificités de la peau du lapin

La peau du lapin a été étudiée en détail pour construire des modèles d'étude proche de la peau humaine. La concentration en follicules primaires varie de 80 follicules par cm^2 (Nicoli *et al.*, 2008) sur les oreilles à plus de 2000 follicules/ cm^2 sur le dos (Mangelsdorf *et al.*, 2014). Jusqu'à 24 follicules secondaires peuvent accompagner les follicules primaires (Oznurlu, 2009). La densité de poil est maximale au niveau de la croupe.

L'épaisseur du *stratum corneum* est de 10 μm environ sur les oreilles et 5 μm sur le ventre, avec un épiderme vivant sous-jacent d'environ 20 μm composé de seulement 2 à 3 couches de cellules (Monteiro-Riviere *et al.*, 1990 ; Nicoli *et al.*, 2008).

Les principaux composants sont du cholestérol pouvant être estérifié, des céramides, et de l'acide oléique. Les céramides, l'acide oléique et le cholestérol sont des lipides polaires, contrairement aux triglycérides, et esters de cholestérol qui sont apolaires. Selon une étude portant sur la composition de la peau des oreilles du lapin, le *stratum corneum* du lapin serait particulièrement riche en lipides apolaires ce qui en fait un milieu à la lipophilie particulièrement marquée (tableau 2) (Nicoli *et al.*, 2008). L'absence de squalène dans les lipides dosés dans l'étude indiquerait l'absence de contamination de l'extrait dosé par des lipides du sébum.

Tableau 2 : Composition lipidique de la substance fondamentale de l'épiderme du lapin et du porc en pourcentage de l'extrait analysé, d'après (Nicoli *et al.*, 2008)

	Porc	Lapin
Céramides	20,71 +/- 1,43	24,45 +/- 0,54
Céramides alpha hydroxylés	22,65 +/- 1,47	10,24 +/- 0,46 **
Acides gras libres	22,51 +/- 0,78	16,32 +/- 0,46 *
Cholestérol	31,54 +/- 0,18	11,38 +/- 0,59 **
Triglycérides	1,05 +/- 0,05	5,09 +/- 0,85 *
Esters de cholestérol	1,54 +/- 0,12	32,48 +/- 5,10 **
Squalène	0	0

** : p < 0,01 * : p < 0,05

2. Spécificités de la peau du furet

La peau des furets est épaisse, est recouverte d'un sous-poil doux et épais de couleur crème, et de longs poils dont la couleur détermine celle de la robe. Les follicules pileux du furet sont composés d'un poil primaire pour cinq à quinze poils secondaires selon la région (Martin *et al.*, 2007). La robe des furets peut s'affiner à la fin du printemps en raison de l'allongement de la durée du jour et de l'augmentation de la température. Durant le cycle pileux la racine du follicule pileux se prolonge jusqu'au tissu sous-cutané en phase anagène ou jusqu'au derme en phase télogène. Les furets n'ont pas de glandes épitrichiales. Ils ont au contraire des glandes sébacées très actives leur conférant une odeur musquée et un toucher gras. Les sécrétions sébacées donnent aux poils une teinte jaunâtre, et sont plus abondantes chez les mâles et les individus entiers.

L'épiderme du furet est composé d'un *stratum basale* d'une cellule d'épaisseur, d'un *stratum spinosum* d'une à quatre cellules d'épaisseur, plus fin sur le ventre que sur les flancs et le dos, d'un *stratum granulosum* d'une à deux cellules d'épaisseur et du *stratum corneum*. Le *stratum lucidum* semble absent chez cette espèce. L'épaisseur de l'épiderme du pavillon interne de l'oreille est la même que celle de la face externe de l'oreille. Le pavillon auriculaire est recouvert de poils chez les furets, mais leur densité est plus faible en face interne.

3. Spécificités de la peau des rongeurs

La peau des rongeurs est constituée de la même structure de base que celle des autres mammifères précédemment étudiés. Le tissu sous-cutané des lapins, des furets et des petits rongeurs est plus épais notamment au niveau du cou que chez le cochon d'Inde et le chinchilla.

La croissance des poils est synchrone chez les rongeurs à l'exception du cochon d'Inde. Elle commence à la surface du ventre entre les membres thoraciques et progresse caudalement et dorsalement par vague. Les

cochons d'Inde, les souris et les rats ont une densité de poils plus importante que les chiens et les chats. Une étude a évalué cette densité à environ 1200 follicules/cm² pour le cochon d'Inde, environ 1600 follicules/cm² chez le rat, et plus de 6000 follicules/cm² chez la souris (Mangelsdorf *et al.*, 2014). Par ailleurs chaque espèce possède des follicules pileux de taille différente. Leur diamètre est proche de 38µm chez le rat et 62µm chez le cochon d'Inde. Les chinchillas ont jusqu'à soixante poils par follicule. Chez les rongeurs à l'exception de la gerbille, le pavillon de l'oreille est glabre (figure 6). Chez le rat et la souris, la queue est très peu poilue et l'épithélium diffère entre les zones glabres et les zones ornées de poils ce qui lui donne un aspect écailleux. Cet épithélium est de structure classique autour de l'ostium, alors qu'entre les follicules pileux il est dépourvu de *stratum granulosum*.

Les rongeurs sont dépourvus de glandes épitrichiales, et les rats, les souris, les hamsters ne possèdent que des glandes atrichiales sur les coussinets plantaires. Les glandes sébacées des hamsters et des gerbilles sont d'avantage productives chez les mâles entiers. Elles sont disséminées sur les flancs chez le hamster, situées sur le ventre chez la gerbille, et sur le dos et autour de l'anus chez le cochon d'Inde (Miller *et al.*, 2012).

Figure 6 : Photographie d'un pavillon auriculaire de chinchilla (Paterson, 2007)



4. Spécificités de la peau du serpent

Les serpents font partie, avec les lézards, de l'ordre des *squamata* au sein de la classe des reptiles. La présence d'écaille est un critère systématique de l'appartenance au taxon des reptiles. Ces derniers possèdent une grande diversité dans la structure de leur tégument (Bereiter-Hahn *et al.*, 1986)

a) L'épiderme du serpent

L'épiderme du serpent est constitué de trois couches : le *stratum corneum*, couche la plus externe, la zone intermédiaire, composée de cellules en cours de différenciation, et le *stratum germinativum*, l'assise proliférative. Le *stratum germinativum* ou couche basale, contient comme chez les mammifères des mélanocytes.

Le *stratum corneum* est lui-même composé de quatre couches (figures 7 et 8) : la couche d'Oberhautchen, la couche β , composée de cellules possédant de la β -kératine, une couche intermédiaire et la couche d' α ,

composée de cellules possédant de l' α –kératine (Paterson, 2007). Dans la couche d'Oberhautchen et la couche β , on ne distingue pas les limites entre cellules : elles apparaissent fusionnées entre elles en un bloc compact.

Figure 7 : Structure des écailles de serpent, modifiée d'après (Bereiter-Hahn *et al.*, 1986)



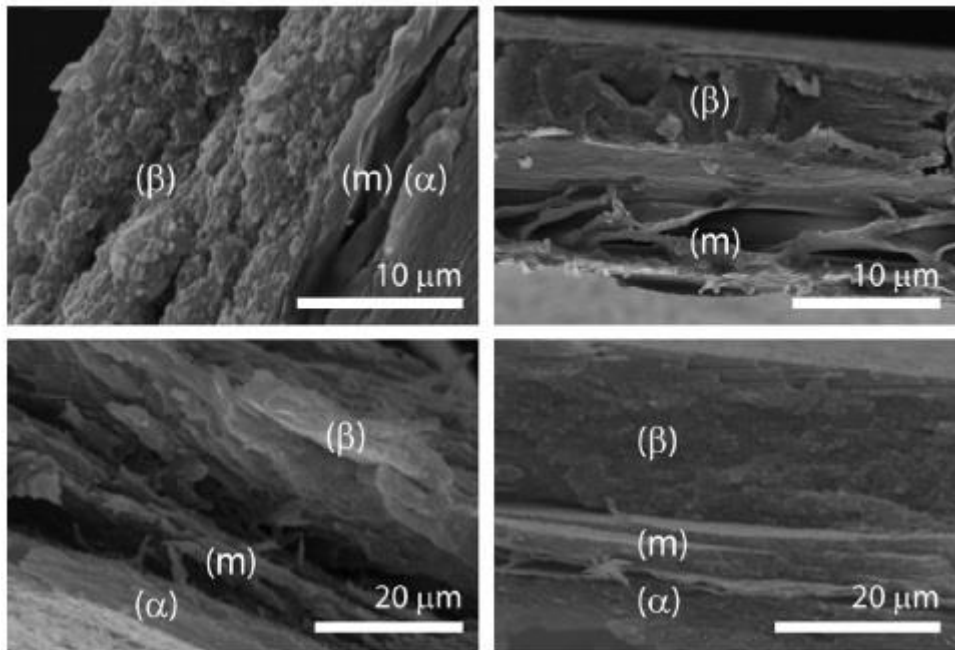
L' α -kératine confère à la peau du serpent son caractère souple et déformable, et on la retrouve en quantité particulièrement abondante dans les zones de plis (Alibardi, 2005). Elle se présente sous la forme d'une hélice qui s'assemble en protofibrilles de 2nm regroupées par 11 en microfibrilles de 8nm de diamètre. Les cellules de la couche α se forment par un processus de différenciation comparable à celui de la kératinisation chez les mammifères.

La zone intermédiaire est riche en lipides intra et extracellulaires qui, associés à de l' α –kératine, forment une barrière efficace contre l'évaporation. L'imperméabilité est aussi assurée par un complexe protéo-lipidique formé par l'estérification de céramides aux protéines de la membrane des cornéocytes.

La β -kératine se forme par un processus différent. Les cellules de la couche β forment dans leur cytoplasme des granules issus de leur appareil de Golgi dont le contenu s'associe aux filaments intermédiaires de kératine pour former des microfibrilles de 3nm de diamètre. La β -kératine, que l'on retrouve par ailleurs dans les ongles chez l'homme, donne aux écailles leur résistance et leur dureté.

Les cellules cornées s'entourent d'une enveloppe commune aux vertébrés. Les reptiles, comme les amphibiens et contrairement aux mammifères, sécrètent un mucus qui est retenu entre les cornéocytes, et ne produisent pas de kératohyaline. Les reptiles, comme les mammifères, synthétisent des granules lamellaires dont le contenu est déversé dans la matrice extra-cellulaire.

Figure 8 : Photographie en microscopie électronique de l'épiderme de serpent montrant les couches α (α) et β (β) et la couche intermédiaire (m), d'après (Torri *et al.*, 2014)



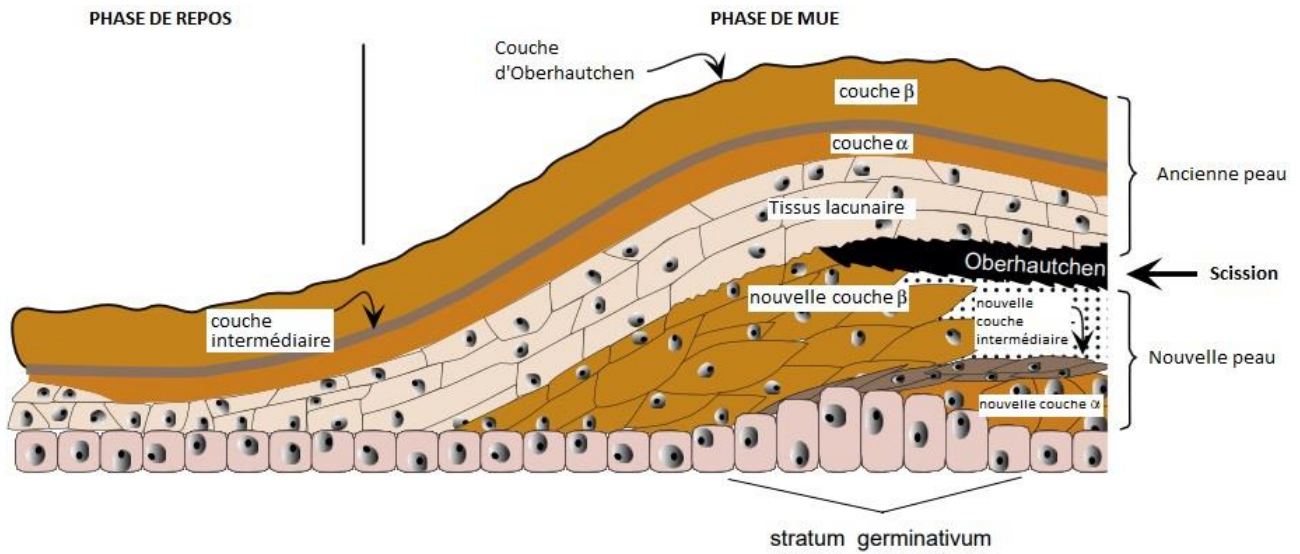
b) Le cycle de mue

Contrairement aux mammifères, le renouvellement de la peau n'est pas un phénomène continu chez les serpents mais se fait par la mue (figure 9) qui permet le renouvellement de couches concentriques totalement différenciées comme les couches α et β .

La mue peut être divisée en 6 étapes. La phase de repos dure plusieurs semaines à plusieurs mois selon l'âge de l'individu et son alimentation. Elle est maintenue par les hormones thyroïdiennes. Immédiatement après la mue, le *stratum basale* continue à être actif et complète la mise en place de la couche α . Juste avant la mue, l'ancien épiderme est complété par la mise en place de deux couches : le tissu claire et la couche lacunaire. C'est la couche lacunaire qui se détache du reste de la peau en fin de phase de renouvellement par l'action d'enzymes diffusant depuis la lymphe.

La phase de renouvellement dure environ 14 jours. Le *stratum germinativum* produit des cellules filles qui vont former une nouvelle couche β . Les cellules les plus externes de cette nouvelle couche vont se kératiniser et former la couche de Oberhautchen. Le *stratum germinativum* produit ensuite des cellules qui formeront un nouveau *stratum intermedium*. Enfin, une nouvelle couche α est mise en place.

Figure 9 : Les étapes de la mue, modifiée d'après (Vitt et Caldwell, 2014)



c) Spécificités du derme

Le derme des serpents a une composition proche de celui des mammifères : il s'agit d'un tissu conjonctif riche en collagène et en diverses fibres. On trouve des cellules pigmentaires particulières : les chromatophores qui sont à l'origine, avec les mélanocytes, de la grande variété de couleurs des reptiles. Les xanthophores confèrent une couleur jaune, orange ou rouge, les iridophores une couleur blanche ou une propriété réfléchissante, et les mélanophores une couleur noire, brune ou rouge. Il existe aussi des cellules regroupant plusieurs pigments de couleurs différentes. Les serpents possèdent par ailleurs très peu de glandes cutanées (Bereiter-Hahn *et al.*, 1986)

5. Spécificités de la peau des lézards

L'épiderme et le derme des lézards partagent une structure commune avec ceux des serpents. Certains lézards possèdent des ostéodermes, la plupart du temps confinés en partie dorsale et sur les flancs dans l'épaisseur du derme. Il s'agit de structures osseuses reliées entre elles pour former une armure protectrice et fusionnant chez les hélodermes et les crocodyliens avec le crâne (Vitt et Caldwell, 2014)

Les geckos et les iguanes ont des pores sécrétoires fémoraux (figure 10) et pubiens, dont la lumière se situe au centre d'une écaille élargie. Ces pores permettent la sécrétion de substances cireuses chez les mâles ayant atteint la maturité sexuelle. Les lézards ont comme les serpents une glande odorante s'ouvrant sur le cloaque.

Figure 10 : Localisation des pores fémoraux chez un *Sceloporus undulatus* (Vitt et Caldwell, 2014)



6. Spécificité de la peau des tortues

L'épiderme des tortues est composé d'un *stratum corneum*, d'une *zone intermédiaire*, et d'un *stratum germinativum* dont les cellules se divisent en continue puis cessent leur activité durant l'hibernation. La mue est saisonnière chez l'adulte, avec une fréquence de l'ordre d'une à deux fois par an variant selon les apports nutritifs et la température. Les fragments de la mue sont de petites tailles, en particulier chez les tortues terrestres. (Paterson, 2007)

Le tégument des tortues est recouvert d'écailles de β -kératine espacées par des joints d' α -kératine. La composition des écailles peut cependant varier. Sur les membres de certaines tortues, les écailles peuvent être entièrement composées d' α -kératine. Chez certaines tortues à carapaces molles et chez la tortue luth, la carapace est entièrement composée d' α -kératine (Vitt et Caldwell, 2014). Chez la plupart des tortues à carapace dure au contraire, la carapace est composée de β -kératine uniquement.

Les écailles des tortues sont situées par-dessus des structures osseuses communes aux crocodyliens, et à certains lézards, et appelées ostéoderme du fait de leur localisation. La fusion des ostéodermes avec les vertèbres et les côtes, et avec le sternum, crée chez la tortue la carapace externe et le plastron.

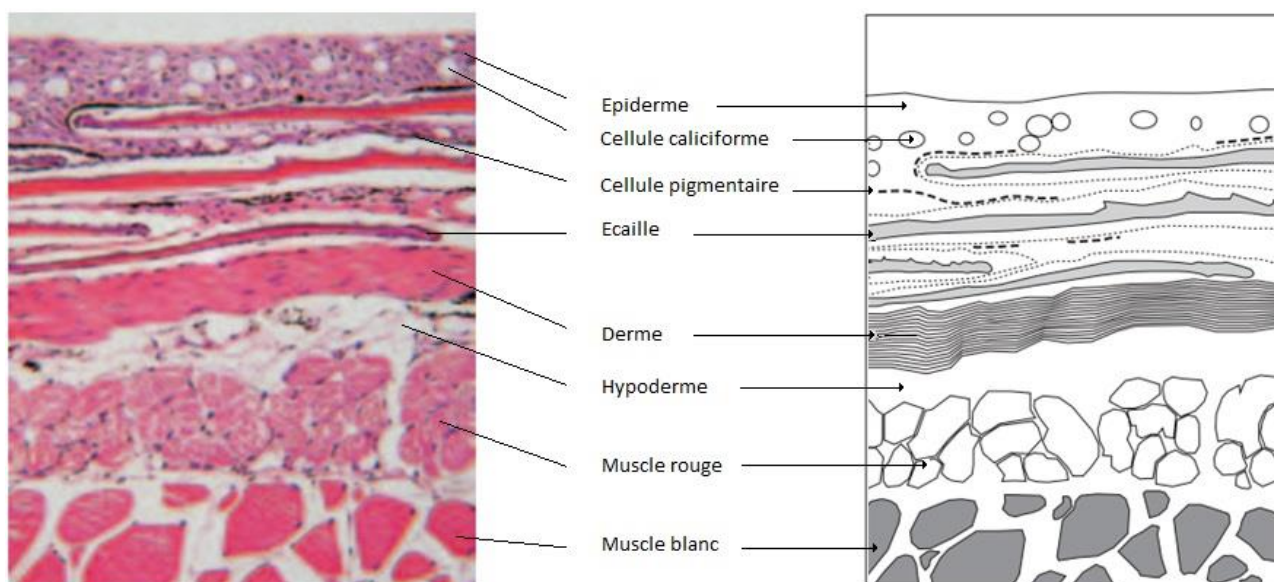
Les tortues possèdent différentes glandes dont la glande de Rathke qui s'ouvre sur la zone inguinale et axillaire et une glande située sur la mâchoire inférieure chez les mâles. La glande de Rathke est absente chez les *Testudinidae* et certaines *Emydidae* (Vitt et Caldwell, 2014).

7. Spécificités de la peau des oiseaux

L'épiderme des oiseaux est plus fin que celui des mammifères mais possède une structure similaire composée de strates de cellules kératinisées. Son épaisseur varie en fonction de la présence de plumes. Dans les zones ornées de plumes, l'épiderme n'est épais que de trois à quatre cellules, alors que l'épiderme des zones sans plume, comme les pattes, est beaucoup plus épais (Monteiro-Riviere, 2007). Les pattes des oiseaux sont généralement recouvertes d'un épiderme épais formant des écailles. Les couches présentes sont (figure 11) : le *stratum basale*, un *stratum intermedium* proche du *stratum spinosum* des mammifères, un *stratum transitivum* proche du *stratum granulosum* des mammifères mais dépourvu de grains de kératohyaline, et un *stratum corneum*. Les cellules de l'épiderme aviaire contiennent une quantité importante de lipides, et il pourrait s'agir d'un lieu de lipogénèse.

Figure 11 : Coupe histologique accompagnée d'un schéma explicatif d'une section de peau sans plume d'un oiseau, modifiée d'après (Paterson, 2007)

(Grossissement et coloration non précisés par l'auteur)



Contrairement à la peau des mammifères, celle des oiseaux est aglandulaire à l'exception de la glande uropygiale, de la glande péri-cloacale, et de la glande du canal auditif (Paterson, 2007). Située à la base de la queue, la glande uropygiale produit une substance grasse qui, avec les acides gras, esters, phospholipides et glycérols d'origine épidermique, protège la peau des agents bactériens, protège l'étui corné des plumes du dessèchement, et imperméabilise les plumes.

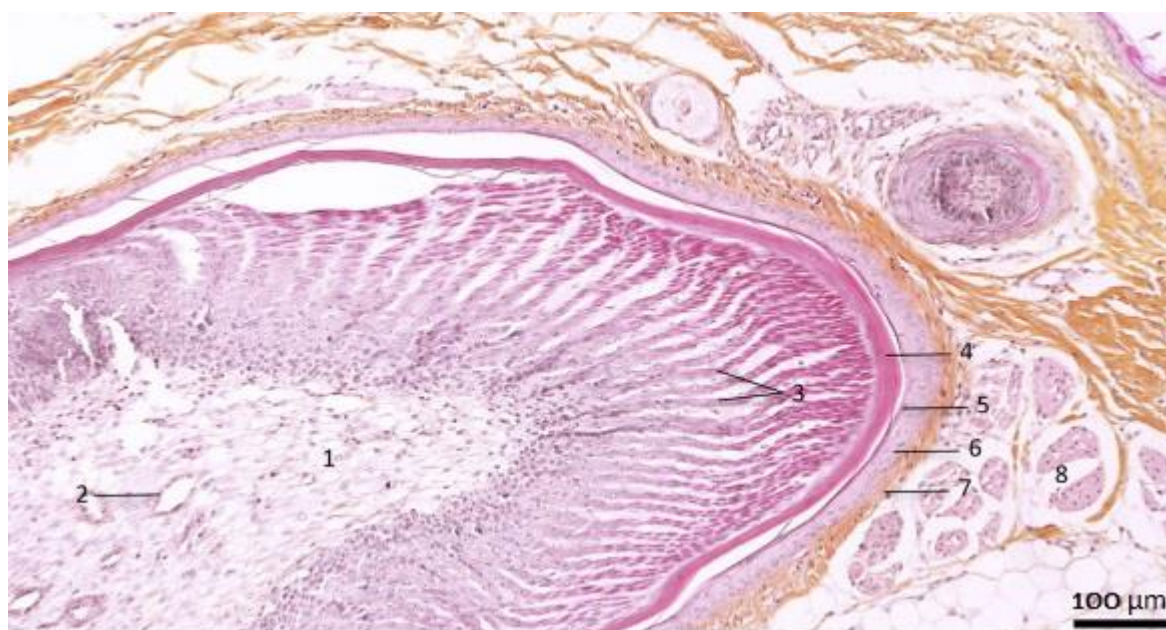
Le derme est constitué d'un *stratum supericiale*, d'un *stratum profundum* incluant le *stratum compactum*, le *stratum laxum* et de la *lamina elastica*.

Les plumes sont d'origine épidermique. Il y en a 20 000 à 80 000 par oiseau environ selon les espèces (Yu et al., 2004). Elles sont composées de kératine et ont une structure similaire aux poils. Elles se développent au

sein de follicules et y restent jusqu'à être remplacées par une nouvelle plume. Les follicules forment des invaginations épidermiques (figure 12). Le cycle de développement des plumes ne comprend pas de phase de catagène. Trois catégories de plumes se succèdent lors de la croissance d'un oiseau. Les plumes de l'oisillon naissant sont remplacées par des plumes de juvénile puis par des plumes d'adulte. Chez l'adulte coexistent les plumes, les plumes de duvet et les filoplumes. Les plumes de contours des ailes et de la queue respectivement appelées rémiges et rectrices, et les plumes de couverture. Leur orientation est déterminée par la contraction de muscles interfolliculaires qui permettent de contrôler les échanges thermiques avec l'extérieur.

Figure 12 : Photographie d'une coupe histologique de follicule de plume à la coloration coloration hématoxyline, éosine, safran, observée au microscope, d'après (Couteaudier et Denesvre, 2014).

- | | | | |
|----------------------------|---------------------------------|--------------|-------------------------------|
| 1 : moelle de la plume | 2 : vaisseau sanguin axial | 3 : barbules | 4 : gaine de la plume |
| 5 : <i>stratum corneum</i> | 6 : <i>stratum germinativum</i> | 7 : Derme | 8 : muscle associé à la plume |



D. Le passage des principes actifs à travers la peau

La voie transcutanée fait l'objet d'un intérêt croissant en tant qu'alternative aux voies plus traditionnellement utilisées en médecine vétérinaire. Elle est facile d'administration, non invasive et permet de réduire l'effet de « premier passage » dû à la métabolisation hépatique. Malgré le développement de cette voie d'administration, les informations concernant la pénétration des principes actifs ou de leurs excipients au travers de la peau des espèces cibles restent limitées. La pénétration doit être adaptée à la cible du traitement, c'est-à-dire un effet local, systémique, ciblant un organe, ou un effet de surface.

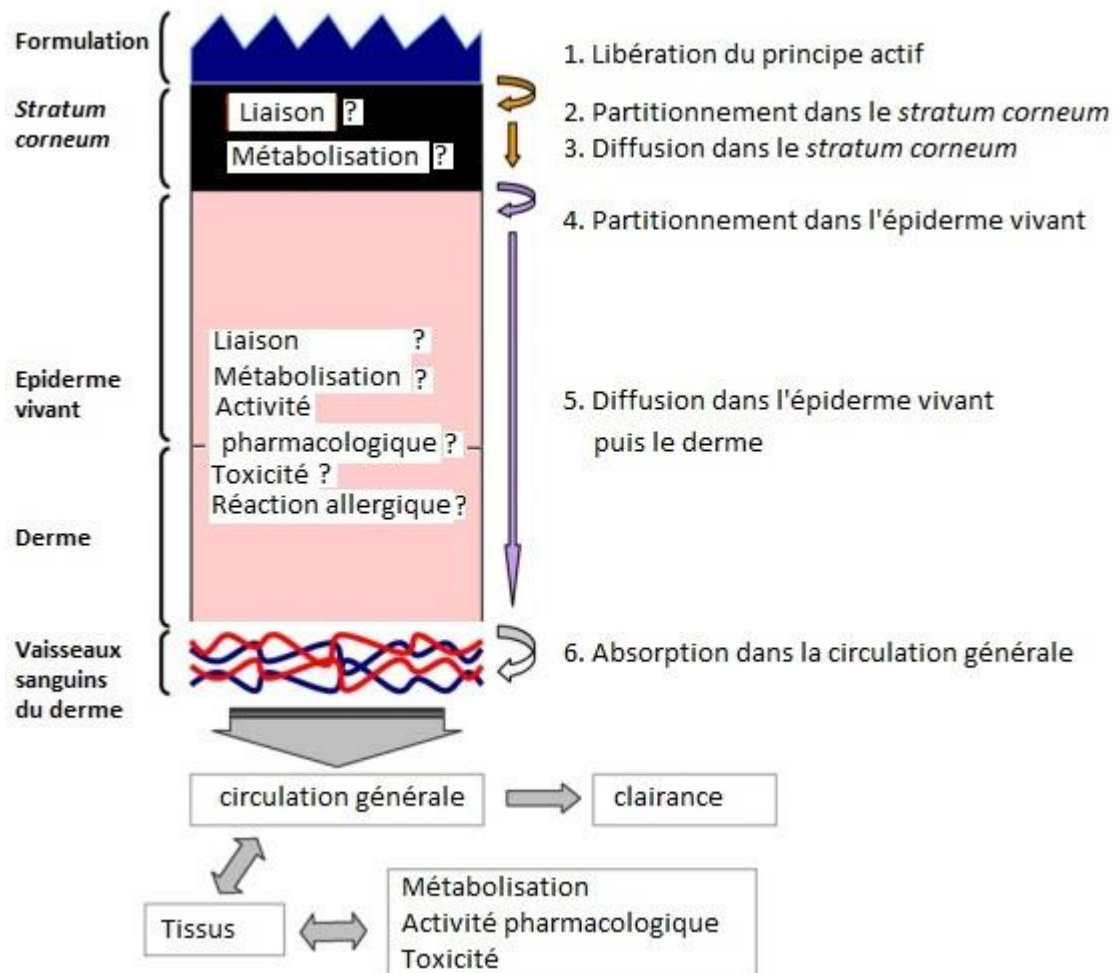
Chez l'homme, le *stratum corneum* de l'épiderme constitue la principale barrière à la diffusion de traitements médicamenteux au travers de la peau. Les caractéristiques de la peau varient cependant chez un individu, entre individus d'une même espèce, et entre espèces. On observe des différences d'épaisseur, de densité en annexes, de vascularisation, et de contenu lipidique et enzymatique de la peau.

1. Les mécanismes physiques de l'absorption transcutanée

L'absorption transcutanée se déroule en 6 étapes : la perméation, le partitionnement de la molécule dans le *stratum corneum*, sa diffusion dans le *stratum corneum*, puis son partitionnement dans l'épiderme vivant et sa diffusion dans l'épiderme vivant avant le passage dans la circulation générale.

Ces 6 étapes peuvent être regroupées en deux catégories : le partitionnement qui intervient à l'interface entre deux milieux et la diffusion au sein d'un milieu.

Figure 13 : Les différentes étapes de l'absorption transcutanée (Lane, 2013)



a) La perméation et le partitionnement

La perméation est la première étape de l'absorption d'une substance. Il s'agit de sa diffusion entre son véhicule et le film hydro-lipidique qui tapisse la surface de la peau des espèces étudiées. La répartition du principe actif dépend de son affinité relative entre la formulation et le *stratum corneum*.

b) La diffusion passive

Afin de comprendre les facteurs intrinsèques de la peau qui influencent sa perméabilité, il convient d'étudier les composants de la loi qui modélise la diffusion passive d'une molécule à travers un milieu, la loi de Fick. L'équation suivante correspond à la loi de Fick adaptée au transport à travers le *stratum corneum*.

$$J_{ss} = (D \cdot K_{sc/veh}) \cdot C_{veh} / h = K_p \cdot C_{veh}$$

J_{ss} est le flux à l'équilibre en $mg \cdot cm^{-2} \cdot s^{-1}$.

D est la diffusivité du principe actif en $cm^2 \cdot s^{-1}$ dans le *stratum corneum*.

$K_{sc/veh}$ est le coefficient de partitionnement du principe actif entre le *stratum corneum* et son véhicule.

h est l'épaisseur du *stratum corneum*.

C_{veh} est la concentration de principe actif dans son véhicule.

K_p est le coefficient de perméabilité du principe actif dans une formulation précise.

Les facteurs intrinsèques d'un animal influençant la diffusion d'une molécule à travers une couche de peau sont donc son épaisseur (h), et sa nature physico-chimique. Les interactions entre la molécule et la couche de peau déterminent la diffusivité (D) de la molécule dans cette couche, c'est-à-dire la facilité avec laquelle la molécule diffuse.

D'après les données présentées précédemment et rappelées dans le tableau 3, on peut conclure que la finesse du *stratum corneum* chez le rat et le chat facilite la diffusion de principes actifs à travers leur peau. Le *stratum corneum* du chien est plus épais que chez ces deux espèces, avec une différence statistiquement significative.

Chez le chien, la faible quantité de poils, la finesse du *stratum corneum* et la vascularisation de l'abdomen ventral en fait un lieu préférentiel pour l'application d'un traitement transdermique, contrairement au pavillon auriculaire. Cette localisation, bien que préférentielle au vu des données recueillies, présente le défaut d'exposer le produit appliqué au léchage de l'animal. Le *stratum corneum* du lapin est très épais sur le pavillon auriculaire, et plus fin sur l'abdomen ventral où le pelage ne permet pas l'application de gel sans préparation préalable du site. L'épaisseur du *stratum corneum* devrait diminuer dans cette espèce la diffusion d'un principe actif.

Selon les techniques histologiques utilisées, les épaisseurs mesurées du *stratum corneum* varient de façon importante, et sont moins importantes en utilisant des coupes dans de la paraffine qu'en utilisant des coupes de peau gelées (Monteiro-Riviere *et al.*, 1990).

Tableau 3 : Epaisseurs du *stratum corneum* et de l'épiderme des espèces étudiées mesurées sur des coupes de peaux gelées (surligné en gris) et sur des coupes de paraffine, d'après (Monteiro-Riviere *et al.*, 1990)

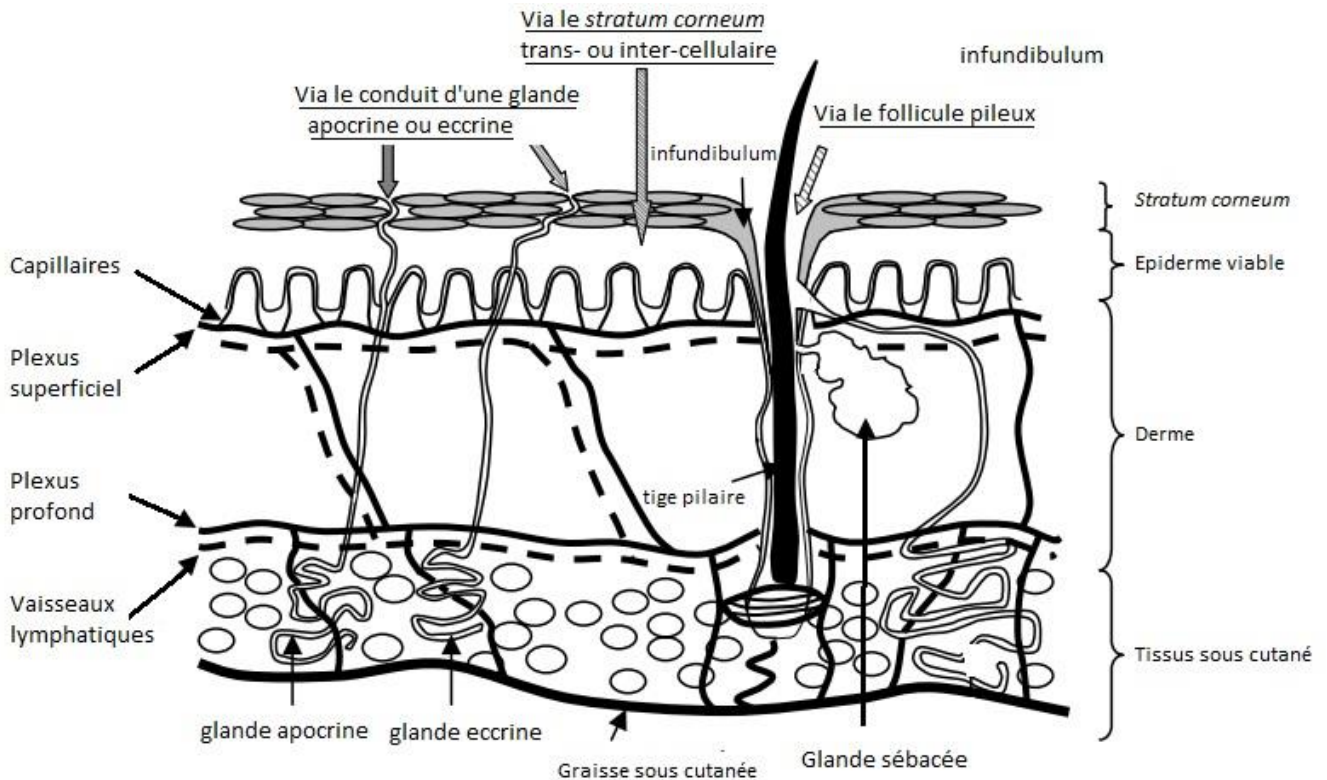
	Site étudié	Epaisseur (µm) du <i>stratum corneum</i>	Epaisseur (µm) de l'épiderme	Flux sanguin (ml/min/ 100g)
Chien	Abdomen ventral	12,20 +/- 2,12	13,75 +/- 0,94	8,78 +/- 1,40
	Pavillon auriculaire	8,61 +/- 1,92	22,47 +/- 2,40	
Chat	Pavillon auriculaire	15,09 +/- 1,83	18,53 +/- 3,68	5,21 +/- 1,53
		6,58 +/- 0,70	28,69 +/- 6,88	
Lapin	Abdomen ventral	8,90 +/- 0,91	10,01 +/- 1,53	6,46 +/- 2,30
	Pavillon auriculaire	3,94 +/- 0,44	14,71 +/- 1,36	
Rat	Abdomen ventral	8,80 +/- 0,98	8,46 +/- 0,92	17,34 +/- 6,31
	Pavillon auriculaire	4,86 +/- 0,79	15,14 +/- 1,42	
Rat	Pavillon auriculaire	17,14 +/- 1,58	13,75 +/- 2,63	8,38 +/- 1,53
		10,81 +/- 1,74	18,80 +/- 1,76	
Rat	Pavillon auriculaire	8,49 +/- 0,97	8,80 +/- 0,95	9,13 +/- 1,47
		3,63 +/- 0,40	13,48 +/- 1,24	

Les valeurs obtenues en utilisant la paraffine sont semblables à celles retrouvées dans d'autres études chez le chien et le rat (Stahl *et al.*, 2009). Pour déterminer si les variations des paramètres de la peau sont bien associées à des différences régionales de perméabilité cutanée, (Hill *et al.*, 2015a) ont mesuré l'absorption de méthimazole à travers des extraits de peau prélevés sur six chats et montés sur des cellules de Franz. L'absorption à travers la peau du pavillon auriculaire, qui est la peau présentant le *stratum corneum* le plus fin selon (Monteiro-Riviere *et al.*, 1990), est significativement supérieure à celle à travers la peau de l'abdomen ventral en région inguinale, du thorax, et du cou, dans leur expérience.

2. Chemins de diffusion à travers la peau

L'étude de la barrière cutanée humaine, montre que la diffusion se fait principalement à travers les lipides de la matrice extracellulaire, entre les kératinocytes (figure 14). Chez les animaux de compagnie, la voie folliculaire est en plus considérée comme une voie majeure d'absorption. Un passage à travers les cellules est peu probable car il nécessiterait des partitionnements successifs des molécules entre des compartiments hydrophiles et très lipophiles.

Figure 14 : Chemins de diffusion possibles à travers la peau, modifiée d'après (Dancik *et al.*, 2007)



a) Diffusion intercellulaire à travers le stratum corneum

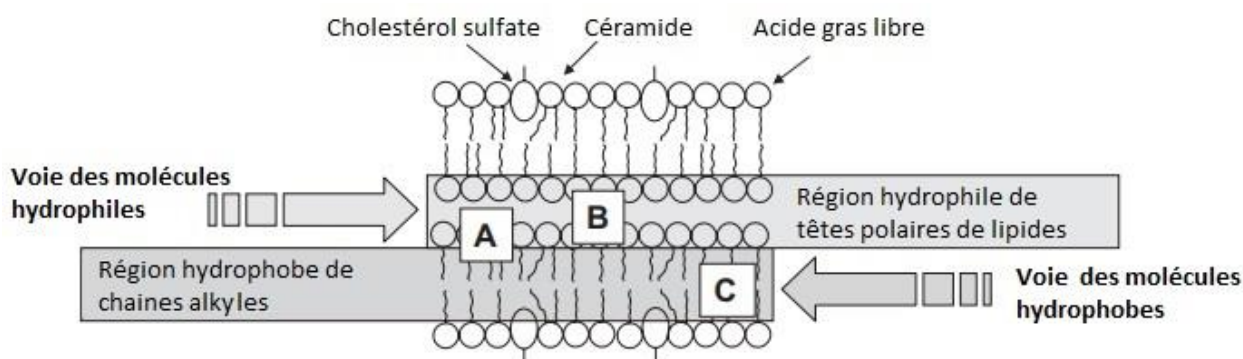
Le *stratum corneum* est généralement considéré comme l'étape limitante de la diffusion d'une molécule à travers la peau. D'après la loi de Fick, l'imperméabilité du *stratum corneum* dépend entre autres de son épaisseur. Cette caractéristique varie selon les espèces (tableau 3), selon l'état physiologique de l'individu (Angelbeck-Schulze *et al.*, 2014 ; Popa *et al.*, 2015) et au sein d'un individu selon la localisation sur le corps de la peau étudiée (Monteiro-Riviere *et al.*, 1990).

Le transport intercellulaire met en jeu des interactions entre les chaînes d'alkyl et les têtes polaires des lipides intercellulaires (Lane, 2013). L'affinité pour les lipides extra-cellulaires du *stratum corneum* va modifier la répartition du principe actif entre son véhicule et le *stratum corneum* et entre le *stratum corneum* et l'épiderme vivant. De ce fait, le passage d'une molécule à travers la peau dépend fortement de ses caractéristiques physico-chimiques, et en particulier de ceux qui régissent ses interactions avec les lipides extracellulaires de l'épiderme (figure 15), c'est-à-dire sa lipophilie, sa taille, son poids moléculaire et sa charge. La nature des lipides extracellulaires est également à prendre en compte. Pour une molécule hydrophile, la résistance générée par la couche cornée est environ mille fois plus importante que celle de l'épiderme vivant situé en dessous (Riviere et Papich, 2001).

La composition lipidique extracellulaire exacte est difficile à déterminer, car les résultats varient en fonction des études, des techniques et certainement des individus. Elle est sujette à des variations entre les espèces

(Pappas, 2009), et la perméabilité de la peau devrait donc l'être aussi. La matrice lipidique extracellulaire semblerait composée d'environ 41 % de céramides, 27 % de cholestérol et 9 % d'acides gras (Mills and Cross, 2006). La composition lipidique extracellulaire est différente chez les chiens atteints de dermatite atopique canine par rapport à des chiens sains (Angelbeck-Schulze *et al.*, 2014 ; Popa *et al.*, 2015). Les chiens atopiques ont notamment moins de céramides, mais accumulent des glucosyl-céramides en l'absence de certaines enzymes. De plus, la composition lipidique peut varier sur les zones lésionnelles d'atopie. Ainsi, la perméabilité cutanée chez ses animaux est d'autant moins prévisible. Elle devrait faire l'objet d'investigations. Chez le chat, des différences de composition de la matrice lipidique pourraient aussi moduler l'absorption cutanée chez les animaux atopiques. Chez le lapin, la matrice extracellulaire semble spécialement riche en lipides apolaires.

Figure 15 : Présentation des chemins d'absorption intercellulaire préférentiels en fonction de la lipophilie d'une substance, modifiée d'après (Lane *et al.*, 2011)



Après le passage du principe actif dans le *stratum corneum*, celui-ci diffuse à une vitesse déterminée par toutes les interactions précédemment décrites qui définissent la diffusivité de la molécule. La diffusivité d'une molécule augmente lorsque celle-ci est de faible poids moléculaire, d'un caractère lipophile, et neutre électriquement. La diffusivité d'une molécule est limitée par la viscosité de la matrice extracellulaire, la liaison de la molécule aux cornéocytes, et le caractère tortueux de la voie de diffusion. La longueur du chemin de diffusion est estimée entre 300 et 900 μm , ce qui est bien plus grand que l'épaisseur du *stratum corneum* d'environ 20 μm . La liaison réversible ou irréversible du principe actif, par exemple à des filaments de kératine, peut ralentir son transport à travers la peau.

b) Diffusion transcellulaire à travers le *stratum corneum*

La voie transcellulaire est considérée comme un chemin de diffusion potentiel pour les molécules hydrophiles puisque la kératine contenue dans les cellules mortes de la couche cornée est fortement

hydratée mais aucune étude n'a mis en évidence de molécule pour laquelle la voie transcellulaire serait le chemin de diffusion principal.

c) Diffusion à travers les annexes cutanées

Les follicules pileux et les glandes sudoripares forment des invaginations qui peuvent permettre de shunter la barrière épidermique.

Durant longtemps, cette voie d'absorption a été considérée comme de faible importance car elle ne représente qu'un faible pourcentage de la surface de la peau (Schaefer et Lademann, 2001). Les follicules pileux représentent chez l'homme environ 0,1 % de la surface de la peau et jusqu'à 10 % au niveau de la tête (Meidan, 2010). Cette modélisation ne prend en compte que la lumière des follicules, mais leur surface d'échange est plus importante du fait de leur extension en profondeur (Knorr *et al.*, 2009). Dans la partie supérieure du follicule pileux, le *stratum corneum* est continu avec la paroi de l'infundibulum mais s'amincit en profondeur. Les follicules pileux sont richement vascularisés ce qui en fait une voie de pénétration potentiellement intéressante. L'influence du sébum qui recouvre la surface des follicules pileux, et diffuse à la surface de la peau, reste à déterminer. Chez les animaux, la forte densité des follicules pileux pourrait rendre leur influence plus importante.

De nombreux modèles ont été créés pour déterminer l'influence du transport transfolliculaire. L'utilisation de rats mutants « hairless » dépourvus de follicules pileux, de rats nouveau-nés ou de peau cicatricielle doit s'accompagner d'une interprétation précautionneuse car ces modèles de peau peuvent présenter des différences structurales plus importantes que la simple présence ou l'absence des follicules pileux (Meidan, 2010). D'autres techniques incluent le remplissage des follicules pileux par du sébum ou des polymères adhésifs (Otberg *et al.*, 2008), la superposition d'une nouvelle épaisseur de *stratum corneum* sur la peau pour fermer les pores existants, la comparaison du « tape stripping » à la biopsie folliculaire au cyanoacrylate, l'utilisation d'exams d'imagerie, et la construction de modèles mathématiques (Meidan, 2010).

Plusieurs études suggèrent que le follicule pileux pourrait être une voie d'absorption importante en particulier pour les molécules hydrophiles et de poids moléculaire important (Lademann *et al.*, 2001 ; Essa *et al.*, 2002 ; Toll *et al.*, 2004 ; Otberg *et al.*, 2008 ; Knorr *et al.*, 2009).

Le follicule pileux constitue aussi un réservoir, pour les substances appliquées sur la peau, à plus long terme que le *stratum corneum* qui est sujet à la desquamation (Knorr *et al.*, 2009). Le fipronil, par exemple, se concentre dans le follicule pileux puis diffuse à partir de lui (Gupta, 2012). La capacité de réservoir des follicules pileux est estimée à deux fois celle du *stratum corneum* chez le chien, alors que chez le chat la capacité de réservoir des follicules pileux serait proche de celle du *stratum corneum* (Mangelsdorf *et al.*,

2014). Il est désormais reconnu comme une voie d'intérêt et la cible de nouvelles formulations en cours de développement (Fang *et al.*, 2014).

d) Diffusion à travers l'épiderme vivant

L'épiderme vivant n'est pas vascularisé. Il doit être traversé pour atteindre la circulation générale. Après avoir diffusé à travers les lipides extracellulaires du *stratum corneum*, les molécules se répartissent entre un milieu lipidique et le milieu polaire hydrophile de l'épiderme vivant constitué d'environ 40 % de protéines, 40 % d'eau et de 15 à 20 % de lipides (Dancik *et al.*, 2007). L'épiderme vivant peut constituer une étape limitante de l'absorption pour les molécules les plus lipophiles et apolaires.

Des protéines de transport peuvent aussi interagir avec un principe actif et en limiter ou en augmenter l'absorption. Trois superfamilles de transporteurs sont impliquées dans le transport de xénobiotique : les transporteurs à ATP Binding Cassette (ABC), à Solute Carrier (SLC) et les polypeptides de transport d'anions organiques (OATP). La superfamille des transporteurs ABC contient de nombreuses protéines conférant des résistances à des médicaments comme MDR1 (Multi Drug Resistance Gene 1) et MDR3 (Dancik *et al.*, 2010).

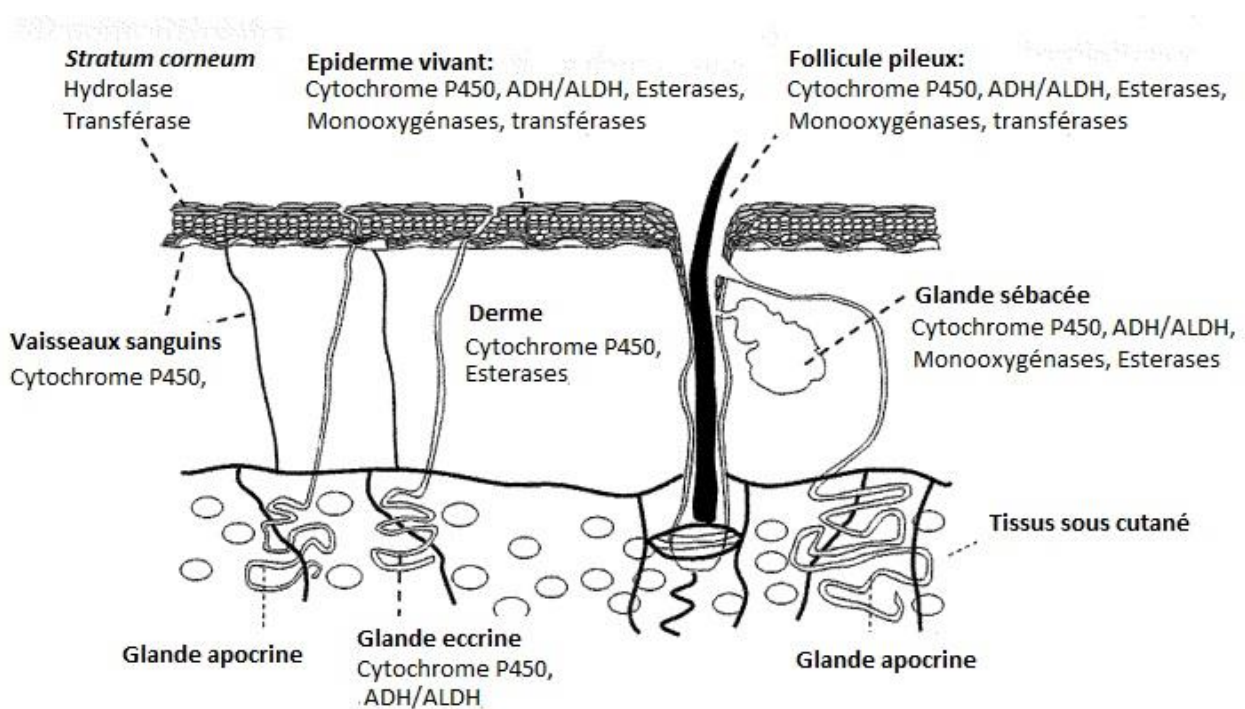
3. Métabolisation cutanée et transport actif des molécules dans la peau

Si la peau, par sa structure, forme une barrière physique, elle n'est pas qu'une barrière inerte de cellules mortes empaquetées dans un ciment de lipides. La peau est aussi une barrière chimique active grâce à des enzymes situées dans l'épiderme vivant, la matrice extracellulaire de la couche cornée, le derme et les annexes cutanées (figure 16). Les protéines de transport exprimées dans la peau participent aussi à la fonction de barrière chimique de la peau. Le métabolisme de la peau joue un rôle capital dans sa protection contre les agressions physiques, des rayons UV par exemple, et chimiques.

Il est possible de tirer parti du métabolisme de la peau en utilisant des pro-drogues (Stinchcomb *et al.*, 2002) ou en l'utilisant pour inactiver une molécule après qu'elle fut active (Bodor et Buchwald, 2000). Par exemple, l'absorption de naltrexone peut être multipliée jusqu'à sept fois chez l'Homme par l'utilisation d'une pro-drogue de naltrexone qui devient active suite à une hydrolyse par les estérases cutanées (Stinchcomb *et al.*, 2002).

Les enzymes présentes dans la peau sont les familles CYP1, CYP2 et CYP3 des cytochromes P450, des mono-oxygénases, des transférases, des hydrolases et des déshydrogénases, comme l'alcool déshydrogénase (ADH) et aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Leur répartition chez l'homme est détaillée dans la figure ci-dessous.

Figure 16 : Localisation des enzymes connues de la peau humaine, modifiée d'après (Dancik *et al.*, 2010)



Les molécules pénétrant la peau sont sujettes à des transformations avant que la substance n'atteigne les vaisseaux sanguins du derme entraînant un effet de 1^{er} passage. Kao et Hall (1987) ont évalué que seul 40 % de la testostérone appliquée sur la peau était absorbée sans être métabolisée. La métabolisation des principes actifs se fait en deux phases.

La première phase de la métabolisation consiste en la transformation d'une molécule par des réactions d'hydrolyse et d'oxydo-réduction qui aboutissent à l'ajout de nouveaux groupes fonctionnels. Les enzymes du groupe des cytochromes P450 sont d'importance majeure pour la première phase du métabolisme cutané car elles prennent en charge une grande variété de molécules (Dancik *et al.*, 2010).

Les métabolites issus de la première phase peuvent ensuite subir une réaction de conjugaison ou entrer dans la seconde phase de métabolisation consistant par exemple en des réactions de N-acétylation, de transfert de glutathion ou d'autres groupements. La phase I peut être une phase d'activation alors que la phase II aboutit généralement à une détoxification.

Il y a des variations marquées d'activité enzymatique entre espèce, et donc de métabolisation. Par exemple, les enzymes du groupe des cytochromes P450 du chien diffèrent de ceux de l'Homme et de ceux du chat (Trepanier, 2006 ; Court, 2013) . Au sein d'une même espèce des différences enzymatiques peuvent aussi exister.

4. Méthodes d'étude du passage transcutané

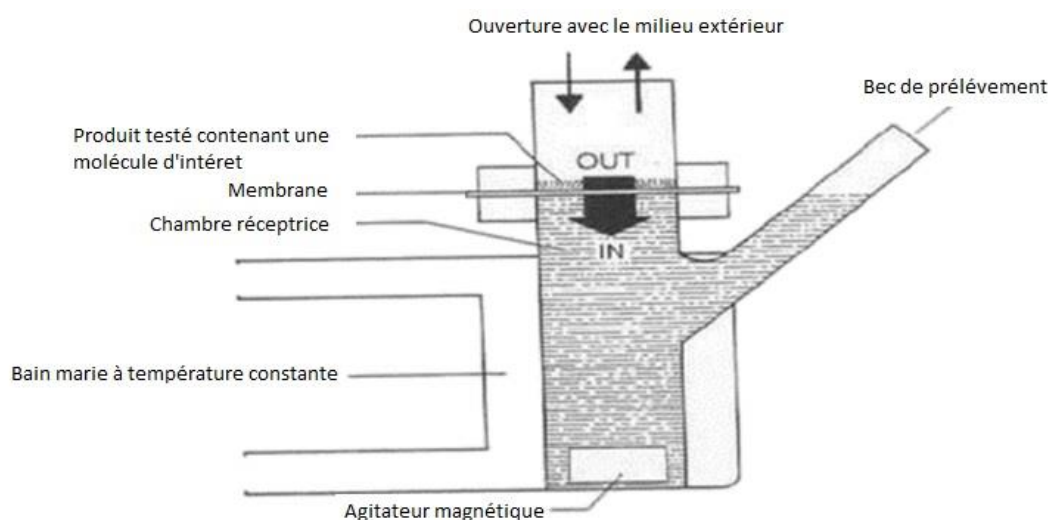
Pour des raisons éthiques, économiques, et analytiques, les mesures *in vivo* de l'absorption transcutanée de principes actifs sont rares (Ehrhardt et Kim, 2007). Ces méthodes font généralement appel à des modèles animaux qui ne permettent pas de prédire avec exactitude l'absorption chez l'Homme ou l'espèce de destination, et d'autant plus chez le chien du fait des variations raciales. La mesure de l'absorption transcutanée *in vivo* peut se baser sur la mesure de la réponse pharmacocinétique du principe actif, la mesure de la quantité de principe actif ayant quitté la formulation appliquée, la mesure de la quantité de principe actif dans le *stratum corneum* prélevé par « tape stripping », le dosage dans les excréta, la microdialyse cutanée, et le dosage du principe actif dans le sang. Ces méthodes ont chacune leur limites et inconvénients respectifs (Howes *et al.*, 1996). On peut par exemple sous-estimer la quantité de principe actif absorbée par la méthode du « tape stripping », car le principe actif diffuse latéralement dans la peau, et la quantité de principe actif mesurée dépend donc de la largeur du « stripping ».

Des modèles *ex vivo* de peau isolée perfusée, utilisant des échantillons d'oreille de souris hairless, de lapin ou de porc ont été utilisés. Ces modèles offrent l'avantage théorique de travailler sur un tissu perfusé et métaboliquement actif.

De nombreuses méthodes *in vitro* de fiabilité variable ont été développées pour échapper aux contraintes des modèles *in vivo*. Elles ne sont généralement pas standardisées. Le principe de ces modèles est d'utiliser des cellules de diffusion composées d'une membrane, placée sur un compartiment ou entre deux compartiments, à travers laquelle le principe actif va diffuser. La membrane est un extrait de peau d'origine humaine ou animale, ou une membrane synthétique. Lorsqu'il s'agit d'un échantillon de peau, celui-ci peut être de la peau dans toute son épaisseur, l'épiderme et une partie du derme, le derme et l'épiderme viable, l'épiderme seul ou le *stratum corneum* seul. La cellule la plus couramment utilisée est la cellule de Franz (figure 17) (Riviere et Monteiro-Riviere, 2005). Il s'agit d'une cellule de diffusion dont l'unique chambre mime les structures situées sous le *stratum corneum*, l'épiderme ou la peau, selon la barrière étudiée et la membrane utilisée. Sur cette membrane, le produit testé est appliqué et exposé à l'air libre. Le milieu receveur contenu dans la chambre est prélevé pour être dosé. Il peut s'agir d'une solution saline ou d'une solution tampon telle que l'HEPES. Elle peut être renouvelée en continu dans un système dynamique, ou ne pas être renouvelée dans un système statique. Pour éviter que la diffusion soit ralentie par l'accumulation de principe actif dans le milieu receveur, la concentration dans le milieu receveur ne doit pas dépasser 10 % de la concentration à saturation. On dit alors que l'expérience se déroule en condition « sink ». Ces conditions peuvent être obtenues en optant pour un système dynamique, ou en choisissant un volume suffisamment important de milieu receveur, ou une faible quantité de produit appliqué. Selon la quantité de produit appliquée, l'expérience se déroule en condition de « dose finie », si la quantité de principe actif dans le

produit appliqué diminue significativement durant l'expérience, ou de « dose infinie » si la quantité de principe actif appliquée est suffisamment importante pour rester constante.

Figure 17 : Cellule de Franz, modifiée d'après (Zhang *et al.*, 2014)



Des méthodes mathématiques existent aussi pour modéliser la diffusion d'une molécule à travers la peau. La formule de (Potts et Guy, 1992) est une régression linéaire entre la masse molaire de la molécule, le coefficient de partage octanol-eau, et le coefficient de perméabilité (K_p) qui peut être obtenu par le biais de la seconde loi de Fick (Russell et Guy, 2009). La relation d'Abraham et Martins (2004) modélise la corrélation entre perméabilité d'une molécule et ses caractéristiques physico-chimiques, comme sa taille, les liaisons hydrogènes qu'elle peut réaliser, sa répartition entre l'eau et l'octanol, et sa polarité.

5. Avantages et inconvénients de l'utilisation de la voie transcutanée

En bilan, la voie transcutanée permet de diminuer l'effet de « premier passage » correspondant à la métabolisation par le foie du principe actif, d'éviter les effets secondaires gastro-intestinaux liés à l'utilisation de la voie orale, et d'améliorer la compliance de l'animal traité par rapport à des méthodes invasives (Mills et Cross, 2006 ; Vizserálek *et al.*, 2015).

La limite principale à l'utilisation de la voie transcutanée est la difficulté de contourner la fonction de barrière de la peau. Il s'agit donc d'une voie qui ne peut être utilisée efficacement avec tous les principes actifs (Vizserálek *et al.*, 2015), ou qui nécessite l'utilisation d'un véhicule adapté (Riviere et Brooks, 2011).

II. Nature et propriétés des PLO gels

A. Place des PLO gels au sein des traitements par voie cutanée

1. Etat des lieux concernant l'utilisation de la voie transcutanée en médecine vétérinaire

La voie transcutanée représente une voie d'administration attrayante en médecine vétérinaire où la compliance du patient peut devenir un facteur prépondérant de la réussite ou de l'échec d'un traitement. L'application cutanée par sa facilité d'administration permet d'assurer la bonne observance d'un traitement, contrairement à la voie orale chez le chat ou les nouveaux animaux de compagnie, et n'affecte pas le confort de vie du patient contrairement à la voie parentérale. Ces deux paramètres sont particulièrement importants dans le cadre du traitement de maladies chroniques, par exemple dans le cadre du traitement du diabète ou de l'hyperthyroïdisme chez le chat.

Il s'agit pourtant d'une voie très peu utilisée, les médicaments à usage externe ayant majoritairement une action locale, sans absorption systémique. Chez le chien il existe 116 formulations différentes à usage externe parmi lesquelles on trouve 95 antiparasitaires externes dont 89 sous forme de spot-on ou pour-on (Fauchier, 2017).

La voie transcutanée est utilisée seulement par une partie des spot-on et pour-on antiparasitaires, comme le Bravecto® (Taenzler *et al.*, 2016), le mode d'action des autres reposant uniquement sur une diffusion externe, comme le Frontline®. En dehors de ces traitements, seule une spécialité par voie transcutanée existe, avec une autorisation de mise sur le marché exclusivement chez le chien. Il s'agit d'une solution transdermique de fentanyl, dont la délivrance au propriétaire est interdite.

Des dispositifs transdermiques à usage humain sont par ailleurs utilisés en médecine vétérinaire, comme les patchs de fentanyl. Peu de données concernant la pénétration des principes actifs ou des véhicules à travers la peau sont disponibles en médecine vétérinaire. De même, peu de données sont disponibles pour évaluer les différences d'absorption d'une espèce à l'autre (Riviere et Papich, 2001).

Les premiers traitements transdermiques sont apparus en 1979 avec la commercialisation du premier patch de scopolamine.

2. Présentation des formes émergentes de véhicule pour le traitement transcutané

Peu de principes actifs sont naturellement adaptés à franchir la barrière cutanée. Depuis le début des années 2000, de nouveaux véhicules sont développés pour faciliter leur diffusion à travers la peau indépendamment de leurs caractéristiques physico-chimiques. Parmi ces nouvelles formes on trouve les systèmes vésiculaires, les microsphères, les systèmes nano-particulaires, et les microémulsions (Elnaggar *et al.*, 2014). Au sein de ces véhicules, ceux basés sur l'utilisation de phospholipides ont suscité l'intérêt des chercheurs du fait de leur biocompatibilité, et de leur caractère amphiphile. Il s'agit des liposomes, et des microémulsions de lécithine. Elles ont l'avantage d'être moins chères, plus faciles à fabriquer, et plus stables que les liposomes. L'incorporation de ces systèmes dans un gel permet d'augmenter le temps de contact avec la peau, de maximiser la rétention du principe actif, et d'en adapter la cinétique de libération.

Parmi les microémulsions à base de lécithine, on distingue les organogels et les hydrogels selon leur structure.

La structure d'un gel est composée d'un réseau tridimensionnel d'agent gélifiant qui immobilise la phase externe dont la nature détermine celle du gel. La phase externe est un solvant organique pour les organogels et une solution aqueuse pour les hydrogels. Les organogels sont donc des microémulsions d'eau dans un mélange de lécithine et d'un autre solvant organique. La lécithine forme un gel en présence d'un agent polaire uniquement si elle est naturellement insaturée et pure à au moins 95 % (Shchipunov, 2001). La lécithine de moindre pureté ne possède pas ces propriétés qui reposent sur les liaisons hydrogènes que la molécule peut établir avec le solvant polaire, en particulier par ses groupements phosphates. Cette pureté est difficile et chère à obtenir.

Des polymères synthétiques, les poloxamers ou Pluronic[®], ont été développés pour permettre de former des gels avec une lécithine de moindre pureté. Les Pluronic lecithin organogels (PLO gels) sont donc des organogels particuliers contenant du Pluronic[®] comme co-surfactant parmi les microémulsions à base de lécithine.

B. Composition et préparation des PLO-gels

1. Composition des PLO gels

Les Pluronic Lecithin Organogels sont composés d'une phase lipidique de lécithine dissoute dans de l'isopropyl myristate ou de l'isopropyl palmitate à un ratio de 1 :1, et d'une phase aqueuse contenant 20 à 30 % de Pluronic[®] F127 appelé aussi poloxamer 407

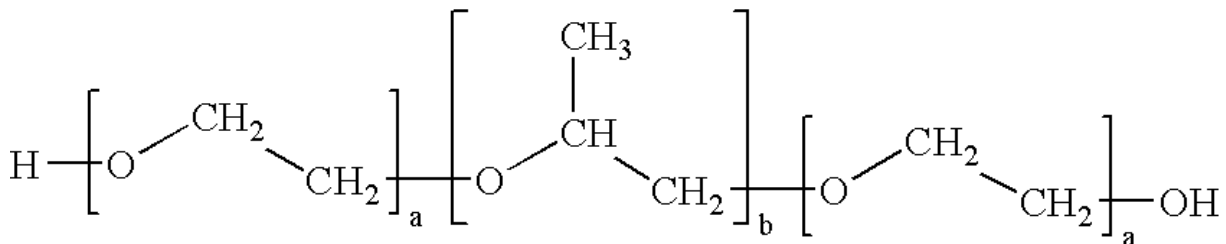
a) Composition de la phase aqueuse

La phase aqueuse est un mélange de Pluronic® F127 à 20 % dans de l'eau.

(1) Poloxamer 407 ou Pluronic® F127

Le Poloxamer est un polymère formé par la répétition de polyoxyéthylène et de polyoxypropylène dans un motif présenté ci-dessous (figure 17).

Figure 18 : Formule générale du Poloxamer (Alsaab *et al.*, 2016)



Il existe des poloxamers de différentes tailles et lipophilie en fonction de la taille du polyoxyéthylène et des deux polyoxypropylènes. Le poloxamer est peu toxique, et permet de solubiliser de nombreux principes actifs.

Les PLO gels incorporent du poloxamer 407. Dans cette molécule, les séquences de polyoxyéthylène sont longues de 101 répétitions chacune et la séquence de polyoxypropylène de 56 répétitions (*U.S. Pharmacopeia National Formulary 2017*, 2016). Le poloxamer 407 possède un poids moléculaire de 12 500 daltons.

Le polyoxypropylène forme une séquence moins hydrophile que les deux séquences de polyoxyéthylène. Cette différence est importante dans l'établissement de la conformation de la molécule.

(2) Eau

Le poloxamer mis en solution dans l'eau agit comme un agent gélifiant. La phase aqueuse d'un PLO gel contient généralement 20 % de Poloxamer.

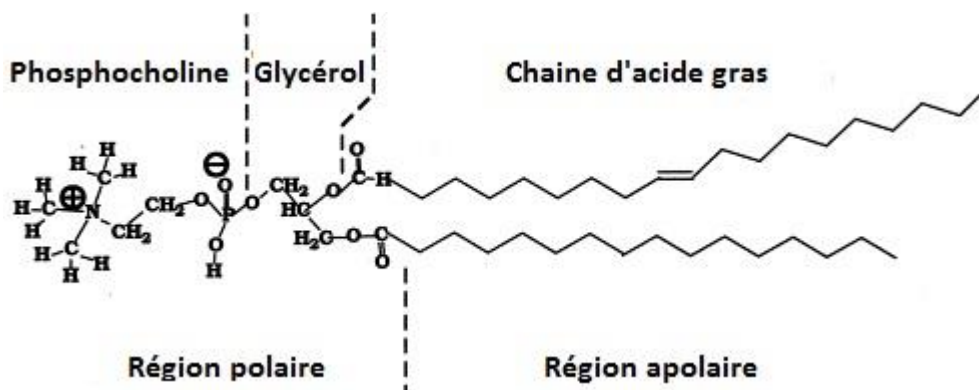
b) Composition de la phase organique

La phase organique est un mélange au ratio 1 : 1 de lécithine et d'isopropyl palmitate ou myristate.

(1) Lécithine

La lécithine, ou phosphatidylcholine, utilisée dans la fabrication des PLO gels est un phospholipide naturel. A l'état naturel, elle présente des insaturations qui lui confèrent sa propriété gélifiante. Cette propriété repose sur les liaisons hydrogène que le groupement phosphocholine établit avec le solvant polaire. Cette propriété est perdue si la lécithine n'est pas suffisamment purifiée ou si elle est hydrogénée (Schurtenberger *et al.*, 1990 ; Shchipunov, 2001). Les lécithines sont utilisées comme surfactant, et ont des propriétés lubrifiantes et émulsifiantes. Il s'agit d'un composant majeur des membranes cellulaires.

Figure 19 : Formule et structure de la lécithine, modifiée d'après (Shchipunov, 2001)



(2) Solvant organique

L'isopropyl palmitate ($C_{19}H_{38}O_2$) ou l'isopropyl myristate ($C_{17}H_{34}O_2$) sont les deux solvants organiques utilisés dans la fabrication de PLO gels. Bien que la lécithine puisse former un gel dans de nombreux autres solvants comme des alcanes, des esters, ou des éthers, les acides gras estérifiés que sont l'isopropyl palmitate et l'isopropyl myristate se prêtent particulièrement bien à une application cutanée du fait de leur capacité à augmenter la perméabilité de la couche cornée, et à leur caractère biocompatible.

Figure 20 : Formule de l'isopropyl palmitate (à gauche) et de l'isopropyl myristate (à droite) (Pubchem, s. d.)



2. Préparation et mécanismes de formation du gel

a) Préparation d'un PLO gel

La phase organique est préparée en mélangeant la lécithine à une quantité égale d'isopropyl palmitate ou d'isopropyl myristate jusqu'à dissolution de la lécithine (Figure 20). La phase aqueuse est préparée en ajoutant du poloxamer à de l'eau glacée dans des proportions 1 :4. L'ensemble est maintenu dans un lieu réfrigéré où il est régulièrement mélangé pour assurer une dissolution complète du poloxamer. A basse température, le poloxamer est présent à l'état liquide alors qu'il forme un gel en dépassant la température de 4°C, température à laquelle le poloxamer devient insoluble dans l'eau et cristallise alors sous forme d'un réseau (Alsaab *et al.*, 2016)

Un conservateur comme l'acide sorbique peut être ajouté aux deux phases à 0.2 % en masse. Du sorbate de potassium peut sinon être utilisé.

Les principes actifs lipophiles sont solubilisés dans la phase lipidique, et les principes actifs hydrophiles dans la phase aqueuse.

La phase lipidique est ensuite refroidie et mélangée avec la phase aqueuse en exerçant une homogénéisation poussée permettant la formation d'une structure micellaire. En pratique, deux seringues sont connectées entre-elle avec un embout fin et les phases sont homogénéisées en faisant passer leur mélange d'une seringue à l'autre.

b) Mécanismes de formation du gel

La formation de la structure des PLO gels repose sur deux mécanismes de gélification : l'organo-gélation entre la lécithine, le solvant organique et un additif polaire, et la gélification du poloxamer dans l'eau. Ces mécanismes ont été élucidés grâce à l'apport de nombreux examens. La spectroscopie (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et résonance magnétique) permet l'étude du comportement de phase de la lécithine durant l'organo-gélation et a mis en évidence l'importance des liaisons hydrogène. La microscopie électronique permet d'observer l'organisation des molécules entre elles.

(1) Mécanisme d'organogélation

La lécithine forme naturellement, selon sa pureté, son insaturation, et sa concentration, des micelles dans un solvant organique. Ces micelles sont qualifiées « d'inversées » car les têtes polaires de lécithine se regroupent non pas en périphérie mais au cœur de la structure par les liaisons hydrogène qui s'établissent entre leurs groupements phosphates. La lécithine subit un processus de gélification lors de l'ajout d'un additif polaire, généralement de l'eau, dans le solvant organique de lécithine et d'isopropyl palmitate ou myristate (figure 21). Les micelles sphériques de lécithine s'agrègent alors selon des tubules cylindriques. Les têtes polaires des molécules de lécithine forment un réseau en se liant à l'additif polaire par des liaisons hydrogènes. Cela aboutit à la formation d'un réseau linéaire, qui polymérise de façon unidirectionnelle. Des tubules nanométriques de micelles forment entre eux des structures tubulaires de plusieurs centaines à milliers de nanomètres qui se chevauchent et s'entrelacent en un réseau tridimensionnel. Cela donne aux organogels à base de lécithine une viscosité et des propriétés visco-élastiques augmentées. La formation de ce réseau permet de piéger et de stabiliser une grande quantité de solvant organique, 85 % en masse du total, à l'extérieur de ce réseau (Kumar et Katare, 2005)

Figure 21 : Etapes de fabrication d'un organogel, modifiée d'après (Kumar et Katare, 2005)

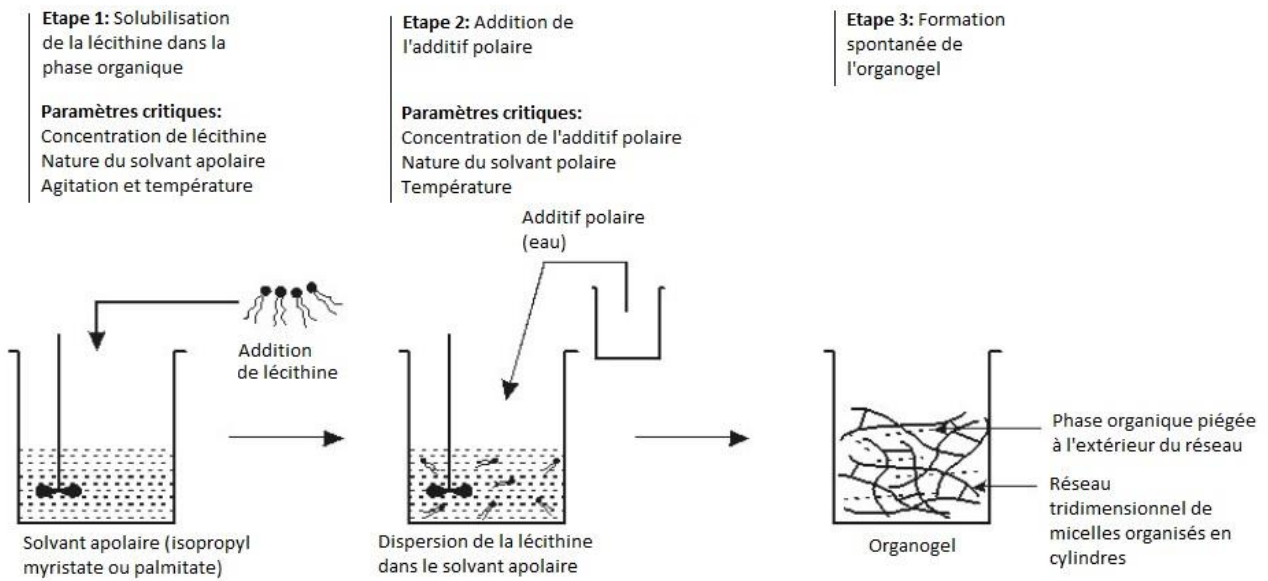
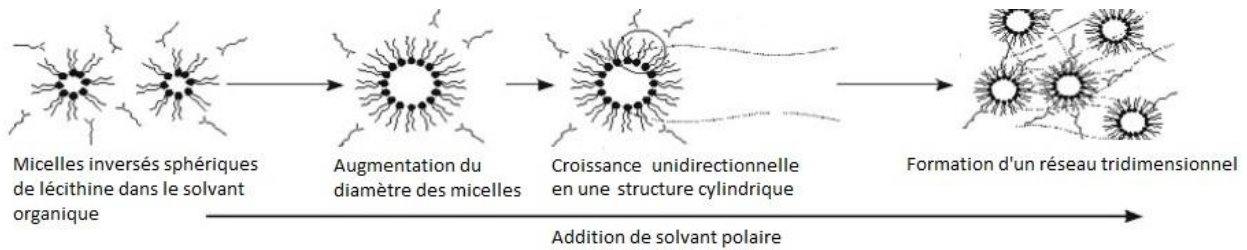


Figure 22: Mécanismes d'organogélation, modifié d'après (Kumar et Katare, 2005)



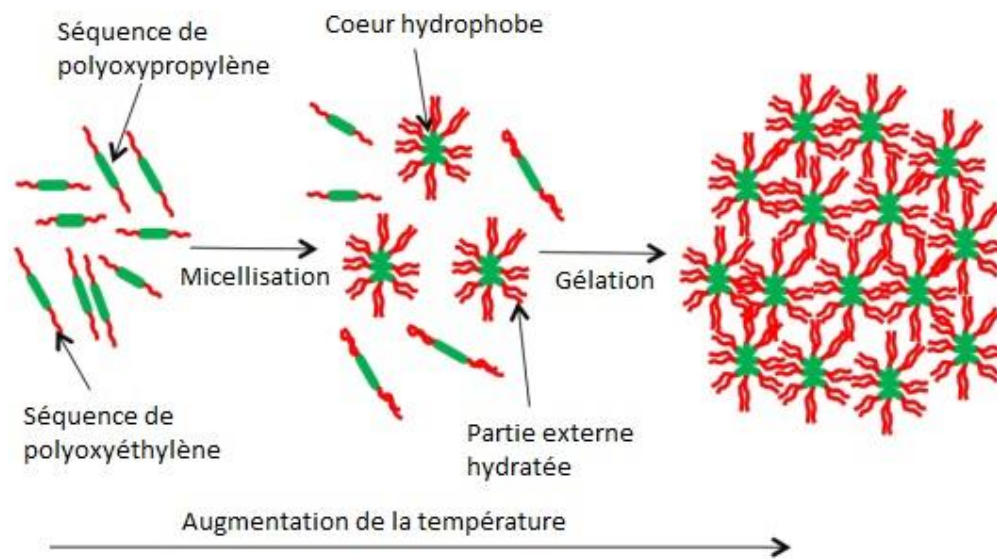
(2) Mécanisme de gélification du poloxamer dans l'eau

Le processus de formation d'un gel de poloxamer dans l'eau comporte deux phases (Alsaab *et al.*, 2016)

La première est la formation de micelles. Lorsque la température atteint la valeur micellaire critique, les molécules de poloxamer s'agrègent entre elles en des micelles sphériques. Ces micelles sont composées de polyoxypropylène formant un cœur hydrophobe, et de polyoxyéthylène hydraté en périphérie.

La deuxième étape est la gélification au sens strict qui correspond à l'alignement des micelles en un motif uniforme.

Figure 23 : Mécanisme de formation d'un gel de poloxamer dans de l'eau (Alsaab *et al.*, 2016)



3. Avantages et propriétés physiques des organogels

(1) Avantages des organogels

Les organogels présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt. Ils sont faciles à préparer et à administrer, font appel à un petit nombre d'ingrédients chimiques, permettent de promouvoir l'absorption transdermique, sont non irritants, peuvent prendre en charge des principes actifs hydrophiles ou lipophiles, et on peut adapter leur composition pour permettre une libération prolongée du principe actif (Alsaab *et al.*, 2016).

(2) Propriétés physiques des organogels

Les organogels sont des matériaux viscoélastiques qui suivent le modèle de Maxwell après addition de la phase polaire, mais montrent un comportement newtonien avant (Kumar et Katare, 2005). Le comportement viscoélastique souhaité peut être obtenu en modifiant la composition du gel. Le comportement rhéologique du gel est un facteur déterminant pour son efficacité (Elnaggar *et al.*, 2014). Ils se comportent comme des solides se déformant de façon élastique lorsqu'ils sont exposés à de faibles forces de cisaillements. À partir d'une certaine contrainte, le gel se comporte comme un fluide. Ce sont des gels thixotropiques.

Les gels PLO sont thermostables et ont un comportement thermoréversible. Ils perdent leur organisation structurale de gel en dessous d'une température critique. En dessous de cette température, les PLO gels se comportent comme des fluides Newtonien. Lorsque la température augmente à nouveau, le processus de gélification réapparaît, il s'agit donc d'un processus réversible.

Les organogels ne permettent pas le passage de la lumière polarisée. Macroscopiquement, les PLO gels sont opaques et légèrement jaunâtres. Ils sont décrits comme non irritants et sans odeur.

C. Facteurs technologiques intervenant dans la pénétration cutanée

1. Critères de choix pour un principe actif formulé par voie transdermique

a) Lipophilie

Pour passer au travers la peau, le principe actif d'intérêt doit diffuser au travers de la barrière lipidique du *stratum corneum*, passer dans le milieu hydrophile de l'épiderme vivant et entrer dans la circulation générale par les capillaires situés dans le derme et le tissu sous-cutané. La molécule idéale pour diffuser au travers de la peau doit donc être suffisamment lipophile pour passer la barrière lipidique, mais suffisamment hydrophile pour la quitter et diffuser dans l'épiderme vivant puis vers les vaisseaux. Une molécule trop lipophile restera séquestrée dans cette même couche, ne permettant pas son passage à travers l'épiderme vivant.

Le degré de lipophilie ($\log P$) est déterminé par la partition de la molécule entre l'eau et l'octanol :

$$\text{Log}(P) = \text{Log}\left(\frac{\text{concentration dans l'octanol}}{\text{concentration dans l'eau}}\right)$$

Un $\log P$ entre 1 et 3 est considéré comme idéal pour faciliter la pénétration transcutanée chez les mammifères (Hadgraft, 2001 ; Mills et Cross, 2006).

Les substances polaires ont toutes une diffusivité proche qui laisse penser qu'elles empruntent majoritairement un chemin hydrophile formé par les têtes polaires des lipides extra-cellulaires.

b) Poids moléculaire

La diffusion dans le *stratum corneum* ne répond pas à l'équation de Stokes-Einstein du fait de la viscosité de la matrice extra-cellulaire lipidique. On utilisera l'équation suivante pour modéliser la diffusion d'une molécule à travers le *stratum corneum* (Naik *et al.*, 2000)

$$D_m = D_o \times \exp(-\beta \cdot MV)$$

D_m est la diffusivité du principe actif

D_o est la diffusivité d'une molécule hypothétique de poids moléculaire nul

β est une constante qui caractérise la membrane

MV est le volume du principe actif.

Dans cette modélisation, la diffusivité décroît de façon exponentielle avec le volume du principe actif, elle est donc fortement dépendante de son poids moléculaire. Les molécules choisies pour être administrées par voie transcutanée, ont généralement un poids moléculaire inférieur à 500 g/mol (Lane *et al.*, 2011).

c) Point de fusion et neutralité électrique

Un facteur important affectant la solubilité d'un principe actif avec les lipides de la peau est la température de fusion. Un point de fusion faible est indicateur d'une bonne solubilité. (Lane *et al.*, 2011).

La pénétration du principe actif dépend de son degré d'ionisation. La version ionisée d'un principe actif a un coefficient de perméabilité plus faible que sa version électriquement neutre du fait de sa polarité. L'ion a un log P plus faible que la molécule neutre qui lui correspond. La forme neutre acide ou basique du principe actif doit être utilisée préférentiellement et le pH de la formulation doit donc être choisi en conséquence. La version ionisée du principe actif peut cependant être plus soluble dans la formulation (Lane, 2013).

2. Facteurs technologiques intervenant dans l'optimisation de l'activité thermodynamique du principe actif

Afin d'optimiser la mise au point de la formule d'un produit transdermique, il faut optimiser l'activité thermodynamique du principe actif dans son véhicule qui dépend de sa concentration et de son affinité pour son véhicule (Seiller et Martini, 1996).

La loi de Fick suggère une relation de proportionnalité entre la concentration du principe actif dans la formulation et son absorption. Bien que ces deux paramètres soient reliés, on observe un écart entre la réalité et le modèle de Fick en raison de l'interaction des molécules avec la peau. Ainsi, dans le cas de la trinitrine, une augmentation de la concentration d'un facteur dix ne permet d'augmenter l'absorption que d'un facteur deux (Wester et Maibach, 1989 ; Seiller et Martini, 1996).

Un principe actif avec une grande affinité pour son véhicule pourra être formulé à une forte concentration. Cependant un tel principe actif aura un plus faible partitionnement vers le *stratum corneum*. En synthèse, on observe que, pour un véhicule n'interagissant pas avec la peau, le transport est maximal et constant indépendamment de l'affinité du principe actif pour son véhicule lorsque la formulation est saturée (Naik *et al.*, 2000). A saturation dans le véhicule, la vitesse d'absorption ne peut être augmenté qu'en modifiant les paramètres de la peau, c'est-à-dire :

En augmentant la diffusivité du principe actif dans le *stratum corneum*

En modifiant le partitionnement du principe actif entre les lipides et les autres constituants du *stratum corneum*

En augmentant la solubilité du principe actif dans la matrice lipidique extracellulaire du *stratum corneum*

3. Interactions des PLO gels avec la peau et augmentation du pouvoir de pénétration

a) Rôle controversé de la lécithine

La lécithine n'est généralement pas considérée comme un promoteur d'absorption. Cependant (Hoffman *et al.*, 2002) y font référence comme tel en précisant qu'elle pourrait favoriser l'exfoliation et ainsi permettre aux principes actifs de pénétrer davantage. Ils s'appuient pour cela sur un article en japonais de (Ogiso et Tanino, 2000) qui montre que l'un des mécanisme d'action du propranolol, un promoteur d'absorption, est de favoriser l'exfoliation. Cette théorie est aussi rapportée par Alsaab *et al.* (2016) qui citent un article internet du Dr. Dawn Merton Boothe (2011), auteur d'un ouvrage de thérapeutique et pharmacocinétique vétérinaire (DACVCP, 2011). Cependant, aucun article ne semble mettre en évidence que la lécithine pourrait être un promoteur d'absorption, et aucun ne fait le lien entre la lécithine et l'exfoliation.

(Hoffman *et al.*, 2002) considèrent, en s'appuyant sur un article de (Dreher *et al.*, 1996), que la lécithine pourrait aussi promouvoir l'absorption de principe actif par l'irritation, et l'inflammation de bas grade qu'elle peut entraîner lors d'administrations répétées. Si la lécithine montre bien un faible potentiel irritant, son utilisation répétée sur un même site d'application peut en effet engendrer une irritation et de fait une altération de la barrière cutanée. Il s'agit cependant d'un effet secondaire indésirable puisque cette altération de la barrière cutanée est non contrôlée et non reproductible (Dreher *et al.*, 1996 ; Wilhelm *et al.*, 1990). L'irritation pourrait aussi promouvoir le développement d'allergie cutanée, et diminuer la compliance du patient et l'acceptation du traitement par le propriétaire. En conséquence la lécithine ne peut être considérée en tant que telle comme un promoteur d'absorption.

On pourrait considérer que la lécithine favorise la pénétration du produit, en permettant la création d'une microémulsion qui augmente la bioadhésion du produit, et la surface d'échange du principe actif (Sahle *et al.*, 2013).

b) Interaction de l'isopropyl myristate et de l'isopropyl palmitate avec les lipides de la peau

L'isopropyl palmitate et l'isopropyl myristate sont deux esters d'acides gras pouvant être mélangés à la lécithine dans la phase organique. Seul l'isopropyl palmitate est utilisé dans l'ensemble des recherches référencées dans la troisième partie de ce travail. Ces deux molécules sont reconnues comme des promoteurs d'absorption (Lane *et al.*, 2011). Bien que l'isopropyl myristate soit largement utilisé comme tel, ses mécanismes d'action ne sont pas entièrement explicités. Peu d'informations sont disponibles concernant

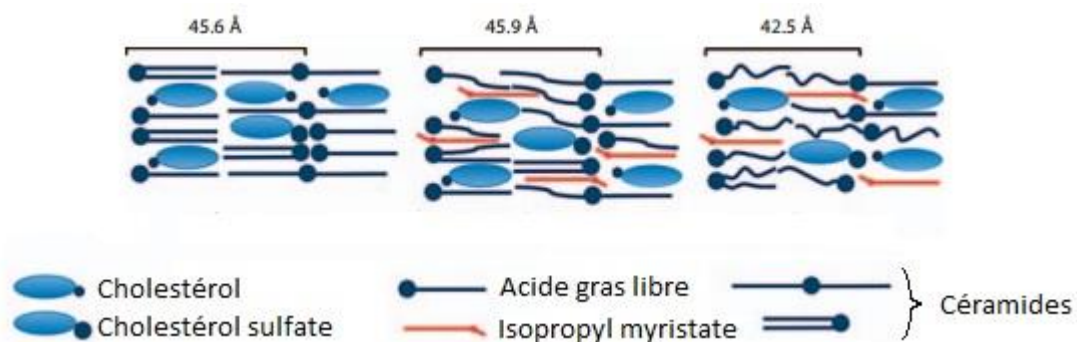
les mécanismes d'action de l'isopropyl palmitate. Les grandes similarités entre ces deux molécules laissent penser que ces mécanismes pourraient être proches.

L'isopropyl myristate modifie la structure des lipides du *stratum corneum* en s'intégrant dans les bicouches lipidiques, entre les acides gras. Cette modification de l'organisation des lipides du *stratum corneum* est associée à une augmentation de leur fluidité et donc à une diminution de la résistance du milieu à la diffusion du principe actif (Lane *et al.*, 2011 ; Mohammed *et al.*, 2014)

L'isopropyl myristate pourrait modifier la structure des chaînes alkyles des acides gras en modifiant l'orientation de certaines liaisons C-C (Carbone-Carbone) de *zig-zag* à gauche, créant ainsi des coudes dans les chaînes alkyles. Ces coudes désorganisent la structure des lamelles de lipides et augmentent leur fluidité (Engelbrecht *et al.*, 2012). L'isopropyl myristate pourrait s'intégrer dans les bicouches lipidiques selon deux positions (figure 23). La première est le positionnement du groupement ester avec les têtes hydrophiles des lipides du *stratum corneum*, et le positionnement de la chaîne alkyle hydrophobe avec les chaînes alkyles des acides gras environnants. La seconde position est une intégration totale de l'isopropyl myristate dans la partie interne hydrophobe de la bicouche lipidique.

L'isopropyl myristate pourrait aussi désorganiser les lipides du *stratum corneum* en provoquant une séparation de phase. La seconde phase obtenue pourrait être moins riche en céramide et avec des chaînes alkyles d'avantage modifiées (Engelbrecht *et al.*, 2012).

Figure 24 : Intégration de l'isopropyl myristate dans les lamelle de lipides du *stratum corneum*, et modification de la forme des chaînes alkyles, modifiée d'après (Engelbrecht *et al.*, 2012)



c) Influence de l'état d'hydratation de la peau

Les PLO gels peuvent contribuer à l'hydratation de la peau (Kumar et Katare, 2005) qui est un des paramètres majeurs affectant la perméabilité de la peau. Cette propriété permet selon plusieurs articles de maintenir un état d'hydratation adéquat à l'absorption transdermique (Kumar et Katare, 2005 ; Alsaab *et al.*, 2016). Les PLO gels peuvent être utilisés dans le seul objectif d'hydrater la peau (Crandall, 1997). L'effet hydratant des PLO gels en tant que véhicule d'un principe actif n'est cependant pas documenté.

Le *stratum corneum* contient en moyenne environ 5 à 15 % d'eau et jusqu'à 50 % avec un pansement occlusif (Seiller et Martini, 1996). L'eau s'accumule dans la matrice de kératine des kératinocytes qui gonflent et modifient la structure lamellaire du *stratum corneum*, augmentant ainsi sa perméabilité (Mills et Cross, 2006). L'augmentation relative de la surface des kératinocytes peut atteindre jusqu'à 40 %. Leur gonflement entraîne une rupture de la matrice lipidique entre les cornéocytes pouvant aller jusqu'à la formation de citernes dans le cas d'une hydratation prolongée par des systèmes occlusifs (figure 24) (Tan *et al.*, 2010).

Figure 25 : Réorganisation de la barrière lipidique lors de l'hydratation de la peau (Tan *et al.*, 2010)



L'hydratation pourrait aussi favoriser l'absorption de principe actifs en modifiant le coefficient de partage de celui-ci entre son véhicule et le *stratum corneum*, et en modifiant la viscosité du milieu extracellulaire en augmentant la quantité d'eau entre les membranes lipidiques.

III. Etude rétrospective de l'absorption transdermique des principes actifs contenus dans des PLO-gels

A. Méthodologie de recherche et base de données

1. Méthodologie de recherche

Afin de collecter avec exhaustivité les études s'intéressant à l'efficacité des PLO gels, trois moteurs de recherche, PubMed, Google Scholar, et Science Direct ont été utilisés. Les mots clés qui ont été employés sont présentés ci-dessous.

PLO	pluronic	lecithin	organogel
poloxamer	Pluronic F127	Poloxamer 407	gel
cat	feline	dog	canine
rabbit	rodent	rat	bird
snake	transdermal		

Ce travail ne concernant que l'utilisation des PLO gels dans le cadre de la médecine vétérinaire, seul les recherches portant sur des formulations à destination d'espèces animales ont été prises en compte. Les gels, à destination d'un usage humain, testés sur des animaux de laboratoire n'ont pas été pris en compte.

Ce travail a pour objectif d'étudier l'efficacité des PLO gels par voie percutanée, les résultats concernant l'utilisation de PLO gels par voie oculaire n'ont donc pas été retenus.

2. Base de données

Un total de 18 études différentes concernant 11 principes actifs sont collectées. La quasi-totalité, 17 sur 18, de ces études concerne l'utilisation des PLO gels chez le chat. Aucune étude n'a été réalisée sur de nouveaux animaux de compagnie. Cette répartition s'explique par la difficulté d'administrer des traitements oraux chez le chat et donc la nécessité de leur trouver des alternatives plus faciles d'utilisation comme l'administration par voie cutanée. On remarque que 14 des 17 études chez le chat concernent d'ailleurs des principes actifs administrés de façon prolongée ce qui peut, en cas d'administration difficile, mener à une mauvaise observance du traitement, un abandon des soins, ou une dégradation de la relation du maître et de son animal. Une alternative aux voies intramusculaire et intraveineuse chez le chat constituerait aussi une avancée intéressante au vu du risque dans cette espèce de développement de sarcomes aux sites d'injection. L'absence de développement de PLO gels à destination des nouveaux animaux de compagnie pourrait s'expliquer par la moindre importance économique de ce marché. Il n'est à l'inverse pas étonnant

de ne retrouver qu'une étude chez le chien, puisque la voie orale ne représente généralement pas dans cette espèce un obstacle à la bonne observance du traitement.

L'utilisation de Google Scholar a permis de collecter deux études qui ne sont pas indexées dans PubMed, l'un concernant la buspirone (Chávez *et al.*, 2016) et l'autre le tramadol (Bassani *et al.*, 2015).

Espèce cible	Principe actif	Source	
Chat	Méthimazole	(Hoffman <i>et al.</i> , 2002)	
		(Hoffmann <i>et al.</i> , 2003)	
		(Sartor <i>et al.</i> , 2004)	
		(Lécuyer <i>et al.</i> , 2006)	
		(Morales <i>et al.</i> , 2009)	
		(Boretti <i>et al.</i> , 2013)	
		(Boretti <i>et al.</i> , 2014)	
		(Hill <i>et al.</i> , 2015b)	
		Buspirone	(Mealey <i>et al.</i> , 2004) (Chávez <i>et al.</i> , 2016)
		Amitryptiline	(Mealey <i>et al.</i> , 2004))
Cyclosporine	(Miller <i>et al.</i> , 2014)		
Dexamethasone	(Willis-Goulet <i>et al.</i> , 2003)		
Fentanyl	(Robertson <i>et al.</i> , 2005)		
Fluoxetine	(Ciribassi <i>et al.</i> , 2003)		
Glipizide	(Bennett <i>et al.</i> , 2005)		
Phenobarbital	(Delamaide Gasper <i>et al.</i> , 2015)		
Tramadol	(Bassani <i>et al.</i> , 2015)		
Chien	Morphine	(Krotscheck <i>et al.</i> , 2004)	
	Fentanyl		

B. Etude de l'absorption des principes actifs incorporés dans des PLO-gels chez le chat

1. Méthimazole

a) Généralités

Le méthimazole est un principe actif utilisé dans le traitement médical de l'hyperthyroïdie chez le chat. L'hyperthyroïdie est l'endocrinopathie la plus diagnostiquée chez le chat. Elle se caractérise par une production excessive de deux hormones par la glande thyroïde : la thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3) qui résulte d'une hyperplasie bénigne dans 98 % des cas. Le méthimazole agit selon deux mécanismes qui inhibent la production d'hormones thyroïdiennes. Il empêche la fixation de l'iode sur le résidu tyrosyl de la thyroglobuline et inhibe le couplage des résidus iodés de tyrosyl pour former la iodothyronine. Le méthimazole n'a pas d'effet sur l'activité des hormones en circulation.

Trois traitements sont disponibles (Bonagura et Twedt, 1999 ; Ettinger et Feldman, 2000). La radio-thérapie à l'iode radioactif I^{131} est le traitement de choix de l'hyperthyroïdie. C'est la méthode la plus efficace, la plus rapide et celle qui montre le moins d'effets secondaires. Elle n'est cependant pas toujours disponible et peut-être refusée par le propriétaire car elle nécessite une hospitalisation de 14 jours. Le traitement chirurgical de l'hyperthyroïdie comporte de nombreux risques d'effets secondaires. Le traitement médical est utilisé pour la prise en charge à long terme des patients, mais aussi pour évaluer la fonction rénale avant d'envisager un traitement irréversible ou pour réduire le risque anesthésique avant la prise en charge chirurgicale.

Les effets secondaires du méthimazole sont des vomissements, de l'anorexie, de la léthargie et dans 15 % des cas, des modifications de la formule sanguine. Ils apparaissent généralement après 3 mois de traitement. Une concentration trop élevée de T4 engendre une augmentation du travail du cœur et augmente ainsi la survenue de cardiomyopathie hypertrophique. L'élévation de la T4 pourrait aussi contribuer au développement ou à la progression de la maladie rénale chronique. Un surdosage de méthimazole peut engendrer une hypothyroïdie iatrogène, ce qui nuit au fonctionnement des reins par la baisse du débit de filtration glomérulaire.

b) Pharmacocinétique

La biodisponibilité du méthimazole par voie orale chez le chat est très variable, avec des mesures allant de 45 à 98 % (Trepanier *et al.*, 1991). Le volume de distribution varie lui aussi de façon importante, de 0,12 à 0,84 l/kg. Après une prise orale, la demi-vie varie de 2 à 10 heures selon les individus testés.

Il y a un temps de 1 à 3 semaines entre le début du traitement et la diminution de la concentration sérique de T4.

La posologie recommandée est de 2,5mg à 10mg par chat et par jour en deux à trois prises, en commençant à dose faible (Plumb, 2008) et en l'augmentant selon l'évolution de la concentration en T4.

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques du méthimazole ayant une influence dans la pénétration cutanée sont résumés ci-dessous.

Tableau 4 : Caractéristiques physicochimiques du méthimazole (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	114.166 g/mol
Surface	47.4 Å ²
Point de fusion	146 °C
Log P	-0.34

La masse molaire du méthimazole, inférieure à 500 g/mol, est favorable à une bonne absorption à travers la peau, contrairement à son faible caractère lipophile ($\log P < 1$).

d) Présentation des études in vitro de (Morales *et al.*, 2009), Hill (2015) et leur équipe respective

(1) Matériel et méthode

L'étude de Hill et son équipe (2015) réalisé, sur des cellules de Franz utilisant des échantillons de peau de pavillon auriculaire de chats, a pour objectif l'objectif de déterminer la pharmacocinétique de l'absorption du méthimazole dans un PLO gel et de la comparer à celle dans autre véhicule lipophile. Les échantillons de peau proviennent de 6 chats différents. Le tissu sous-cutané et le cartilage ont été retirés. Les échantillons utilisés mesurent 2 cm². Le gel utilisé est une préparation à 10 mg de méthimazole pour 0,1 ml de gel. La préparation contient 0,3 g de méthimazole, 0,66 ml de solution de lécithine et d'isopropyl palmitate en proportion égale, et d'une quantité suffisante de gel Pluronic à 20 % constitué de Pluronic F127 dans de l'eau.

Une quantité de 10mg de méthimazole est appliquée sur la peau sur une surface de 1,13 cm². Des prélèvements de 200µL de solution réservoir sont réalisés à 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, et 30h.

L'étude de (Morales *et al.*, 2009) in-vitro est réalisée sur des cellules de Franz. Elle concerne les caractéristiques physiques et la structure microscopique d'un PLO gel contenant du méthimazole à 1 % et sa capacité à libérer son principe actif. Six échantillons de PLO gels sont appliqués. La concentration de méthimazole dans la chambre réceptrice est mesurée par spectrophotométrie toutes les 15 minutes pendant la première heure, puis toutes les 30 minutes jusqu'à 5h après l'application du gel.

On remarque que la composition du véhicule est très proche mais Hill et son équipe (2015) utilisent 0,66% d'acide sorbique dans la phase organique.

L'approche concernant le principe actif n'est pas la même dans les deux études puisque Hill et son équipe considèrent le méthimazole comme un principe actif très lipophile (Hill *et al.*, 2011), alors que Morales et son équipe le présente comme un principe actif hydrophile se stockant dans la phase aqueuse du gel. De ce fait, le principe actif est incorporé dans la phase aqueuse dans l'étude dirigé par Morales. Cette information n'est pas précisée dans l'étude de Hill.

(2) Résultats

Dans l'étude de Hill (2015), en moyenne 2,6 mg sur les 10 mg appliqués pénètrent jusqu'à la solution de la cellule de Franz. L'absorption moyenne cutané et transcutané est de 4,2 mg pour 10 mg de méthimazole appliqué.

Dans l'étude de (Morales *et al.*, 2009), les résultats indiquent que le principe actif est rapidement libéré durant la première heure, jusqu'à un maximum atteint après environ 2h. L'absorption est de 72 % de la dose totale en moyenne.

(3) Discussion

La première conclusion de l'étude *in vitro* de (Hill *et al.*, 2011) est que le méthimazole est bien absorbé *in vitro* à travers les échantillons de peau de pavillon auriculaire de chat. Ces résultats ont été obtenus *in vitro* avec des échantillons préalablement congelés. La durée de congélation est jugée trop courte par les auteurs pour avoir augmenté la perméabilité de la peau. Cela indiquerait que le passage transcutané contribuerait au moins en partie à l'absorption mise en évidence dans les études *in vivo* sur le méthimazole, bien qu'on ne puisse écarter par ailleurs que toiletteage puisse être en partie responsable de son ingestion et son absorption.

La seconde conclusion des auteurs est que l'absorption du méthimazole est plus efficace dans son véhicule lipophile que dans le PLO gel. Des variations importantes de quantité de méthimazole absorbée à travers les échantillons de peau ont été mesurées avec le PLO gel. Le méthimazole a été jusqu'à sept fois plus absorbé d'un chat à l'autre. On ne peut exclure que ces différences soient dues à une mauvaise homogénéité du méthimazole dans la préparation utilisée. Aucun problème de précipitation du principe actif n'a été observé dans cette étude.

La quantité moyenne de méthimazole absorbée est de 47 % ce qui est relativement bas, puisqu'une absorption théorique de plus de 90 % est recommandée (Organisation for Economic Cooperation and Development, 2004a, 2004b). L'absorption a pu être sous-estimée du fait que la solution mimant le compartiment général n'est pas été intégralement changée à chaque dosage, ce qui a entraîné

l'augmentation de la concentration de méthimazole dans ce compartiment et ainsi diminué le gradient de concentration qui est le moteur de la diffusion passive selon la loi de Fick.

Dans l'étude de (Morales *et al.*, 2009), la libération de méthimazole est de 72 % ce qui est supérieure à celle mise en évidence par Hill et son équipe (2015) mais inférieure à l'absorption théorique recommandée. Les auteurs font l'hypothèse que la résistance du PLO gel à la libération du principe actif est due aux interactions entre le principe actif et ses vésicules. La viscosité du gel peut aussi modifier la libération du principe actif.

e) Présentation des études *in vivo*

(1) Etude de Hoffman *et al.* (2002)

(a) *Matériel et méthode*

Cette étude compare la biodisponibilité du méthimazole après une seule administration de 5mg de méthimazole par voie orale, percutanée et intraveineuse chez 6 chats sains. Les six chats reçoivent chacun une administration de chaque formulation à une semaine d'écart. Contrairement aux autres, cette étude se base sur la mesure directe du méthimazole dans le sang et non sur la mesure de la concentration de T4. Les mesures sont effectuées à 0, 5, 15, 30 minutes et 1,2, 4, 6 et 12h après l'injection.

(b) *Résultats*

Seuls 2 chats sur 6 traités avec le PLO gel ont une concentration de méthimazole dans le sang détectable. Chez un chat cette voie permet la même biodisponibilité que la voie orale. Chez le second, la biodisponibilité est très faible.

(c) *Discussion*

La biodisponibilité du méthimazole appliqué au sein d'un PLO gel est donc faible à nulle chez la plupart des chats sains (5/6) après une unique application. Il serait intéressant d'évaluer la biodisponibilité du méthimazole après plusieurs jours ou semaines de traitement. Les auteurs font l'hypothèse que la lécithine pourrait promouvoir l'absorption du méthimazole après plusieurs applications en favorisant l'exfoliation du *stratum corneum* et en créant une inflammation à bas bruit.

(2) Etude de Hoffmann *et al.* (2003)

(a) *Matériel et méthode*

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 13 chats hyperthyroïdiens traités par application de méthimazole à des doses différentes entre 2.5mg q24-48h et 10mg q12h. Ces animaux ont été pris en charge par différents vétérinaires traitants sur qui repose le diagnostic de l'hyperthyroïdisme, et le choix de la posologie. Tous les patients sont traités avec le même PLO gel à la concentration de 5mg/0.1mL. Deux ont

déjà été traités précédemment avec une autre formulation d'anti-thyroïdien, et l'un des patients l'était encore au début de l'étude. Les données ont été recueillies par téléphone auprès des vétérinaires traitants, et ont été fournies par le laboratoire d'analyse. Il n'a pas été précisé aux propriétaires d'alterner le site d'administration (oreille droite puis oreille gauche ou l'inverse) ou d'administrer sur une seule oreille.

Les dates de contrôle varient aussi en fonction des vétérinaires traitants, le premier étant effectué entre 2 et 8 semaines après le début du traitement, et le second entre 3 et 7 mois.

(b) Résultats

Chez 9 animaux sur les 10 dont la T4 a été évaluée au premier contrôle, on observe une diminution de la T4. Trois chats présentent une diminution faible ou une augmentation de leur concentration en T4. Chez deux de ces animaux, une mauvaise observance du traitement par le propriétaire a été documentée.

Au second contrôle, 7 des 8 chats présentent des valeurs de concentration en T4 dans l'intervalle de référence du laboratoire ou en dessous (3 chats).

(c) Discussion

L'application de méthimazole par voie percutanée permet une diminution significative de la concentration de T4 chez les animaux traités, et permet d'obtenir une valeur normale ou même basse de T4 chez 10 des 13 animaux étudiés. De plus, 2 des 3 animaux n'ayant pas atteint une concentration satisfaisante ne recevaient pas le gel de façon régulière.

Ces résultats sont encourageant et indiquent que l'utilisation de méthimazole dans un PLO gel permettrait d'obtenir l'effet thérapeutique recherché sans qu'aucun effet secondaire n'ait été déclaré par les propriétaires.

(3) Etude de Sartor *et al.* (2004)

(a) Matériel et méthode

Il s'agit d'une étude comparant le traitement percutané et la prise orale du méthimazole portant sur 44 chats hyperthyroïdiens répartis en deux groupes randomisés. Le diagnostic de l'hyperthyroïdie repose sur l'association de signes cliniques caractéristiques et d'une concentration en T4 supérieure à 4.0µg/dL.

Le gel PLO est identique en composition à ceux présentés dans les autres études et contient du méthimazole à 5mg/0.1mL. La posologie utilisée est de 2.5mg q12h pour les deux formulations. Un contrôle est effectué à deux semaines et quatre semaines après le début du traitement.

(b) Résultats

A deux semaines, il y a significativement plus de chats avec une concentration en T4 dans l'intervalle de référence du laboratoire ($T4 < 4.0\mu\text{g/dl}$) chez les patients traités par la voie orale (14 sur 16, soit 88 %) que chez les patients traités avec le gel (14 sur 25 soit 56 %). Les médianes des deux groupes sont

significativement différentes : 2.4 µg/dl et 3.4 µg/dl respectivement pour la voie orale et percutanée (p=0.11).

A quatre semaines, avec des échantillons plus restreints, cette différence n'est plus significative. 88 % des chats traités par voie orale (9 chats sur 11) sont dans l'intervalle de référence contre 67 % (14 sur 21) chez les chats traités par voie percutanée (p=0.36).

Les chats traités par voie orale sont significativement plus à risque de présenter des effets secondaires gastro-intestinaux (4 sur 17, contre 1 sur 27).

(c) *Discussion*

Le PLO gel est donc une formulation efficace pour l'administration de méthimazole par voie percutanée pour la plupart des chats de l'étude. C'est une formulation moins efficace que la voie orale en termes de rapidité et d'effet sur la concentration en T4 à court terme. La voie percutanée est efficace sur une moins grande proportion d'animaux que la voie orale.

(4) Etude de Lécuyer *et al.* (2006)

(a) *Matériel et méthode*

Cette étude porte sur 13 chats hyperthyroïdiens. Le diagnostic d'hyperthyroïdie est fondé sur la présence d'au moins deux de ces trois éléments : la présence d'un tableau clinique caractéristique (polyurie-polydypsie, polyphagie, perte de poids et hyperactivité), la présence de nodule thyroïdien palpable, et une concentration de T4 totale supérieure à 55nmol/L. En convertissant les unités grâce à la valeur de la masse molaire de la thyroxine (776.87 g/mol), on trouve que cette limite est de 4.3µg/dL. Il s'agit d'une valeur supérieure à celle qui est utilisée par Boretti et son équipe.

Les animaux reçoivent tous 10mg de méthimazole par jour en deux prises, par application sur le pavillon auriculaire, et sont suivis à 14 et 28 jours. La formulation est préparée par les laboratoires Giroux.

(b) *Résultats*

Trois chats ont été exclus de l'enquête après le premier contrôle à 14 jours. Deux ont été euthanasiés pour des raisons qui seraient indépendantes de l'hyperthyroïdie, et un a présenté une thrombocytopenie associée à un érythème cutané sévère aux deux pavillons auriculaires où était appliqué le gel.

Chacun des 11 chats qui présentaient des troubles cliniques d'hyperthyroïdie a présenté une amélioration clinique.

Quatre propriétaires, sur les treize, ont déclaré que le gel n'avait pas une texture homogène mais était constitué de deux phases : une phase liquide claire et une phase pâteuse. Il est rapporté que « la plupart des propriétaires » étaient satisfaits de la facilité d'utilisation, sans que soit mentionné si des avis négatifs avaient été émis.

(c) *Discussion*

Au total, 40 % des propriétaires ont rapporté une texture non homogène du gel causée par la précipitation d'une partie de ses constituants et qui a probablement engendré des variations dans la concentration de méthimazole administré aux patients. Cette étude est la seule à mettre en évidence de tels défauts d'homogénéisation. Il serait intéressant de connaître la composition exacte du gel et son procédé de fabrication pour comprendre comment ce défaut a pu apparaître.

Tous les animaux traités ayant poursuivi l'étude jusqu'à 28 jours montraient une concentration de T4 totale inférieure ou égale à 30 nmol/L soit 2.32 µg/dl. Ils peuvent donc être considérés comme non hyperthyroïdiens. Cependant leur concentration en T4 n'en est pas pour autant idéale, puisque la médiane est de 10.23 nmol/L soit 0.77 µg/dl. Au moins la moitié des chats sont donc en situation d'hypothyroïdie iatrogène. On peut expliquer cela par la dose importante de méthimazole administré (10mg/j) et par l'absence de modulation individuelle de la posologie après le premier contrôle à 14 jours.

En conclusion, les auteurs privilégieraient l'utilisation de ce gel, en raison de son coût élevé et de son manque de stabilité, à des traitements à court terme, pour éviter les effets secondaires gastro-intestinaux du traitement oral ou lorsque le traitement oral n'est pas possible. On peut ajouter qu'un suivi individuel doit être réalisé pour moduler la posologie jusqu'à stabilisation de la concentration de T4.

(5) Etude de Boretti *et al.* (2013)

(a) *Matériel et méthode*

Cette étude a pour objectif de déterminer l'importance de la variation de la concentration de T4 après l'administration de méthimazole par voie percutanée au cours d'une journée chez des animaux traités en une à deux prises par jour de méthimazole. Tous les animaux reçoivent 5mg/j de méthimazole. La concentration de méthimazole dans le sang est mesurée toutes les deux heures pendant dix heures, puis 1 semaine et 3 semaines après le début du traitement.

(b) *Résultats*

La diminution de la concentration de T4 est significative à 1 et 3 semaines par rapport aux concentrations avant la mise en place du traitement. Par ailleurs, aucun animal ne présente de variation significative de sa concentration de T4 sur dix heures. A dose égale, il n'y a pas de différence significative de la concentration de T4 selon que l'on administre la formulation en une ou deux applications au cours d'une journée.

Après une semaine de traitement, 8 chats traités bi-quotidiennement sur 10 et 7 chats traités quotidiennement sur 10 avaient une concentration de T4 sous le seuil de 3.5 µg/dl.

Au total, 7 chats sur 20 ont vu leur posologie modifiée au cours de l'étude, chez 2 chats parce que la concentration de T4 restait trop élevée, et chez 5 chats parce qu'ils étaient en situation d'hypothyroïdie iatrogène avec des concentrations de T4 inférieures à 1 µg/dl.

Tous les propriétaires ont été satisfaits de la facilité d'administration du PLO gel.

(c) *Discussion*

Le traitement percutané par application d'un PLO gel contenant 5mg/0.1ml de méthimazole permet une inhibition prolongée de la sécrétion de T4 sur 24h. Cette durée d'action est surprenante pour une molécule dont la demi-vie est courte. Cela pourrait s'expliquer d'une part par le stockage de méthimazole dans les glandes thyroïdiennes et d'autre part par un phénomène d'absorption prolongée lente.

Cette formulation montre une efficacité chez tous les animaux de l'échantillon.

(6) Etude de Boretti *et al.* (2014)

(a) *Matériel et méthode*

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur 60 chats hyperthyroïdiens admis au centre hospitalier de l'université de Zurich pour petits animaux de 2004 à 2012, traités par application d'un PLO gel contenant du méthimazole (5mg pour 0.1mL de gel) sur le pavillon de l'oreille, et suivis pendant au moins trois mois. Le diagnostic de l'hyperthyroïdie repose sur des signes cliniques compatibles et une concentration d'hormone T4 supérieure à 3.5 µg/dl. Le traitement est de 5mg de méthimazole par chat et par jour en une ou deux applications. Pour deux chats, la dose de départ était de 2.5mg/individu/j. Chez 50 patients, au moins un changement de dose fut nécessaire durant le traitement avec une augmentation de la dose pour 26 individus et une diminution pour les 24 autres. La dose minimale administrée durant l'étude est de 1mg par chat et par jour, et la dose maximale de 15mg par chat et par jour.

(b) *Résultats*

Tous les suivis effectués montrent une diminution de la quantité de T4 en comparaison des valeurs avant le traitement. Dans seulement 18 % des cas (11 individus), les valeurs de T4 étaient dans l'intervalle de référence (entre 1 et 3.5 µg/dl) à chaque contrôle. Chez 72 % des animaux (43 individus), une ou plusieurs valeurs de T4 supérieures à la normale ont été mesurées. Dans 32 % des cas, on a mesuré au moins une concentration de T4 inférieure à la norme basse de l'intervalle de référence (1µg/dl). Ces chiffres indiquent notamment que chez un même individu ont été mesurées des concentrations de T4 supérieures et inférieures à l'intervalle de référence à différents contrôles.

De l'inflammation et de l'érythème du pavillon ont été observés. Ils sont apparus tardivement, respectivement à 27 mois et 57 mois chez deux patients. Tous les propriétaires sauf 2 ont été satisfaits de la facilité d'administration du PLO gel.

(c) *Discussion*

Une hypothèse pour expliquer la persistance d'individus à des concentrations de T4 supérieures à l'intervalle de référence est la mauvaise observance du traitement. Il a été montré avec un traitement oral qu'en

l'absence de traitement pendant 48h, la concentration redevenait supérieure à la norme chez des individus qui avaient une concentration de T4 normalisée. Dix propriétaires ont avoué dans l'étude ne pas observer le traitement régulièrement, et quatre autres l'ont même arrêté.

Cependant des valeurs supérieures aux normes sont retrouvées chez des patients dont les propriétaires déclarent qu'ils sont traités régulièrement. Une seconde hypothèse est l'augmentation du besoin en méthimazole durant un traitement prolongé par un mécanisme de résistance. Cette hypothèse est corroborée par l'augmentation de la quantité administrée aux individus après 24 mois, le minimum passant de 1.5 à 2.5 mg/chat/j et la médiane de 5 à 7 mg/chat/j. Cette résistance pourrait être due à l'évolution et au développement des néoplasies du patient, comme l'augmentation de la taille d'un adénome ou la transition vers un carcinome thyroïdien.

f) Synthèse des données recueillies concernant l'utilisation de PLO gel contenant du méthimazole

Chacune des 5 études *in vivo* testant l'application cutanée de méthimazole sur plusieurs jours montre que cela permet de faire diminuer la synthèse de T4 chez la plupart des animaux. Dans une partie des études (Hoffmann *et al.*, 2003 ; Lécuyer *et al.*, 2006), l'effet thérapeutique recherché est atteint pour la presque totalité des animaux testés. Dans d'autres études, incluant par ailleurs plus d'animaux (Sartor *et al.*, 2004 ; Boretti *et al.*, 2013, 2014), cet effet est atteint pour environ 66 à 75 % des animaux.

La première étude de Hoffman (2002), ne permet pas de mettre en évidence d'absorption du méthimazole dans la circulation générale.

Parmi les animaux traités, on observe une forte variabilité de la concentration en T4, et de nombreux animaux présentent des valeurs d'hypothyroïdie iatrogène. Boretti (2014) mesure de tels valeurs à au moins un contrôle chez 32 % des animaux. Ces résultats doivent être comparés à ceux du traitement par voie orale pour déterminer si cette variabilité est propre à la voie d'administration transdermique ou non. La concentration de T4 doit être contrôlée régulièrement chez le patient pour déterminer la posologie requise avec précision. L'intervalle dans lequel la concentration de T4 doit être maintenue étant resserré, il serait préférable d'utiliser la voie d'administration offrant le moins de variabilité.

Quelques rares effets secondaires ont été rapportés. Ils font état d'irritations au site d'application du gel. De tels irritations pourraient affecter la perméabilité de la peau, et donc modifier de façon incontrôlée, imprévisible et donc problématique l'absorption de méthimazole. Enfin, du comportement de toilettage a été rapporté dans certaines études. Il a été démontré que l'effet du toilettage interindividuel pouvait chez les ruminants entraîner l'absorption d'antiparasitaires par des individus non traités (Toutain *et al.*, 2012). Le toilettage individuel ou interindividuel pourrait aboutir à l'ingestion de principe actif, et on ne peut pas écarter que le léchage puisse contribuer à une partie de l'absorption mesurée dans les études *in vivo*.

Il est rapporté que la plupart des propriétaires sont satisfaits par la facilité d'utilisation du produit. Cependant Boretti et son équipe (2014) rapportent que 10 propriétaires sur les 60 de l'étude, avouent ne pas administrer régulièrement le traitement. Parmi eux, 2 n'étaient pas satisfaits de la facilité d'administration du produit.

Des problèmes d'homogénéité du gel ont été rapporté dans une seul étude (Lécuyer *et al.*, 2006). La composition exacte n'étant pas connue, on ne peut en déterminer la cause.

2. Buspirone

a) Généralités

La buspirone est un principe actif à activité anxiolytique utilisé chez le chat dans le cadre du traitement du marquage urinaire, d'autres troubles comportementaux induis par le stress, et du mal des transports.

C'est un agoniste partiel des récepteurs à la sérotonine 5-HT_{1A} au niveau pré et post-synaptique, et il interagit avec les récepteurs D₂ à la dopamine dans le système nerveux central.

b) Pharmacocinétique

Chez l'homme, la buspirone est rapidement et complètement absorbée mais subit un effet de premier passage important par le foie qui limite la biodisponibilité à environ 5 % (Plumb, 2008). La liaison aux protéines plasmatiques est très importante (95 %). La buspirone est métabolisée par le foie en plusieurs métabolites dont l'un est actif, la 1-pyrimidinylpiperazine. Ces métabolites sont excrétés par les urines.

La posologie recommandée est de 2,5 à 5mg par chat (Plumb, 2008), une à trois par jour ou de 0,5 à 1mg/kg deux fois par jour.

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques de la buspirone susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumés ci-dessous.

Tableau 5 : Caractéristiques physicochimiques de la buspirone (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	385.512 g/mol
Surface	69.6 Å ²
Point de fusion	202 °C
Log P	2,63

La taille et la lipophilie, avec un log P compris entre 1 et 3, font de la buspirone une molécule de choix pour l'administration transcutanée.

d) Présentation des études

Deux études se sont intéressées à l'efficacité des PLO gel associés à la buspirone (Mealey *et al.*, 2004) (Chávez *et al.*, 2016).

(1) Protocole

Elles ont été effectuées respectivement sur 6 et 34 chats. Dans la première étude (Mealey *et al.*, 2004), les auteurs dosent la concentration de buspirone dans le sang après une unique application de PLO gel sur la face interne du pavillon auriculaire à 30 minutes, puis 1, 2, 4, 6, 8, 10 et 12h après l'administration. Ces résultats sont comparés à l'administration orale de buspirone selon la même posologie (2,5 mg par chat) et en suivant même protocole de mesure.

Dans la seconde étude (Chávez *et al.*, 2016), le traitement percutané est réalisé à 4mg/kg de buspirone une fois par jour pendant 5 semaines sur 17 chats ayant un comportement de marquage urinaire. Cette posologie est supérieure à celle recommandée par voie orale qui n'excède pas 3mg/kg par jour et a été volontairement choisie pour être supérieure à celle utilisée par l'équipe de Mealey en 2004. Il y a cependant une erreur dans la référence qu'utilisent Chavez et son équipe puisqu'ils font état d'une posologie de 2,5 mmg/kg alors qu'elle est explicitement de 2,5 mg par chat soit en moyenne 0,7kg/kg dans l'étude de Mealey. Le traitement est jugé efficace s'il permet une réduction de 25 % de la fréquence des marquages. Les chats sont classés en trois catégories selon leur amélioration. Ils sont qualifiés de « sains » s'ils ne présentent plus de marquage, de « partiellement guéris » s'ils présentent encore du marquage mais avec une diminution d'au moins 25 % de de la fréquence de celui-ci, et de « malades » dans les autres cas. Les résultats sont comparés à ceux de 17 chats traités par de la buspirone par voie orale à 1 mg/kg une fois par jour.

(2) Résultats

Dans l'étude de (Mealey *et al.*, 2004), la buspirone reste à une concentration indétectable par le test ELISA utilisé, c'est-à-dire à une concentration inférieure à 0.21 ng/mL. La buspirone est dosée chez tous les animaux lorsque ceux-ci reçoivent le traitement par voie orale avec une concentration maximale de 3,5 ng/mL en moyenne, atteinte environ 1h après l'administration.

Dans leur étude, Chavez et al observent une guérison totale chez 47 % des chats traités avec le PLO gel (8 animaux sur 17), et une guérison partielle chez le reste des animaux. On observe cependant une incohérence dans la présentation des résultats chez le chat n°7 traité avec le PLO gel. Dans le tableau de résultat, il est présenté avec 3 marquages par jour en moyenne avant le traitement et 3 après, mais avec une diminution de 100 % de la fréquence du marquage. Il y a soit une erreur dans la valeur du nombre de marquage par jour post-traitement soit dans la valeur de l'amélioration qui a été calculée. En retirant ce chat de l'analyse on obtient 44 % de guérison totale pour 56 % de guérison partielle.

Le traitement oral permet une guérison totale dans 59 % des cas (10 animaux sur 17), une guérison partielle chez 23 % des animaux (4 sur 17) et une absence d'amélioration chez 18 % des animaux (3 sur 17). Des effets secondaires ont été observés chez deux patients, se manifestant par de la sécheresse, de l'érythème et du prurit sur le pavillon auriculaire traité.

(3) Discussion

(Mealey *et al.*, 2004) concluent dans leur étude que le PLO gel n'est pas un véhicule adapté à pour l'administration percutanée de buspirone. Cependant les auteurs font l'hypothèse que l'absorption de buspirone pourrait être plus importante lors d'applications répétées de PLO gel. La lécithine pourrait alors promouvoir l'absorption de buspirone en maintenant une inflammation de bas grade et en provoquant la désorganisation des lipides de la barrière cutanée. Une seconde hypothèse est qu'une posologie plus importante aurait pu permettre la mesure d'une concentration détectable. Ces deux hypothèses sont testées par Chavez *et al.* (2016) dans la seconde étude. Ces auteurs mesurent une diminution, jugée significative en utilisant un test de Student, de la fréquence des marquages urinaires chez des chats traités pendant 5 semaines avec 4mg/kg de buspirone une fois par jour. En excluant le chat n°7 pour les raisons évoquées plus tôt, et en effectuant un test de Student via le site « Statistical tools for high-throughput data analysis » (« Test t de Student pour échantillons appariés - RSTHDA - STHDA », s. d.), on obtient encore une différence significative entre la fréquence des mictions avant et après traitement avec un $p=0.00018$. Aucune différence significative n'est mesurée entre l'efficacité du traitement oral et transdermique par les auteurs.

Concernant la facilité d'administration, et contrairement à ce qui était attendu, le traitement oral a été jugé plus facile à mettre en œuvre par les propriétaires.

3. Amitriptyline

a) Généralité

L'amitriptyline est un principe actif prescrit chez le chat dans le cadre du traitement de troubles comportementaux comme le toilettage excessif, le marquage urinaire, et l'anxiété chez le chat. Elle pourrait aussi être efficace en complément du traitement du prurit et de douleurs nerveuses chroniques. L'amitriptyline et son métabolite actif, la nortriptyline, ont un profil pharmacologique complexe que l'on résumera en trois actions :

- l'inhibition de la pompe amine pré-synaptique qui a pour fonction la recapture des neurotransmetteurs dérivés d'acides aminés, dits monoamines. Cela a pour effet d'augmenter la concentration synaptique de sérotonine principalement et de noradrénaline
- une activité anti-cholinergique centrale et périphérique.
- une action sédatrice

b) Pharmacocinétique

Peu de données existent concernant la pharmacocinétique de l'amitriptyline chez les carnivores domestiques. Elle se lie fortement avec les protéines plasmatiques, passe la barrière hémato-méningée et se concentre dans le lait maternel. L'amitriptyline est métabolisée dans le foie en plusieurs métabolites, dont la nortriptyline qui possède une activité pharmacologique. Son absorption est rapide, elle atteint une concentration maximale deux à douze heures après son administration par voie orale et sa durée de vie est de 30 heures chez l'homme et de 6 à 8 chez le chien (Plumb, 2008). La concentration plasmatique nécessaire à son activité pharmacologique est inconnue chez le chat, on considère qu'elle doit être entre 60 et 200ng/mL chez l'Homme (Benet *et al.*, 1996).

Les posologies conseillées pour le traitement des troubles comportementaux sont de 5 à 10 mg par chat et par jour, ou de 0,5 mg/kg à 2mg/kg, une à deux fois par jour (Plumb, 2008).

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques de l'amitriptyline susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées ci-dessous (Pubchem, s. d.).

Tableau 6 : Caractéristiques physicochimiques de l'amitriptyline

Masse molaire	277.411 g/mol
Surface	3.2 A ²
Point de fusion	187-189.5°C
Log P	4,92

Le faible poids moléculaire, inférieur à 500 g/mol, de l'amitriptyline favorise son absorption à travers la peau, contrairement à son caractère excessivement lipophile, avec un log P supérieur à 3.

a) Présentation de l'étude

Il existe une seule étude s'intéressant à l'absorption par voie percutanée de l'amitriptyline formulée au sein d'un PLO gel. Il s'agit d'une étude présentée précédemment car elle porte aussi sur l'absorption de la buspirone.

(1) Protocole

L'étude porte sur 6 chats sains chez qui on administre 5mg par chat d'amitriptyline en une application sur la face interne du pavillon auriculaire puis chez qui on dose la concentration en amitriptyline dans le sang 30 minutes, puis 1, 2, 4, 6, 8, 10 et 12h après.

Ces résultats sont comparés à l'administration orale d'amitriptyline selon la même posologie et en suivant même protocole de mesure.

(2) Résultats

La concentration d'amitriptyline dans le sang est faible après une unique administration par voie percutanée. Elle est inférieure à la limite de quantification du test ELISA utilisé mais supérieure à son seuil de détection. La voie orale permet d'atteindre une concentration maximale de 61ng/mL en moyenne ce qui est considéré comme une concentration thérapeutique chez l'homme.

(3) Discussion

Mealey et al (2004) concluent dans leur étude que le PLO gel n'est pas un véhicule adapté pour l'administration percutanée d'amitriptyline. Cependant les auteurs font l'hypothèse que l'absorption d'amitriptyline pourrait être plus importantes lors d'applications répétées de PLO ou avec des doses d'amitriptyline plus importante. Des résultats similaires ont été obtenus dans les études portant sur le méthimazole, qui était peu absorbé après une prise mais efficace lors d'administrations régulières.

4. Cyclosporine

a) Généralités

La cyclosporine est un immunosuppresseur utilisé chez le chat dans le cadre du traitement de maladies immunes, par exemple de la maladie inflammatoire chronique de l'intestin, ou d'asthme félin sévère. Elle agit principalement sur la réponse immunitaire à médiation cellulaire par un mécanisme suggéré d'inhibition réversible qui maintient les lymphocytes immunocompétents en phase G0 et G1 du cycle cellulaire, les empêchant ainsi de se diviser. Cette action a pour cible principale les lymphocytes T-helper, mais affecte aussi les lymphocytes T suppresseurs. La cyclosporine agit aussi sur la réponse humorale par inhibition de la production et de la sécrétion de lymphokines comme l'interleukine 2.

b) Pharmacocinétique

La biodisponibilité de la cyclosporine orale est modérée et varie beaucoup selon les individus et les formulations. Les différentes formulations orales ne sont ainsi pas bioéquivalentes. Chez le chien la biodisponibilité de l'Atopica® se situe entre 23 et 45 % selon les animaux. Cette biodisponibilité est diminuée d'environ 20 % par la présence d'aliments dans le tractus digestif. (Plumb, 2008)

La cyclosporine est métabolisée dans le foie par le cytochrome P450.

La posologie utilisée doit être modulée pour permettre une concentration en cyclosporine de 500ng/ml. Elle est de l'ordre de 1 à 5 mg/kg/jour mais varie avec la spécialité utilisée, l'individu traité et son atteinte (Plumb, 2008).

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques de la cyclosporine susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées ci-dessous.

Tableau 7 : Caractéristiques physicochimiques de la cyclosporine (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	1202.635 g/mol
Surface	279 Å ²
Point de fusion	148-151°C
Log P	3.64 (valeur théorique)

La grande taille de la molécule ainsi que sa grande lipophilie théorique n'en font pas une molécule de choix pour une administration transcutanée. Les molécules envisagées pour être utilisées par voie transcutanée ont généralement un poids inférieur à 500 g/mol (Lane *et al.*, 2011).

d) Présentation de l'étude de (Miller *et al.*, 2014)

(1) Protocole

Cette étude porte sur 6 chats sains recevant de façon différée de la cyclosporine par voie orale pendant 7 jours et par voie percutanée pendant 21 jours. La dose administrée est de 25mg par chat une fois par jour. En sachant que la demi-vie de la cyclosporine est d'environ 8 heures, une période de deux semaines de pause est réalisée entre les deux traitements pour permettre l'élimination de toute trace de cyclosporine. Le PLO gel préparé contient 250 mg/ml de cyclosporine. Une dose de 0,1ml est appliquée à heure fixe en alternant l'oreille utilisée.

La concentration de cyclosporine dans le sang est déterminée 2 et 12 heures après administration au 7^{ème} jour de traitement par voie orale et au 7^{ème}, 14^{ème}, et 21^{ème} jour de traitement par voie percutanée. La limite inférieure de détection de la cyclosporine est de 25ng/ml avec le test utilisé.

(2) Résultats

Trois gels ont été dosés au hasard après utilisation pour vérifier leur concentration en cyclosporine. Celle-ci est en moyenne de 231 mg/ml soit 92,5 % de la concentration recherchée.

La concentration de cyclosporine dans le sang des animaux traités par voie orale est de 2 208 ng/mL en moyenne, contre 62 ng/ml après deux semaines de pause, et 58 ng/ml après 21 jours de traitement avec le PLO gel. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre la concentration de cyclosporine dans le sang entre le 7^{ème} et le 21^{ème} jour de traitement avec le PLO gel. La concentration médiane de cyclosporine dans le sang est de 2 208 ng/ml et 1 232 ng/ml respectivement 2 et 12 heures après l'administration orale de cyclosporine, contre 55 ng/ml et 38 ng/ml aux mêmes heures après l'application de PLO gel pendant 21 jours, ce qui représente respectivement 2,5 et 3,1 % des valeurs médianes citées précédemment.

Un chat sur les six présente une concentration de cyclosporine dans le sang significativement supérieur à celle mesurée chez les autres chats que ce soit avec le traitement oral ou percutané. Chez ce chat, des valeurs de cyclosporine considérées comme thérapeutiques sont obtenues avec le PLO gel.

Du toilettage interindividuel a été observé entre deux chats dont l'un présente le jour 14 des valeurs isolées et élevées de cyclosporine dans le sang.

(3) Discussion

Chez les chats de l'étude, l'absorption percutanée de cyclosporine incorporé dans un PLO gel est faible. Le PLO gel ne semble donc pas une alternative convenable au traitement oral. Les caractéristiques de la molécule, dont le poids moléculaire est d'environ 1 200 g/mol, ne sont pas favorables à une administration transcutanée et pourraient en partie expliquer les mauvais résultats obtenus.

5. Dexaméthasone

a) Généralités

La dexaméthasone est un principe actif de la famille des glucocorticoïdes dont les 3 principales indications sont le traitement de l'insuffisance surrénalienne, et l'utilisation de ses propriétés inflammatoires ou immunosuppressives. Elle intervient dans le traitement d'un grand nombre d'affections.

La dexaméthasone a de très nombreux effets secondaires potentiels sur presque tous les systèmes du corps comme le système cardio-vasculaire, nerveux, endocrine, hématopoïétique, digestif, immun, rénal, musculo-squelettique, et sur la peau.

b) Pharmacocinétique

La demi-vie de la dexaméthasone est inconnue chez le chat. Elle est de 2 à 5 heures chez le chien, mais cela ne correspond pas à son activité biologique qui persiste pour 48h ou plus (Plumb, 2008).

La posologie recommandée pour une activité anti-inflammatoire est de 0,125 à 0,5 mg/kg une fois par jour pendant 3 à 5 jours. Un traitement prolongé peut être nécessaire dans le cadre d'affections chroniques comme la bronchite allergique féline ou pour l'insuffisance surrénalienne. La dose doit être alors réduite au maximum (Plumb, 2008).

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques de la dexaméthasone susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées ci-dessous.

Tableau 8 : Caractéristiques physicochimiques de la dexaméthasone (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	392.467 g/mol
Surface	94.8 Å ²

Point de fusion	262°c
Log P	1.83

Le poids moléculaire et la lipophilie de la dexaméthasone sont favorables à son absorption à travers la peau.

d) Présentation de l'étude

(1) Protocole

Cette étude (Willis-Goulet *et al.*, 2003) porte sur 5 chats sains à qui on administre à 3 semaines d'intervalle une dose unique de 0,05mg/kg de dexaméthasone par voie orale ou par voie cutanée au sein d'un PLO gel. Le PLO gel contient 5mg/ml nécessitant l'application de 0,07 à 0,1ml de gel selon les animaux.

La concentration de dexaméthasone dans le sang est mesurée au moment de l'application, puis 5, 15, 30, 60, et 90 minutes après et 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48 et 72 heures après par le biais d'un cathéter jugulaire.

(2) Résultats

Après administration du PLO gel, aucune valeur de concentrations de dexaméthasone n'atteint le seuil de détection du test de 1ng/ml.

Lors du traitement par voie orale, la concentration de dexaméthasone est significativement supérieure malgré le fait que 2 chats sur les 5 n'aient pas pris la totalité du traitement. La concentration maximale de dexaméthasone varie de 3,8ng/ml à 84,4 ng/ml.

(3) Discussion

Aucune absorption percutanée de dexaméthasone n'a été mise en évidence avec le PLO gel. Il ne semble donc pas constituer un véhicule efficace pour l'absorption de dexaméthasone. Cependant, des résultats similaires ont été rapportés avec des préparations de PLO gel contenant du méthimazole ou de la buspirone pour une unique administration, alors que l'efficacité de ces formulations a pu être observée dans des traitements prolongés. L'absorption de dexaméthasone pourrait être supérieure après plusieurs applications de gel, notamment grâce aux propriétés de promotion d'absorption du gel. Dans le cadre d'un traitement anti-inflammatoire, un effet rapide peut être cependant recherché par le vétérinaire pour soulager l'animal, et la nécessité de procéder à plusieurs jours d'applications d'anti-inflammatoire pourrait donc limiter l'intérêt de la voie cutanée dans ce cadre.

En conclusion, le PLO ne semble pas constituer un véhicule efficace pour l'administration percutanée de dexaméthasone.

6. Fentanyl

a) Généralités

Le fentanyl est un opioïde de classe II, agoniste des récepteurs μ , couramment utilisé pour ses propriétés analgésiques chez les carnivores domestiques par voie parentérale ou par application de patchs cutanés.

b) Pharmacocinétique

La demi-vie du fentanyl est d'environ 2h et demi chez le chat après une injection intra-veineuse. La concentration de fentanyl dans le sang nécessaire à son action analgésique serait de 1 ng/ml mais cela reste théorique. La pose du patch est suivie de l'obtention d'une telle concentration 12 heures après environ, avec des chiffres variant de 6 à 24h selon les études. (Plumb, 2008) (Lee *et al.*, 2000)

Il est recommandé d'utiliser un patch de 12,5 $\mu\text{g/h}$ de fentanyl, ou de 25 $\mu\text{g/h}$ si le poids du chat dépasse 5kg.

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques du fentanyl susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées ci-dessous.

Tableau 9 : Caractéristiques physicochimiques du fentanyl (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	336.479 g/mol
Surface	23.6 A ²
Point de fusion	83-84°C
Log P	4.05

La lipophilie marquée du fentanyl, avec un log P supérieur à 3, ne favorise pas son absorption à travers l'épiderme vivant.

d) Présentation de l'étude de (Robertson *et al.*, 2005)

(1) Protocole

Cette étude porte sur 6 chats sains chez qui l'on administre de façon différée 10 $\mu\text{g/kg}$ de fentanyl par voie intra-veineuse et percutanée par le biais d'un PLO gel appliqué sur le pavillon interne de l'oreille. La concentration en fentanyl est mesurée avant puis 2, 5, 10, 20, 35, 50, 65, 95, 110, 125, 140 minutes et 4, 6, 12 et 24 heures après administration.

De façon complémentaire, l'absorption de fentanyl est étudiée chez quatre autres chats recevant 30 $\mu\text{g/kg}$ de fentanyl véhiculé dans un PLO gel et appliqué sur le pavillon interne de l'oreille pour deux d'entre eux et sur une zone rasée à la face dorsale du cou pour les deux autres.

(2) Résultats

Aucun dosage ne permet de mettre en évidence la moindre absorption de fentanyl lorsque les animaux sont traités avec le PLO gel à la concentration de 10 ou 30 µg/kg.

(3) Discussion

Les résultats obtenus semblent indiquer que le PLO gel n'est pas un véhicule efficace pour l'administration de fentanyl par voie percutanée chez le chat. Il n'est pas déterminé si ce manque d'absorption est le fait du fentanyl en lui-même, du PLO gel, ou des propriétés de barrière de la peau du chat. La propriété de barrière de la peau du chat pourrait jouer un rôle important au vu de la faible absorption de fentanyl issus de patch (36 % de la valeur théorique) (Lee *et al.*, 2000). Cette propriété de barrière pourrait cependant être réduite en partie par l'administration prolongée de PLO du fait de ses promoteurs d'absorption.

7. Fluoxétine

a) Généralités

La fluoxétine est un principe actif utilisé chez le chat dans le cadre du traitement de l'agressivité, de l'anxiété, des stéréotypies, et de la malpropreté. Elle agit en inhibant sélectivement la recapture de sérotonine dans le système nerveux central ce qui potentialise son effet. La fluoxétine est métabolisée en un métabolite actif, la norfluoxétine.

b) Pharmacocinétique

Peu de données existent chez le chat. Chez le chien, la fluoxétine semble bien absorbée par voie orale avec une biodisponibilité de l'ordre de 70 %. Chez l'Homme, 95 % de la fluoxétine circulante est liée à des protéines sériques. Le temps de demi-vie est d'environ 6 heures pour la fluoxétine et 2 jours pour la norfluoxétine (Plumb, 2008)

Les posologies recommandées sont de 0,5 à 1 mg/kg per os une fois par jour pour le traitement du marquage urinaire, et peuvent être augmentées jusqu'à 5mg/kg pour le traitement du prurit résistant aux autres thérapies.

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques de la fluoxétine susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10 : Caractéristiques physicochimiques de la fluoxétine (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	309.332 g/mol
Surface	21.3 Å ²
Point de fusion	159°C

Log P	4.05
-------	------

La forte lipophilie de la fluoxétine n'est pas favorable à sa bonne absorption à travers la peau, et notamment à travers l'épiderme vivant.

d) Présentation de l'étude

(1) Protocole

L'étude de Delamaide Gasper *et al.* (2015) porte sur 12 chats européens sains entiers, mâles et femelles, de laboratoire répartis en trois groupes recevant une administration de fluoxétine par voie orale, à 1mg/kg, ou par voie percutanée, à 5 mg/kg ou 10 mg/kg. Une étude préliminaire a été effectuée par voie percutanée à 1mg/kg.

La préparation utilisée est de 15 mg de fluoxétine dans 0,1 ml de PLO gel.

Les concentrations de fluoxétine et norfluoxétine sont mesurées à 1, 2, 4, 9, 12, et 24h après administration puis toutes les 24h pendant 14 jours. La concentration maximale en ces deux molécules, le temps de demi-vie, le temps pour obtenir la concentration maximale, et la biodisponibilité sont déterminés.

(2) Résultats

Les chats traités per os présentent en moyenne une concentration maximale en fluoxétine significativement différente et supérieure à celle mesurée en moyenne chez les chats traités par voie percutanée. Elle est de 94,8ng/ml en moyenne chez les chats recevant le traitement oral, contre 23,3 ng/ml et 32,9ng/ml en moyenne pour les chats recevant la fluoxétine respectivement à la dose de 5 et 10 mg/kg par voie percutanée. Il n'y a pas de différence significative, en utilisant les valeurs moyennes des groupes, pour la concentration maximale, le temps de demi-vie, le temps d'obtention de la concentration maximale, et la biodisponibilité de la fluoxétine entre les individus traités avec 5 ou 10mg/kg de fluoxétine percutanée. La biodisponibilité relative de la fluoxétine dans le PLO gel est évaluée à 10 % de celle par voie orale.

(3) Discussion

Le PLO gel permet l'absorption de fluoxétine chez tous les animaux traités. Cette absorption est inférieure à celle par voie orale, avec une biodisponibilité réduite d'un facteur 10.

L'absorption par voie percutanée est retardée par rapport à la voie orale ce qui augmente la demi-vie calculée de la fluoxétine chez les chats traités avec le PLO gel. Le moment où la concentration maximale est atteinte varie beaucoup lors de l'utilisation du PLO gel. L'écart type est de 26 à 28 heures chez les animaux chez qui on administre le gel contre 3h environ pour les individus prenant le traitement par voie orale. Il y a donc de forte variation de vitesse d'absorption percutanées en fonction des chats.

Aucun effet secondaire n'est rapporté après une administration. Les auteurs rapportent que des irritations après l'application répétée de PLO gel à la fluoxétine ont été observées dans une étude préliminaire sans préciser la fréquence d'application.

En conclusion, l'utilisation de PLO gel pourrait être une alternative au traitement oral, mais d'autres études pharmacocinétiques doivent être menées pour notamment déterminer une posologie bioéquivalente.

8. Glipizide

a) Généralités

Le glipizide est un principe actif utilisé dans le cadre du traitement du diabète de type II chez le chat en alternative à l'insulinothérapie lorsque le propriétaire la refuse ou en cas d'atteinte modérée nécessitant de faibles doses d'insuline (Ettinger et Feldman, 2000). Le mécanisme d'action exact reste inconnu mais le glipizide agirait directement sur les cellules β du pancréas en provoquant la sécrétion d'insuline, et sur des tissus extra-pancréatiques en augmentant leur sensibilité à l'insuline et en diminuant la production basale de glucose par le foie.

b) Pharmacocinétique

Peu de données sont disponibles chez le chat concernant la pharmacocinétique du glipizide. L'absorption orale est chez l'Homme de 80 à 100 %. Le glipizide est biotransformé par le foie en métabolites inactifs qui sont ensuite excrétés par les reins. La demi-vie chez l'Homme est de 2 à 4h.

La posologie recommandée est généralement de 5mg par jour et par chat de glipizide par voie orale. Cette dose peut être diminuée à 2,5mg par jour ou augmentée à 10mg selon la présentation clinique, la réponse au traitement et la présence d'effets secondaires (Plumb, 2008)

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques du glipizide susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées ci-dessous.

Tableau 11 : Caractéristiques physicochimiques du glipizide (Pubchem)

Masse molaire	445.538 g/mol
Surface	139 A ²
Point de fusion	200-209°C
Log P	1.91

La lipophilie de la molécule favorise sa bonne absorption transcutanée, contrairement à sa taille, dans les limites supérieures de la norme.

d) Présentation de l'étude

(1) Protocole

L'étude (Bennett *et al.*, 2005) porte sur 15 chats sains stérilisés, mâles et femelles, de recherche, répartis au hasard en trois groupes recevant respectivement 5mg de glipizide per os, 5 mg de glipizide véhiculé dans un PLO gel et appliqué par voie percutanée, ou ne recevant aucun traitement. Les concentrations sanguines d'insuline, de glucose et de glipizide sont mesurées au moment de l'administration puis 10, 20, 30, 45, 60, 90 minutes après et 2, 4, 6, 10, 14, 18 et 24 heures après.

(2) Résultats

Tous les chats traités avec le PLO gel présentent une quantité de glipizide sérique détectable à au moins une mesure. La moyenne des pic de concentration de glipizide obtenue avec le PLO gel (1µg/ml) est significativement différente et inférieure à celle obtenue avec le traitement oral (5,6µg/ml), et ce pic est atteint plus tardivement.

La biodisponibilité relative de la voie percutanée par rapport à la voie orale est de 20 %.

Tous les animaux recevant le glipizide par voie percutanée ou orale présentent une diminution significative de la glycémie par rapport au groupe contrôle respectivement 10h et 2h après administration. 10h après administration, la glycémie des chats est similaire quelle que soit la voie utilisée.

Aucun chat n'a présenté de variations significatives de l'insulinémie après administration de glipizide.

(3) Discussion

Les chats traités avec le PLO gel présentent une absorption moindre de glipizide, de l'ordre de 20 % par rapport à l'absorption orale, et qui survient plus tardivement. Cette absorption est très variable selon les individus mais suffisante pour permettre la diminution significative de la glycémie chez tous les animaux traités et ce de façon plus tardive qu'en utilisant la voie orale mais avec une réponse d'intensité similaire. Une hypothèse pour expliquer les diminutions similaires de la glycémie entre les deux groupes malgré une absorption différente de glipizide est que l'effet du glipizide possède un maximum qui est atteint à de faibles concentrations.

D'autres études doivent être menées, notamment pour tester un traitement percutané prolongé pour déterminer s'il est possible d'obtenir une concentration sérique stable et prévisible de glipizide, et pour déterminer son efficacité chez des animaux atteints de diabète sucré.

9. Phénobarbital

a) Généralités

Le phénobarbital est considéré comme la molécule de choix du traitement de l'épilepsie chez le chat. Il se fixe sur le récepteur GABA-A et stabilise sa forme ouverte, favorisant ainsi son activation. Il a par cette action un effet inhibiteur de la libération d'acétylcholine, de noradrénaline, et de glutamate. Il cause une dépression centrale qui augmente avec la dose administrée. A des doses sédatives, le phénobarbital est un dépresseur respiratoire dont l'effet est particulièrement important chez le chat.

Les effets secondaires rapportés chez le chat sont de l'ataxie, de la sédation, de la léthargie, de la polyphagie et de la polyuro-polydipsie. Des doses importantes de 10 à 40 mg/kg/jour peuvent entraîner des coagulopathies chez le chat.

b) Pharmacocinétique

Par voie orale, le phénobarbital est lentement absorbé avec un pic de concentration 4 à 8 heures après la prise chez le chien et une biodisponibilité de 90 %. Il est transporté dans le sang lié pour 40 % à des protéines plasmatiques, et diffuse lentement au travers de la barrière hémato-méningée. Il subit une métabolisation dans le foie et est transformé en p-hydroxyphénobarbital. Le temps de demi-vie de la molécule est de 34 à 43 heures chez le chat, 12 à 125 heures chez le chien, avec une moyenne d'environ 2 jours, et de 2 à 6 jours chez l'homme. Le temps de demi-vie peut diminuer avec le traitement car le phénobarbital induit la synthèse d'enzymes hépatiques permettant sa métabolisation, mais ce phénomène n'est pas décrit chez le chat (Plumb, 2008).

Les posologies recommandées pour le traitement chronique de l'épilepsie sont de 1 à 2,5 mg/kg de phénobarbital par voie orale pour atteindre une concentration dans le sang de 23 à 30 µg/ml ou de 15 et 45 µg/ml selon les études (Finnerty *et al.*, 2013) (Bailey et Dewey, 2009).

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques du phénobarbital susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées ci-dessous.

Tableau 12 : Caractéristiques physicochimiques du phénobarbital (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	232.239 g/mol
Surface	75.3 Å ²
Point de fusion	174°C
Log P	1.47

Le poids moléculaire et la lipophilie du phénobarbital sont favorables à son absorption à travers la peau.

d) Présentation des études

(1) Protocole

L'étude porte sur 19 chats sains traités pendant 14 jours avec du phénobarbital incorporé au sein d'un PLO gel ou dans du Lipoderm Activemax. 13 animaux sont traités avec le PLO gel, 6 à une posologie de 3mg/kg deux fois par jour, et 7 à une posologie de 9mg/kg deux fois par jour. Les animaux traités avec le Lipoderm reçoivent une dose de 9mg/kg. Le PLO gel utilisé contient 125mg/ml de phénobarbital et est appliqué sur la face interne du pavillon auriculaire.

La phénobarbitalémie est mesurée avant l'application du traitement le 15^{ème} jour, et 2, 4 et 6h après. Ces valeurs sont ensuite comparées aux valeurs thérapeutiques de phénobarbitalémie chez le chat se situant entre 15 et 45µg/ml.(Finnerty *et al.*, 2013)

(2) Résultats

Aucun des chats recevant 3mg/kg de phénobarbital deux fois par jour avec le PLO gel n'a atteint de phénobarbitalémie supérieure à 11 µg/ml ce qui est inférieure à la dose thérapeutique. La médiane de phénobarbitalémie varie de 7,5 µg/ml à 6,5 µg/ml.

Des effets secondaires ont été rapportés chez 4 des 6 chats avec de l'érythème au site d'application à 6, 7 et 8 jours, du toilettage de l'oreille au 9^{ème} jour, une augmentation modérée de l'appétit du 2 au 9^{ème} jour, une augmentation modérée de la fréquence de vomissement de trichobézoards et une polydipsie modérée au 4^{ème} jour. Chacun de ces effets secondaires a été retrouvé une seule fois.

Les 6 chats traités durant 15 jours à 9mg/kg de phénobarbital deux fois par jour avec le PLO gel atteignent une phénobarbitalémie satisfaisante située dans l'intervalle thérapeutique choisi par les auteurs. La phénobarbitalémie est stable au cours de la journée et située entre 18 µg/ml et 37 µg/ml chez les chats de l'étude.

Un chat a été retiré de l'étude au 3^{ème} jour par son propriétaire pour une ataxie des membres pelviens associée à de la polyphagie, de l'abattement, et un état de conscience modifié. Trois autres animaux ont présenté des effets secondaires. De la paraparésie a été retrouvée chez deux individus au jour 11 pour l'un et du 10^{ème} au 14^{ème} pour le second. D'autres effets secondaires modérés ont été rapportés comme de l'ataxie des membres pelviens, de la léthargie au jour 3, le vomissement d'un trichobézoard au jour 14 et du toilettage de l'oreille au jour 13 et 14.

(3) Discussion

Une valeur thérapeutique de phénobarbitalémie est atteinte chez les chats traités avec 9mg/kg de phénobarbital deux fois par jour. Il s'agit d'une posologie supérieure à celle recommandée pour le traitement oral. La biodisponibilité du phénobarbital par voie percutanée pourrait être plus faible que par voie orale. Les effets secondaires décrits dans cette étude sont les mêmes que ceux décrits pour le traitement

par voie orale à l'exception de l'érythème au site d'application et du toilettage des oreilles. Le toilettage des oreilles pourrait permettre l'ingestion de phénobarbital par l'intermédiaire des membres antérieurs, mais l'effet du toilettage sur la phénobarbitalémie n'a pas été évalué dans cette étude. La posologie doit être réévaluée en fonction de la présence d'effets secondaires et à la lumière de la phénobarbitalémie.

Concernant l'application du produit, sa facilité est limitée par le volume important à appliquer, les doses allant de 0,24 mL à 0,44 mL deux fois par jour. Cela nécessite de répartir le PLO gel sur les deux oreilles, mais cela n'empêche pas la formation de résidus de gel qui pourraient augmenter les effets secondaires locaux. Des essais ont été réalisés pour obtenir des concentrations de phénobarbital supérieures à 125mg/ml au sein du gel mais se sont révélés infructueux du fait de la solubilité limitée du phénobarbital dans son véhicule.

En conclusion, le PLO gel permet une absorption satisfaisante de phénobarbital et pourrait constituer une alternative intéressante au traitement oral. Des études cliniques chez des chats épileptiques devraient être entreprises pour étayer cette hypothèse.

10. Tramadol

a) Généralités

Le tramadol est un principe actif utilisé dans le cadre de la gestion de douleurs chroniques, d'avantage chez le chien que chez le chat. C'est un opiacé agoniste des récepteurs μ , et un inhibiteur de la recapture de sérotonine et de noradrénaline. Tous ces modes d'action contribuent à son effet analgésique. L'un de ses métabolites (O-desmethyltramadol dit M1) est actif avec un effet analgésique 6 fois plus puissant et une affinité 20 fois supérieur aux récepteurs μ . Peu d'information sont disponibles chez le chat.

b) Pharmacocinétique

Chez le chat, l'absorption orale de tramadol semble très variable en fonction des individus. La demi-vie serait d'environ 2h30 pour le tramadol et de 4h30 pour son métabolite M1. Chez le chien la biodisponibilité du tramadol oral est d'environ 65 % et son volume de distribution de 3.8 L/kg. La posologie recommandée est de 1 à 4 mg/kg selon la douleur du patient. (Plumb, 2008)

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques du tramadol susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées ci-dessous.

Tableau 13 : Caractéristiques physicochimiques du tramadol (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	263.381 g/mol
Surface	32.7 Å ²

Point de fusion	180°C
Log P	2,4

La lipophilie et la masse molaire de la molécule sont favorables à son absorption transcutanée.

d) Présentation de l'étude de (Bassani *et al.*, 2015)

(1) Protocole

Dans cette étude *in vitro*, les auteurs utilisent des prélèvements de peau provenant de pavillons auriculaires de deux chats, montés sur des cellules de Franz pour modéliser l'absorption de tramadol formulé à 100mg/g dans un PLO gel. Le tramadol est appliqué à 25 µg/cm² sur 3 cellules. La quantité de tramadol traversant la peau vers la chambre réceptrice est mesurée 2, 4, 8, 12, 24, 32, and 48h après l'application de gel. A la fin de l'expérience, le tramadol est dosé à la surface et à l'intérieur de la peau.

Dans cette étude le PLO gel est comparé à un autre véhicule qui est testé selon le même protocole. La composition de ce PLO gel diffère de celle des gels utilisés dans les autres études car il contient du propylène glycol comme agent mouillant.

(2) Résultats

L'absorption moyenne de tramadol est de 333.70 µg, avec un écart type de 43.09 µg ce qui correspond à 90 % de la dose appliquée avec un écart type de 14 %. Les 10 % moyens de tramadol restants sont retrouvés à la surface de la peau. La teneur en tramadol de la peau est inférieure au seuil de détection du test utilisé.

La vitesse d'absorption du tramadol calculée diminue de façon irrégulière avec le temps, en diminuant puis se stabilisant et en diminuant à nouveau. Ces calculs sont effectués à partir d'un échantillon faible de 3 cellules de Franz.

(3) Discussion

L'objectif de cette étude diffère du nôtre, en cela qu'il est de comparer le PLO gel et le Lipoderm pour déterminer lequel de ces deux véhicules semble le plus sûr et efficace pour être utilisé avec le tramadol. Les auteurs affirment que le PLO gel a permis de promouvoir l'absorption de tramadol. Nous retiendrons que le PLO gel permet *in vitro* le passage en 48h de 90 % du tramadol appliqué sur les échantillons de peau de chat utilisés dans cette étude. Des études *in vivo* doivent être menées pour déterminer si l'absorption peut être aussi importante en réalité, si elle peut permettre d'obtenir des concentrations thérapeutiques de tramadol chez le chat et si l'application s'accompagne d'effets secondaires.

C. Etude de l'absorption des principes actifs incorporés dans des PLO-gels chez le chien

1. Fentanyl

Le fentanyl ayant déjà été présenté précédemment, seul les spécificités concernant son usage chez le chien sont rappelées ci-dessous

a) Pharmacocinétique

Lors d'administration intraveineuse, le fentanyl se distribue rapidement dans l'organisme avec un volume de distribution de 5l/kg. La demi-vie du fentanyl est d'environ 45min, avec une clairance d'environ 78 ml/min/kg.

La concentration sanguine thérapeutique théorique en fentanyl est évalué à 1ng/ml comme chez le chat. Une concentration sanguine d'environ 1ng/ml peut être maintenue chez un individu en lui administrant une intraveineuse de 10 mg/kg/h après un bolus de 10mg/kg. En utilisant un patch, la concentration thérapeutique peut être atteinte 12h après la pose. Le choix du patch se fait en fonction du poids de l'animal selon les recommandations regroupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 14 : Posologie conseillée en fentanyl en fonction du poids de l'animal (Plumb, 2008)

Poids de l'animal	Dose en fentanyl	Contenu en fentanyl
<5 kg	12,5 à 25 µg/h	1,25 à 2,5 mg
5-10kg	25 µg/h	2,5 mg
10-20kg	50 µg/h	5 mg
20-30kg	75 µg/h	7,5 mg
>30 kg	100 µg/h	10mg

b) Présentation de l'étude de (Krotscheck *et al.*, 2004)

(1) Protocole

Cette étude porte sur 8 chiens sains répartis en deux groupes, 6 d'entre eux sur lesquels on applique deux préparations de fentanyl, à deux semaines d'intervalle, dans un PLO gel à la dose de 0,88 mg/kg et 2 d'entre eux à qui on administre, à deux semaines d'intervalle, 0,01 et 0,02 mg/kg de fentanyl par voie intraveineuse. Les deux préparations de PLO gels diffèrent par leur concentration en fentanyl, l'une est fabriquée à 5 mg/ml et l'autre à 20mg/ml. Le gel est appliqué en région inguinale.

Les limites de détection et de quantification du fentanyl dans le sang sont respectivement de 0,08 ng/ml et 0,5ng/ml.

La concentration de fentanyl dans le sang est mesurée 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165, et 180 min après administration.

(2) Résultats

La concentration maximale atteinte est inférieure à la limite de quantification de 0,5ng/ml chez de nombreux individus traités avec le PLO gel, avec une concentration moyenne maximale mesurée de 0,51ng/ml. Deux individus présentent des concentrations en fentanyl supérieures à la valeur thérapeutique théorique de 0,1 ng/ml sur respectivement une et deux mesures à 165min (2,3ng/ml et 1,1ng/ml) et 180min (1,05 ng/ml). La demi-vie du fentanyl par voie percutanée n'a pu être évaluée par manque d'échantillon dans lesquels le fentanyl a pu être quantifié.

(3) Discussion

Malgré une posologie 44 à 88 fois plus importante que pour la voie intraveineuse, l'application de fentanyl contenu dans les PLO gel n'a pas permis d'atteindre une concentration en principe actif efficace chez un seul chien. Le PLO gel ne semble pas constituer un véhicule convenable pour l'administration de fentanyl par voie transcutanée.

Le site d'application du PLO gel permet aux chiens de se lécher et d'ingérer potentiellement le principe actif. Au vu des doses utilisées, il pourrait être intéressant d'évaluer ce risque.

2. Morphine

a) Généralités

La morphine, principe actif de la famille des opioïdes, est couramment utilisé chez le chien de par ses propriétés analgésiques pour la gestion de douleurs aigus, et notamment en péri et post-opératoire. La morphine agit sur les récepteurs μ et provoque chez le chien une analgésie, une action antitussive centrale, une dépression respiratoire, une sédation, un effet émétique central, la diminution de la motilité et des sécrétions gastro-intestinales, une vasoconstriction coronaire, de la sédation, et l'augmentation du tonus des sphincters urinaires.

b) Pharmacocinétique

La morphine peut être administrée par voie intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée ou rectale. Par voie orale, elle présente une biodisponibilité restreinte par effet de premier passage hépatique. Elle se concentre dans les reins, le foie et les poumons et est présente à des concentrations plus faibles dans le système nerveux central. La morphine est métabolisée et principalement éliminée par le foie par glucuronidation. Le volume de distribution de la morphine est d'environ 7,5 l/kg et sa clairance d'environ 83ml/min/kg. Sa demi-vie est d'un peu plus d'une heure.

La posologie recommandée est de 0,05 à 1mg/kg IV, et de 0,5 à 2 mg/kg IM ou SC toutes les 4h pour une analgésie post-opératoire.

c) Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques de la morphine susceptibles d'avoir une influence sur son absorption cutanée sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 15 : Caractéristiques physicochimiques de la morphine (Pubchem, s. d.)

Masse molaire	285.343 g/mol
Surface	52.9 A ²
Point de fusion	255°C
Log P	0,89

Le caractère faiblement lipophile de la morphine n'est pas favorable à son absorption transcutanée.

d) Présentation de l'étude de Krotscheck *et al.* (2004)

(1) Protocole

Cette étude porte sur 8 chiens, dont 2 reçoivent de la morphine par voie intraveineuse à la dose de 0,3 mg/kg et 6 se voient administrer de la morphine par application cutanée d'un PLO gel. Parmi les individus recevant le PLO gel, deux individus sont traités à 1mg/kg et quatre à 2mg/kg de morphine. Enfin le gel est appliqué en région inguinale pour 4 de ces individus et sur le pavillon auriculaire interne pour 2.

Les limites de détection et de quantification de la morphine dans le sang sont respectivement de 0,5 ng/ml et 10 ng/ml.

La concentration de morphine dans le sang est mesurée 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 min puis 3, 4, 5, 6, et 7h après administration.

(2) Résultats

Aucun individu traité avec le PLO gel ne présente une concentration quantifiable de morphine dans le sang. La concentration maximale moyenne mesurée est de 1,65 ng/ml, les résultats allant de 0,067 ng/ml à 4,2 ng/ml. La concentration thérapeutique de morphine dans le sang n'a été atteinte que chez un seul chien.

(3) Discussion

Malgré des doses 6 fois et demi plus importante que pour la voie intraveineuse, l'application de morphine contenue dans les PLO gel n'a pas permis d'atteindre une concentration en principe actif efficace chez un seul chien. Le PLO gel ne semble pas constituer un véhicule convenable pour l'administration de morphine par voie transcutanée.

D. Synthèse des résultats des études présentées

Afin d'acquérir une vision d'ensemble, les résultats des études précédemment présentées sont résumés dans le tableau 16.

Parmi les 20 expérimentations réalisées, 10 mettent en évidence une absorption satisfaisante, c'est à dire une absorption suffisante pour permettre l'effet thérapeutique recherché dans les études *in vivo* et un passage de 90 % du principe actif dans les études *in vitro* (Organisation for Economic Cooperation and Development, 2004a).

Sur neuf études, une seule fait état de résultats insatisfaisants après plusieurs semaines d'administration. Elle concerne la cyclosporine dont la taille n'en fait pas une molécule adaptée à l'absorption transcutanée (fig 26) (Lane *et al.*, 2011). Au contraire, sur huit expérimentations, une seule permet de conclure à une efficacité satisfaisante du PLO gel après une unique application. La taille et la lipophilie du glipizide ne permettent pas d'expliquer pourquoi son absorption a pu être mis en évidence alors que d'autres molécules n'ont pas traversé la peau (fig27). Il semble, d'après ces résultats, qu'une application du PLO gels sur plusieurs jours soit nécessaire pour pouvoir obtenir une absorption convenable dans la presque totalité des cas.

Les PLO gels permettent l'absorption à travers la peau de molécules plutôt hydrophiles comme le méthimazole ($\text{Log}(P) = -0,34$) et de molécules à la lipophilie marquée comme la fluoxétine ($\text{Log}(P) = 4,05$) (fig26). Ces deux molécules ont un $\text{log}(P)$ en dehors de l'intervalle considéré comme idéal pour l'absorption transcutanée.

Figure 26: Caractéristiques physico-chimiques des principes actifs dont l'absorption transcutanée a été évaluée comme satisfaisante (carrés bleus) ou insatisfaisante (rond gris) après plusieurs jours d'application.

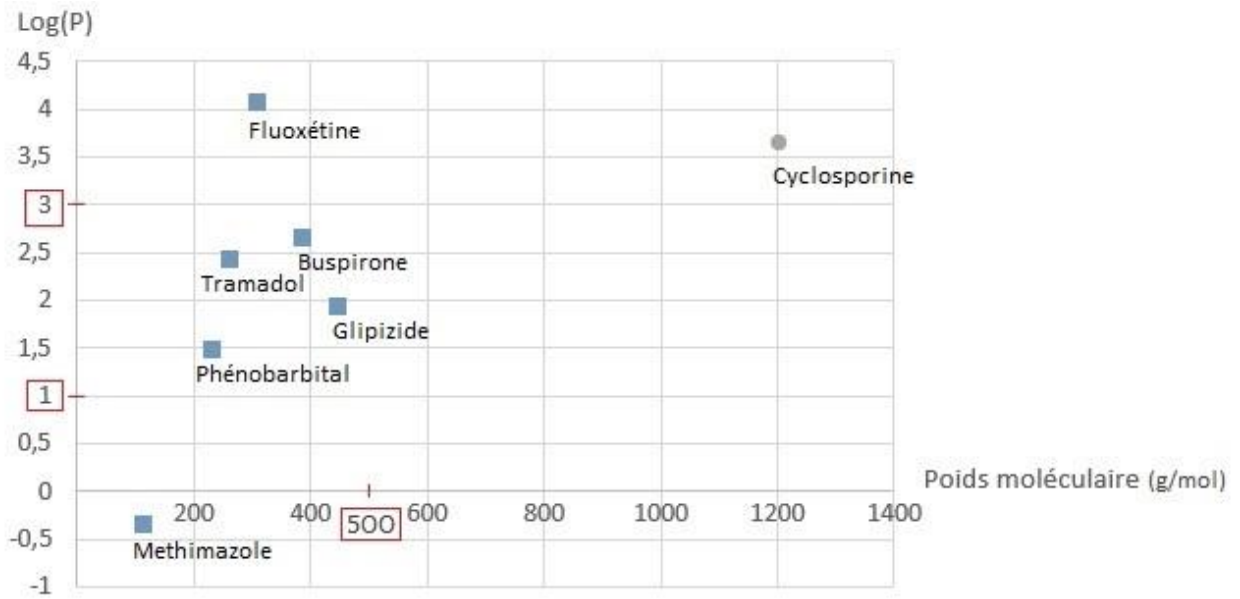
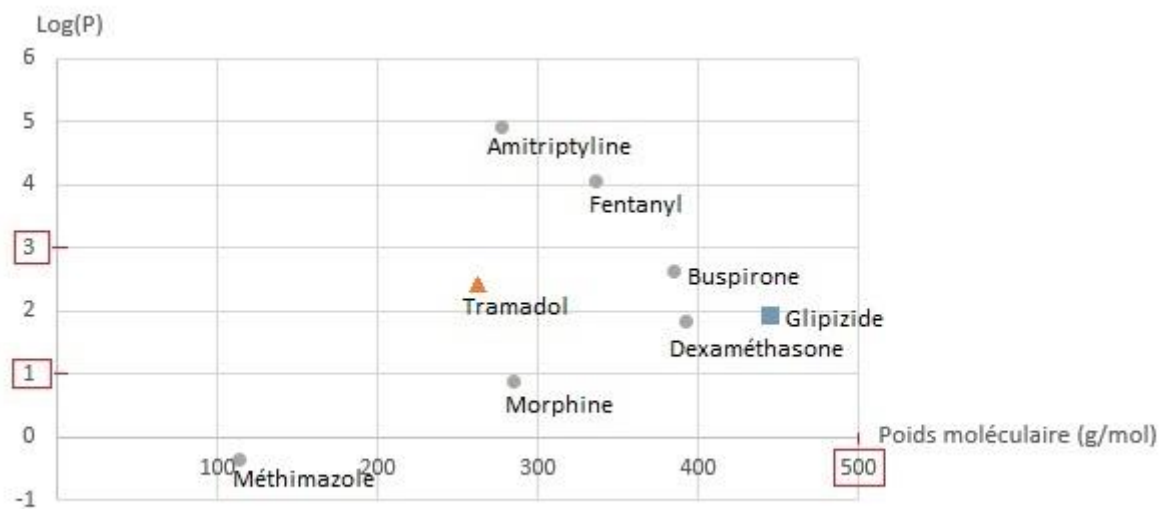


Figure 27: Caractéristiques physico-chimiques des principes actifs dont l'absorption transcutanée a été évaluée comme satisfaisante (carré bleu *in vivo*, triangle orange *in vitro*) ou insatisfaisante (rond gris) après une unique application



Peu d'effets secondaires sont généralement causés par l'application de gel. Il s'agit de réactions cutanées, principalement de l'érythème modéré. Bien que les propriétaires soient en majorité satisfaits de la facilité d'utilisation du gel, jusqu'à 23 % d'entre eux ne traitent pas leur animal régulièrement ou interrompent le traitement sans l'avis du vétérinaire (Boretti *et al.*, 2014).

Tableau 16 : Synthèse des principales données issues des études sur les PLO gels

Principe actif	Etude	Efficacité	Durée d'administration	Effets secondaires	Facilité d'utilisation
Méthimazole	(Hoffman <i>et al.</i> , 2002)	Insatisfaisante	Application unique	Aucun	-
	(Hoffmann <i>et al.</i> , 2003)	Satisfaisante	1 et 5 mois en moyenne	Aucun	Administrations irrégulières pour 2 propriétaires sur 13
	(Sartor <i>et al.</i> , 2004)	Satisfaisante	4 semaines	Excoriation faciale pour 1 chat sur 44	Absence d'information
	(Lécuyer <i>et al.</i> , 2006)	Satisfaisante	2 semaines	1 chat parmi 14 présentant une réaction cutanée	« La plupart » des propriétaires satisfaits Texture non homogène pour 4 gels sur 14
	(Morales <i>et al.</i> , 2009)	Insatisfaisante <i>in vitro</i>	Application unique <i>in vitro</i>	-	-
	(Boretti <i>et al.</i> , 2013)	Satisfaisante	3 semaines	Aucun	Pour tous les propriétaires
	(Boretti <i>et al.</i> , 2014)	Satisfaisante	3 à 88 mois	Erythème du pavillon chez 2 chats sur 60	2 propriétaires insatisfaits 10 propriétaires ne traitent pas leur animal régulièrement 4 propriétaires ont arrêté le traitement
	(Hill <i>et al.</i> , 2015b)	Insatisfaisante <i>in vitro</i>	Application unique <i>in vitro</i>	-	-
Buspirone	(Mealey <i>et al.</i> , 2004)	Insatisfaisante	Application unique	Aucun	-
	(Chávez <i>et al.</i> , 2016)	Jugée satisfaisante par les auteurs	5 semaines	Erythème chez un nombre inconnu de chat	Jugée plus difficile que le traitement oral
Amitriptyline	(Mealey <i>et al.</i> , 2004)	Insatisfaisante	Application unique	Aucun	-
Cyclosporine	(Miller <i>et al.</i> , 2014)	Insatisfaisante	3 semaines	Toilettage interindividuel chez 2 chats sur 6	Administrations régulières de la part de tous les propriétaires

Dexaméthasone	(Willis-Goulet <i>et al.</i> , 2003)	Insatisfaisante	Application unique	Aucun	-
Fentanyl	(Krotscheck <i>et al.</i> , 2004)	Insatisfaisante	Application unique	Aucun	-
	(Robertson <i>et al.</i> , 2005)	Insatisfaisante	Application unique	Aucun	-
Fluoxétine	(Ciribassi <i>et al.</i> , 2003)	Satisfaisante	14 jours	Aucun	-
Glipizide	(Bennett <i>et al.</i> , 2005)	Partiellement Satisfaisante	Application unique	Aucun	-
Phénobarbital	(Delamaide Gasper <i>et al.</i> , 2015)	Satisfaisante	2 semaines	Erythème, et toilettage de l'oreille respectivement chez 2 chats parmi 6	1 propriétaire, sur les 6, arrête le traitement en raison des effets secondaires
Tramadol	(Bassani <i>et al.</i> , 2015)	Satisfaisante <i>in vitro</i>	Application unique <i>in vitro</i>	Aucun	-
Morphine	(Krotscheck <i>et al.</i> , 2004)	Insatisfaisante	Application unique	Aucun	-

CONCLUSION

L'intérêt de développer des alternatives aux voies d'administration orale et parentérale en médecine vétérinaire est bien établi. La voie d'absorption transdermique représente une alternative attrayante par sa facilité d'utilisation. Les microémulsions, par leur stabilité, leur structure, leur biocompatibilité, et leur capacité à contenir de nombreux principes actifs différents pourraient être un véhicule de choix. Les dix-huit premières études sur le sujet permettent d'en confirmer l'intérêt mais de le modérer au vu des premières limites rencontrées. Chez le chat, neuf études concluent favorablement quant à la capacité des PLO gels à permettre l'absorption de cinq principes actifs différents. Les résultats obtenus, à une exception près, indiquent que plusieurs jours d'application du PLO gels sont nécessaires pour obtenir une absorption transcutanée satisfaisante. L'unique étude qui conclue à une inefficacité du véhicule après plusieurs jours d'administration porte sur la cyclosporine, dont la taille importante n'est pas adaptée à une absorption transcutanée. Les PLO gels peuvent être efficaces pour transporter à travers la peau des molécules variées, plutôt hydrophiles comme le méthimazole, ou très lipophiles comme la fluoxétine.

Dans chaque étude chez le chat, le pavillon auriculaire a été choisi comme site d'application du PLO gels. Parmi toutes celles réalisées, 10 permettaient à des propriétaires d'utiliser le gel et, si la grande majorité d'entre eux ont été satisfaits de la facilité d'administration du gel, une partie d'entre eux n'applique pas pour autant le traitement de façon régulière. En cas de réaction cutanée sur le pavillon auriculaire, l'absorption du principe actif pourrait être modifiée de façon imprévisible. Chez le chien, et notamment pour les races les plus poilues, aucun site ne semble adapté à l'application du gel sans préparation préalable.

En l'absence d'étude à ce sujet, on ne peut prévoir la façon dont serait modifiée l'absorption transcutanée des PLO gels chez des animaux présentant une affection cutanée telle que l'atopie. Des recherches doivent aussi déterminer si l'ingestion de principe actif par léchage est possible, par l'animal traité lui-même, ou entre deux animaux. Il serait ainsi intéressant de déterminer le temps durant lequel des résidus de principe actif et de gels peuvent rester sur la peau. De façon à protéger le propriétaire, le protocole d'application du gel doit être rigoureusement respecté, et adapté à lui, notamment s'il est sujet à des allergies.

Seul le méthimazole fait l'objet de plusieurs études concluant à une efficacité de son absorption. L'utilisation de PLO gel contenant du méthimazole peut être recommandée chez les animaux présentant des effets secondaires gastro-intestinaux, ou refusant la prise orale. Concernant les autres principes actifs, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si leur utilisation dans des PLO gels peut résulter en une absorption convenable.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAHAM MH., MARTINS F. Human skin permeation and partition: general linear free-energy relationship analyses. *J. Pharm. Sci.*. 2004, **93**, 1508-1523.
- ALIBARDI L. Differentiation of snake epidermis, with emphasis on the shedding layer. *J. Morphol.*. 2005, **264**, 178-190.
- ALSAAB H., BONAM SP., BAHL D., CHOWDHURY P., ALEXANDER K., BODDU SH. Organogels in Drug Delivery: A Special Emphasis on Pluronic Lecithin Organogels. *J. Pharm. Pharm. Sci. Publ. Can. Soc. Pharm. Sci. Soc. Can. Sci. Pharm.*. 2016, **19**, 252-273.
- ANGELBECK-SCHULZE M., MISCHKE R., ROHN K., HEWICKER-TRAUTWEIN M., NAIM HY., BÄUMER W. Canine epidermal lipid sampling by skin scrub revealed variations between different body sites and normal and atopic dogs. *BMC Vet. Res.*. 2014, **10**, 152.
- BAILEY KS., DEWEY CW. The seizing cat. Diagnostic work-up and therapy. *J. Feline Med. Surg.*. 2009, **11**, 385-394.
- BASICMEDICAL KEY. Skin and Its Appendages. *Basicmedical Key*. 2016,.
- BASSANI AS., BANOV D., SIMMONS C., PHAN H. In vitro characterization of the percutaneous absorption of tramadol into inner ear domestic feline skin using the Franz skin finite dose model. *Vet. Med. Anim. Sci.*. 2015, **3**, 3.
- BENET., OIE., SCHWARTZ. Design and optimization of dosage regimens; pharmacokinetic data, *in: Goodman and Oilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 1996,. p. 1707-1792.
- BENNETT N., PAPICH MG., HOENIG M., FETTMAN MJ., LAPPIN MR. Evaluation of transdermal application of glipizide in a pluronic lecithin gel to healthy cats. *Am. J. Vet. Res.*. 2005, **66**, 581-588.
- BEREITER-HAHN J., MATOLTSY AG., RICHARDS KS., *in: Biology of the Integument: 2 Vertebrates*. 1986,. Springer Science & Business Media, p. 150-160.
- BODOR N., BUCHWALD P. Soft drug design: general principles and recent applications. *Med. Res. Rev.*. 2000, **20**, 58-101.
- BONAGURA J., TWEDT D. Kirk's Current Veterinary Therapy XIII - 13th Edition [En ligne]. 1999,. (consulté le 23/7/17).
- BORETTI FS., SIEBER-RUCKSTUHL NS., SCHÄFER S., BAUMGARTNER C., RIOND B., HOFMANN-LEHMANN R., et al. Duration of t4 suppression in hyperthyroid cats treated once and twice daily with transdermal methimazole. *J. Vet. Intern. Med.*. 2013, **27**, 377-381.
- BORETTI FS., SIEBER-RUCKSTUHL NS., SCHÄFER S., GERBER B., BAUMGARTNER C., RIOND B., et al. Transdermal application of methimazole in hyperthyroid cats: a long-term follow-up study. *J. Feline Med. Surg.*. 2014, **16**, 453-459.
- BOUHANNA Poil et dynamique pilaire chez les carnivores domestiques. *Point Vét.*. 1998, 49-54.
- CHÁVEZ G., PARDO P., UBILLA MJ., MARÍN MP. Effects on behavioural variables of oral versus transdermal buspirone administration in cats displaying urine marking. *J. Appl. Anim. Res.*. 2016, **44**, 454-457.
- CIRIBASSI J., LUESCHER A., PASLOSKE KS., ROBERTSON-PLOUCH C., ZIMMERMAN A., KALOOSTIAN-WHITTYMORE L. Comparative bioavailability of fluoxetine after transdermal and oral administration to healthy cats. *Am. J. Vet. Res.*. 2003, **64**, 994-998.
- COURT MH. Canine cytochrome P450 (CYP) pharmacogenetics. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*. 2013, **43**, 1027-1038.
- COUTEAUDIER M., DENESVRE C. Marek's disease virus and skin interactions. *Vet. Res.*. 2014, **45**, 36.
- CRANDALL WT. Topical moisturizing composition and method. 1997,. US5639740 A.
- DACVCP DMBDMPD. *Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2e*, 2nd edition. ed. 2011, Saunders, St. Louis, Mo, 1348 p.
- DANCIK Y., JEPPE O., ROBERTS M. Beyond Stratum Corneum. *Dermal Absorpt. Toxic. Assess.*. 2007,.
- DANCIK Y., THOMPSON., KRISHNAN., ROBERTS. Cutaneous Metabolism and Active Transport in Transdermal Delivery, *in: Toxicology of the Skin*. 2010,. CRC Press, p. 69-82.

- Dawn Merton Boothe Transdermal gel delivery in cats: fuss or must? (Proceedings) [En ligne]. 2011, [http://veterinarycalendar.dvm360.com/transdermal-gel-delivery-cats-fuss-or-must-proceedings]
- DELAMAIDE GASPER JA., BARNES HELLER HL., ROBERTSON M., TREPANIER LA. Therapeutic serum phenobarbital concentrations obtained using chronic transdermal administration of phenobarbital in healthy cats. *J. Feline Med. Surg.*. 2015, **17**, 359-363.
- DOWNING DT. Lipid and protein structures in the permeability barrier of mammalian epidermis. *J. Lipid Res.*. 1992, **33**, 301-313.
- DREHER F., WALDE P., LUISI PL., ELSNER P. Human skin irritation studies of a lecithin microemulsion gel and of lecithin liposomes. *Skin Pharmacol. Off. J. Skin Pharmacol. Soc.*. 1996, **9**, 124-129.
- EHRHARDT C., KIM K-J. *Drug Absorption Studies: In Situ, In Vitro and In Silico Models*. 2007, Springer Science & Business Media, 711 p.
- ELIAS PM., BONAR L., GRAYSON S., BADEN HP. X-ray diffraction analysis of stratum corneum membrane couplets. *J. Invest. Dermatol.*. 1983, **80**, 213-214.
- ELNAGGAR YSR., EL-REFAIE WM., EL-MASSIK MA., ABDALLAH OY. Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: an update on state of art and recent applications. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.*. 2014, **180**, 10-24.
- ENGELBRECHT TN., DEMÉ B., DOBNER B., NEUBERT RHH. Study of the influence of the penetration enhancer isopropyl myristate on the nanostructure of stratum corneum lipid model membranes using neutron diffraction and deuterium labelling. *Skin Pharmacol. Physiol.*. 2012, **25**, 200-207.
- ESSA EA., BONNER MC., BARRY BW. Human skin sandwich for assessing shunt route penetration during passive and iontophoretic drug and liposome delivery. *J. Pharm. Pharmacol.*. 2002, **54**, 1481-1490.
- ETTINGER SJ., FELDMAN E. *Textbook of Veterinary Internal Medicine, 5th ed.*, Vth edition. ed. 2000,.
- FANG C-L., ALJUFFALI IA., LI Y-C., FANG J-Y. Delivery and targeting of nanoparticles into hair follicles. *Ther. Deliv.*. 2014, **5**, 991-1006.
- FAUCHIER N. *Med'Vet: Le recueil des spécialités à usage vétérinaire*. 2017, Editions Med'Com, 2304 p.
- FINNERTY KE., HELLER HLB., MERCIER MN., GIOVANELLA CJ., LAU VW., RYLANDER H. Evaluation of therapeutic phenobarbital concentrations and application of a classification system for seizures in cats: 30 cases (2004–2013). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*. 2013, **244**, 195-199.
- GUPTA RC. *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*. 2012, Academic Press, 1455 p.
- HADGRAFT J. Skin, the final frontier. *Int. J. Pharm.*. 2001, **224**, 1-18.
- HENDRIKS WH., TARTTELIN MF., MOUGHAN PJ. Seasonal Hair Growth in the Adult Domestic Cat (*Felis catus*). *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.*. 1997, **116**, 29-35.
- HILL KE., CHAMBERS JP., JONES BR., BOLWELL CF., ABERDEIN D., MILLS PC. Regional variations in percutaneous absorption of methimazole: an in vitro study on cat skin. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*. 2015a, **38**, 616-618.
- HILL KE., GIESEG MA., KINGSBURY D., LOPEZ-VILLALOBOS N., BRIDGES J., CHAMBERS P. The efficacy and safety of a novel lipophilic formulation of methimazole for the once daily transdermal treatment of cats with hyperthyroidism. *J. Vet. Intern. Med.*. 2011, **25**, 1357-1365.
- HILL KE., MILLS PC., JONES BR., BOLWELL CF., ABERDEIN D., CHAMBERS JP. Percutaneous absorption of methimazole: an in vitro study of the absorption pharmacokinetics for two different vehicles. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*. 2015b, **38**, 581-589.
- HOFFMAN SB., YODER AR., TREPANIER LA. Bioavailability of transdermal methimazole in a pluronic lecithin organogel (PLO) in healthy cats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*. 2002, **25**, 189-193.
- HOFFMANN G., MARKS SL., TABOADA J., HOSGOOD GL., WOLFSHEIMER KJ. Transdermal methimazole treatment in cats with hyperthyroidism. *J. Feline Med. Surg.*. 2003, **5**, 77-82.
- HOWES D., GUY R., HADGRAFT J., HEYLINGS J., HOECK U., KEMPER F., et al. Methods for assessing percutaneous absorption: the report and recommendations of ECVAM workshop 13. *Altern. Lab. Anim. ATLA*. 1996,.
- KAO J., HALL J. Skin absorption and cutaneous first pass metabolism of topical steroids: in vitro studies with mouse skin in organ culture. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*. 1987, **241**, 482-487.

- KNORR F., LADEMANN J., PATZELT A., STERRY W., BLUME-PEYTAVI U., VOGT A. Follicular transport route--research progress and future perspectives. *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV.* 2009, **71**, 173-180.
- KROTSCHHECK U., BOOTHE DM., BOOTHE HW. Evaluation of transdermal morphine and fentanyl pluronic lecithin organogel administration in dogs. *Vet. Ther. Res. Appl. Vet. Med.* 2004, **5**, 202-211.
- KUMAR R., KATARE OP. Lecithin organogels as a potential phospholipid-structured system for topical drug delivery: a review. *AAPS PharmSciTech.* 2005, **6**, E298-310.
- LADEMANN J., OTBERG N., RICHTER H., WEIGMANN HJ., LINDEMANN U., SCHAEFER H., et al. Investigation of follicular penetration of topically applied substances. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 2001, **14 Suppl 1**, 17-22.
- LANE ME. Skin penetration enhancers. *Int. J. Pharm.* 2013, **447**, 12-21.
- LANE ME., SANTOS P., WATKINSON AC., HADGRAFT J. Passive Skin Permeation Enhancement, in: *Benson, H.A.E., Watkinson, A.C. (Éd.), Topical and Transdermal Drug Delivery.* 2011, John Wiley & Sons, Inc., p. 23-42.
- LÉCUYER M., PRINI S., DUNN ME., DOUCET MY. Clinical efficacy and safety of transdermal methimazole in the treatment of feline hyperthyroidism. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 2006, **47**, 131-135.
- LEE DD., PAPICH MG., HARDIE EM. Comparison of pharmacokinetics of fentanyl after intravenous and transdermal administration in cats. *Am. J. Vet. Res.* 2000, **61**, 672-677.
- MANGELSDORF S., VERGOU T., STERRY W., LADEMANN J., PATZELT A. Comparative study of hair follicle morphology in eight mammalian species and humans. *Skin Res. Technol. Off. J. Int. Soc. Bioeng. Skin ISBS Int. Soc. Digit. Imaging Skin ISDIS Int. Soc. Skin Imaging ISSI.* 2014, **20**, 147-154.
- MARTIN AL., IRIZARRY-ROVIRA AR., BEVIER DE., GLICKMAN LG., GLICKMAN NW., HULLINGER RL. Histology of ferret skin: preweaning to adulthood. *Vet. Dermatol.* 2007, **18**, 401-411.
- MEALEY KL., PECK KE., BENNETT BS., SELTON RK., SWINNEY GR., MELZER K., et al. Systemic absorption of amitriptyline and buspirone after oral and transdermal administration to healthy cats. *J. Vet. Intern. Med.* 2004, **18**, 43-46.
- MEIDAN VM. Methods for quantifying intrafollicular drug delivery: a critical appraisal. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2010, **7**, 1095-1108.
- MILLER R., SCHICK AE., BOOTHE DM., LEWIS TP. Absorption of transdermal and oral cyclosporine in six healthy cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2014, **50**, 36-41.
- MILLER W., GRIFFIN C., CAMPBELL K. *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 7th Edition. ed. 2012, Saunders.
- MILLS PC., CROSS SE. Transdermal drug delivery: basic principles for the veterinarian. *Vet. J. Lond. Engl.* 1997. 2006, **172**, 218-233.
- MOHAMMED D., HIRATA K., HADGRAFT J., LANE ME. Influence of skin penetration enhancers on skin barrier function and skin protease activity. *Eur. J. Pharm. Sci. Off. J. Eur. Fed. Pharm. Sci.* 2014, **51**, 118-122.
- MONTEIRO-RIVIERE N. Dellmann's Textbook of Veterinary Histology, 6th ed.. *Can. Vet. J.* 2007, **48**, 320-349.
- MONTEIRO-RIVIERE NA., BRISTOL DG., MANNING TO., ROGERS RA., RIVIERE JE. Interspecies and interregional analysis of the comparative histologic thickness and laser Doppler blood flow measurements at five cutaneous sites in nine species. *J. Invest. Dermatol.* 1990, **95**, 582-586.
- MORALES ME., CLARÉS B., LÓPEZ-VIOTA M., RUIZ MA. Preparation, characterization, and in vitro release of new transdermal methimazole as alternative to oral delivery. *Drug Deliv.* 2009, **16**, 1-10.
- NAIK null., KALIA null., GUY null. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharm. Sci. Technol. Today.* 2000, **3**, 318-326.
- NICOLI S., PADULA C., AVERSA V., VIETTI B., WERTZ PW., MILLET A., et al. Characterization of rabbit ear skin as a skin model for in vitro transdermal permeation experiments: histology, lipid composition and permeability. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2008, **21**, 218-226.
- OGISO T., TANINO T. [Transdermal delivery of drugs and enhancement of percutaneous absorption]. *Yakugaku Zasshi.* 2000, **120**, 328-338.

- Organisation for Economic Cooperation and Development OECD guideline for the testing of chemicals 428: Skin absorption in vitro method. 2004a,.
- Organisation for Economic Cooperation and Development Guidance document for the conduct of skin absorption studies Number 28. 2004b,.
- OTBERG N., PATZELT A., RASULEV U., HAGEMEISTER T., LINSCHIED M., SINKGRAVEN R., et al. The role of hair follicles in the percutaneous absorption of caffeine. *Br. J. Clin. Pharmacol.*. 2008, **65**, 488-492.
- OZNURLU. Comparative Skin Histology of the White New Zealand and Angora Rabbits: Histometrical and Immunohistochemical Evaluations. *JAVA*. 2009, 1694-1701.
- PAPPAS A. Epidermal surface lipids. *Dermatoendocrinol.*. 2009, **1**, 72-76.
- PATERSON S. *Skin Diseases of Exotic Pets*. 2007,.
- PLUMB DC. *Plumb's Veterinary Drug Handbook*, Sixth Edition. ed. 2008, Blackwell Publishing.
- POPA I., PORTOUKALIAN J., HAFTEK M. Specificity in the alteration of lesional and non-lesional skin lipids in atopic dogs. *World J. Dermatol.*. 2015, **4**, 1-7.
- POTTS RO., GUY RH. Predicting skin permeability. *Pharm. Res.*. 1992, **9**, 663-669.
- PUBCHEM. ISOPROPYL PALMITATE [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8907>]
- PUBCHEM. methimazole [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1349907>] (consulté le 23/9/17b).
- PUBCHEM. bupirone [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2477>] (consulté le 23/9/17c).
- PUBCHEM. amitriptyline [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2160>]
- PUBCHEM. fluoxetine [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3386>]
- PUBCHEM. dexamethasone [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5743>]
- PUBCHEM. fentanyl [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3345>]
- PUBCHEM. phenobarbital [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4763>]
- PUBCHEM. Tramadol [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33741>]
- PUBCHEM. morphine [En ligne]. s. d.,. [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5288826>]
- RIVIERE JE., BROOKS JD. Predicting Skin Permeability from Complex Chemical Mixtures: Dependency of Quantitative Structure Permeation Relationships on Biology of Skin Model Used. *Toxicol. Sci.*. 2011, **119**, 224.
- RIVIERE JE., MONTEIRO-RIVIERE NA. *Dermal Absorption Models in Toxicology and Pharmacology*. 2005, CRC Press, 392 p.
- RIVIERE JE., PAPICH MG. Potential and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*. 2001, **50**, 175-203.
- ROBERTSON SA., TAYLOR PM., SEAR JW., KEUHNEL G. Relationship between plasma concentrations and analgesia after intravenous fentanyl and disposition after other routes of administration in cats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*. 2005, **28**, 87-93.
- RUSSELL LM., GUY RH. Measurement and prediction of the rate and extent of drug delivery into and through the skin. *Expert Opin. Drug Deliv.*. 2009, **6**, 355-369.
- SAHLE FF., METZ H., WOHLRAB J., NEUBERT RHH. Lecithin-based microemulsions for targeted delivery of ceramide AP into the stratum corneum: formulation, characterizations, and in vitro release and penetration studies. *Pharm. Res.*. 2013, **30**, 538-551.
- SARTOR LL., TREPANIER LA., KROLL MM., RODAN I., CHALLONER L. Efficacy and safety of transdermal methimazole in the treatment of cats with hyperthyroidism. *J. Vet. Intern. Med.*. 2004, **18**, 651-655.
- SCHAEFER H., LADEMANN J. The role of follicular penetration. A differential view. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*. 2001, **14 Suppl 1**, 23-27.
- SCHUMMER. *The Circulatory System, the Skin, and the Cutaneous Organs of the Domestic*, Springer US. ed. 1981,.
- SCHURTENBERGER., SCARTAZZINI., MAGID., LESER., LUIGI., LUISI. Structural and dynamic properties of polymer-like reverse micelles. *J Phys Chem*. 1990, 3695-3701.

- SEILLER M., MARTINI M-C. *Formes pharmaceutiques pour application locale*. 1996, Technique & Documentation-Lavoisier, 504 p.
- SHCHIPUNOV. Lecithin organogel A micellar system with unique properties. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*. 2001, 541-554.
- STAHL J., NIEDORF F., KIETZMANN M. Characterisation of epidermal lipid composition and skin morphology of animal skin ex vivo. *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV*. 2009, **72**, 310-316.
- STINCHCOMB AL., SWAAN PW., EKABO O., HARRIS KK., BROWE J., HAMMELL DC., et al. Straight-chain naltrexone ester prodrugs: diffusion and concurrent esterase biotransformation in human skin. *J. Pharm. Sci.*. 2002, **91**, 2571-2578.
- TAENZLER J., GALE B., ZSCHIESCHE E., ROEPKE RKA., HECKEROTH AR. The effect of water and shampooing on the efficacy of fluralaner spot-on solution against *Ixodes ricinus* and *Ctenocephalides felis* infestations in dogs. *Parasit. Vectors*. 2016, **9**, 233.
- TAN G., XU P., LAWSON LB., HE J., FREYTAG LC., CLEMENTS JD., et al. Hydration effects on skin microstructure as probed by high-resolution cryo-scanning electron microscopy and mechanistic implications to enhanced transcutaneous delivery of biomacromolecules. *J. Pharm. Sci.*. 2010, **99**, 730-740.
- Test t de Student pour échantillons appariés - RSTHDA - STHDA [En ligne] . s. d.,
[<http://www.sthda.com/french/rsthda/paired-t-test.php>] (consulté le 5/8/17).
- TOLL R., JACOBI U., RICHTER H., LADEMANN J., SCHAEFER H., BLUME-PEYTAU U. Penetration profile of microspheres in follicular targeting of terminal hair follicles. *J. Invest. Dermatol.*. 2004, **123**, 168-176.
- TORRI C., MANGONI A., TETA R., FATTORUSSO E., ALIBARDI L., FERMANI S., et al. Skin lipid structure controls water permeability in snake molts. *J. Struct. Biol.*. 2014, **185**, 99-106.
- TOUTAIN P-L., MODRIC S., BOUSQUET-MÉLOU A., SALLOVITZ JM., LANUSSE C. Should licking behavior be considered in the bioavailability evaluation of transdermal products?. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*. 2012, **35 Suppl 1**, 39-43.
- TREPANIER LA. Cytochrome P450 and Its Role in Veterinary Drug Interactions. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., Current Topics in Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2006, **36**, 975-985.
- TREPANIER LA., PETERSON ME., AUCOIN DP. Pharmacokinetics of intravenous and oral methimazole following single- and multiple-dose administration in normal cats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*. 1991, **14**, 367-373.
- U.S. Pharmacopeia National Formulary 2017: USP 40 NF 35* . 2016, book p.
- VITT L., CALDWELL J. *Herpetology An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, IVth edition. ed. 2014, 757 p.
- VIZSERÁLEK G., BERKÓ S., TÓTH G., BALOGH R., BUDAI-SZÚCS M., CSÁNYI E., et al. Permeability test for transdermal and local therapeutic patches using Skin PAMPA method. *Eur. J. Pharm. Sci.*. 2015, **76**, 165-172.
- WESTER R., MAIBACH H. Interrelationships in the Dose-Response of Percutaneous Absorption, in: *Percutaneous Absorption, Drugs and the Pharmaceutical Sciences*. 1989,. CRC Press, p. 331-359.
- WILHELM K-P., SURBER C., MAIBACH HI. Effect of Sodium Lauryl Sulfate-Induced Skin Irritation on In Vitro Percutaneous Absorption of Four Drugs. *J. Invest. Dermatol.*. 1990, **96**, 963-967.
- WILLIS-GOULET HS., SCHMIDT BA., NICKLIN CF., MARSELLA R., KUNKLE GA., TEBBETT IR. Comparison of serum dexamethasone concentrations in cats after oral or transdermal administration using pluronic lecithin organogel (PLO): a pilot study. *Vet. Dermatol.*. 2003, **14**, 83-89.
- YU M., YUE Z., WU P., WU D-Y., MAYER J-A., MEDINA M., et al. The developmental biology of feather follicles. *Int. J. Dev. Biol.*. 2004, **48**, 181-191.
- ZHANG Y., TAN F., JIA W., LI N., ZHANG J. Effect of Hydroxyl Groups and Rigid Structure in 1,4-Cyclohexanediol on Percutaneous Absorption of Metronidazole. *AAPS PharmSciTech*. 2014, **15**, 973-980.

ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ DES PLURONIC LECITHIN ORGANOGELES EN TANT QUE VÉHICULES DE PRINCIPES ACTIFS ADMINISTRÉS PAR VOIE TRANSCUTANÉE

NOM et Prénom : CHAIGNEAU Pierre

Résumé

La voie transcutanée représente une alternative d'intérêt majeur en médecine vétérinaire où la difficulté à utiliser la voie orale peut nuire à la bonne observance d'un traitement, ou à la qualité de la relation entre le maître et son animal. La peau des principaux animaux de compagnie, son rôle de barrière, et les modalités de l'absorption transcutanée sont présentés dans un premier temps. Au sein des véhicules développés pour contourner la barrière cutanée, les PLO gels suscitent un fort intérêt de par leur facilité de fabrication et leurs propriétés. Leur efficacité ne fait cependant pas l'unanimité. Parmi les dix-huit études réalisées pour les animaux, la moitié conclue favorablement quant à leur efficacité. Les travaux portant sur l'administration de PLO gels durant plusieurs jours mettent plus souvent en évidence leur efficacité que les études portant sur une unique application. Seul le méthimazole fait l'objet de plusieurs études concluant à une efficacité de son absorption. L'utilisation de PLO gel contenant du méthimazole peut être recommandée chez les animaux présentant des effets secondaires gastro-intestinaux, ou refusant la prise orale. Concernant les autres principes actifs, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si leur utilisation dans des PLO gels peut résulter en une absorption convenable.

Mots clés : MEDICAMENT VETERINAIRE - PRINCIPE ACTIF - TRAITEMENT - VOIE TRANSCUTANEE - EFFICACITE THERAPEUTIQUE - CHAT - CHIEN

Jury :

Président : Pr. De la faculté de médecine de Créteil

Directeur : Dr. Sébastien PERROT

Assesseur : Dr. Geneviève Marignac

THE EFFICACY OF PLURONIC LECITHIN ORGANOGELS FOR TRANSDERMAL TREATMENTS

SURNAME : CHAIGNEAU

Given name : Pierre

Summary

The transdermal route is an interesting alternative to the oral administration because its ease of use allows the owner to treat his animal regularly without having to force his animal to swallow his medicine, which can be difficult and affects his relationship with his pet. Animal skins of the main pet species, their barrier properties, and the route of transdermal absorption are described. New vehicles have emerged to facilitate the absorption of active principles across the skin. Among those, PLO gels have raised great interest due to their properties and ease of fabrication though their efficacy is not well recognized. Half of the eighteen studies done for animal species, shows satisfying absorption of active principle. Studies concerning repeated application of PLO gels shows better results than ones focusing on a single administration. The methimazole is the only active principle for which several studies showed a satisfying transdermal absorption. The use of PLO gels containing methimazole can be recommended as an alternative to oral administration for cats with gastro-intestinal side effects or refusing to comply. Further studies are needed to determine the efficacy of PLO gels for other active principles.

Keywords: VETERINARY DRUGS – ACTIVE PRINCIPLE - TREATMENT – TRANSDERMAL WAY- EFFICACY - CAT – DOG

Jury :

President : Pr. De la faculté de médecine de Créteil.

Director : Dr. Sebastien PERROT

Assessor : Dr. Geneviève Marniac