

Faculté de Pharmacie

Année 2022

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 12 avril 2022

Par

Robin CHAUTARD

Né le 14 janvier 1995 à Aurillac

Développement et évaluation d'une méthode de screening des médicaments antihypertenseurs dans l'urine par HPLC-MS/MS pour le suivi de l'observance et le diagnostic de la résistance au traitement.

Thèse dirigée par Pr. Pierre MARQUET, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Chef de Service de Pharmacologie-Toxicologie-Pharmacovigilance, CHU de Limoges

Examineurs :

M. Victor ABOYANS, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Chef de service du département de Cardiologie, CHU de Limoges

M. Roland LAWSON, Maître de conférences des Universités, INSERM U1248 P&T, Université de Limoges

M. Franck SAINT-MARCOUX, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Pharmacologie-Toxicologie-Pharmacovigilance, CHU de Limoges

M. Jean-Baptiste WOILLARD, Maître de conférences des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Pharmacologie-Toxicologie-Pharmacovigilance, CHU de Limoges



Faculté de Pharmacie

Année 2022

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 12 avril 2022

Par Robin CHAUTARD

Développement et évaluation d'une méthode de screening des médicaments antihypertenseurs dans l'urine par HPLC-MS/MS pour le suivi de l'observance et le diagnostic de la résistance au traitement.

Thèse dirigée par Pr. Pierre MARQUET, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Chef de Service de Pharmacologie-Toxicologie-Pharmacovigilance, CHU Dupuytren, Limoges

Examineurs :

M. Victor ABOYANS, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Chef de service du département de Cardiologie, CHU de Limoges

M. Roland LAWSON, Maître de conférences des Universités, INSERM U1248 P&T, Université de Limoges

M. Franck SAINT-MARCOUX, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Pharmacologie-Toxicologie-Pharmacovigilance, CHU de Limoges

M. Jean-Baptiste WOILLARD, Maître de conférences des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Pharmacologie-Toxicologie-Pharmacovigilance, CHU de Limoges



Liste des enseignants

Le 1^{er} septembre 2021

Doyen de la Faculté

Monsieur le Professeur COURTIOUX Bertrand

Vice-doyen de la Faculté

Monsieur LÉGER David, Maître de conférences

Assesseurs de la Faculté

Monsieur le Professeur BATTU Serge

Monsieur le Professeur PICARD Nicolas

Professeurs des Universités – Hospitalo-Universitaires

M. PICARD Nicolas	Pharmacologie
Mme ROGEZ Sylvie	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. SAINT-MARCOUX Franck	Toxicologie

Professeurs des Universités – Universitaires

M. BATTU Serge	Chimie analytique et bromatologie
M. CARDOT Philippe	Chimie analytique et bromatologie
M. COURTIOUX Bertrand	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. DESMOULIERE Alexis	Physiologie
M. DUROUX Jean-Luc	Biophysique et mathématiques
Mme FAGNÈRE Catherine	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. LIAGRE Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
Mme MAMBU Lengo	Pharmacognosie
M. TROUILLAS Patrick	Biophysique et mathématiques

Mme VIANA Marylène Pharmacie galénique

Maitres de Conférences des Universités – Hospitalo-Universitaires

M. BARRAUD Olivier (*) Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

Mme. CHAUZEIX Jasmine Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

M. JOST Jérémie Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

Maitres de Conférences des Universités – Universitaires

M. BASLY Jean-Philippe (*) Chimie analytique et bromatologie

Mme BEAUBRUN-GIRY Karine Pharmacie galénique

Mme BÉGAUD Gaëlle Chimie analytique et bromatologie

M. BILLET Fabrice Physiologie

M. CALLISTE Claude Biophysique et mathématiques

M. CHEMIN Guillaume Biochimie et biologie moléculaire

Mme CLÉDAT Dominique Chimie analytique et bromatologie

M. COMBY Francis Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

Mme COOK-MOREAU Jeanne Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

Mme DELEBASSÉE Sylvie Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

Mme DEMIOT Claire-Elise (*) Pharmacologie

M. FABRE Gabin Biophysique et mathématiques

M. FROISSARD Didier Botanique et cryptogamie

Mme JAMBUT Anne-Catherine (*) Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

M. LABROUSSE Pascal (*) Botanique et cryptogamie

Mme LAVERDET Betty Pharmacie galénique

M. LAWSON Roland	Pharmacologie
M. LÉGER David	Biochimie et biologie moléculaire
Mme MARRE-FOURNIER Françoise	Biochimie et biologie moléculaire
M. MERCIER Aurélien	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
Mme MILLOT Marion (*)	Pharmacognosie
Mme PASCAUD-MATHIEU Patricia	Pharmacie galénique
Mme POUGET Christelle (*)	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. TOUBLET François-Xavier	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. VIGNOLES Philippe (*)	Biophysique et mathématiques

(*) Titulaire de l'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR)

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche

Mme AUDITEAU Émilie Épidémiologie, statistique, santé publique

Enseignants d'anglais

M. HEGARTY Andrew Chargé de cours

Mme VERCELLIN Karen Professeur certifié

Remerciements

Pr Pierre MARQUET, je vous fais part de ma plus grande gratitude, je vous remercie de m'avoir proposé ce projet de thèse et de m'avoir accordé votre confiance, sur ce projet, mais aussi pendant mon passage dans votre service.

Pr Victor ABOYANS, je vous remercie sincèrement d'avoir bien voulu faire partie de mon jury, je suis honoré de l'intérêt que vous avez bien voulu accorder à ce travail.

Pr Franck SAINT MARCOUX, je vous remercie chaleureusement d'avoir bien voulu présider ce jury, que ce travail soit également le moyen de vous remercier pour votre présence durant mon stage.

Dr Rolland LAWSON, je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans ce jury et de l'intérêt que vous y accordez.

Dr Jean-Baptiste WOILARD, je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans ce jury, je n'oublierai pas votre passion lors de vos enseignements.

Je remercie tout le service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance du CHU de Limoges qui m'a accueilli pendant ces 7 mois d'internat, que ce soit les praticiens hospitaliers, les ingénieurs, les techniciens, les secrétaires et tous ceux qui ne rentrent pas dans ces cases, ainsi que l'UF de recherche clinique. Une mention spéciale est apportée à Sylvain DULAURENT, sans qui la méthode n'aurait pu avancer, ainsi qu'à toutes les personnes investies dans ce projet (internes, externes, stagiaires).

Je tiens aussi à remercier les services qui m'ont accueilli pendant ce travail de thèse et qui m'ont permis d'avancer malgré mes obligations. Dans l'ordre, le service d'hématologie de Limoges, le service de biologie polyvalente de Guéret, le service d'hématologie de Bordeaux Pellegrin.

A mes co-internes, dans l'ordre, de biochimie, de BVH, de pharmaco, d'hémato et de Bordeaux, sans oublier les chefs, assistants techniciens, agents et j'en passe, merci d'avoir partagé cet internat avec moi. J'espère vous avoir fait rire, pas trop pleurer, vous avoir appris au moins autant le quart du douzième que ce que vous m'avez enseigné.

A vous,

quand c'était la galère pour venir sur Limoges, vous avez toujours été présents pour m'accueillir - nous accueillir - car je ne venais jamais seul.

A vous,

mes amis, les clermontois, les limougeauds et tous les autres, vous partagez ma vie depuis quelques années maintenant et êtes les artisans de mon bonheur. De grandes fêtes sont à venir, c'est avec vous que je veux les vivre.

A vous,

ma belle-famille, merci pour votre soutien depuis toutes ces belles années, je suis heureux de vous avoir près de moi.

A vous,

ma famille, vous m'avez toujours soutenu et le ferai toujours. Si j'en suis là c'est grâce à vous et je vous en remercie, je vous dédie ce travail.

A toi,

mon unique, sans toi je n'aurai jamais pu. Je t'aime.

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Table des matières

Introduction	15
I. Hypertension artérielle.....	16
I.1. Définition.....	16
I.2. Symptômes.....	16
I.3. Physiopathologie.....	16
I.3.1. Pression artérielle.....	16
I.3.2. Phénomènes de régulation.....	19
I.3.3. Hypertension artérielle secondaire	21
I.3.4. Hypertension artérielle primaire	24
I.4. Complications	24
I.5. Stratégie diagnostique	25
I.5.1. Mesure tensionnelle	25
I.5.2. Examens complémentaires	27
I.5.3. Calcul du risque cardiovasculaire	27
I.6. Traitements.....	29
I.6.1. Traitements non-médicamenteux	29
I.6.2. Traitements médicamenteux	29
I.6.2.1. Les diurétiques.....	29
I.6.2.2. Les bêta-bloquants.....	30
I.6.2.3. Les inhibiteurs calciques	31
I.6.2.4. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone	32
I.6.2.5. Stratégie thérapeutique	37
I.7. Épidémiologie	38
I.8. Hypertension artérielle résistante	39
II. Observance	41
II.1. Définition.....	41
II.2. Facteurs influençant l'adhésion thérapeutique	41
II.3. Quelques chiffres	42
II.4. Bénéfices attendus	43
II.5. Méthodes d'amélioration de l'observance	44
II.6. Mesure.....	45
II.6.1. Évaluation indirecte	45
II.6.2. Évaluation directe.....	47
II.7. État des lieux du suivi thérapeutique pharmacologique en France	48
III. Matériels et méthodes	49
III.1. Sélection des molécules antihypertensives utilisées en France.....	49
III.1.1. Recherche des caractéristiques pharmacocinétiques pertinentes.....	50
III.1.1.1. L'absorption	51
III.1.1.2. La distribution.....	51
III.1.1.3. La métabolisation	51
III.1.1.4. L'élimination	52
III.1.1.5. Recueil des paramètres pharmacocinétiques	52
III.1.2. Etalons internes.....	52
III.2. Spectrométrie de masse	53
III.2.1. Optimisation des conditions d'ionisation et de fragmentation	54

III.2.2. Optimisation de la chromatographie	58
III.2.3. Optimisation de l'extraction.....	61
III.2.4. Etude clinique.....	62
IV. Résultats.....	64
IV.1. Sélection des molécules antihypertensives en France.....	64
IV.2. Optimisation des rapports m/z	71
IV.3. Optimisation de la chromatographie	73
IV.3.1. Choix de la colonne.....	73
IV.3.2. Choix du gradient.....	76
IV.3.3. Choix de la pression.....	77
IV.4. Optimisation de l'extraction.....	78
IV.5. Résultats globaux.....	78
IV.6. Résultats de l'étude clinique	81
V. Discussion	84
Conclusion	93
Références bibliographiques	94
Serment De Galien.....	103

Table des illustrations

Figure 1. Évolution de la pression artérielle dans la circulation systémique.	17
Figure 2. Les deux temps, systoliques (A) et diastolique (B) de l' effet Windkessel.(2)	18
Figure 3. Sphygmomanomètre	25
Figure 4 Illustration de la mesure de pression artérielle	26
Figure 5. Schéma d'association médicamenteuse pour l'HTA (9).....	38
Figure 6. Arbre décisionnel de l'HTA résistante (13).....	39
Figure 7. Recommandations thérapeutiques pour le spécialiste de l'HTA (13)	40
Figure 8. Coûts estimés des complications par pathologie (en millions d'euros) par an, d'après l'étude du CRIP en 2014.....	43
Figure 9. Processus de retraitement de l'extraction Thériaque pour l'évaluation du nombre de molécules antihypertensives et leur volume de vente en officine pour l'année 2018.....	49
Figure 10 Illustration de la différence entre deux isotopes de l'hydrogène	53
Figure 11. Schéma de préparation des échantillons avant séparation par chromatographie liquide et détection par spectrométrie de masse.....	53
Figure 12. Schéma du mode Scan en SM pour le perindoprilat.	55
Figure 13.Schéma du mode PIS en SM pour le perindoprilat.	56
Figure 14. Spectre de masse de l'altizide montrant la présence d'un isotope du chlore.....	57
Figure 15. Photo d'une colonne chromatographique à l'échelle 1:1.	59
Figure 16. Gradients utilisés pour les tests de chromatographie à 200 µl/min.	60
Figure 17. Schéma de recueil clinique des échantillons.....	62
Figure 18. Présentation des résultats de chromatographie en fonction des différentes colonnes testées, avec le gradient 2-98.....	74
Figure 19. Pics chromatographiques de l'aténolol en fonction de la phase de reprise.	75
Figure 20. Variations des TR en fonction du gradient utilisé avec la colonne C18.	76
Figure 21. Variations des TR en fonction du débit utilisé avec la colonne AQ-C18.	77
Figure 22. Chromatogramme de toutes les molécules contenues dans un standard à une concentration de 50 µg/l en mode d'ionisation positive.	79

Table des tableaux

Tableau 1. Signes et symptômes suggérant une hypertension artérielle secondaire, ainsi que leurs moyens diagnostics.	22
Tableau 2. Exemples de molécules élevant la pression artérielle.	23
Tableau 3. Évaluation du risque cardiovasculaire global en fonction des facteurs de risque et du seuil de l'hypertension.	28
Tableau 4. Structures des molécules utilisées dans le traitement de l'HTA.	33
Tableau 5. Questionnaire de Morisky à 8-items, validé en version française.	45
Tableau 6. Autoquestionnaire de Girerd.	46
Tableau 7 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des antagonistes de l'angiotensine II.	64
Tableau 8 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des bêtabloquants.	64
Tableau 9 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des diurétiques.	65
Tableau 10 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des inhibiteurs calciques.	65
Tableau 11 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des inhibiteurs de l'enzyme de conversion.	65
Tableau 12 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des autres familles de molécules anti-hypertensives.	66
Tableau 13 : Données pharmacocinétiques pertinentes pour les molécules anti-hypertensives sélectionnées.	67
Tableau 14. Résumé des molécules recherchées après optimisation pharmacocinétique.	69
Tableau 15. Rapports m/z sélectionnés pour les différentes molécules analysées.	71
Tableau 16. Récapitulatif des molécules suivant leur temps de rétention (TR), leur mode d'ionisation, et la masse de l'ion parent.	79
Tableau 17. Données démographiques des patients de l'étude clinique.	81
Tableau 18. Fréquence de demande de biochimie urinaire en fonction du service prescripteur.	81
Tableau 19. Nombre de patients en fonction du nombre de molécules antihypertensives prescrites.	82
Tableau 20. Fréquence des molécules antihypertensives prescrites.	82
Tableau 21. Recueil des propriétés de différentes techniques présentées dans la littérature pour l'analyse des traitements antihypertenseurs.	85

Tableau 22. Concentrations urinaires (CU) théoriques des principaux médicaments anti-hypertenseurs en fonction de la dose journalière minimale et de la fraction d'excrétion urinaire.	87
Tableau 23. Comparaison des molécules antihypertensives prescrites dans l'étude clinique avec leur volume de vente en officine en 2018.	90
Tableau 24. Médicaments utilisés dans l'insuffisance cardiaque recherchés par la méthode de screening urinaire des médicaments antihypertenseurs.	92

Introduction

L'hypertension artérielle est une maladie le plus souvent asymptomatique et silencieuse dans ses débuts. Il faut majoritairement attendre un contrôle tensionnel de routine ou fortuit pour la mettre en évidence. Cette pathologie touche un adulte sur trois en France et seulement 55 % des patients traités retrouvent des chiffres tensionnels normaux.

Quand l'hypertension est compliquée, c'est-à-dire qu'elle est installée de manière durable, elle entraîne des comorbidités et des symptômes plus visibles apparaissent. C'est pour cela qu'il est nécessaire de mettre en place des traitements médicamenteux accompagnés de mesures hygiéno-diététiques. Une mono ou une bithérapie à doses fixes est recommandée en première ligne thérapeutique et de nouvelles lignes médicamenteuses peuvent être ajoutées en fonction du contrôle tensionnel, jusqu'à quatre médicaments antihypertenseurs pour certains patients.

Les patients ayant encore un mauvais contrôle tensionnel malgré un traitement jugé suffisant, peuvent être classés comme ayant une hypertension artérielle résistante. Pour ce faire, le clinicien doit s'assurer de la bonne observance du traitement par le patient. En effet, si le traitement est bien prescrit mais qu'il n'est pas suffisamment respecté, un effort doit être fait sur l'adhésion thérapeutique, plutôt que de multiplier les classes médicamenteuses.

C'est dans ce cadre-là qu'il a été jugé nécessaire de développer une méthode de screening des différentes molécules antihypertensives dans les urines par HPLC-MS/MS pour évaluer l'observance du patient hypertendu.

I. Hypertension artérielle

I.1. Définition

« L'hypertension artérielle est définie de manière consensuelle comme une pression artérielle $\geq 140/90$ mmHg mesurée en consultation et persistant dans le temps. » (1)

I.2. Symptômes

L'hypertension artérielle est une maladie le plus souvent asymptomatique et silencieuse dans ses débuts. Il faut majoritairement attendre un contrôle tensionnel de routine ou fortuit pour la mettre en évidence. Cependant, quelques signes non spécifiques peuvent orienter le diagnostic, sans pour autant l'affirmer. En effet, des maux de têtes à l'arrière du crâne (région occipitale), le matin et ne cédant pas aux antalgiques de palier 1, pouvant être battants et cédants au décours de la matinée ou des saignements de nez (épistaxis) sans raison apparente ou même une fatigabilité, une nervosité, ainsi qu'une insomnie peuvent être retrouvées.

Quand l'hypertension est compliquée, c'est-à-dire qu'elle est installée de manière durable, des détériorations au niveau d'organes se développent et des symptômes plus visibles apparaissent. Une asthénie, des rougeurs du visage, des céphalées, des vertiges et de l'irritabilité en sont les principaux symptômes physiques apparents, associés à des symptômes cardiovasculaires, rénaux, neurologiques et rétinien mis en évidence lors d'examens complémentaires. À ce titre, il est important de mettre en évidence les critères diagnostics évoqués ci-après et de ne pas le faire uniquement sur ces symptômes non spécifiques. Le lien de cause à effet entre l'hypertension artérielle primaire et ces évocations cliniques n'est pas clairement admis au vu des diagnostics différentiels possibles.

La mise en évidence d'une hypertension artérielle au cabinet, au lit du patient, à domicile par le patient lui-même n'est pas une urgence thérapeutique. À ne pas confondre avec les urgences hypertensives qui doivent être rapidement pris en charge. Celles-ci se caractérisent par une hypertension artérielle importante, rapide chez un patient habituellement normotendu et avec une atteinte organique aiguë. Il y a une mise en jeu du pronostic vital.

I.3. Physiopathologie

Il est important de comprendre le rôle et les mécanismes de régulation de la pression artérielle dans le bon fonctionnement des organes avant d'exposer la physiopathologie de l'hypertension artérielle.

I.3.1. Pression artérielle

Le cœur est une pompe musculaire qui permet d'amener le sang oxygéné vers les organes périphériques via les vaisseaux sanguins. Chaque battement cardiaque propulse le sang dans les artères, ce qui produit une force sur celles-ci : la pression artérielle. Elle permet le maintien des parois du système artériel distendu et l'écoulement du sang pour une perfusion efficace des organes

La pression est une force exercée sur une surface (des newtons par mètre carré dans le système international). C'est la pression intravasculaire. Pour la mesurer directement, il faut être à l'intérieur du vaisseau, c'est la pression artérielle sanglante, qui se mesure, par exemple, à l'aide d'un détecteur placé directement dans l'artère radiale.

La mesure indirecte est réalisée à l'aide d'un tensiomètre ou sphygmomanomètre. Il permet la mesure de la pression du sang exercée sur les vaisseaux. Cette force exercée génère une tension de la paroi élastique des vaisseaux. Il y a donc un autre paramètre pris en compte dans la mesure : l'élasticité des vaisseaux (voir ci-après Loi de Poiseuille).

Aucune différence ne sera faite par la suite entre tension et pression artérielle.

Il existe deux compartiments vasculaires en fonction de la pression régnant à l'intérieur des vaisseaux : une circulation à haute pression (système résistif) et une autre à basse pression (système capacitif). Ceci est illustré par la Figure 1 montrant l'évolution de la pression artérielle dans la circulation systémique en fonction de la localisation du vaisseau sanguin.

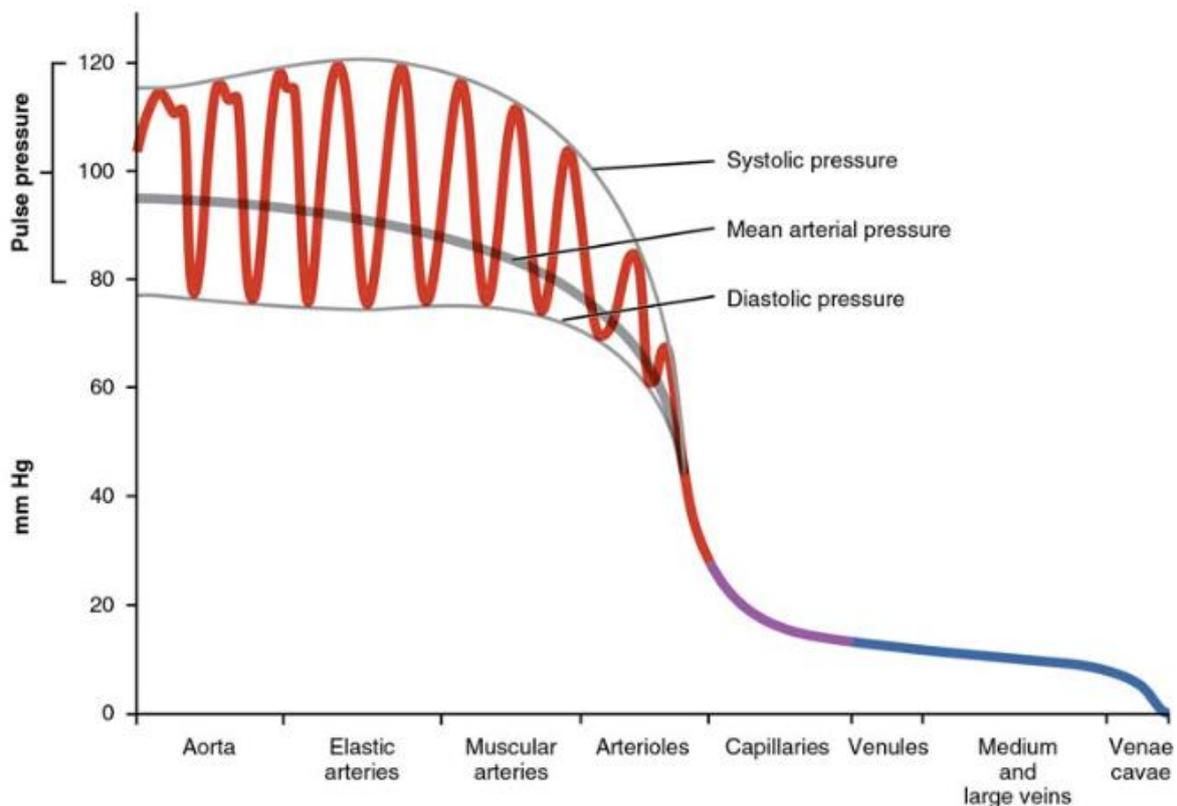


Figure 1. Évolution de la pression artérielle dans la circulation systémique.¹

Les pressions (et non pas la pression car la pompe cardiaque est une pompe discontinue) sont les plus fortes dans l'aorte, soit au plus proche du cœur, avec des valeurs moyennes d'environ 90 mmHg (« mean arterial pressure »). Elles diminuent ensuite jusqu'à atteindre les capillaires dans les organes avec une pression moyenne de 15 à 20 mmHg, pour finir dans les veinules avec une pression de l'ordre de 5 mmHg et devient presque nulle dans les plus grosses veines de l'organisme.

La pression maximale est la pression systolique (« systolic pressure ») qui a lieu lors de l'éjection systolique, phase de contraction dans le cycle cardiaque. Elle est voisine de 120

¹ <https://courses.lumenlearning.com/suny-ap2/chapter/blood-flow-blood-pressure-and-resistance-no-content/>

mmHg pour l'adulte moyen au repos. C'est le nombre le plus élevé dans la mesure de la tension. Elle renseigne principalement sur la force de contraction du ventricule gauche.

La pression minimale est la pression diastolique (« diastolic pressure ») qui a lieu lors de la phase de repos dans le cycle cardiaque. Elle est voisine de 80 mmHg. C'est le nombre le plus faible dans la mesure de la tension. Elle renseigne principalement sur les résistances périphériques des artéioles.

La différence entre ces deux pressions est la pression différentielle ou pression pulsée (« pulse pressure »). Elle est de l'ordre de 40 à 50 mmHg. Elle reflète la rigidité artérielle (gros et moyen diamètre). Elle augmente quand le cœur ralentit et diminue quand il accélère, elle est aussi fonction de l'âge.

La Figure 1 illustre un autre phénomène : la perte de la perfusion cyclique au profit d'un débit continu, illustrée par une pression différentielle nulle en aval des artéioles. Le sang transporte l'oxygène aux organes via les globules rouges et un rendement optimal en oxygène est nécessaire. Ceci est obtenu grâce à cette perfusion continue, obtenue à partir de l'aorte thoracique et ses propriétés viscoélastiques par « effet Windkessel ». Décrit par Otto Frank pour la première fois en 1899, c'est littéralement l'« effet chambre à air ». Schématiquement, c'est l'aboutement d'une pompe alternative (le cœur) avec un tuyau élastique (les artères). Une fraction de la pression du liquide est directement orientée vers l'extrémité du tuyau (les organes). L'autre est stockée par l'évasement du tuyau. Elle sera restituée pendant la phase de repos du cycle et le retour dans l'état initial. Ceci réalise la perfusion systolique et diastolique illustrée par la Figure 2.

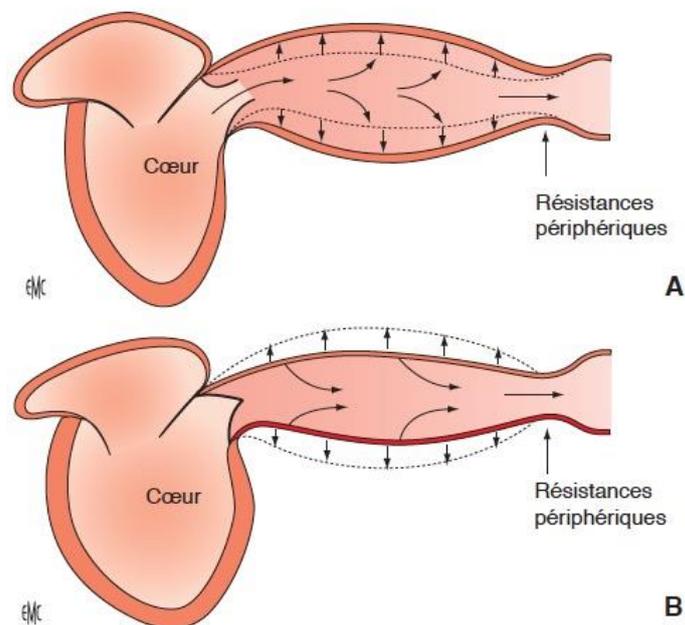


Figure 2. Les deux temps, systoliques (A) et diastolique (B) de l'effet Windkessel.(2)

Il y a la création d'un débit continu à partir d'un débit discontinu pulsé, ce phénomène est un amortissement de la pression différentielle. L'effet Windkessel permet de comprendre pourquoi la pression systolique renseigne sur la force de contraction du ventricule gauche. Cela permet aussi de mieux comprendre pourquoi la pression diastolique renseigne sur les résistances périphériques. Des artères moins élastiques se déforment moins lors de la systole,

emmagasinent moins de force élastique et restituent moins de sang aux organes, ceci entraînant une hyperpulsatilité.

Sans entrer dans des considérations trop techniques, la circulation sanguine répond aux lois de la dynamique des fluides selon le modèle laminaire. Effectivement, en situation basale, le sang est un liquide visqueux avec un écoulement laminaire. Mais lors d'une effraction d'un vaisseau par exemple, il suit un écoulement turbulent beaucoup plus complexe à étudier.

- La première considération est l'équation de continuité qui énonce simplement que le débit est constant, ce qui signifie que lors d'une diminution du diamètre du tuyau (les vaisseaux) la vitesse augmente.
- La deuxième considération est le théorème de Bernouilli, qui énonce que lorsque la vitesse est grande, la pression exercée sur le milieu est faible (c'est cette dépression qui fait voler les avions par exemple).
- La dernière considération est la loi de Poiseuille-Hagen.

$$Q = \frac{\Delta p \cdot \pi \cdot R^4}{8\eta \cdot l}$$

Où Q est le débit ; Δp le différentiel de pression ; R le rayon du tube ; η la viscosité du fluide et l la longueur du tube.

Il y a donc une influence importante du rayon du tube sur le débit, une augmentation de 20% double le débit. La longueur du tube est aussi à prendre en considération, puisque plus le tube est long, plus le débit diminue à sa sortie. La viscosité du sang dépend de sa concentration en protéines et des globules rouges. La loi de Poiseuille-Hagen détermine les résistances périphériques.

1.3.2. Phénomènes de régulation

L'organisme a besoin de contrôler finement la pression artérielle pour une perfusion optimale des organes périphériques en fonction des conditions environnementales.

Pour ce faire il s'appuie sur des mécanismes nerveux, chimiques, rénaux et mécaniques. Ils peuvent être catégorisés en mécanismes à court terme, touchant les résistances périphériques et le rythme cardiaque, et à long terme portant essentiellement sur la volémie.

Une régulation fine du diamètre des artéoles permet de réguler efficacement le débit apporté aux organes. La plupart de celles-ci sont innervées par le système nerveux sympathique et le tonus myogène de la paroi est entretenu par une décharge continue de noradrénaline. Ceci entraîne une contraction ou une relaxation des cellules musculaires lisses. Les récepteurs impliqués sont les récepteurs α -adrénergiques et β_2 -adrénergiques, dont la stimulation induit respectivement la contraction et la dilatation des vaisseaux. Les α -adrénergiques étant plus nombreux, ils guident l'état vasculaire. La décharge continue de noradrénaline est sous la direction d'un tonus réflexe des barorécepteurs (sinocarotidiens, aortiques et cardiopulmonaires). Ils sont sensibles à l'étirement de la paroi des vaisseaux. Plus celle-ci augmente plus la production de potentiels d'action inhibiteurs du tonus sympathique et stimulateur du tonus vagal augmente. Ils sont extrêmement rapides (2 battements cardiaques). Le tonus vagal agit via l'intermédiaire de l'acétylcholine diminuant la fréquence cardiaque, agissant en synergie avec la perte du tonus sympathique via les récepteurs β_1 -adrénergiques

cardiaques. Une stimulation des barorécepteurs entraîne donc une bradycardie, une vasodilatation, une dilation veineuse et une diminution du débit cardiaque. Ces mécanismes de régulation utilisent au mieux les lois physiques énoncées précédemment. Une très faible variation de diamètre entraîne un gros changement de pression artérielle.

Ce phénomène existe aussi via des chémorécepteurs sensibles à l'acidité sanguine, à la concentration en dioxyde de carbone (CO_2). Le CO_2 (mesuré via la pression partielle en dioxyde de carbone : la PCO_2) est le métabolite final de nombreuses substances carbonées en présence de dioxygène, une augmentation de sa concentration objective une forte consommation en dioxygène. Il y a donc mise en place des systèmes d'augmentation de la pression artérielle (augmentation du débit cardiaque, de la fréquence cardiaque et vasoconstriction). C'est l'inverse lors d'une faible PCO_2 . C'est ce phénomène qui est observé lors de l'hyperventilation et la syncope qui s'ensuit.

D'autres mécanismes entrent en jeu au niveau de la régulation locale de la pression artérielle.

Malgré les fluctuations de pression artérielle, les tissus reçoivent un débit sanguin capillaire constant dans le temps. Cette régulation fine se fait par le biais du réflexe myogène. C'est une régulation artériolaire des muscles lisses vasculaires qui régulent leur propre état de contraction. Une augmentation de la pression artérielle engendre une augmentation de l'étirement des fibres musculaires lisses, ce qui a pour effet d'augmenter leur tonus et donc entraîne une contraction. Cette contraction réflexe repose sur l'influx important de Ca^{2+} dans les fibres musculaires via l'ouverture des canaux calcium dépendants. Cette contraction a pour effet de diminuer le débit sanguin en aval. Ces fibres réagissent aussi à l'inverse, une diminution du débit sanguin provoque donc une diminution de leur contraction et donc une augmentation du débit sanguin local.

Un certain nombre de substances sont libérées localement en périphérie pour contrôler au mieux le débit sanguin et principalement l'apport en dioxygène à l'organe. Un besoin métabolique aérobique intense conduit à une diminution de la teneur en O_2 sanguine et une augmentation en CO_2 . Ces deux modifications entraînent une vasodilatation apportant ainsi plus d' O_2 et favorisant l'élimination des déchets, dont le CO_2 . C'est donc l'inverse de la régulation par les chémorécepteurs centraux. On retrouve aussi d'autres substances comme l'adénosine, les kinines et l'histamine. Toutes sont des substances vasodilatatrices. En revanche, la sérotonine libérée par les plaquettes lors de leur activation au contact d'une brèche vasculaire, permet une vasoconstriction de protection.

Les cellules endothéliales, principale composant des vaisseaux sanguins de l'organisme jouent un rôle majeur dans la régulation locale du débit sanguin. Elles peuvent répondre aux modifications du débit sanguin local, à l'étirement, aux médiateurs locaux et hormonaux, mais aussi inflammatoires. Le facteur le plus important produit par les cellules endothéliales est le monoxyde d'azote (NO). Il est synthétisé en permanence via l'action de la NO synthase constitutive qui peut être activée en quelques secondes par le complexe Ca^{++} -calmoduline. Un médiateur local augmentant la concentration intracellulaire de Ca^{++} augmente donc la production de NO, puissant vasodilatateur. Sa demi-vie plasmatique de quelques secondes ne lui permet pas d'être utilisé comme traitement dans l'hypertension chronique, mais il est toutefois utilisé dans la crise d'angor, qui nécessite une vasodilatation importante et rapide des artères coronaires, mais également des grosses veines et des artérioles périphériques.

Au contraire, d'autres médiateurs agissent sur la vasoconstriction locale. C'est le cas de l'endothéline I, dont la libération est induite par l'anoxie prolongée et différents produits

d'oxydation contenus dans les LDL-oxydés. Des antagonistes des récepteurs à l'endothéline sont utilisés dans le cas de l'hypertension artérielle pulmonaire, mais pas dans l'hypertension artérielle essentielle.

En plus de leur action au niveau local, les hormones régulent le débit sanguin, une dérégulation de leur libération entraîne une augmentation non contrôlée de la pression artérielle. L'adrénaline circulante est libérée lors d'un stress par la médullosurrénale, elle agit sur les récepteurs α -adrénergiques et β_2 -adrénergiques. Les récepteurs α -adrénergiques des vaisseaux provoquent une vasoconstriction. La vasopressine (ou ADH pour antidiurétique hormone en anglais) est libérée par l'hypothalamus. Elle exerce une vasoconstriction mais aussi une augmentation de la volémie par réabsorption de sodium par le néphron. La dernière hormone importante est l'angiotensine II, qui induit une vasoconstriction intense de l'artériole efférente rénale, une diminution de la perméabilité des vaisseaux et une augmentation de la sécrétion des deux hormones précédentes. L'angiotensine II est la pierre angulaire d'un système plus complexe : le système rénine-angiotensine-aldostérone.

Le système rénine-angiotensine-aldostérone agit sur la régulation à long terme de la pression artérielle. La rénine est une enzyme protéolytique (c'est-à-dire permettant la division d'une protéine). Elle transforme l'angiotensinogène (étymologiquement « celui qui génère l'angiotensine »), un peptide de 33 acides aminés de long, en angiotensine I, un peptide de 10 acides aminés. La rénine est produite dans les cellules de l'appareil juxta-glomérulaire du rein et stockée dans les granules de l'artériole afférente, l'angiotensinogène est produite par le foie. La rénine est sécrétée selon différents stimuli : diminution du débit de sodium dans la lumière du tubule distal, diminution de volémie mise en évidence par des barorécepteurs dans l'artériole afférente, stimulation des récepteurs β_1 -adrénergiques ou rétrocontrôle négatif par l'angiotensine II.

L'angiotensine I, dépourvue d'action physiologique, est clivée en angiotensine II, un octapeptide, par l'enzyme de conversion (ECA) présente dans tous les tissus mais plus particulièrement à la surface des cellules de l'endothélium pulmonaire. Celle-ci entraîne une augmentation de sécrétion d'aldostérone et une vasoconstriction par activation de ses récepteurs AT1. De plus, elle stimule la réabsorption de sodium et d'eau par le tubule proximal rénal, ayant donc un rôle important sur l'augmentation de la volémie. L'enzyme de conversion active la dégradation de la bradykinine vasodilatatrice, elle a donc un double rôle dans la vasoconstriction. L'enzyme de conversion a par ailleurs d'autres produits (angiotensine III, IV etc...) ayant d'autres actions physiologiques proches, non évoquées ici.

Enfin, le dernier membre de ce système est l'aldostérone. L'angiotensine II stimule la production de cette hormone dite minéralo-corticoïde par le cortex surrénalien. Elle a pour effet principal une réabsorption de sodium et d'eau par le tube rénal collecteur et permet une excrétion de potassium et des ions H^+ .(3)

Enfin, les cavités cardiaques participent à la régulation de la pression artérielle. La sécrétion des peptides natriurétiques (ANP et BNP) est mise en jeu quand les atriums et ventricules sont distendus ou en cas d'excès de sodium. Ils ont un effet anti ADH et anti-aldostérone. De plus, ils augmentent la perméabilité des vaisseaux à l'eau.

I.3.3. Hypertension artérielle secondaire

L'hypertension artérielle secondaire est une hypertension conséquence d'une affection primaire. Elle touche entre 5 et 15 % des patients hypertendus selon les sources. A la

différence de l'hypertension primaire, une hypertension secondaire peut diminuer lors du traitement de la cause primaire.(4)

Lors de la découverte d'une hypertension artérielle pour la première fois chez le praticien, il est important de garder à l'esprit la possibilité d'une hypertension artérielle secondaire. La partie exploration de l'hypertension artérielle développée ci-après (paragraphe I.5.2) concerne l'hypertension artérielle essentielle.

L'Hypertension artérielle secondaire doit être suspectée et explorée si :

- HTA sévère (PAS > 180 ou PAD > 110 mmHg) d'emblée,
- HTA avant l'âge de 30 ans, sans autre comorbidité
- HTA avec hypokaliémie
- Augmentation brutale chez un patient normo-tendu habituellement
- Début avant la puberté
- HTA maligne résistante aux traitements
- Autres situations cliniques évocatrices d'une HTA secondaire (voir Tableau 1),

Il est recommandé d'avoir recours à un avis spécialisé pour réaliser un complément d'explorations (dosages hormonaux, échodoppler des artères rénales, angio-TDM abdominale, etc.).

Tableau 1. Signes et symptômes suggérant une hypertension artérielle secondaire, ainsi que leurs moyens diagnostics.²

Symptômes	Cause possible	Test diagnostic
Augmentation de la concentration de créatinine sérique d'au moins 50% après l'amorce d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou bloqueur des récepteurs de l'angiotensine Hypertension modérée à sévère et petit rein unilatéral Œdème pulmonaire récurrent et soudain Bruit rénal	Sténose artère rénale	Imagerie : échographie, scanner, IRM ...
Créatinine plasmatique élevée Protéinurie	Maladie rénale	Estimation du débit de filtration rénale Échographie rénale
Hypokaliémie	Hyperaldostéronisme primaire	Dosage concentration rénine et aldostérone
Épisodes d'apnée durant le sommeil Somnolence diurne Ronflement	Syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil	Étude du sommeil Polysomnographie

² Tableau issu et traduit de (4)

Flushing Maux de tête Tension artérielle intermittente Hypotension orthostatique Palpitations Transpiration Syncope	Phéochromocytome	Dosage méthoxyamines libres urinaires
Différence de pression artérielle systolique entre le bras et la jambe > 20 mm Hg Pouls fémoral retardé ou absent Murmure	Coarctation aortique	Imagerie : IRM, Angiographie voire échocardiographie trans thoracique
Bosse de bison Obésité abdominale Faciès lunaire Vergetures	Syndrome de Cushing	Test de freinage à la dexaméthasone Cortisolurie des 24h
Brady/tachycardie Intolérance froid/chaud Constipation/diarrhée Désordres menstruels	Désordres thyroïdiens	Hormone thyroïdienne et bilan thyroïdien

Une cause iatrogène est aussi possible et doit être suspectée chez tout patient déjà traité pour une autre pathologie, suspecté de prendre des substances illicites ou d'avoir une consommation importante de plantes pharmacologiquement actives.

Tableau 2. Exemples de molécules élevant la pression artérielle.

Classe pharmacologique	Spécialités
Anti-infectieux	Kétoconazole
Anti-inflammatoire	Inhibiteurs de la cyclooxygénase-2, anti-inflammatoire non stéroïdien
Chimiothérapie	Inhibiteurs du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
Drogues illicites	Amphétamines, cocaïne
Plantes	Éphédra, ginseng, ma huang, réglisse
Immunosuppresseurs	Cyclosporine, sirolimus, tacrolimus
Antidépresseurs, médicaments à visée psychiatrique	Buspirone, carbamazépine, clozapine, lithium, monoamine oxydase, inhibiteurs de recapture de la sérotonine-noradrénaline, tricycliques
Hormones sexuelles	Œstrogènes et progestérone dans les contraceptifs oraux ; androgènes
Corticostéroïdes	Méthylprednisolone, prednisone
Sympathomimétiques	Décongestionnants, pilules de régime

Enfin, si aucune des situations évoquées précédemment n'est retrouvée, le clinicien peut évoquer une hypertension artérielle essentielle, ou primaire.

I.3.4. Hypertension artérielle primaire

La physiologie de la pression artérielle met en jeu des systèmes de régulations fins et coordonnés. De ce fait une dérégulation d'un de ces paramètres peut entraîner de grandes conséquences.

L'HTA primaire ou essentielle est l'interaction de plusieurs facteurs, 1/3 d'origine génétique et 2/3 d'origine environnementale.

S'il n'y a pas encore de causes clairement démontrées, chez le sujet âgé, une rigidité artérielle augmentée avec des modifications de structure de la paroi aortique et des calcifications artérielles apparaissent. Elle est presque constamment associée à une sensibilité accrue au sodium et à une dysfonction endothéliale.

L'hypertension artérielle essentielle fait suite à un dérèglement des systèmes de contrôles de la pression artérielle, par exemple :

- Rétention du sodium au niveau rénal
- Déficit en facteurs hypotenseurs
- Hyperactivité du système sympathique
- Dérèglement du système rénine angiotensine aldostérone

Ces dérèglements apparaissent sur des terrains génétiquement fragilisés par l'environnement. Effectivement, un hypertendu sur deux présente des terrains familiaux. Un excès de sel, de graisses et d'alcool augmente la pression artérielle de 10 mmHg.

De plus, les mécanismes de régulation à court terme provoquent des déstabilisations à long terme des organes. Des facteurs de croissance (IGF-1, TGF- β) sont synthétisés en réponse aux agressions mécaniques dues aux fortes pressions, ce sont les altérations morphologiques. Ceci occasionne des remodelages vasculaires néfastes accroissant d'autant plus l'HTA. Une perte de sensibilité et de réactivité aux médiateurs sanguins est enfin mise en évidence, ce sont les altérations fonctionnelles.

I.4. Complications

Lors de l'hypertension artérielle primaire, les systèmes de régulation des résistances périphériques sont défaillants. On observe alors une compensation délétère par le myocarde. De ce fait, une hypertrophie myocardique ainsi qu'une dépense énergétique plus importante entraînent une diminution de l'espérance de vie ainsi que l'apparition de complications.

L'HTA favorise l'athérogénèse avec un risque d'accident vasculaire cérébral accru. Une crise hypertensive entraîne, de plus, des symptômes neurologiques. Des convulsions et une hémorragie cérébrale massive peuvent être observées dans certains cas. Des symptômes neurosensoriels apparaissent aussi, avec en première ligne, la rétinopathie hypertensive et la démence vasculaire.

Lors de l'HTA, le rein est soumis à de fortes pressions, ainsi qu'à un épaississement des artérolas provoquant une sclérose de celles-ci. Cet effet entraîne une insuffisance rénale par diminution du débit de filtration glomérulaire : la néphro-angiosclérose.

L'épaississement et la perte d'élasticité des vaisseaux augmentent les résistances périphériques. A long terme, l'augmentation de la post-charge cardiaque (résistance à l'écoulement sanguin en aval du ventricule) entraîne : des troubles du rythme, une insuffisance cardiaque avec dilatation cavitaire, une diminution de la fonction systolique ainsi qu'une

atteinte fonctionnelle des artères coronaires. Tous ces effets conduisent aux cardiopathies ischémiques telles que l'angor et l'infarctus du myocarde. Une personne sur deux faisant une fibrillation atriale est hypertendue. Dans ce cas le risque de mort subite est multiplié par trois.

I.5. Stratégie diagnostique

Le diagnostic d'une hypertension artérielle se fait majoritairement de manière fortuite. Souvent lors d'une consultation au cabinet du médecin généraliste, pendant la prise de tension artérielle de contrôle. Le diagnostic formel ne peut être posé qu'après des consultations répétées.

I.5.1. Mesure tensionnelle

La mesure de la pression artérielle est le point clé du diagnostic, raison pour laquelle, elle doit être correctement réalisée, avec un matériel adapté et conforme, dans les meilleures conditions possibles, tant pour le soignant que pour le patient (1).

Cette mesure est réalisée par l'intermédiaire d'un sphygmomanomètre constitué d'un brassard gonflable, d'une pompe à main et d'un manomètre permettant de lire la pression.



Figure 3. Sphygmomanomètre ³

Sphygmós voulant dire pulsation en grec ancien, il est nécessaire pour le praticien d'utiliser en plus son stéthoscope. En effet, l'examen est basé sur la perte et la restitution des différentes pulsations (les bruits de Korotkoff) entendues lors de la mesure, au dégonflage du brassard (ceci est illustré par la Figure 4). La Figure 4 montre la pression artérielle (en rouge) en fonction du temps. La droite décroissante grise montre la pression à l'intérieur du brassard. La restitution et la perte des bruits de Korotkoff (« Korotkoff sounds in stethoscope ») permettent de connaître la pression artérielle systolique et diastolique.

³ <https://fshoq.com> (CC BY 4.0)

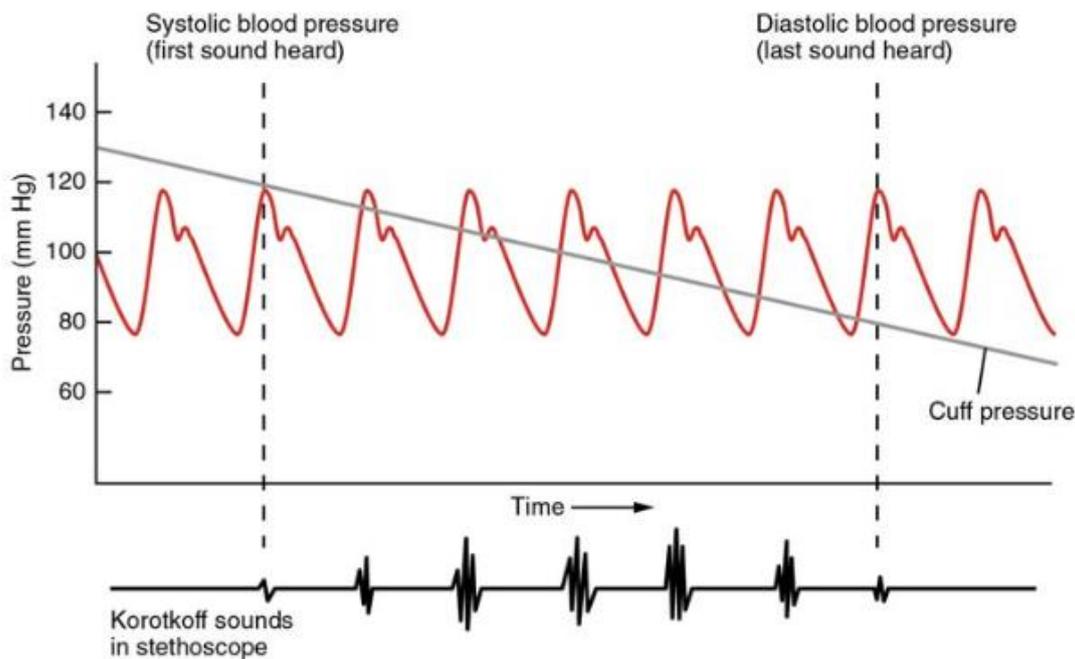


Figure 4 Illustration de la mesure de pression artérielle⁴

Un effet bien connu des praticiens est « l'effet blouse blanche », selon lequel la pression artérielle mesurée est faussement élevée au cabinet du praticien. Plusieurs mécanismes entrent en jeu. On peut citer de manière non exhaustive : une attente prolongée dans la salle d'attente faisant augmenter le stress du patient, un manque de repos avant la mesure (5 minutes assis, au calme), un effort précédant directement la consultation, ainsi que la présence du praticien, etc...

De ce fait, une simple mesure au cabinet ne peut suffire à la meilleure évaluation tensionnelle. Une seule mesure élevée isolément ne permet pas d'affirmer le diagnostic d'hypertension artérielle, il faut une répétition des données. De manière normée, une moyenne de 2 ou 3 mesures effectuées à 2 ou 3 moments différents permet de s'assurer de la fiabilité du résultat, ainsi que de son caractère chronique, et non lié à un quelconque effet extérieur.

Quand une hypertension est suspectée cliniquement sans en avoir la preuve formelle lors de l'examen, une surveillance ambulatoire de la pression artérielle peut être demandée, qu'elle soit en milieu hospitalier ou à domicile. Pour ce faire, le patient porte un tensiomètre pendant 24-48 heures, celui-ci faisant des mesures diurnes toutes les 15 à 20 minutes et nocturnes toutes les 30 à 60 minutes. Le patient porte le tensiomètre durant une journée de la semaine, en évitant toute activité physique importante. Il doit de plus être éduqué à bien réaliser la procédure lors de la mesure automatique : bras étendu le long du corps et détendu. Pour une meilleure interprétation, le patient consigne dans un carnet de bord les activités qu'il fait au moment de cette mesure. Les données sont alors récupérées via un ordinateur et interprétées en consultation avec le patient. Ceci permet de mieux comprendre l'hypertension du patient, de l'objectiver, voire même de proposer une adaptation temporelle du traitement (chronothérapie). Effectivement, la mesure ambulatoire de la pression artérielle (MAPA) montre les variations de pression artérielle du patient dans son environnement. Les exemples

⁴ <https://courses.lumenlearning.com/suny-ap2/chapter/blood-flow-blood-pressure-and-resistance-no-content/>

cités dans la revue médicale Suisse (5), montrent une femme avec une prise d'Enalapril le matin et une augmentation nocturne de sa tension, une nouvelle prise d'antihypertenseur le soir permettrait de la corriger. Enfin, la MAPA permet le calcul de la moyenne tensionnelle du patient, nocturne, diurne et sur une journée complète. Une baisse tensionnelle nocturne de 10 à 20 % est attendue, mais celle-ci peut disparaître chez certains patients (diabète, syndrome des apnées du sommeil, médicaments, insuffisance rénale chronique, abus d'alcool, HTA secondaire, HTA maligne, pré-éclampsie). La perte du rythme circadien nocturne est corrélée à un risque cardiovasculaire accru, non objectivable au cabinet du médecin.

I.5.2. Examens complémentaires

Comme évoqué précédemment, une hypertension artérielle chronique à long terme expose à des lésions organiques. Il est donc nécessaire d'évaluer pour mieux contrôler, voire traiter, les éventuelles comorbidités et conséquences de l'HTA nouvellement découverte. Mais il est aussi nécessaire de comprendre l'étiologie (la cause) de cette HTA.

Il y a donc deux aspects : l'aspect étiologique et le bilan de gravité.

A l'interrogatoire, le clinicien cherche à préciser l'historique, la prise antérieure d'un traitement antihypertenseur (sa tolérance et son efficacité), la présence d'une HTA dans la famille. Ce moment permet aussi d'appréhender la question des facteurs de risques cardio-vasculaires. Le patient déclare ses symptômes et signes évocateurs, ce qui permet d'orienter l'examen clinique et d'évaluer l'atteinte organique. Les symptômes étant très variables et non spécifiques, il est difficile d'orienter facilement l'interrogatoire. Céphalées, vertiges, troubles visuels, palpitations, douleur thoracique, dyspnée, œdèmes des membres inférieurs, soif, polyurie, hématurie, extrémités froides, déficit sensitif ou moteur sont autant d'exemples d'atteintes organiques décelables par le patient lors d'une HTA essentielle. L'HTA secondaire se caractérise par des symptômes légèrement différents comme la faiblesse musculaire associée à une tétanie qui peut faire penser à l'hyperaldostéronisme primaire.

La clinique recherche des atteintes organiques et permet de calculer l'IMC du patient. Un examen du fond d'œil, une objectivation de troubles cardiaques, une anomalie des artères périphériques doivent être réalisés.

Des examens complémentaires sont systématiquement prescrits selon les recommandations de l'OMS, pour déceler une atteinte infraclinique des organes. Un examen urinaire (protéinurie et hématurie), ainsi qu'une estimation de la clairance de la créatinine et une kaliémie pour les atteintes rénales, un ECG de repos pour le cœur, une numération formule sanguine pour un bilan plus global. Sont ajoutés une glycémie à jeun et un bilan lipidique pour calculer les risques cardiovasculaires. D'autres examens sont conseillés tels qu'une échocardiographie pour montrer une hypertrophie ventriculaire gauche, un écho-doppler montrant une augmentation de l'épaisseur des vaisseaux, une vitesse de l'onde de pouls pour la mesure de la rigidité artérielle.

I.5.3. Calcul du risque cardiovasculaire

Les facteurs de risque cardiovasculaire sont :

- Age
 - > 50 ans pour l'homme
 - > 60 pour la femme
- Tabagisme (actuel ou arrêté depuis moins de 3 ans)

- Antécédents familiaux d'accidents cardiovasculaires précoces :
 - Infarctus du myocarde ou mort subite avant 55 ans chez le père
 - Infarctus du myocarde ou mort subite avant 65 ans chez la mère
 - Accident vasculaire cérébral <45 ans chez le père ou la mère
- Diabète
- Dyslipidémie
 - LDL-cholestérol $\geq 1,6$ g/l (4,1 mmol/l)
 - HDL-cholestérol $\leq 0,4$ g/l (1mmol/l)

D'autres facteurs de risques existent mais ne comptent pas dans le calcul du risque global : Obésité abdominale, sédentarité et consommation excessive d'alcool.

Une atteinte organique est mise évidence par :

- Hypertrophie ventriculaire gauche (à l'ECG ou à l'échographie)
- Microalbuminurie
- Débit de filtration glomérulaire < 60 ml/min/1,73m²
- Epaisseur intima/média carotidienne $> 0,9$ mm ou présence de plaques athéromateuses
- Vitesse de l'onde de pouls > 12 m/seconde
- Index systolique $< 0,9$.

Ces facteurs de risques permettent de se positionner dans le tableau du risque cardiovasculaire global en connaissant la valeur de l'hypertension du patient (voir Tableau 3)

Tableau 3. Évaluation du risque cardiovasculaire global en fonction des facteurs de risque et du seuil de l'hypertension.⁵

	PAS DE FDR ASSOCIÉ	1 À 2 FDR	PLUS DE 2 FDR OU ATTEINTE D'UN ORGANE CIBLE OU DIABÈTE	MALADIE CARDIOVASCULAIRE OU RÉNALE
140 < PAS < 159 90 < PAD < 99	Risque faible	Risque moyen	Risque élevé	Risque élevé
160 < PAS < 179 100 < PAD < 109	Risque moyen	Risque moyen	Risque élevé	Risque élevé
PAS ≥ 180 PAD ≥ 110	Risque élevé	Risque élevé	Risque élevé	Risque élevé

PAS : pression artérielle systolique, PAD : pression artérielle diastolique, FDR : facteur de risque.

Les risques cardiovasculaires « faible, moyen et élevé » correspondent à des probabilités d'évènements cardiovasculaires à 10 ans respectivement $< 10\%$, entre 10 et 20 % et $> 20\%$.

Une bonne prise en charge de l'hypertension artérielle conduit à une diminution du risque global. Avec en moyenne, une diminution du risque d'accident vasculaire cérébral de 35 à 40%, de l'infarctus du myocarde de 20-25% et de l'insuffisance cardiaque de 50%.

⁵ Tableau issu des recommandations présentes sur <https://www.vidal.fr/maladies/recommandations/hta-hypertension-arterielle-1640.html#references>
robin | Thèse d'exercice | Université de Limoges | 2022

L'objectivation de la bonne prise en charge se fait sur les chiffres tensionnels avec pour objectif PAS < 140 mmHg et PAD 90 mmHg ainsi qu'une bonne tolérance vis-à-vis du traitement.

I.6. Traitements

En médecine on ne traite pas des chiffres.⁶

Le traitement de l'HTA essentielle ne doit pas être commencé en urgence. Il permet de réduire au maximum le risque de morbi-mortalité cardiovasculaire sur le long terme. Les chiffres tensionnels sont un marqueur facilement mesurable, mais une diminution des atteintes organiques et de leur progression est le but du traitement.

I.6.1. Traitements non-médicamenteux

Première action à mener chez tous les patients hypertendus, la mise en place de mesures hygiéno-diététiques, permettant de diminuer un éventuel traitement médicamenteux par la suite.

Ces mesures hygiéno-diététiques sont conseillées pour la population générale, mais doivent s'appliquer lors de la découverte d'une hypertension artérielle. Le site français <https://www.mangerbouger.fr/> est une mine d'information quant à l'exercice physique et une meilleure alimentation. En effet, parmi les mesures hygiéno-diététiques se retrouvent la réduction pondérale (stabilisation du poids voire une diminution pour avoir un IMC < 25kg/m²), la réduction de la consommation d'alcool, la réduction de l'apport sodé (< 6g/j) et un apport alimentaire enrichi en fruits et légumes (« 5 fruits et légumes par jour ») pour une diminution en graisses saturées et en cholestérol. Un arrêt du tabac est nécessaire, la diminution n'a pas prouvé une efficacité suffisante (6). De plus, une activité physique 3 fois par semaine d'au moins 30 minutes est fortement recommandée. L'arrêt du tabac permettrait le gain d'espérance de vie le plus élevé. Une étude Canadienne a quantifié un bénéfice de quatre ans, toutes catégories de risque cardiovasculaire confondues (7). Toutes ces mesures se retrouvent ou bien dans les facteurs de risques de l'hypertension artérielle, ou bien dans les facteurs protecteurs et permettent déjà de diminuer les chiffres tensionnels.

Un deuxième paramètre non médicamenteux à mettre en place est l'éducation thérapeutique du patient. Le traitement débute tout d'abord avec la décision médicale partagée (8) (cf. partie observance).

I.6.2. Traitements médicamenteux

La stratégie médicamenteuse repose sur le rétablissement des fonctions perturbées lors de l'HTA essentielle.

I.6.2.1. Les diurétiques

Les diurétiques sont théoriquement des substances qui augmentent la diurèse. En réalité, ce sont des substances qui augmentent l'élimination urinaire de l'ion sodium Na⁺ et, par effet osmotique, de l'eau. Ils permettent un rééquilibrage de la balance hydrosodée en diminuant la surcharge hydrosodée de l'organisme. On trouve trois grandes catégories regroupées par site

⁶ Dr Mathieu Lang, pédiatre réanimateur, CHU Clermont-Ferrand

d'action, les diurétiques de l'anse, les diurétiques thiazidiques et apparentés et les diurétiques distaux (épargneurs potassiques).

Les diurétiques de l'anse comme le furosémide inhibent le co-transporteur Na/K/2Cl de la branche ascendante de l'anse de Henlé. Ils sont dérivés de l'acide 2- et 3-amino-5-sulfamoylbenzoïque et sont donc acides et hydrophiles expliquant leur faible demi-vie.

Les diurétiques thiazidiques comme l'hydrochlorothiazide inhibent le co-transporteur Na/Cl du tube contourné distal et augmentent indirectement l'élimination du potassium et du magnésium. Ils sont dérivés du cycle dihydrobenzo-1,2,4-thiadiazine-1,1-dioxyde communément appelés thiazides ou dérivés du cycle benzène sulfonamide comme le chlorthalidone. Ce sont des sulfamides.

Les diurétiques distaux aussi appelés diurétiques épargneurs de potassium. Certains sont des stéroïdes de synthèse antagonistes compétitifs du récepteur à l'aldostérone du tube contourné distal et du tube collecteur des tubules rénaux. Il en résulte une diminution du médiateur activant les canaux sodiques et de l'augmentation de l'expression de la pompe Na/K ATPase. Ils sont dérivés du cycle stéroïde cyclopentanoperhydrophénanthrène comme la spironolactone par exemple. C'est une prodrogue métabolisée en canrénone, qui est le réel principe actif. Les pseudo-antialdostérones sont des dérivés pyraziniques comme l'amiloride. Ce sont des molécules très liposolubles et basiques. (voir Tableau 4)

Les diurétiques sont souvent utilisés en association, car ils ont une potentialisation d'effet avec les autres classes médicamenteuses antihypertensives. Ils sont utilisés dans l'HTA et l'insuffisance cardiaque. Leurs principaux effets indésirables sont l'hyponatrémie et la déshydratation, l'hypo- ou hyperkaliémie (selon la classe utilisée), l'hypovolémie et l'hypotension orthostatique. Ils nécessitent une surveillance biologique du ionogramme plasmatique.

I.6.2.2. Les bêta-bloquants

Les bêtabloquants sont des antagonistes compétitifs, spécifiques et réversibles des récepteurs bêta-adrénergiques. Ils antagonisent les effets des catécholamines. Ils permettent donc une diminution de la contractilité et ralentissent la fréquence cardiaque (effets inotrope et chronotrope négatifs), ce qui a pour conséquence une diminution de la pression artérielle. Ils ont aussi pour effet une diminution de la vitesse de conduction auriculo-ventriculaire (effet dromotrope négatif) et une diminution de l'excitabilité ventriculaire (effet bathmotrope négatif). Ils sont particulièrement utiles lors de complications cardiaques de l'HTA telles que l'angor ou l'insuffisance cardiaque. Ils entraînent aussi une diminution de la sécrétion de rénine et sont donc, indirectement actifs sur le système rénine-angiotensine-aldostérone. S'ils ont une sélectivité pour les récepteurs β_1 , ils sont dits cardiosélectifs. En revanche, s'ils sont actifs sur les récepteurs β_1 et β_2 ils sont actifs sur le muscle cardiaque et le muscle lisse vasculaire. Ils sont non sélectifs. Le blocage du récepteurs β_2 peut augmenter le tonus vasculaire en début de traitement, mais c'est généralement transitoire dans le traitement au long cours. Pour compléter cette classification, certains bêtabloquants maintiennent une activité sympathomimétique intrinsèque (ASI), c'est-à-dire maintiennent une activité agoniste sur le récepteur qu'ils viennent antagoniser (agonistes partiels et pas antagonistes purs).

Les bêta-bloquants sont tous des molécules de synthèse, dérivées de la structure de l'adrénaline. On retrouve deux chaînes carbonées de base qui sont l'aryléthanolamine et l'aryloxypropanolamines. Au niveau du carbone asymétrique on retrouve un cycle aromatique

(Ar) plus ou moins substitué lui donnant le pouvoir antagoniste et au niveau de l'amine (NHR) on retrouve une chaîne carbonée légèrement plus encombrée que pour l'adrénaline (isopropyl en majorité) (voir Tableau 4). L'encombrement stérique ainsi créé permet l'antagonisme de la molécule sur son récepteur. La sélectivité cardiaque ou non dépend aussi de la substitution aromatique.

Les bêta-bloquants sont des molécules basiques du fait de la présence d'une amine. Elles sont donc solubles sous forme de sel de chlorhydrate dans une solution acide diluée. Leur hydrosolubilité est très variable du fait de la grande hétérogénéité de la substitution du cycle aromatique. Les bêtabloquants très liposolubles comme le propranolol ont une mauvaise biodisponibilité, un fort effet de premier passage hépatique et passent la barrière hémato-encéphalique (BHE), pouvant provoquer des effets indésirables centraux. Alors que les bêtabloquants très hydrosolubles comme le labétalol ont une meilleure biodisponibilité et ne passent pas la BHE.

Ils sont principalement indiqués dans l'HTA surtout en cas de pathologie cardiovasculaire associée, en prévention de la mort subite en post-infarctus du myocarde et dans l'insuffisance cardiaque systolique chronique stable.

Leurs principaux effets indésirables pouvant interférer avec la poursuite du traitement sont l'hypotension (majorée en cas d'association avec les autres traitements antihypertenseurs), une asthénie, une bradycardie, un syndrome de Raynaud (surtout pour les non-sélectifs), des cauchemars, une aggravation d'une BPCO ou d'un asthme, une aggravation des hypoglycémies du diabétique avec réduction des signes précoces de l'hypoglycémie.

I.6.2.3. Les inhibiteurs calciques

Les inhibiteurs calciques, aussi appelés antagonistes calciques, permettent de freiner le transfert membranaire du calcium, via les canaux calciques lents, dans les cellules musculaires striées cardiaques ainsi que dans les cellules musculaires lisses vasculaires. Ils engendrent une diminution de contraction de ces cellules musculaires provoquant le relâchement des artères périphériques ainsi qu'une diminution des résistances périphériques vasculaires. La vasodilatation artérielle périphérique permet une diminution de la pression artérielle et une diminution de consommation de dioxygène myocardique. Certains d'entre eux (diltiazem et vérapamil essentiellement), en plus de ces effets vasculaires, ont des effets chronotrope et inotrope négatifs au niveau cardiaque, diminuant la consommation en O₂ du myocarde. Les autres molécules sont classées parmi les dihydropyridines et sont à effets vasculaires sélectifs.

Les inhibiteurs calciques sont des molécules très hétérogènes classées en trois familles moléculaires. Le diltiazem fait partie des benzothiazépines, le vérapamil des phényl-alkylamines et les autres molécules font partie des 1,4-dihydropyridines (voir Tableau 4). Ce sont toutes des formes comprenant une amine dans leur structure, leur permettant une solubilité sous forme de sel dans une solution aqueuse acide.

Ils ont tous l'indication dans le traitement de l'HTA, certains (dont vérapamil et diltiazem) dans le traitement de l'angor. Vérapamil et diltiazem sont également indiqués dans le traitement de troubles du rythme supra-ventriculaire.

Leurs principaux effets indésirables pouvant interférer avec la poursuite du traitement sont l'hypotension (majorée en cas d'association avec les autres traitements antihypertenseurs), les vertiges, les céphalées, la bradycardie (avec diltiazem et vérapamil) ou la tachycardie (avec

les dihydropyridines). De plus, le vérapamil ou le diltiazem sont des inhibiteurs enzymatiques responsables de nombreuses interactions pharmacocinétiques.

I.6.2.4. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ont pour but d'inhiber l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), synthétisée par les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Ils inhibent donc la transformation de l'angiotensine I en angiotensine II. En inhibant l'ECA ils entraînent également une augmentation de la concentration circulante de bradykinine qui va permettre une vasodilatation artérielle. Du fait de la synergie entre les systèmes RAA et sympathique, les IEC diminuent également le tonus sympathique central et périphérique. Ils provoquent enfin une diminution de la volémie, par diminution de la sécrétion d'aldostérone et de la rétention hydro-sodée résultante (action sur les reins/surrénales), ainsi que par la diminution de sécrétion de l'ADH par l'hypophyse. Tout cela a pour effet, in fine, de diminuer la pression artérielle.

L'ECA est une métalloprotéase car elle contient un atome de zinc dans sa structure. Cet atome de zinc est fondamental en créant une liaison de coordination avec le carbonyle présent entre la phénylalanine (Phe) et l'histidine (His) de l'angiotensine I inactive. Ceci permet la fragilisation de la liaison et son clivage en octapeptide actif. Les IEC miment donc la structure de liaison de l'angiotensine I (peptide His-Leu terminal) et chélatent le zinc sans pouvoir être clivés, ils inhibent donc cette enzyme. Le chélateur peut-être une fonction thiol, un carboxyalkyldipeptide ou un groupement phosphonyle. La fonction thiol du captopril peut être protégée par un groupement ester (prodrogue zofenopril donnant le zofenoprilat) et le diacide lisinopril peut être protégé aussi par une fonction ester donnant toutes les autres prodrogues des IEC (voir Tableau 4). Le groupement phosphonyle est clivé en phosphinate actif (fosinopril donnant le fosinoprilat). Toutes ces molécules ont donc un groupement fortement ionisé (deux charges négatives sur le groupement chélateur) les polarisant fortement.

Ils sont indiqués dans le traitement de l'HTA, de l'insuffisance cardiaque congestive, dans l'insuffisance cardiaque post infarctus du myocarde et dans la néphropathie diabétique (effet protecteur de la bradykinine).

Les antagonistes des récepteurs à l'angiotensine II (ARA II) ou SARTAN ont pour but de bloquer l'action de l'angiotensine II sur les récepteurs AT1. Les effets vasoconstricteurs de l'angiotensine II sont médiés par la stimulation de ces récepteurs, qui entraîne donc une augmentation de la PA. Ils ont un rôle dans la réabsorption de sodium et d'eau en libérant l'aldostérone et stimulent la prolifération des cardiomyocytes. Les ARA II sont 10000 fois plus sélectifs pour le récepteur AT1 que pour l'AT2 (vasodilatateur physiologique). Les SARTAN ont donc un effet vasodilatateur par inhibition sélective des récepteurs AT1, sans inhiber l'activation des récepteurs AT2.

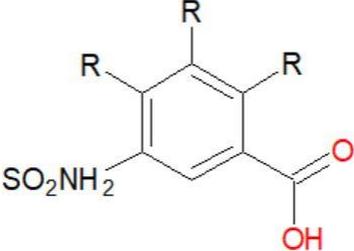
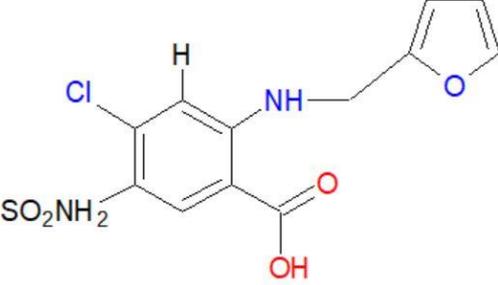
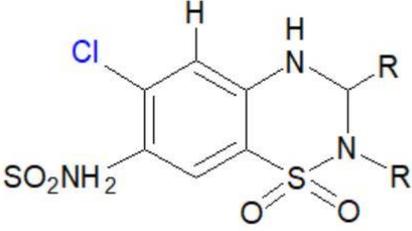
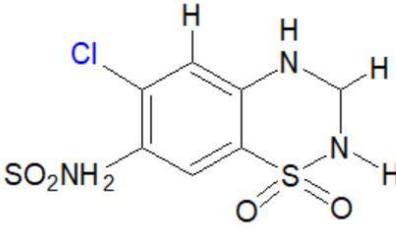
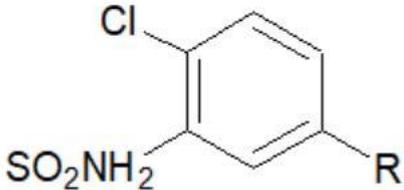
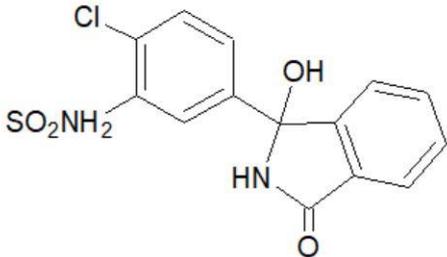
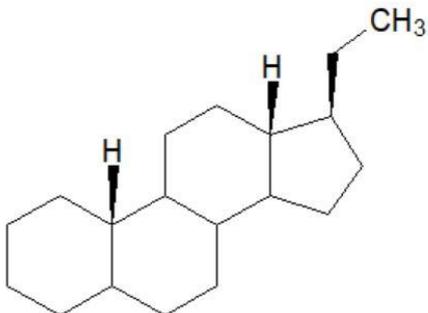
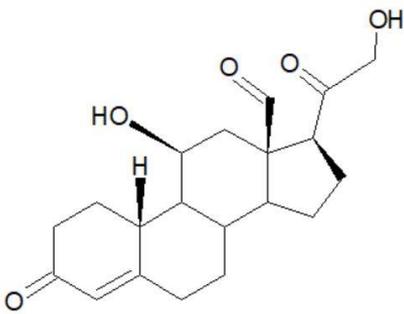
Les SARTANS ont un motif commun mimant la chaîne latérale de l'histidine de l'AT2 doublement substitué. Un de ces motifs est un groupement acide lipophile permettant l'interaction avec le récepteur ainsi qu'une meilleure biodisponibilité. Ce sont majoritairement des cycles (phényl et tétrazole) faisant des sartans des molécules acides (Tableau 4).

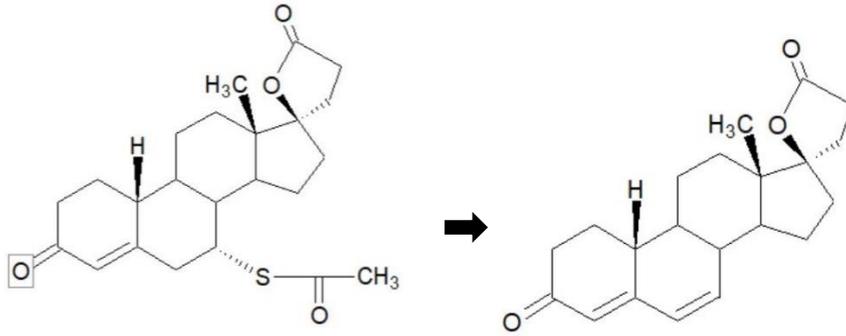
Ils ont l'AMM dans le traitement de l'HTA et seuls valsartan et candésartan l'ont pour le traitement de l'insuffisance cardiaque.

Les principaux effets indésirables de ces deux familles de molécules sont communs et sont les réactions allergiques, les angioœdèmes, la toux sèche (plutôt IEC par non-sélectivité

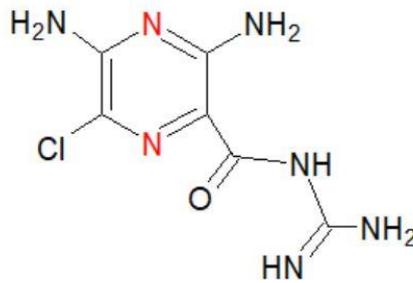
d'action et augmentation de la concentration de bradykinine), la détérioration de la fonction rénale et l'hyperkaliémie (par effet antialdostérone).

Tableau 4. Structures des molécules utilisées dans le traitement de l'HTA.

Diurétiques	
	
Structure des diurétiques de l'anse	Furosémide
	
Dihydrothiazide	Hydrochlorothiazide
	
Cycle benzène sulfonamide	Chlorthalidone
	
Structure stéroïde	Aldostérone

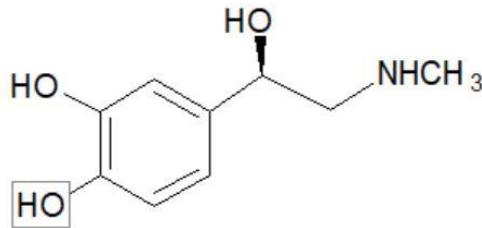


Spironolactone métabolisée en Canrénone

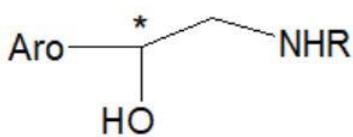


Amiloride

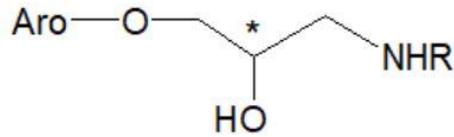
Béta-bloquants



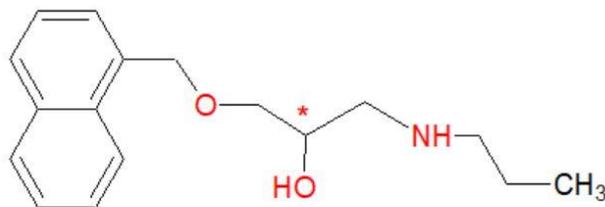
Adrénaline



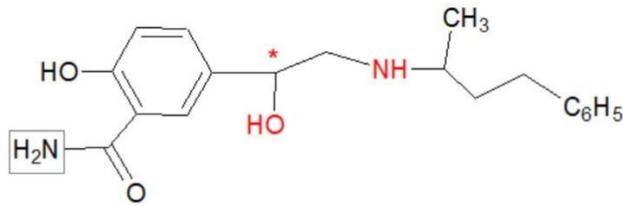
Aryléthanolamine



Aryloxypropanolamine

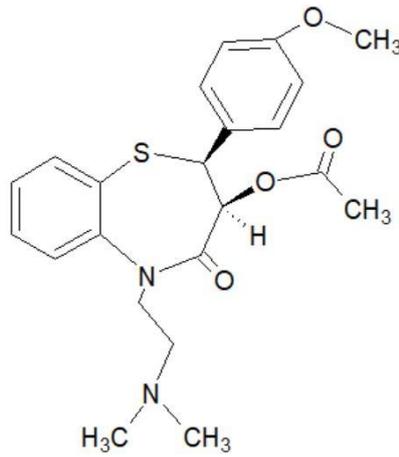


Propranolol

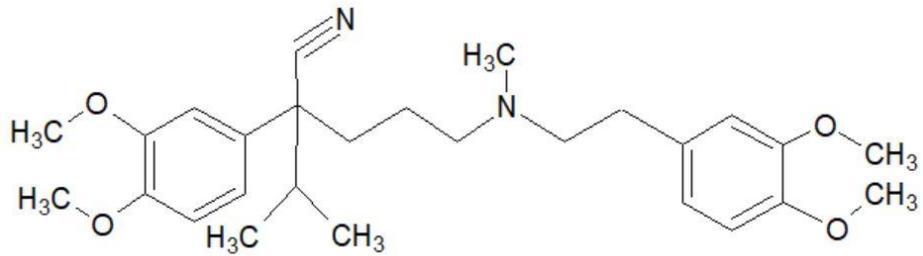


Labétalol

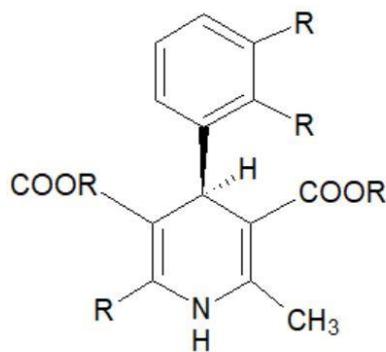
Inhibiteurs calciques



Diltiazem



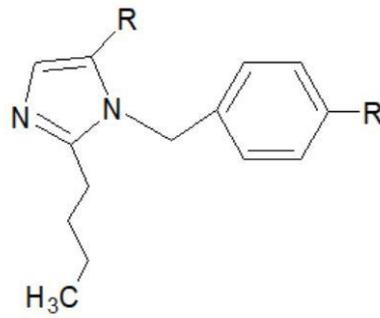
Vérapamil



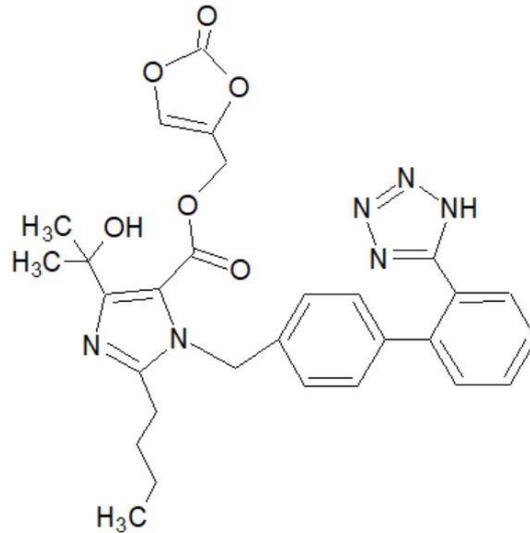
1,4 dihydropyridine

Inhibiteurs du Système Rénine Angiotensine Aldostérone

Antagonistes de l'angiotensine II

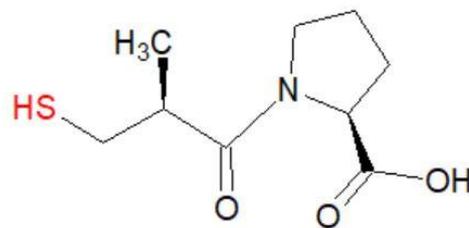


Structure des Sartans

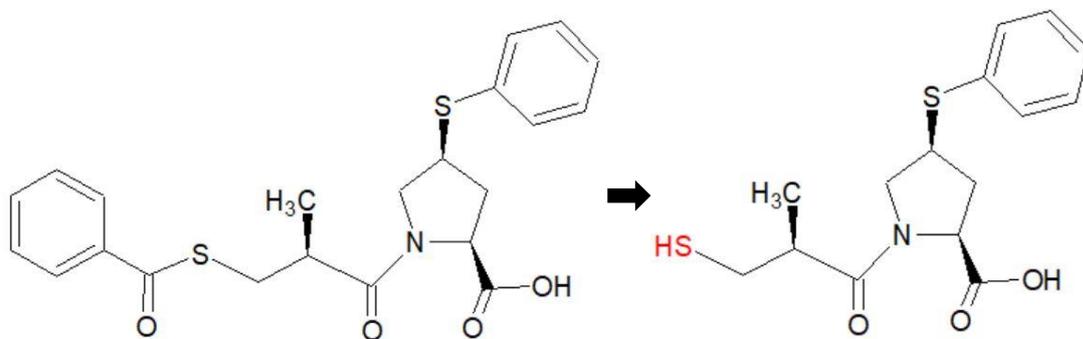


Olmesartan

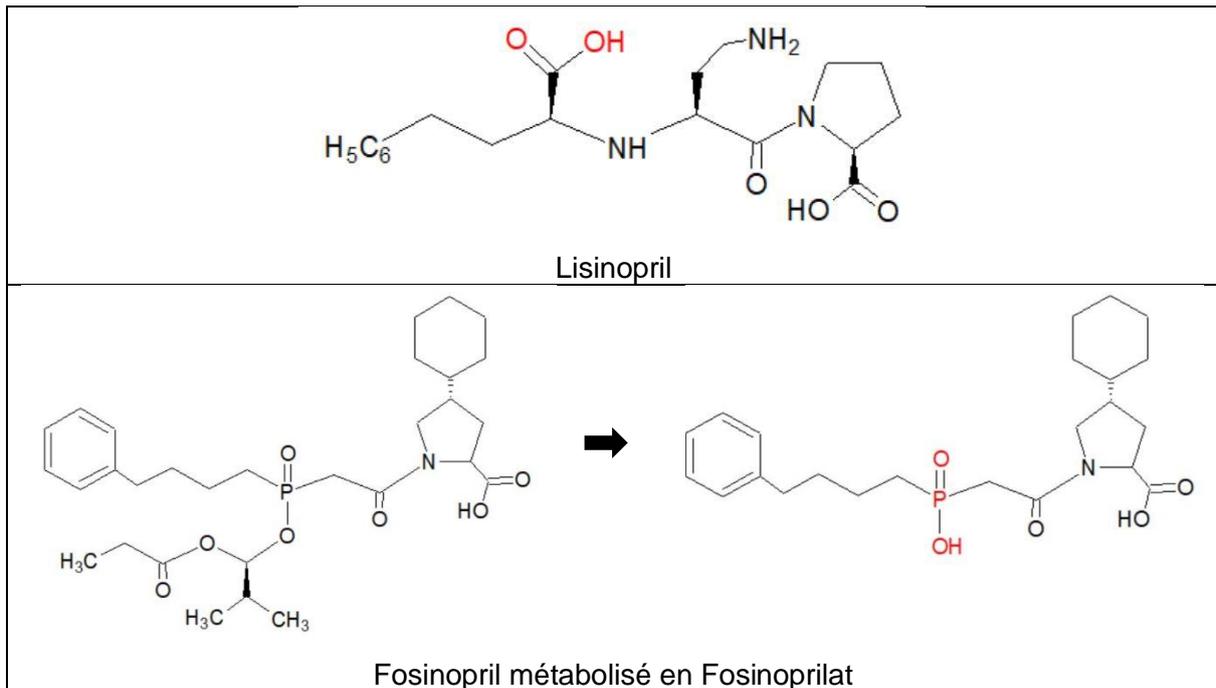
Inhibiteurs de l'enzyme de conversion



Captopril



Zofenopril métabolisé en Zofenoprilat



I.6.2.5. Stratégie thérapeutique

La stratégie médicamenteuse repose la plupart du temps sur l'association de ces différentes classes pharmacologiques. En effet, il y a une synergie entre les différentes classes d'antihypertenseurs et l'association de molécules de mécanismes d'action différents est plus bénéfique que l'augmentation de posologie de l'un d'entre eux (1).

Il est recommandé de débiter le traitement par une monothérapie, au mieux en monoprise. L'ajout d'une seconde molécule à une monothérapie initiale peut se faire dès quatre semaines de traitement si les objectifs tensionnels ne sont pas atteints, et la troisième ligne encore quatre semaines plus tard. Le besoin d'introduction d'une quadrithérapie peut être nécessaire après élimination d'une HTA secondaire chez des patients de moins de 80 ans.

Dans tous les cas, il est important d'évaluer régulièrement l'adhésion aux mesures hygiéno-diététiques, au traitement et son efficacité.

En première ligne, il est préférable d'utiliser les classes médicamenteuses ayant fait la preuve d'une réduction de la morbi mortalité vis-à-vis du risque cardiovasculaire :

- Inhibiteurs calciques
- Antagonistes de l'angiotensine II
- Inhibiteurs de l'enzyme de conversion
- Diurétiques thiazidiques

Les ARA II ou IEC permettent une meilleure persistance du traitement et sont donc préférables lors de l'instauration du traitement pharmacologique.

Les bêtabloquants doivent être introduits plus tardivement du fait de leur infériorité dans la réduction du risque cardiovasculaire, hormis dans le cas d'une cardiopathie ischémique ou d'une insuffisance cardiaque.

Chez des patients insuffisants rénaux, le diurétique thiazidique peut-être remplacé par un diurétique de l'anse à dose adaptée à la clairance rénale ainsi qu'à l'état d'hydratation du patient.

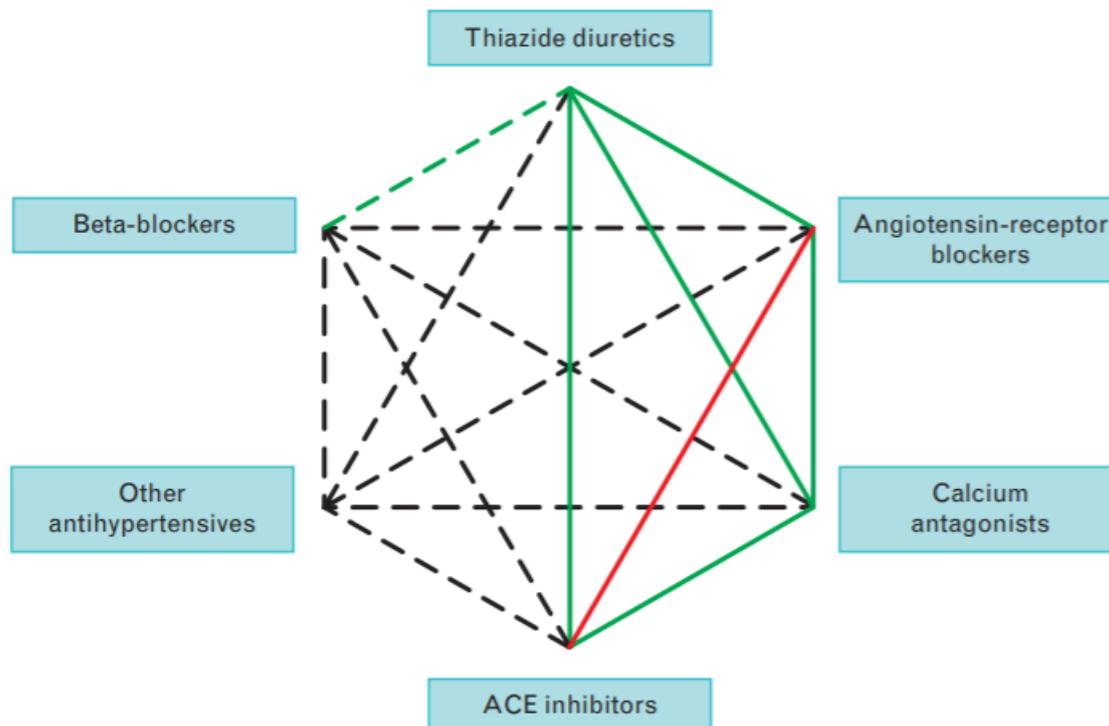


Figure 5. Schéma d'association médicamenteuse pour l'HTA (9).

La Figure 5 résume schématiquement les associations recommandées (ligne verte continue), les associations utiles mais avec des limitations (ligne verte pointillée), les associations non recommandées ou contre-indiquées (ligne rouge) et enfin les associations les moins bien documentées (ligne noire pointillée).

On retiendra que, sauf exception, les bêtabloquants ne sont pas indiqués dans la première étape du traitement car ils présentent une efficacité moins élevée que les autres classes pour la prévention des accidents vasculaires cérébraux. Ensuite, l'utilisation des ARA II ou des IEC en première intention est recommandée pour les patients de moins de 55 ans du fait de leur bonne tolérance, ou les IC chez les plus de 55 ans. Toutefois, tous ces traitements doivent prendre en compte les comorbidités du patient.

Il n'est pas recommandé d'associer les ARA II avec les IEC du fait de leurs mécanismes d'action similaires.

Enfin, la bithérapie associera préférentiellement ARA II ou IEC + IC ou diurétique thiazide.

I.7. Épidémiologie

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime le nombre de patients hypertendus dans le monde à 1,13 milliard, pour les 2/3 vivants dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. Elle touche plus les hommes (1/4) que les femmes (1/5). Cette affection est une des premières causes de décès prématuré dans le monde : ces dernières décennies (avant la pandémie COVID-19) il y avait eu un décalage de morbidité, des maladies transmissibles vers les maladies chroniques, dont l'hypertension artérielle est un acteur majeur. L'OMS a fait de l'hypertension artérielle une de ses cibles et vise à réduire sa prévalence de 25% d'ici 2025 (par rapport à 2010) via les modules de l'ensemble HEARTS. En 2001, l'hypertension artérielle était à l'origine de 7,6 millions de décès, soit environ 13,5% de toutes les causes de mortalité (10)

En France, l'enquête Esteban (11) réalisée entre 2014 et 2016 donne un aperçu des maladies chroniques, dont l'hypertension artérielle. Cette enquête transversale a été réalisée sur 2169 adultes de 18 à 74 ans. L'HTA touche 1 adulte sur 3. C'est donc la pathologie la plus fréquente, concordant avec les chiffres de l'OMS. La prévalence est plus élevée chez les hommes (36,5%) que chez les femmes (25,2%) et augmente avec l'âge. Mais, 1 personne sur 2 n'a pas connaissance de son hypertension. Cette étude compare l'épidémiologie récente (2015) à celle de 2006, recueillie dans l'étude nationale nutrition santé (ENNS) (12), et elle ne trouve pas de diminution de prévalence, aucune amélioration du dépistage ou de la prise en charge, avec même une diminution importante de la proportion de femmes traitées parmi les hypertendus.

De plus, parmi les personnes traitées entre 2014 et 2016, seulement 55% avaient une pression artérielle contrôlée. On peut donc considérer que 45% de la population traitée subit toujours les méfaits de cette pathologie.

I.8. Hypertension artérielle résistante

La société française d'hypertension artérielle (SFHTA) a défini en 2013 l'hypertension artérielle résistante (13) selon l'arbre décisionnel présenté en Figure 6.

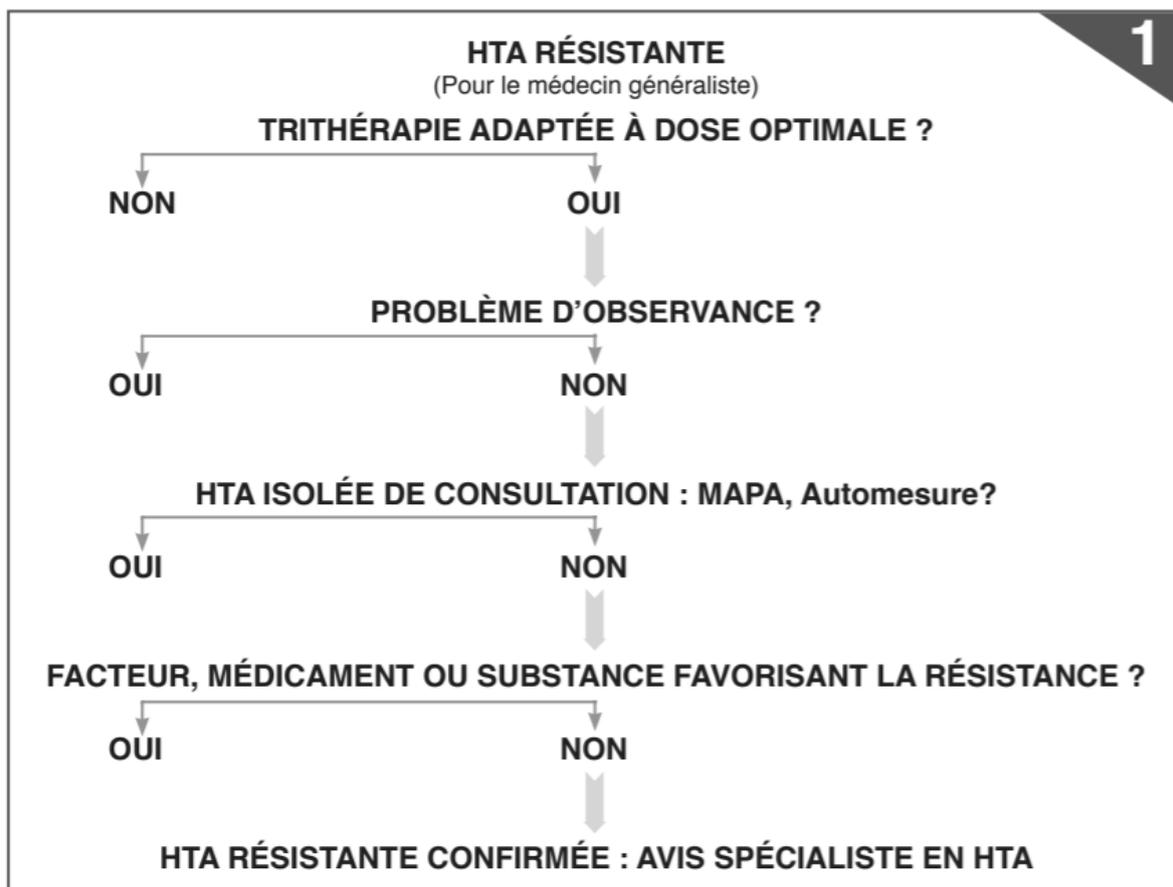


Figure 6. Arbre décisionnel de l'HTA résistante (13)

Lors de la visite de suivi du patient hypertendu chez son médecin traitant, le dépassement des cibles tensionnelles doit faire revoir le traitement médicamenteux et une poursuite des règles hygiéno-diététiques. Lorsqu'une trithérapie à dose optimale est déjà en place, depuis au moins

quatre semaines incluant un diurétique, le médecin doit rechercher une mauvaise observance et l'objectiver avec des méthodes fiables. L'hypertension artérielle peut-être momentanée et doit être vérifiée (idéalement par MAPA, ou à défaut par automesures) et enfin la présence d'une substance exogène favorisant l'hypertension artérielle doit être évoquée. Enfin, si aucun évènement extérieur ne semble avoir d'influence, le caractère résistant de l'hypertension artérielle est confirmé et le généraliste doit demander l'avis d'un spécialiste de l'HTA.

La Figure 7 présente les recommandations thérapeutiques pour l'hypertensiologue. Il doit évoquer la présence d'une HTA secondaire, évaluer l'atteinte organique, faire un suivi d'efficacité de la spironolactone sinon d'un β -bloquant. La dénervation rénale par un centre expert pourra être envisagée, en balance avec l'ajout d'une quatrième classe pharmacologique.

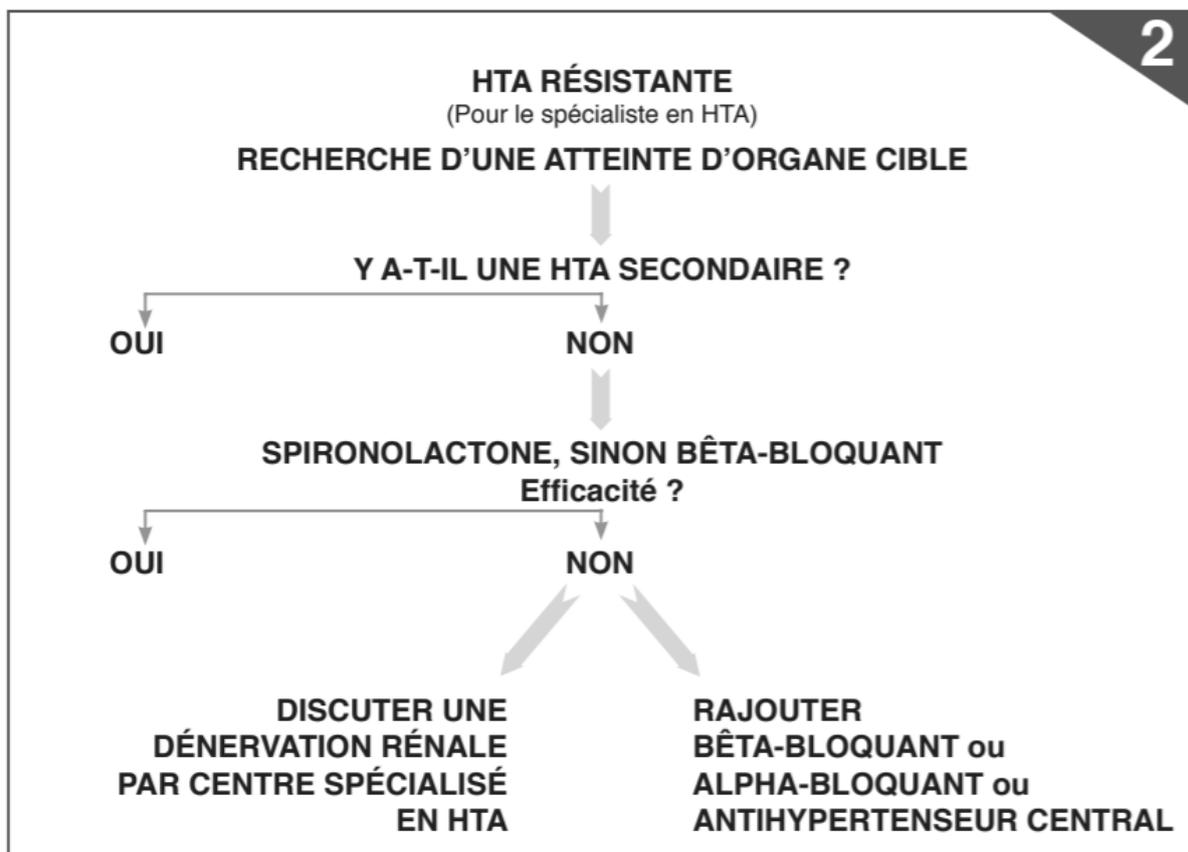


Figure 7. Recommandations thérapeutiques pour le spécialiste de l'HTA (13)

C'est dans cette escalade thérapeutique (généraliste et spécialiste) que s'insère le développement d'une méthode de screening des médicaments antihypertenseurs dans le sang et l'urine, afin d'évaluer l'observance des patients et éventuellement de réaliser le suivi thérapeutique pharmacologique de certains médicaments anti-hypertenseurs chez le patient hypertendu.

II. Observance

*“Drugs don't work in patients who don't take them.” US Surgeon General C. Everett
Coop, 1985*

II.1. Définition

Il existe plusieurs mots utilisés de manière synonymes en France pour désigner le fait de « suivre la prescription médicale ». Nous retrouvons l' « observance », la « compliance » (directement pris à l'anglais) et l' « adhésion thérapeutique ». Ces trois termes pourtant ne désignent pas de manière équivalente le même concept.

Dans la littérature internationale, et donc en anglais, c'est le terme *patient compliance* qui est utilisé, mais il est de plus en plus substitué par le terme *medication adherence*. En effet, *to comply with* se traduit par se soumettre, suivre conformément et son synonyme pourrait être *obedience* se traduisant par obéissance. Le patient a donc un rôle passif dans cette terminologie, alors qu'il est réellement acteur de son traitement. *Adherence* permet d'intégrer l'aspect décisionnel et l'action du patient.

En français, l'observance thérapeutique se définit comme le « degré de respect ou d'écart entre les prescriptions et les pratiques du patient en termes de santé ». L'observance comprend toutes les pratiques mises en place lors de la consultation médicale, que ce soit les thérapeutiques médicamenteuses, les régimes alimentaires, l'exercice prescrit, mais aussi les comportements du patient comme se rendre au rendez-vous des spécialistes (14).

L'observance thérapeutique est la partie quantifiable. C'est la partie dynamique dans la durée qui oscille de manière continue entre polarités d'observance et d'inobservance. Le terme *compliance* ne permet pas ce continuum mais suggère deux parties s'opposant : le patient observant et le non-observant, de façon immuable dans le temps.

Quand on s'intéresse aux facteurs psycho-sociaux on parle d'adhésion thérapeutique. C'est le degré d'acceptation du patient vis-à-vis de son traitement. Elle entre dans le concept du « décider ensemble » mis en place par l'HAS en 2013 (8) entre patients et professionnels pour promouvoir la qualité et la sécurité de la prise en charge et pour que le patient prenne une part intégrante à son traitement. L'adhérence est un des facteurs déterminant pour le patient pour que l'observance globale s'en voit améliorée.

Les maladies chroniques sont les plus sujettes aux fluctuations dans la conformité thérapeutique, puisqu'impliquant un suivi au long cours. La prise en charge sur la durée permet d'introduire une notion fondamentale, celle de la persistance du traitement. Après l'initiation, dans une prise en charge sur la durée, il est essentiel que le patient continue d'observer et d'adhérer à sa thérapeutique pour obtenir les meilleurs bénéfices.

Pour la recherche bibliographique, on pourra utiliser de préférence les mots anglais *compliance* et *adherence* et les mots français observance et adhésion thérapeutique.

II.2. Facteurs influençant l'adhésion thérapeutique

L'adhésion thérapeutique est influencée par de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques. C'est un comportement humain partagé entre le patient, son entourage et son

⁷ Les médicaments ne fonctionnent pas chez les patients qui ne les prennent pas
robin | Thèse d'exercice | Université de Limoges | 2022

praticien (15). L'article d'Osterberg *et al.* (16) fait une revue des différents facteurs prédictifs d'une adhérence thérapeutique diminuée :

- Présence de problèmes psychologiques, notamment de dépression
- Présence de troubles cognitifs
- Traitement d'une maladie asymptomatique
- Suivi inadapté ou rendez-vous manqués
- Effets indésirables des médicaments
- Manque de confiance du patient dans les bienfaits du traitement
- Manque de compréhension de la maladie par le patient
- Mauvaise relation entre le prescripteur et le patient
- Présence d'obstacles aux soins ou aux médicaments
- Complexité du traitement
- Coût des médicaments

Le coût des médicaments en France n'est pas un facteur aussi important que dans d'autres pays au vu de notre politique de santé et de remboursement depuis 2018 (mise en place des assurances complémentaires à l'Assurance Maladie). Le reste à charge des médicaments pour l'HTA usuelle peut s'élever à 150 euros par an par patient n'ayant pas de complémentaire santé, soit environ 5% des patients (17).

L'hypertension est une maladie avec un retentissement faible sur le plan symptomatique et le patient peut avoir du mal à comprendre sa maladie par manque de connaissances ou d'explications. Cela fait au moins deux facteurs extrinsèques non évitables expliquant le manque d'observance et d'adhérence thérapeutique dans cette pathologie.

II.3. Quelques chiffres

Un rapport international de l'OMS sur l'observance en 2003 (18) rapporte que jusqu'à 50% des patients suivis pour une pathologie chronique ont une mauvaise observance et jusqu'à 70% pour des pathologies comme l'asthme.

L'hypertension artérielle est particulièrement touchée, comme le suggère la fréquente résistance apparente au traitement. En effet, 55% des patients traités ont encore des chiffres tensionnels au-dessus des limites recommandées. Parmi ces 55%, certains font partie d'un groupe ayant besoin d'une adaptation des doses et des médicaments, d'autres sont de vrais résistants aux traitements (seulement 3% d'après Hayes (19)), et le dernier groupe est celui dont l'observance et l'adhérence thérapeutiques peuvent être améliorées. Par exemple, au Venezuela seulement 4,5% des patients hypertendus traités ont un bon contrôle tensionnel et entre 7 et 30% au Royaume-Uni (20,21). La première année, entre 16 et 50% cessent leurs traitements antihypertenseurs et parmi ceux continuant leur traitement, une partie non négligeable oublie régulièrement des prises.

Certains facteurs sont corrélés à la mauvaise observance thérapeutique. On peut citer l'apparition d'effets indésirables, le coût élevé de la thérapeutique, un régime complexe à suivre, une efficacité rapide du traitement, une consommation en parallèle de cigarettes, alcool ou de sel en excès, la longueur du traitement. De manière intéressante, les patients jeunes avec un contrôle rapide de leur tension ont tendance à arrêter leur traitement de manière prématurée, alors que les patients âgés ressentent plus rapidement des effets indésirables, ce qui leur fait arrêter leur thérapeutique (22).

L'hypertension fait partie des pathologies avec un besoin préventif des complications et non pas un besoin curatif des symptômes. Ceci pourrait expliquer la faible observance et une persistance thérapeutique faible. En effet, un facteur important est le fait que l'hypertension artérielle ne se traduit pas par des symptômes très intenses ni très handicapants, alors que les traitements antihypertenseurs sont producteurs d'effets indésirables. On peut citer des céphalées, une hypotension orthostatique, une sensation de fatigue, une diminution de la libido, une toux, des diarrhées, une dépression. Les patients ont donc tendance à diminuer les doses, voire arrêter d'eux-mêmes le traitement pour limiter les effets indésirables et retrouver leur état basal, mais avec une tension non contrôlée.

II.4. Bénéfices attendus

Une bonne thérapeutique et une bonne observance de celle-ci doivent permettre un contrôle tensionnel au long cours, et ainsi à une diminution des complications associées et du risque de mortalité prématurée. Par exemple, les hommes et les femmes hypertendus sous traitement médicamenteux qui parviennent à normaliser leur tension artérielle ont moins de risques de mourir sur une période de 9,5 ans que ceux dont la tension artérielle reste élevée (22). Une cohorte de 400 patients suivis durant 5 ans a permis de montrer une diminution du taux de mortalité liée à l'hypertension artérielle de 53,2% par augmentation de l'observance (23) dans les 7 groupes expérimentaux par rapport au groupe contrôle.

L'hypertension artérielle étant un enjeu de santé publique, le coût de la santé dû aux complications est aussi à prendre en compte. L'étude française pour « améliorer l'observance » dirigée par le Cercle de Réflexion de l'Industrie Pharmaceutique (CRIP) a calculé en 2014 que le coût de l'inobservance et des complications sur six pathologies chroniques (hypercholestérolémie, diabète de type 2, ostéoporose, asthme, insuffisance cardiaque et hypertension artérielle) s'élevait à environ 9 milliards d'euros par an. L'étude s'est attachée à la complication majeure de chaque pathologie et les surcoûts engendrés : augmentation des consultations médicales, prise en charge hospitalière, passage aux urgences et nouvelles thérapeutiques mises en place.

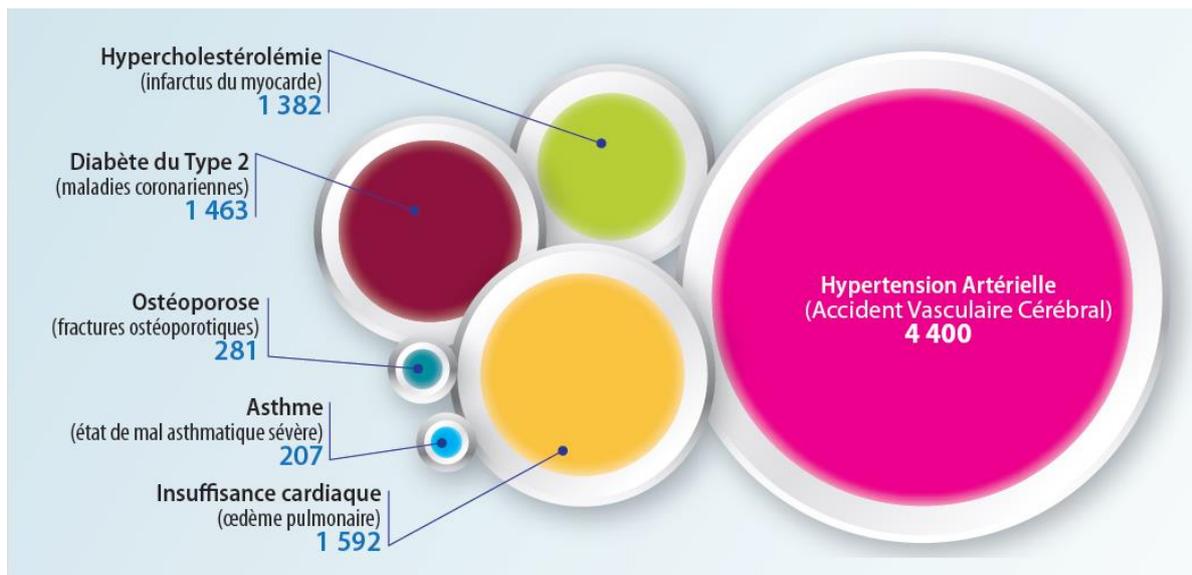


Figure 8. Coûts estimés des complications par pathologie (en millions d'euros) par an, d'après l'étude du CRIP en 2014.

La Figure 8 montre les coûts estimés de l'inobservance sur les six pathologies principales et leur complication majeure. L'hypertension artérielle représente à elle seule 47% des dépenses estimées sur la seule complication étudiée : l'Accident Vasculaire Cérébral. Il y a donc une sous-estimation du coût global. Une augmentation de l'observance pourrait donc avoir des répercussions financières importantes.

D'après le rapport de l'OMS (18), l'amélioration de l'efficacité des interventions en matière d'observance et d'adhésion thérapeutique peut avoir un impact bien plus important sur la santé de la population que toute amélioration des traitements médicaux spécifiques.

II.5. Méthodes d'amélioration de l'observance

D'après Osterberg *et al.* (16), il y aurait quatre catégories générales de méthodes complémentaires permettant d'améliorer l'observance du patient.

La première est l'éducation thérapeutique du patient (ETP). Pratiquée conjointement par les professionnels de santé dans un processus continu d'éducation et d'adhésion du patient elle permet l'intégration du patient dans sa prise en charge. Pratiquée régulièrement, elle permet de rattraper le début de certaines dérives, d'intégrer le patient dans une démarche de prise en charge, de prise de conscience, elle instaure un dialogue avec d'autres professionnels de santé (nutritionniste, pharmacien, IDE, psychologue, etc...)

La seconde est la meilleure planification des mesures de l'observance, que ce soit via les méthodes directes ou indirectes, permettant l'intégration de ces données dans un dialogue constructif permettant le changement de la prise en charge si besoin.

La troisième est l'augmentation des plages horaires de consultations médicales pour permettre aux patients d'éviter un temps d'attente trop long. Mais aussi ceux avec un emploi du temps chargé de pouvoir consulter et ainsi éviter l'échappement thérapeutique.

Enfin, la quatrième catégorie est l'amélioration de la communication médecin-patient. Il doit s'instaurer une relation de confiance entre le praticien et le patient.

Lors d'entretiens thérapeutiques, de consultations, via des conseils à l'officine, le patient peut se voir conseiller des nouveaux outils de mesure et de planification de son traitement. Il existe sur le marché des objets facilitant la prise médicamenteuse. On peut citer le pilulier, qui est préparé à l'avance et suit au jour le jour la thérapeutique et évite au mieux les sauts de prise ou le doublement de dose (24). Ce pilulier peut être préparé par le patient lui-même ou par l'intermédiaire d'un tiers : ami, famille ou professionnel de santé. Il existe des piluliers connectés tel que le pilulier « Imedipac » de la société Medissimo. Cette connectivité permet un suivi de l'observance à distance par l'infirmier ou le médecin.

D'autres objets connectés sont pertinents : la montre connectée, les applications sur téléphone permettant toutes deux d'envoyer un rappel lors de la prise.

Pour certaines pathologies, des dispositifs connectés permettent de suivre au plus près les prises du patient. Ceux-ci peuvent être directement placés sur le dispositif médical, comme par exemple, pour le dispositif « Vigilant Bee » utilisé dans le diabète. En effet ce dispositif placé directement sur le stylo à insuline permet d'enregistrer directement la dose, l'heure et la date de l'administration. Il existe le même principe pour l'asthme, avec le dispositif « Turbu » d'AstraZeneca, ici la connectique est placée directement sur l'inhalateur.

Concrètement, la société française de l'hypertension artérielle (SFHTA) a émis des recommandations en décembre 2017 (17). Elle émet soixante actions à mettre en place pour

contrôler au mieux l'hypertension artérielle en France. Parmi ces soixante actions, au moins six concernent directement l'amélioration de l'observance.

Certaines méthodes permettent ainsi d'augmenter l'observance du patient, probablement parce qu'elles impliquent directement le patient dans sa prise en charge, et de ce fait permettent d'augmenter l'adhésion thérapeutique de celui-ci.

II.6. Mesure

Il peut être nécessaire de mesurer objectivement l'observance du traitement par le patient, que ce soit dans les études cliniques et pré-cliniques pour évaluer au mieux la thérapeutique, mais aussi pour éviter au patient un alourdissement de son traitement à tort. A noter que l'adhérence n'est pas quantifiable par définition. Différentes méthodes existent et sont plus ou moins représentatives de l'observance à un temps donné, voire sur le long terme. C'est d'ailleurs un point important souligné dans les recommandations du suivi du patient hypertendu.

Mais il ne faut pas oublier que :

« La confiance se gagne en gouttes et se perd en litres. »

En effet, l'objectivation d'une observance négative (en-dessous d'un seuil considéré comme optimal) ne doit pas décourager le patient, voire entraîner un jugement négatif qui serait alors très préjudiciable dans la suite de la thérapie.

II.6.1. Évaluation indirecte

Les méthodes d'évaluation indirectes sont appliquées à distance de la prise médicamenteuse.

Le professionnel de santé peut utiliser un questionnaire validé tel que le questionnaire de Morisky à 8-items (Tableau 5) (25) ou l'auto-questionnaire de Girerd (Tableau 6) (26) par exemple. Ces deux questionnaires sont disponibles en ligne. Cette méthode est soumise aux déformations induites par des omissions ou des négligences du patient, mais reste simple, efficace et peu coûteuse.

Tableau 5. Questionnaire de Morisky à 8-items, validé en version française.

		OUI	NON
1	Vous arrive-t-il quelquefois d'oublier de prendre vos médicaments ?	0	1
2	Il arrive que des personnes ne prennent pas leurs médicaments pour des raisons autres que l'oubli. Pensez aux deux dernières semaines : Vous est-il arrivé au moins un jour de ne pas prendre vos médicaments ?	0	1
3	Vous est-il déjà arrivé de diminuer ou d'arrêter de prendre votre traitement sans le dire à votre médecin, parce que vous vous sentiez plus mal lorsque vous le preniez ?	0	1
4	Lorsque vous voyagez ou quittez votre domicile, vous arrive-t-il d'oublier d'emporter avec vous vos médicaments ?	0	1

5	Avez-vous pris vos médicaments hier ?	0	0
6	Lorsque vous sentez que votre problème de santé est maîtrisé, vous arrive-t-il quelquefois, de ne pas supporter de prendre votre traitement ?	0	1
7	Prendre son traitement tous les jours constitue une vraie gêne pour certains patients. Vous arrive-t-il, quelquefois, de ne pas supporter de prendre votre traitement ?	0	1
8	Combien de fois avez-vous eu des difficultés à vous rappeler de prendre votre traitement ?		
	A. Jamais ou rarement	1	
	B. De temps en temps	0,75	
	C. Parfois	0,5	
	D. Fréquemment	0,25	
	E. Tout le temps	0	
Score : <6 : faible observance ; 6-<8 : observance moyenne ; 8 : haute observance			

Tableau 6. Autoquestionnaire de Girerd.

	OUI	NON
Ce matin avez-vous oublié de prendre votre traitement ?		
Depuis la dernière consultation, avez-vous été en panne de médicament ?		
Vous est-il arrivé de prendre votre traitement avec retard par rapport à l'heure habituelle ?		
Vous est-il arrivé de ne pas prendre votre traitement parce que, certains jours, votre mémoire vous fait défaut ?		
Vous est-il arrivé de ne pas prendre votre traitement parce que, certains jours, vous avez l'impression que votre traitement vous fait plus de mal que de bien ?		
Pensez-vous que vous avez trop de comprimés à prendre ?		
6 « NON » : bon observant ; 1 ou 2 « OUI » : non observant mineur ; > 3 « OUI » : non observant		

Une autre méthode consiste à faire le décompte des médicaments restants (gélules, comprimés, stylos injectables ...). Méthode facile à réaliser, peu coûteuse mais soumise aux

altérations conscientes par le patient. Elle permet un suivi plus périodique que l'observation en direct de la prise et plus régulier que l'utilisation des questionnaires.

Une autre méthode ressemblante, utilisée en pharmacie d'officine, est le taux de renouvellement des ordonnances. Elle a l'avantage d'être pratiquée à posteriori grâce aux outils informatiques. Le but étant de montrer une correspondance entre une date attendue de renouvellement et la date effective. Mais « bon renouvellement du médicament » ne signifie pas obligatoirement « bonne prise du médicament » ! En complément de ces deux méthodes, l'aide électronique est une alternative (décompte de prises avec les piluliers électroniques par exemple). Mais cette méthode est plus coûteuse et n'est efficace qu'avec des patients à l'aise avec les nouvelles technologies, ainsi qu'avec des professionnels de santé présents pour la récolte des données.

La réponse clinique au traitement pourrait présager de la bonne observance, mais d'autres facteurs entrent en ligne de compte. Inversement, il est difficile d'objectiver une bonne observance quand la réponse au traitement n'est pas optimale. Dans le cas de l'hypertension, une augmentation des doses peut être nécessaire, il peut exister une hypertension artérielle résistante vraie, alors que le patient serait classé « mauvais observant » à tort par cette méthode. Certains marqueurs physiologiques mesurables quantifient mieux le degré d'observance. Par exemple, un patient sous β -bloquants a une fréquence cardiaque diminuée.

II.6.2. Évaluation directe

Les méthodes directes de mesure de l'observance s'intéressent à la prise du médicament. Ce sont les méthodes a priori les plus fiables et les plus précises. Une personne observe et note la prise du médicament par le patient, c'est ce qui peut être fait à l'hôpital lors de la distribution journalière des thérapeutiques. C'est en pratique très difficile à mettre en place en routine et le patient peut toujours simuler la prise du médicament.

On peut aussi rechercher la présence dans les liquides biologiques (sang ou urines principalement) du principe actif, de ses métabolites ou d'un marqueur présent dans la formulation. Ceci est la démonstration la plus objective de la prise médicamenteuse, mais sans appréciation quantitative. Or l'inobservance peut se traduire par une prise irrégulière ou des doses différentes de celles prescrites. Cette méthode est plus coûteuse et difficile d'interprétation en fonction des demi-vies d'éliminations par exemple. De plus, certaines molécules n'ont pas de seuil de concentration proportionnel à leur activité thérapeutique. Malgré ces limites, ces analyses font partie intégrante des recommandations de la SFTHA (17) :

- Point 20 « *Utiliser de plus en plus la détection urinaire des médicaments antihypertenseurs par spectrométrie de masse (LCMS/MS), chez l'hypertendu résistant pour documenter l'inobservance médicamenteuse et établir les bases d'un dialogue constructif avec le patient, afin d'éviter de lourds et coûteux examens complémentaires.* »

Que la méthode soit directe ou indirecte, aucun *gold standard* de mesure de l'observance n'existe à l'heure actuelle et dans l'idéal la combinaison de différentes méthodes doit être utilisée.

II.7. État des lieux du suivi thérapeutique pharmacologique en France

La détection des principes actifs médicamenteux par l'intermédiaire d'une technique spécifique et sensible comme la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse s'inscrit dans un cadre plus global : le suivi thérapeutique pharmacologique (STP).

Le STP consiste à adapter la posologie d'un médicament en fonction des concentrations mesurées. Il faut pour ce faire une bonne corrélation entre la pharmacocinétique et la pharmacodynamie (relation PK-PD), cela équivaut à une bonne corrélation concentration-effet. Il faut, de plus, que cette relation soit documentée par des concentrations efficaces connues. Le STP est beaucoup utilisé pour les antibiotiques ou les immunosuppresseurs par exemple. Ces deux classes médicamenteuses bénéficient de très bonnes relations PK-PD, de concentrations efficaces connues, d'une forte variabilité interindividuelle et d'une marge thérapeutique étroite. C'est-à-dire qu'il est difficile de prédire l'efficacité du traitement en connaissant uniquement la posologie et l'état du patient.

Les traitements antihypertenseurs bénéficient d'une bonne relation PK-PD, d'une variabilité interindividuelle importante mais leur marge thérapeutique large ne justifie pas un STP à l'heure actuelle.

Une revue des différents centres en France dosant les antihypertenseurs a été réalisée par Bouhanick *et al.* (27) dans le cadre du suivi de l'observance et en prévision d'un éventuel STP. Cette revue permet au clinicien d'envisager les différents moyens d'évaluation de l'observance, de lui donner les clés pour prescrire un dosage chez son patient en fonction de la molécule. C'est une liste la plus exhaustive possible des molécules antihypertensives, de leur Tmax (temps d'obtention de la concentration plasmatique maximale), de leur demi-vie d'élimination, des laboratoires effectuant le dosage et le coût.

On voit qu'aucun centre en France, à l'heure actuelle, ne propose la recherche plasmatique ou urinaire de toutes les molécules antihypertensives disponibles. Même si le service de pharmacologie-toxicologie-pharmacovigilance du CHU de Limoges est bien représenté, plus particulièrement pour les β -bloquants et les diurétiques, il ne propose pas non plus la recherche et/ou le dosage de toutes ces molécules.

C'est dans ce cadre-là que le développement de la méthode présentée dans cette thèse a été décidé.

III. Matériels et méthodes

Avant la mise en place de la méthode analytique, une revue de littérature et un choix théorique des médicaments anti-hypertenseurs d'intérêt ont été réalisés. L'objectif était un choix pertinent de ceux-ci, ainsi que de leurs métabolites si besoin, afin de répondre au mieux à la demande clinique. Un choix trop large de molécules aurait rendu le développement plus contraignant, mais à l'inverse, un choix trop restrictif aurait fait perdre tout intérêt au screening en lui-même.

III.1. Sélection des molécules antihypertensives utilisées en France

Pour être le plus exhaustif possible, une extraction thériaque⁸ a été réalisée le 16 décembre 2019 avec pour critère clinique : HTA-indication père. Le même procédé a été utilisé pour l'insuffisance cardiaque.

À partir de ces extractions (1185 lignes différentes) sous forme de fichier Excel, des tris et des suppressions ont été opérés selon le processus présenté en Figure 9.

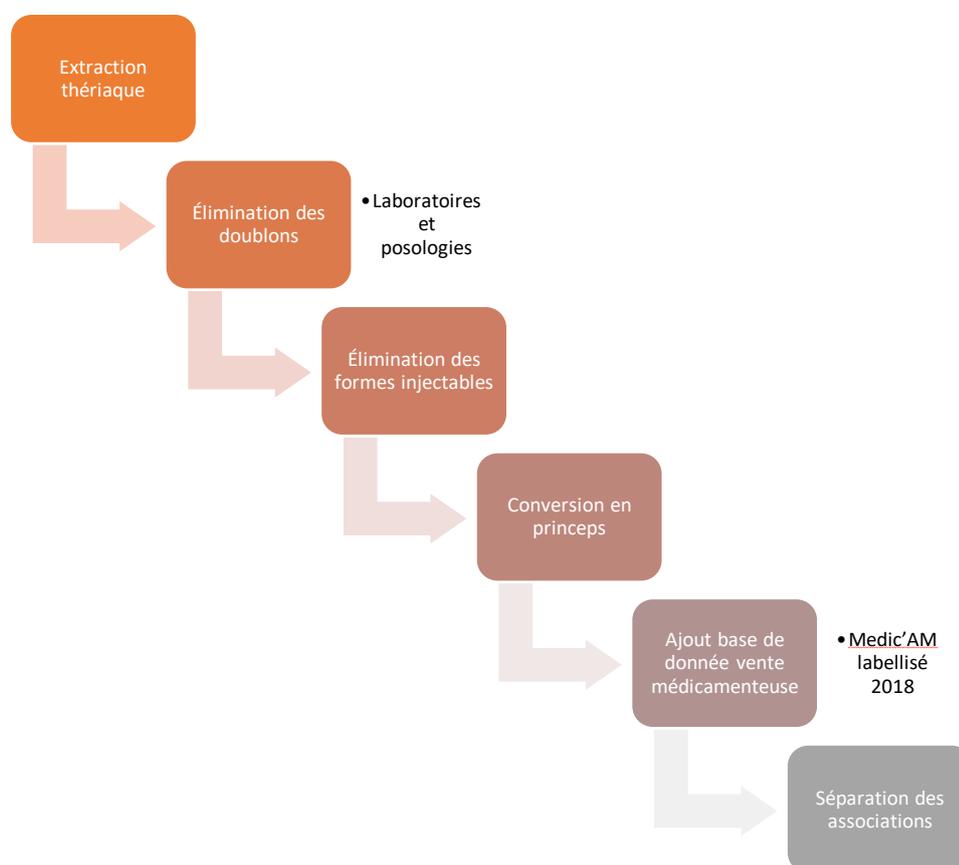


Figure 9. Processus de retraitement de l'extraction Thériaque pour l'évaluation du nombre de molécules antihypertensives et leur volume de vente en officine pour l'année 2018

La première étape a été d'éliminer les doublons, c'est-à-dire tous les princeps et génériques ayant le même nom mais avec des posologies ou des fabricants différents. Il n'est pas intéressant, dans ce tri, de garder la même molécule plusieurs fois dans toutes ces formes

⁸ Thériaque est une banque de données sur tous les médicaments disponibles en France, destinée aux professionnels de santé.

disponibles sur le marché, le screening ne pouvant pas faire la différence. Par exemple : acébutolol Mylan 400 mg comprimé et acébutolol 200 mg Sandoz comprimé ont été regroupés en une seule ligne intitulée acébutolol comprimé. Aucune distinction n'a été faite entre les différentes formes per os (comprimé, gélule ...).

A priori, les formes injectables ne font pas partie de l'arsenal thérapeutique utilisé dans le traitement de l'HTA chronique. Ce sont des formes exclusivement à usage aigu. La deuxième étape a donc consisté à les éliminer de la liste.

L'étape suivante a permis le tri entre la molécule en dénomination commune internationale (DCI) et en princeps, ainsi que les associations de molécules, très présentes dans le traitement de l'HTA, et leurs princeps. Par exemple, pour les molécules énalapril et hydrochlorothiazide, on retrouve les lignes suivantes : Esidrex®, Corenitec®, Renitec®, énalapril. Il y a donc quatre lignes présentes pour deux molécules, et, de plus, l'hydrochlorothiazide n'apparaît pas en DCI.

La troisième étape a consisté à convertir les noms commerciaux en DCI. Par exemple : Renitec® donne énalapril. Ceci a permis de faire apparaître des molécules exclusivement commercialisées sous leur forme princeps. Par exemple : Esidrex donne hydrochlorothiazide et Tenoretic donne aténolol et chlorthalidone. Ceci a abouti après la quatrième étape à un meilleur classement des molécules.

Pour la quatrième étape, une base de données supplémentaire a été utilisée. Elle est tirée du site de l'assurance maladie en ligne (<https://assurance-maladie.ameli.fr/etudes-et-donnees/par-theme/medicaments-et-dispositifs-medicaux/medicaments>) et sa référence est Medic'AM labellisé⁹. Celle utilisée était la plus récente disponible soit Medic'AM labellisé 2018 au moment du traitement des données. Cette base de données a été utilisée en partant du principe que les patients hypertendus chroniques retirent leur traitement à l'officine très majoritairement, et ne font pas partie du circuit de délivrance hospitalier, non pris en compte dans cette base. Elle permet d'avoir une estimation de l'utilisation des différents médicaments en France par leur délivrance totale en officine. L'analyse des données a été faite en compilant la base Thériaque avec la base Medic'AM afin d'avoir une idée globale de la prescription d'antihypertenseurs en France en 2018.

La dernière étape, tout comme la première, a été l'élimination de tous les doublons pour ne garder que les DCI sans association.

III.1.1. Recherche des caractéristiques pharmacocinétiques pertinentes

Les caractéristiques métaboliques des médicaments ont également été prises en compte pour le choix des différentes molécules à analyser.

La pharmacocinétique est la discipline qui étudie le devenir du médicament dans l'organisme. Elle permet de connaître les effets du corps sur le médicament. Principalement, elle est découpée en différentes étapes théoriques sous le sigle ADME, correspondant respectivement à l'absorption, la distribution, la métabolisation et l'élimination du principe actif. Chaque molécule, de par sa voie d'administration, ses paramètres physico-chimiques et ses interactions intrinsèques réagit différemment dans l'organisme.

Dans le traitement des maladies chroniques comme l'HTA, l'administration *per os* est la plus intéressante et de loin la plus fréquente. Il faut donc bien comprendre cette voie pour faire au

⁹ Données labellisées sur les médicaments délivrés par les pharmacies de ville et remboursés par l'Assurance Maladie, par classe ATC et taux de remboursement.

mieux le choix des molécules à cibler avec la méthode d'analyse. Par la suite, la théorie globale de la pharmacocinétique sera développée avec un intérêt plus particulier pour la voie orale.

III.1.1.1. L'absorption

L'absorption est influencée d'un côté par les paramètres physico-chimiques du médicament et de l'autre, par les caractéristiques du milieu d'administration. En effet, les moyens d'administrer un médicament sont de natures très diverses, et les milieux rencontrés n'exercent pas le même effet sur le médicament (pH très acide de l'estomac, barrière cutanée hydrophobe, absence de transporteurs actifs ...). L'intensité d'absorption est mesurée via la biodisponibilité, définie comme la fraction de la dose de médicament inchangé atteignant la circulation générale. Cette biodisponibilité est maximale pour la voie injectable et toujours inférieure pour les autres voies.

Certains principes actifs n'ont pas une biodisponibilité suffisante par voie orale, il est donc nécessaire de modifier leur formulation.

Un des moyens d'augmenter la biodisponibilité est le recours aux prodrogues. C'est une molécule pas ou peu retrouvée à l'état inchangé dans le corps, mais qui après biotransformation donnera la molécule d'intérêt.

Il est donc intéressant de savoir si le principe actif a une biodisponibilité suffisamment bonne pour être utilisé tel quel, ou s'il mérite un changement dans sa formulation pour pouvoir être absorbé. On ne cherchera donc pas la même molécule *in fine* dans la méthode présentée dans ce travail.

III.1.1.2. La distribution

Une fois dans la circulation sanguine, le principe actif doit atteindre son site d'action. Cela se fait de plusieurs manières différentes n'influençant pas la détection lors de l'analyse développée.

III.1.1.3. La métabolisation

Aussi appelée biotransformation, la métabolisation est l'ensemble des réactions enzymatiques permettant à l'organisme de créer un changement dans la structure de la molécule. Ceci permet une meilleure élimination par les systèmes épurateurs. De façon non spécifique, certaines enzymes vont permettre une meilleure solubilité dans les matrices d'élimination (principalement bile et urine).

Plusieurs organes participent au métabolisme, avec en majorité le foie, mais on retrouve aussi les reins, les poumons, la peau, les intestins...

Le cytochrome P450 et ses isoenzymes (CYP3A4, CYP2D6...) font partie des enzymes les plus impliquées dans la métabolisation cellulaire. Ils interviennent dans la métabolisation de « phase I » qui modifie peu la structure de la molécule. Pour rendre la molécule polaire, des groupements hydroxyles (-OH), amines (-NH₂) et carboxyles (-COOH) sont ajoutés. Ceci permet une meilleure solubilité dans l'eau mais aussi une meilleure réaction avec les enzymes intervenant dans le métabolisme de « phase II ». Cette seconde phase permet un changement plus important par ajout d'un groupement fonctionnel de plus grande taille. Cette étape est nommée la conjugaison. L'acide glucuronique est le groupement le plus fréquemment greffé. Ceci permet aux molécules les plus hydrophobes d'être solubilisées dans la bile ou les urines.

C'est durant l'étape de métabolisation que sont créés les métabolites. Connaître leur nature et leur présence nous a permis de savoir quelle molécule rechercher avant le début du développement de la méthode.

III.1.1.4. L'élimination

L'élimination est l'étape finale dans le devenir du médicament dans l'organisme. Les deux principaux organes impliqués sont le foie et le rein. Outre son action dans la métabolisation, le foie épure le sang des xénobiotiques par une excrétion dans la bile, bile qui sera éliminée dans les fèces. Cette élimination est prépondérante pour des molécules non ionisables et liposolubles. Le rein, quant à lui, élimine de manière passive et active les médicaments de petite taille hydrophiles et ionisables.

Avant de développer la méthode analytique, il était primordial de connaître la voie d'élimination principale (et son ratio), en effet la molécule sera d'autant plus difficile à retrouver dans les urines si elle a une élimination très majoritairement biliaire.

III.1.1.5. Recueil des paramètres pharmacocinétiques

Plusieurs bases de données ont été utilisées pour la recherche des caractéristiques pharmacocinétiques des molécules sélectionnées. Les articles de recherche ont été triés sur la base de données Pubmed. Le site gouvernemental <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/> a aussi été utilisé.

III.1.2. Etalons internes

Dans une méthode chromatographique, il est important de s'affranchir d'erreurs de mesures techniques, de décalages dans les temps de rétention. Pour ce faire, il est nécessaire de rajouter dans les échantillons à analyser des molécules connues, chimiquement proches de celles recherchées mais non présentes à l'état initial, à concentrations établies. Tous ses paramètres sont contrôlés par l'ajout d'étalons internes dans l'échantillon durant la première étape technique. Le choix s'est porté sur des étalons internes deutérés, c'est-à-dire modifié atomiquement par rapport à l'analogue naturel. Les atomes sont caractérisés par le nombre de protons (le chlore contient 17 protons, l'hydrogène 1 etc...), c'est la masse atomique Z. S'ils diffèrent par leur nombre de neutrons, ce sont des isotopes. Par exemple, l'ajout d'un neutron à un atome de protium (hydrogène à 1 proton et 0 neutron de symbole ${}_1^1\text{H}$) donne un atome de deutérium (hydrogène à 1 proton et 1 neutron de symbole ${}_1^2\text{H}$). La différence est illustrée par la Figure 10. Cette différence d'un neutron permet à l'atome de deutérium d'avoir une masse atomique supérieure de 1 unité atomique à celle de l' ${}_1^1\text{H}$ (1,007 u contre 2,014 u). Un ajout de trois deutériums dans une molécule est détectable dans le spectromètre de masse, sans que les paramètres physicochimiques et donc que la séparation chromatographique de la molécule soit modifiée.

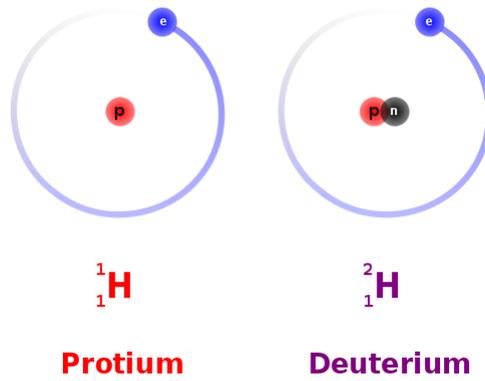


Figure 10 Illustration de la différence entre deux isotopes de l'hydrogène

Les étalons internes doivent être présents sur tout le chromatogramme, du début à la fin. Ceci permet de déceler, lors de l'analyse, des décalages de temps de rétention. Nous avons cinq familles pharmacologiques majoritaires dans la méthode, le choix s'est donc porté sur une molécule deutérée dans chaque famille si possible. Soit : valsartan d9, enalaprilat d5, hydrochlorothiazide 13C d2 (même principe que les isotopes de l'hydrogène mais avec le carbone 13), propranolol d7 et aténolol d7. L'hydrochlorothiazide 13C d2 est ionisé négativement permettant d'avoir un étalon interne pour toutes les molécules négatives.

III.2. Spectrométrie de masse

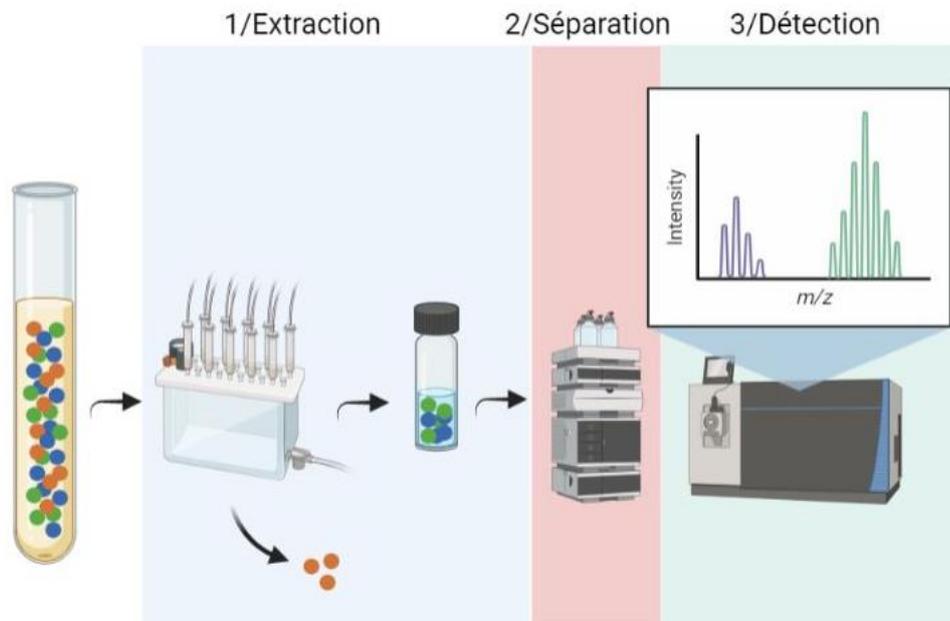


Figure 11. Schéma de préparation des échantillons avant séparation par chromatographie liquide et détection par spectrométrie de masse.

La spectrométrie de masse est une technique de détection sensible et spécifique des molécules. Avant toute détection, l'échantillon à analyser doit être conditionné pour optimiser au mieux sa qualité de détection.

La première étape est une étape d'extraction. Diverses molécules se trouvent solubilisées à l'intérieur d'une matrice biologique (urine, sang...). La matrice biologique est souvent source de nombreuses interférences ou effets de matrice, et les molécules d'intérêts sont à des concentrations souvent faibles. Le principe d'extraction est donc de remplacer la matrice

complexe par un ou des solvants plus simples tout en concentrant les molécules de l'échantillon. La Figure 11 présente un manifold à vide avec des cartouches d'extraction en phase solide (SPE) au-dessus, permettant d'éliminer la matrice et des molécules potentiellement interférentes (schématiquement en orange). Les molécules sont adsorbées sur un polymère (voir III.2.3 Optimisation de l'extraction) pour être ensuite éluées avec un solvant et concentrées dans les vials permettant l'injection.

L'étape suivante est l'injection dans un système de chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC). Une colonne chromatographique permet la séparation physique des différentes molécules en solution. Cette séparation se fait sous haute pression, avec des colonnes plus ou moins affines pour les molécules, avec des propriétés physiques et chimiques testées et avec des gradients de solvants adaptés (voir III.2.2 Optimisation de la chromatographie).

La dernière étape est la détection des molécules dans un spectromètre de masse (en tandem pour ce développement de méthode) et la restitution informatique des données. Les étapes précédentes sont des étapes de préparation alors que la spectrométrie proprement dite se fait lors de la dernière étape. Elle repose sur le principe d'une séparation par un quadripôle des molécules ionisées à l'entrée, en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z). Schématiquement, les molécules vont avoir une charge positive ou négative leur permettant de migrer dans un aimant suivant une tension connue. L'ion ayant migré est détecté et un signal électrique est produit permettant de créer des spectres d'intensité en fonction du rapport m/z .

Pour le développement de la méthode en spectrométrie de masse en tandem, il est conseillé d'optimiser les étapes dans l'ordre inverse de passage dans la technique, soit :

1. Ionisation et fragmentation
2. Séparation chromatographique
3. Extraction

III.2.1. Optimisation des conditions d'ionisation et de fragmentation

En spectrométrie de masse, l'injection en continu, ou « infusion » selon le terme anglais, est le procédé par lequel on obtient le spectre de masse le plus pur possible, et surtout les conditions optimales d'ionisation et de fragmentation de chacune des molécules d'intérêt. En effet, ces dernières varient entre les types et modèles de spectromètres de masse et même entre laboratoires. Une solution pure de la molécule, ou du mélange des molécules est directement injectée dans la source d'ionisation atmosphérique.

L'infusion a été réalisée avec des solutions pures de molécules achetées auprès de fournisseurs spécialisés, dissoutes après pesée précise pour une solution à 1g/l. Il n'a pas été possible d'utiliser un solvant unique, du fait des propriétés chimiques différentes de toutes les molécules. Une recherche a donc été réalisée et chaque molécule a été dissoute dans le meilleur solvant possible parmi l'éthanol, le méthanol ou le DMSO. Elles ont ensuite été diluées pour l'infusion à une concentration de 0,1 mg/l dans du tampon formiate 5mM + 0,1% acide formique / ACN (70/30). Ce mélange est également la solution de reprise des échantillons extraits.

L'infusion a été réalisée dans un spectromètre de masse en tandem de la marque Sciex et de modèle QTRAP 5500. Le logiciel Analyst d'acquisition permet une recherche de la molécule pure en mode Scan pour ensuite optimiser la détection en mode PIS (product ion scan).

Le mode Scan du spectromètre de masse en tandem permet de balayer une plage de m/z définie pour avoir le maximum d'ions dans le détecteur. Aucun filtre n'est préétabli et le spectre de la molécule doit être sélectionné manuellement. Cette étape permet de s'assurer de la présence de la molécule dans la solution pure avec une concentration adéquate. Le mode Scan est présenté dans la Figure 12 pour le perindoprilat, de masse 340,41 g/mol et à qui l'ionisation positive confère un ion H^+ supplémentaire soit une masse ionique de 341,4 g/mol. Aux imprécisions de mesure près, on retrouve un pic à 341 m/z . Les autres pics peuvent être des interférences, le solvant, ou des ions parents de la molécule mère.

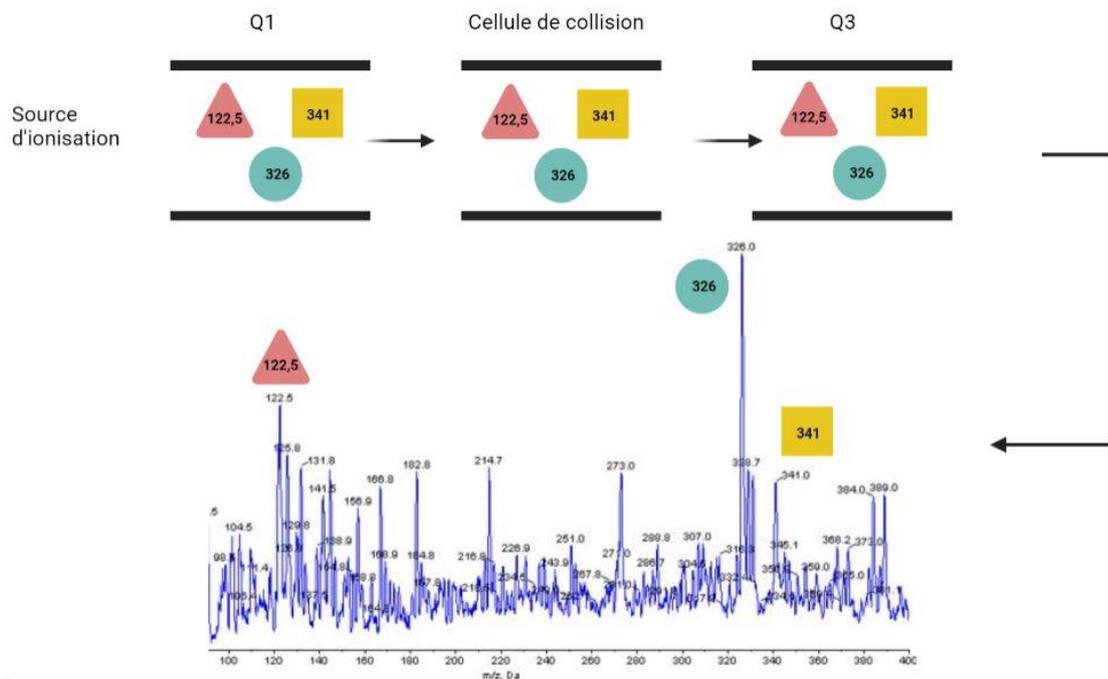


Figure 12. Schéma du mode Scan en SM pour le perindoprilat.

Le mode PIS est ensuite utilisé en sélectionnant dans le premier quadropôle Q1 la masse théorique de l'ion infusé, en le fragmentant dans la cellule de collision (Q2) pour créer des ions fils qui sont enfin tous analysés dans le troisième quadropôle (Q3) comme présenté sur la Figure 13. Ceci permet d'enregistrer le spectre de masse totale d'une molécule.

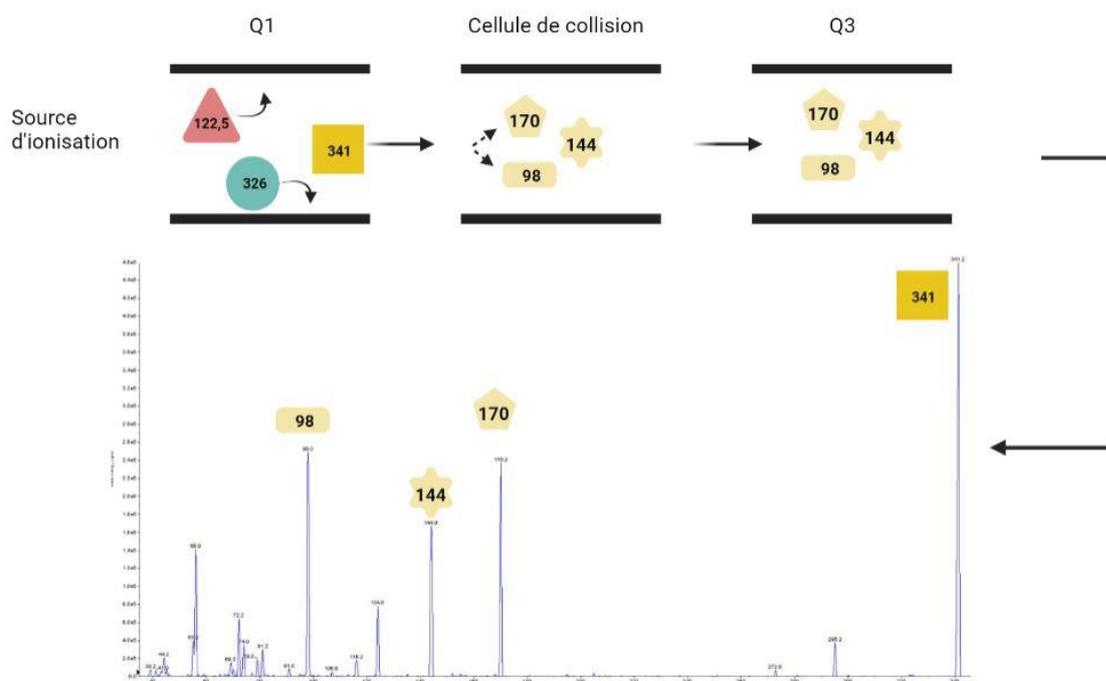


Figure 13. Schéma du mode PIS en SM pour le perindoprilat.

Certaines molécules ne réagissent pas comme les autres lors de l'infusion. Du fait de leurs caractéristiques atomiques, un intérêt particulier doit leur être apporté. C'est le cas des molécules contenant des isotopes fréquents. En effet, le chlore existe sous deux formes stables d'abondances relatives proches, le chlore-35 à 75,76% et le chlore-37 à 24,24% (le chlore 36 n'est pas stable et est retrouvé à l'état de traces, donc il n'est pas pris en compte). Ces deux isotopes ayant deux unités atomiques d'écart, le spectromètre de masse peut les différencier. Il est donc nécessaire de connaître les molécules chlorées, qui vont donner deux spectres caractéristiques lors de l'infusion. C'est le cas pour l'ensemble des ions halogénés, dont le brome également (2 isotopes à 50%/50% environ).

La Figure 14 montre le spectre moyen de l'altizide en mode d'ionisation positif. L'altizide est une molécule contenant un chlore et dont la masse atomique moyenne est de 383,9 g/mol. On voit qu'il y a deux pics de masse à 384 et 386 Da, correspondant aux isotopes du chlore en ionisation positif, soit une masse de 383 Da pour le chlore-35 et une masse de 385 Da pour le chlore-37. L'isotope le plus abondant a été choisi pour la détection et la quantification ultérieures de l'altizide, soit la molécule contenant le chlore-35.

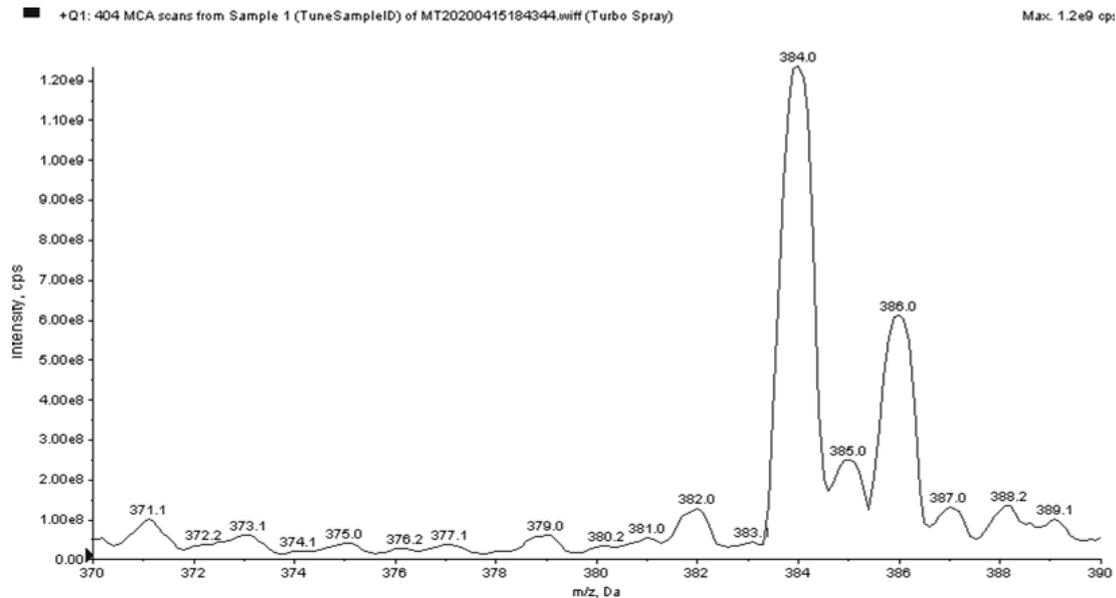


Figure 14. Spectre de masse de l'altizide montrant la présence d'un isotope du chlore.

Une fois les infusions faites molécule par molécule et les spectres optimisés sur les cinq principaux ions fils, puis un choix a été fait parmi ceux-ci. En effet, lors de la réalisation de la méthode en routine, le temps de passage par échantillon est primordial. La méthode doit être la plus rapide possible tout en ayant la meilleure efficacité. Pour obtenir un temps de passage réduit, les meilleures transitions par molécules ont été choisies : une de détection et l'autre de confirmation, il restait donc trois transitions à éliminer. Cette élimination a été réalisée en fonction de plusieurs paramètres :

- L'intensité de la transition : plus la transition a une intensité forte plus la probabilité de créer l'ion fils dans la cellule de collision est grande, plus la sensibilité de la méthode est augmentée.
- Le "crosstalk" : plus le nombre de molécules augmente et plus la probabilité que deux molécules se retrouvent avec des temps de rétention chromatographiques très proches et un ion fragment commun est grande. Il faut donc analyser la liste et ne garder que les transitions différentes ou s'assurer en chromatographie que les temps de rétention soient bien différents en s'assurant que les ions de détection et de confirmation ne correspondent pas.
- Un rapport m/z des ions fils élevé : plus la masse de l'ion fils créé est faible et plus la probabilité de retrouver le même motif moléculaire pour deux médicaments est grande. Toutes les molécules de la méthode sont des composés organiques constitués des mêmes atomes. Il est donc possible que les ions fils de faibles masses se recoupent entre les familles. Cela permet de plus de s'affranchir de la masse faible des gaz et solvants utilisés lors de l'extraction et de la chromatographie. ($\text{CO}_2 = 44$, $\text{H}_2\text{O} = 18$...).

Ces éliminations ont été réalisées une fois l'optimisation de la chromatographie faite, mais le tableau correspondant est présenté dans cette section. Cette sélection a permis de programmer l'acquisition en mode « scheduled MRM », c'est-à-dire d'optimiser la recherche des ions en fonction du temps de rétention. Cela permet d'augmenter le nombre de points par pics (voir III.2.2 Optimisation de la chromatographie).

III.2.2. Optimisation de la chromatographie

La chromatographie est la phase de séparation des molécules qui permet d'optimiser la détection ensuite.

C'est une phase très importante avec de nombreux paramètres à optimiser : phase de reprise, solvants utilisés, profil des gradients de solvants, pressions.

Le système chromatographique UHPLC (Ultra-High Pressure Liquid Chromatography) est constitué d'un autosampler Shimadzu SIL 30AC, de pompes Shimadzu LC 30AD, d'un four pour les colonnes, d'un contrôleur CBM 20A lite et d'une valve solénoïde FCV 11AL permettant le mélange des solvants. La pression maximale programmée est de 600 bars.

Le choix de la colonne a été réalisé en fonction de plusieurs paramètres :

- Compatibilité de la colonne de chromatographie avec de l'UHPLC (à plus hautes pressions que l'HPLC)
- Caractéristiques physico-chimiques compatibles avec les différentes classes pharmacologiques représentées
- Facilité d'utilisation de la colonne

Une colonne chromatographique est un tube en acier, généralement de l'ordre de la dizaine de centimètres, contenant une phase stationnaire. Cette phase stationnaire est ce qui différencie les colonnes entre elles. Le plus souvent elle contient une phase en gel de silice de formule générale SiOH très polaire et hydrophile. Sur cette silice peut être greffée différentes chaînes modifiant ses propriétés physico-chimiques. La colonne la plus commune est la colonne C18, c'est-à-dire que la silice est greffée d'un long motif à 18 atomes de carbone lui conférant des propriétés hydrophobes et apolaires. C'est une colonne dite en phase inverse.

Cinq colonnes différentes ont été utilisées pour la réalisation des tests. On retrouve :

- HALO C18 2,7 μ m ; 2,1mm ; 50mm
- HALO AQ-C18 2,7 μ m ; 2,1mm ; 50mm
- HALO Biphenyl 2,7 μ m ; 2,1mm ; 50mm
- Pinnacle DB PFPP 1,9 μ m ; 2,1mm ; 50mm
- Atlantis T3 3 μ m ; 2,1mm ; 150mm

Les colonnes sont caractérisées par trois chiffres. Le premier donne le diamètre des billes de silice à l'intérieur de la colonne, le deuxième donne le diamètre interne de la colonne et le dernier donne la longueur de la colonne. Chaque colonne utilisée ici convient à de l'UHPLC.

Les colonnes sont poreuses et traversées par un solvant à débit régulier. Il est donc possible de calculer le temps qu'un solvant met pour traverser entièrement la colonne sans être retenu, c'est le temps mort, calculé par la formule :

$$\frac{\pi \times r^2 \times l \times c}{d}$$

Où :

- r : rayon de la colonne en mm
- l : longueur de la colonne en mm
- d : débit en μ l/min
- c : constante de remplissage de la colonne, ici = 0.7

Le calcul du temps mort permet de voir quelles molécules ne sont pas retenues par la colonne, en comparant ce temps mort avec leur temps de rétention, elles sortent dans le front de solvant. Une marge de sécurité d'un facteur 2 est prise en compte permettant l'injection complète de l'échantillon dans la colonne et le passage total des premiers solvants.

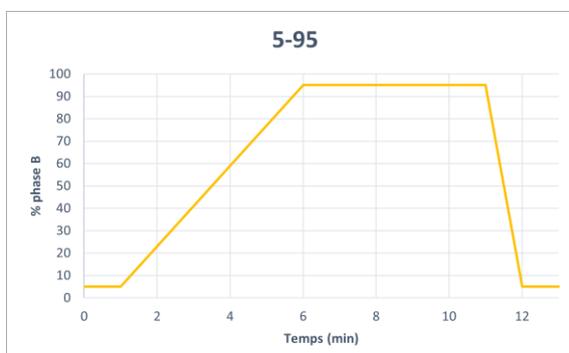
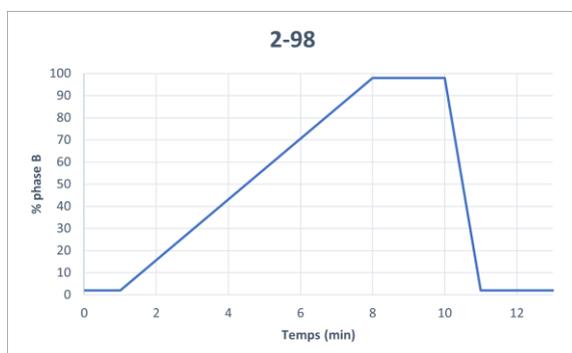
La colonne HALO C18 est la colonne classique en phase inverse, c'est la plus polyvalente. Les quatre autres colonnes ont des phases stationnaires plus spécifiques. Les colonnes AQ-C18 et Atlantis T3 sont plus spécifiques des composés polaires, la colonne Biphenyl plus adaptée aux composés aromatiques et la colonne Pinnacle DB PFPP aux composés basiques. Ces colonnes correspondent plus ou moins aux caractéristiques chimiques des molécules recherchées.



Figure 15. Photo d'une colonne chromatographique à l'échelle 1:1.

Des solvants d'éluions sont utilisés pour décrocher les molécules de la phase stationnaire de la colonne. La phase mobile est constituée généralement d'un mélange de solvants appropriés aux propriétés physico-chimiques des molécules à rechercher. L'éluion peut être réalisée selon un mode isocratique, c'est-à-dire que c'est le même solvant qui est utilisé tout au long de la séparation chromatographique, ou en utilisant un mélange variable de solvants dans le temps, c'est l'éluion en gradient. Cette dernière méthode permet d'optimiser les rapports entre solvants apolaires et polaires utiles à l'éluion d'un mélange de molécules. Pour le développement d'une telle méthode, habituellement, il est nécessaire de faire varier d'une petite fraction le mélange des solvants et voir quelles molécules sont détectées avec ce mélange. La méthode décrite dans ce manuscrit ne se prête pas à cette technique du fait du nombre important de molécules à séparer. Il a été décidé de tester des variantes de gradient et d'utiliser le meilleur couple gradient/colonne.

Le gradient est défini par le pourcentage de phase aqueuse A et de phase organique B en fonction du temps.



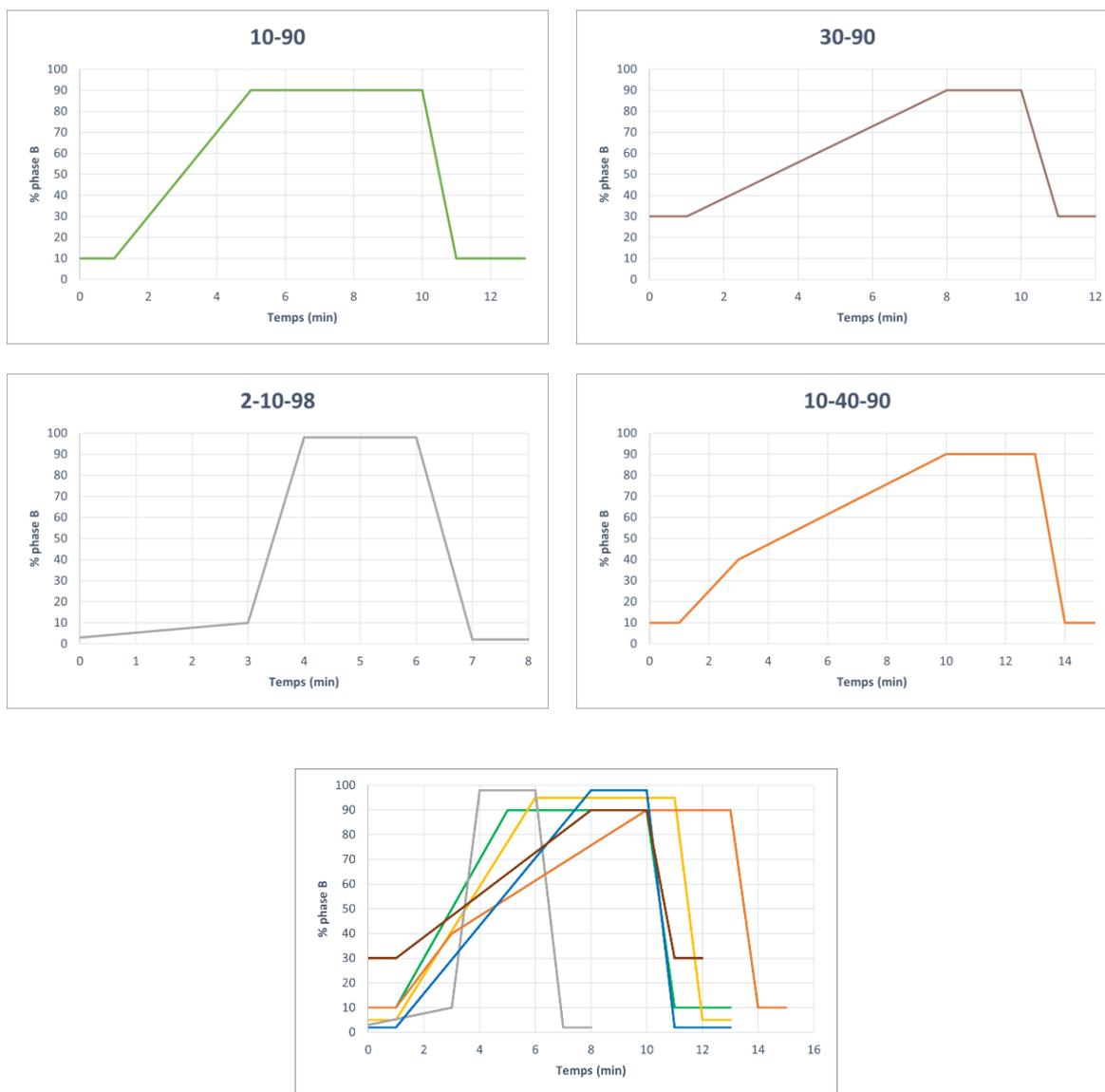


Figure 16. Gradients utilisés pour les tests de chromatographie à 200 μ l/min.

Les phases mobiles utilisées sont :

- Phase A : tampon formiate 2mM pH3
- Phase B : ACN / Tampon formiate 2mM 90/10 v/v

Ce sont des phases utilisées en routine au laboratoire. Elles conviennent à une gamme d'analytes importante et sont disponibles sur plusieurs appareils sans contraintes de manipulation.

Les tests ont été réalisés à trois débits différents permettant d'appréhender les différences et d'utiliser des paramètres optimisés d'UHPLC, soit 200, 400 et 600 μ l/min. L'augmentation des débits entraîne une augmentation des pressions, ce qui permet de réduire le temps d'analyse tout en ayant des pics plus résolus, c'est-à-dire plus étroits et mieux séparés les uns des autres. A résolution constante, l'augmentation de pression permet donc de diminuer le temps d'analyse, c'est pourquoi les temps présentés sur les profils gradients dans la figure ci-dessus correspondent à une pression de 200 μ l/min. Les temps définitifs permettent une bonne résolution avec une optimisation des temps d'analyse.

Les colonnes sont placées dans un four à température constante de 30°C.

La détection est réalisée par le spectromètre de masse avec les réglages décrits précédemment dans ce manuscrit. Les molécules ont des temps de rétention différents suivant les paramètres chromatographiques, la détection se fait donc pendant tout le temps chromatographique en mode PIS (sans Scheduled MRM). Dans la méthode finale, les temps de rétention ne bougent que très peu, donc le mode de détection choisi est de type Scheduled MRM, optimisant les cycles de détection et permettant d'avoir un maximum de points de détection par pic chromatographique. Les paramètres ont été optimisés pour obtenir un minimum de 7 cycles de détection par pic chromatographique (donc pour chaque molécule), soit un dwell time compris entre 3 et 250 ms (le dwell time est le temps passé pour la détection de chaque transition).

La méthode HTA contient un nombre important de molécules à optimiser en même temps. Il a donc été nécessaire de créer un modèle sur le logiciel Excel, amélioré par un programme sur Shinyapps¹⁰ par le Dr Alexandre DESTERE, permettant la mise en forme des différents tests de colonnes et de gradients. A partir des résultats bruts et avec des paramètres prédéfinis dans l'application, il est possible de visualiser le temps de rétention de chaque molécule en fonction de sa famille et du gradient de solvant utilisé.

III.2.3. Optimisation de l'extraction

Les techniques d'extraction sont très diverses mais permettent toutes *in fine* de remplacer une matrice biologique par une solution purifiée, contrôlée et standardisée pour tous les échantillons. Cette partie de la technique arrive en fin de développement car pour tester les différentes extractions il faut que les étapes suivantes soient maîtrisées.

La première technique possible est l'extraction par sels QuEChERS, technique maîtrisée dans le service et permettant une efficacité importante dans le traitement des échantillons. C'est l'acronyme de Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (soit rapide, facile, efficace, peu coûteuse, robuste et sécuritaire). Les sels utilisés sont le QuEChERS MIX (soit 1g citrate trisodiquedihydraté + 0,5g hydrogenocitrate disodique sesquihydraté + 1g NaCl + 4g MgSO₄). A 100µl de matrice sont ajoutés 200 µl d'ACN à -20°C et une pointe de spatule de sels de QuEChERS (soit environ 40 mg). Le tout est centrifugé à 13 000 tr/min pendant 10 min. Le surnageant est récupéré et dilué dans 150 µl de formiate d'ammonium 5mM contenant 0,1% d'acide formique, enfin 5 µl de cette solution sont injectés dans le système chromatographique.

La seconde technique est l'extraction sur colonnes SPE (Solide Phase Extraction), plus classique et plus longue, également plus coûteuse et techniquement un peu plus difficile.

Des cartouches SPE OASIS MCX 3C sont utilisées. Elles sont placées sur un manifold à vide et conditionnées avec 2 ml de méthanol puis 2 ml d'eau. Pendant cette étape, dans des tubes coniques propres, 2 ml d'urines à analyser sont acidifiées par 1 ml d'HCL 1M et 20 µl de la solution d'étalons internes sont rajoutés. Une fois les cartouches conditionnées, les échantillons préparés sont transférés dans les cartouches puis elles sont lavées avec 2 ml d'HCL 0,2M. Elles sont ensuite séchées pendant 20 min sous vide. Dans de nouveaux tubes récupérateurs, 3 éluions successives sont réalisées :

10

https://lecteurs.shinyapps.io/projet_robin/?fbclid=IwAR1KcPcMVi3XUYk2xEBNmhPyFX8pXZFjQOSI5fYLS7gPpbD8gqUgm5QAwJg

robin | Thèse d'exercice | Université de Limoges | 2022

- 3 ml de méthanol avec 5% d'ammoniaque
- 3 ml de mélange dichlorométhane/propan-2-ol(80/20) ; v/v) avec 2% d'ammoniaque
- 3 ml de méthanol avec 5% d'ammoniaque

Les tubes coniques sont récupérés et évaporés sous courant d'azote à température ambiante. L'extrait sec est repris avec 80 µl de solution tampon formiate / acétonitrile (95/5 ; v/v). L'extrait est placé dans des microtubes pour être ensuite analysé en chromatographie.

Un mélange contenant toutes les molécules a été préparé à une concentration de 1mg/l. Cette solution permet ensuite de faire des dilutions connues pour vérifier la répétabilité, la justesse et la précision de l'extraction. Elle permet aussi de calculer un coefficient de rendement d'extraction : une solution est injectée directement dans la colonne chromatographique et est considérée comme le 100%, et la même solution, en parallèle, est analysée via une extraction et le rapport d'intensité du signal est le rendement d'extraction.

III.2.4. Etude clinique

Une étude clinique préliminaire a été menée afin d'évaluer au mieux les performances analytiques de la méthode. Elle a consisté à analyser des échantillons de patients sélectionnés selon leurs traitements médicamenteux.

L'étude a été réalisée en collaboration avec le service de biochimie du CHU de Limoges.

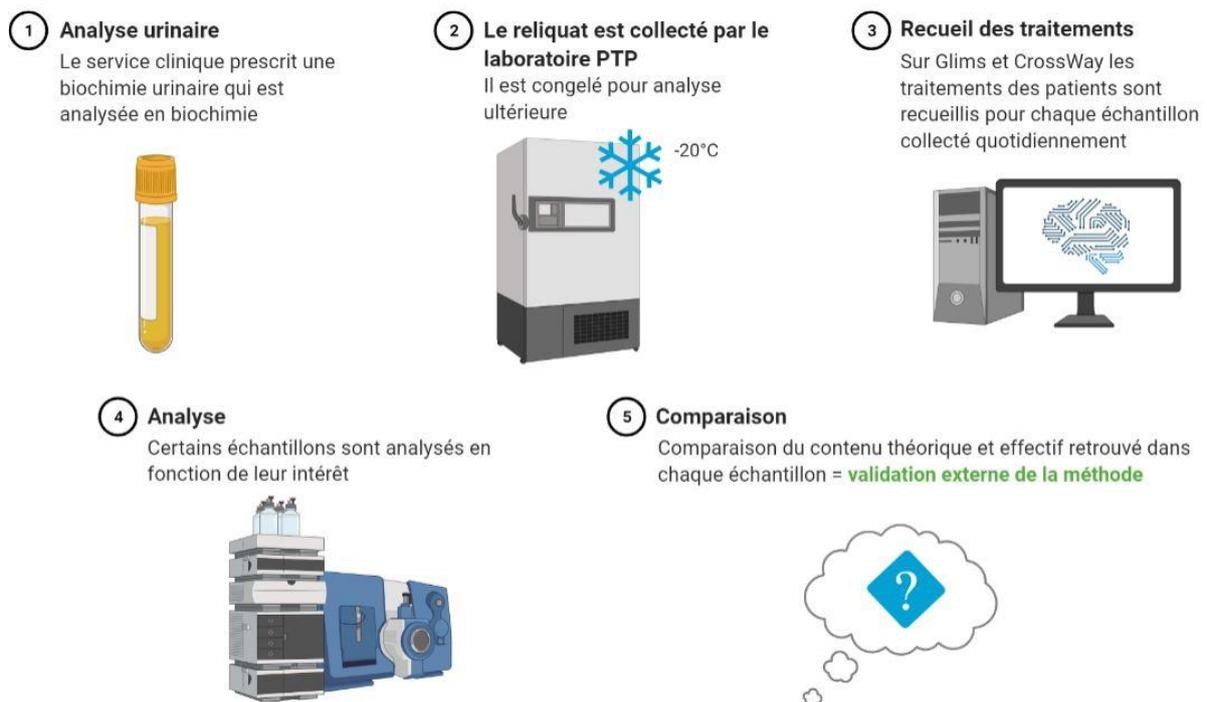


Figure 17. Schéma de recueil clinique des échantillons.

Les échantillons conservés et analysés par le service de Pharmacologie-Toxicologie et Pharmacovigilance (PTP) proviennent de reliquats d'analyses initiales de biochimie urinaire de routine. Une fois l'analyse réalisée et le délai de conservation dépassé, le service de biochimie recueille les reliquats durant un laps de temps défini et le service PTP les congèle à -20°C. Les numéros d'identification de venue et du laboratoire sont utilisés pour le recueil de données de traitement des patients, et ce quotidiennement. Les données recueillies sont :

- N° identification venue (identification sur CrossWay)

- N° laboratoire (n° échantillon utilisé sur Glims)
- Age (en année)
- Sexe
- Service
- Date d'hospitalisation
- Date de prélèvement
- Nombre de jours entre le début d'hospitalisation et le prélèvement
- Créatinine plasmatique
- Créatinine urinaire
- Protéines urinaires
- Indication de l'analyse
- Traitement prescrit (princeps ou générique, posologie)
- Retranscription en DCI
- Nombre de traitements antihypertenseurs différents

Cette recherche clinique est soumise à un avis du Comité d'éthique du CHU de Limoges sous le n° 530-2021-186.

Tous les échantillons ne sont pas analysés, des tris sont réalisés pour ne retenir que les plus pertinents.

Les échantillons éliminés sont ceux des patients :

- mineurs
- ayant refusé à leur entrée ou durant leur séjour des analyses complémentaires sur leurs échantillons biologiques à des fins de recherche.
- hospitalisés dans les services d'urgences
- ayant eu une demande de biochimie urinaire dans les deux premiers jours d'hospitalisation (on ne peut s'assurer de leur observance avant leur venue à l'hôpital)
- ne recevant pas de médicament antihypertenseur

De plus, seuls certains échantillons parmi les restants ont été analysés. En effet, il n'est pas nécessaire d'analyser tous les échantillons contenant théoriquement la même molécule si on sait déjà que la méthode fonctionne pour cette molécule.

La base de données ainsi créée est analysée sur le logiciel Excel. Une optimisation est réalisée pour lister le minimum d'échantillons contenant le maximum de molécules différentes.

Une comparaison est faite entre les résultats théoriques de prise d'antihypertenseur par le patient et l'analyse par la méthode de recherche urinaire. C'est la validation externe de la méthode chromatographique du screening des antihypertenseurs dans l'urine.

IV. Résultats

IV.1. Sélection des molécules antihypertensives en France

Il y a 61 lignes différentes dans la base de données de tri, donc 61 molécules différentes, utilisées seules ou en association, dans le traitement de l'hypertension artérielle en France en 2018.

L'élimination des formes injectables a permis d'éliminer trois molécules : esmolol, bumétanide et phentolamine, qui ne sont commercialisées que pour cette voie d'administration.

Les tableaux suivants (Tableau 7, Tableau 8, Tableau 9, Tableau 10, Tableau 11 et Tableau 12) montrent respectivement les différentes molécules sélectionnées grâce aux étapes précédentes. Elles sont classées par famille et par nombre de boîtes vendues en officine en 2018. L'approximation des ventes en officine permet de donner un ordre d'idée de la fréquence de prescription des molécules dans chaque famille, sous forme de part de marché en %.

Tableau 7 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des antagonistes de l'angiotensine II.

Nom	nb boîte vendues en officine en 2018	% part de marché dans la famille	% part de marché totale
VALSARTAN	14 686 788	44,77%	8,84
IRBESARTAN	8 918 392	27,19%	5,37
CANDESARTAN	3 371 878	10,28%	2,03
OLMESARTAN	2 766 136	8,43%	1,67
TELMISARTAN	2 306 590	7,03%	1,39
LOSARTAN	707 509	2,16%	0,43
EPROSARTAN	44 936	0,14%	0,03
Total ARA II	32 802 229	100,00%	19,75

Tableau 8 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des bêtabloquants.

Nom	nb boîte vendues en officine en 2018	% part de marché dans la famille	% part de marché totale
BISOPROLOL	10 944 656	36,21%	6,59
ATENOLOL	4 357 266	14,42%	2,62
PROPRANOLOL	4 219 685	13,96%	2,54
NEBIVOLOL	3 035 220	10,04%	1,83
METOPROLOL	2 925 823	9,68%	1,76
ACEBUTOLOL	2 275 577	7,53%	1,37
CELIPROLOL	976 441	3,23%	0,59
BETAXOLOL	448 238	1,48%	0,27
NADOLOL	402 595	1,33%	0,24
LABELALOL	327 185	1,08%	0,20
TIMOLOL	215 747	0,71%	0,13
PINDOLOL	70 991	0,23%	0,04
TERTATOLOL	24 538	0,08%	0,01
Total β-bloquants	30 223 962	100,00%	18,20

Tableau 9 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des diurétiques.

Nom	nb boîte vendues en officine en 2018	% part de marché dans la famille	% part de marché totale
FUROSEMIDE	17 980 905	40,14%	10,83
HYDROCHLOROTHIAZIDE	15 912 724	35,52%	9,58
INDAPAMIDE	3 805 156	8,49%	2,29
SPIRONOLACTONE	3 653 165	8,15%	2,20
ALTIZIDE	1 750 520	3,91%	1,05
AMILORIDE	627 380	1,40%	0,38
TRIAMTERENE	489 640	1,09%	0,29
CICLETANINE	296 469	0,66%	0,18
CHLORTALIDONE	156 503	0,35%	0,09
METHYLCLOTHIAZIDE	54 213	0,12%	0,03
PIRETANIDE	50 219	0,11%	0,03
BENDROFLUMETHIAZIDE	24 110	0,05%	0,01
Total DIURETIQUES	44 801 004	100,00%	26,97

Tableau 10 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des inhibiteurs calciques.

Nom	nb boîte vendues en officine en 2018	% part de marché dans la famille	% part de marché totale
AMLODIPINE	10 010 813	39,19%	6,03
LERCANIDIPINE	6 569 074	25,71%	3,96
NICARDIPINE	2 821 679	11,05%	1,70
VERAPAMIL	2 726 837	10,67%	1,64
DILTIAZEM	1 413 756	5,53%	0,85
FELODIPINE	712 594	2,79%	0,43
MANIDIPINE	695 229	2,72%	0,42
ISRADIPINE	249 018	0,97%	0,15
NIFEDIPINE	232 976	0,91%	0,14
NITRENDIPINE	113 907	0,45%	0,07
Total IC	25 545 883	100,00%	15,38

Tableau 11 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des molécules anti-hypertensives de la famille des inhibiteurs de l'enzyme de conversion.

Nom	nb boîte vendues en officine en 2018	% part de marché dans la famille	% part de marché totale
PERINDOPRIL	11 419 391	39,87%	6,88
RAMIPRIL	10 192 698	35,58%	6,14
ZOFENOPRIL	2 784 029	9,72%	1,68
ENALAPRIL	2 738 832	9,56%	1,65
LISINOPRIL	877 743	3,06%	0,53

CAPTOPRIL	245 362	0,86%	0,15
BENAZEPRIL	134 027	0,47%	0,08
QUINAPRIL	122 059	0,43%	0,07
TRANDOLAPRIL	99 681	0,35%	0,06
FOSINOPRIL	29 839	0,10%	0,02
Total IEC	28 643 661	100,00%	17,25

Tableau 12 : Classification, par fréquence décroissante du volume de ventes en officine en 2018, des autres familles de molécules anti-hypertensives.

Nom	nb boîte vendues en officine en 2018	% part de marché dans la famille	% part de marché totale
RILMENIDINE	1 544 536	37,95%	0,93
URAPIDIL	1 355 936	33,31%	0,82
DOXAZOSINE	346 424	8,51%	0,21
PRazosine	286 820	7,05%	0,17
MOXONIDINE	174 519	4,29%	0,11
METHYLDOPA	165 352	4,06%	0,10
CLONIDINE	158 856	3,90%	0,10
RESERPINE	24 110	0,59%	0,01
MINOXIDIL	13 870	0,34%	0,01
Total AUTRES	4 070 423	100%	2,45

On voit très nettement que le marché est dominé par quelques molécules dans chaque famille, avec un volume de prescription similaire, environ 10 millions de boîtes vendues. Valsartan et irbésartan pour les ARA II, bisoprolol pour les bêtabloquants, furosémide et hydrochlorothiazide pour les diurétiques, amlodipine pour les IC, et enfin, périndopril et ramipril pour les IEC. Les autres familles, sympatholytiques d'action centrale, alpha-1-bloquant vasodilatateurs principalement, sont quant à elles beaucoup moins prescrites, de l'ordre du million au maximum.

Par exemple : il y a eu 11 419 391 boîtes contenant du périndopril délivrées en pharmacie de ville en 2018, deuxième molécule la plus utilisée après l'hydrochlorothiazide, 15 912 724 de boîtes. Ce chiffre comprend la molécule seule, son princeps et toutes ses associations dans l'indication HTA, mais aussi dans toutes ses autres indications.

Après une revue non exhaustive de la littérature, les caractéristiques considérées comme pertinentes sont compilées dans le Tableau 13, ceci permet de choisir au mieux les molécules d'intérêt. Les caractéristiques compilées sont :

- Le nom du médicament
- Si ce médicament est une prodrogue
- La demi-vie sanguine
- La principale voie d'élimination
- Le % de forme inchangée retrouvée dans les urines par rapport à la dose administrée
- La référence bibliographique

Tableau 13 : Données pharmacocinétiques pertinentes pour les molécules anti-hypertensives sélectionnées

Médicament	Prodrogue	1/2 vie sanguine (h)	Voie élimination principale	% de la dose administrée inchangé dans les urines	Réf.
BISOPROLOL	non	12,4	rénale	50	(28)
ATENOLOL	non	6-9	rénale	38-47	(29)
PROPRANOLOL	non	3,6-6	hépatique	?	(30,31)
NEBIVOLOL	non	8-27	hépatique	< 1	(32)
METOPROLOL	non	3-4	hépatique	"insignificant amount"	(33)
ACEBUTOLOL	non	8	hépatique	15	(34)
CELIPROLOL	non	4-5	hépatique	10	(35)
BETAXOLOL	non	14-22	hépatique	16	(36)
NADOLOL	non	14-24	rénale	13,5	(37)
LABETALOL	non	1,7-6,1	rénale	< 5	(38)
TIMOLOL	non	3,4	rénale/hépatique	20	(39)
PINDOLOL	non	3-5	rénale	40-50	(40)
TERTATOLOL	non	3	hépatique	< 1	(41)
FUROSEMIDE	non	0,75-1,3	rénale	57-76	(42)
HYDROCHLOROTHIAZIDE	non	5,6-14,8	rénale	65-72	(43)
INDAPAMIDE	non	16-25	rénale	7	(44)
SPIRONOLACTONE	non	0,7-0,8	rénale	0	(45)
ALTIZIDE	non	2,4	rénale		(46)
AMILORIDE	non	6	rénale	50	(47)
TRIAMTERENE	non	4,25	rénale	4,4	(48)
CICLETANINE	non	6-8	rénale	<1%	(49)
CHLORTALIDONE	non	6,5-9	rénale	50	(50)
METHYLCHLOTHIAZIDE	non		rénale	« essentiellement sous forme inchangée »	(51)
PIRETANIDE	non	1	rénale	80	(52)
BENDROFLUMETHIAZIDE	non	8,5	hépatique	20	(30)
AMLODIPINE	non	40-50	rénale	9	(53)
LERCANIDIPINE	non	8-10,5	rénale/hépatique	0	(54)
NICARDIPINE	non	7-8	rénale/hépatique	0,03	(55,56)
VERAPAMIL	non	2,7-4,8	rénale	< 5	(57,58)
DILTIAZEM	non	6,6-10,9	hépatique	0,1-4	(57)
FELODIPINE	non	13,6	rénale	"negligeable"	(59)
MANIDIPINE	non	3,9-7,95	hépatique	"eliminated as metabolites"	(60)
ISRADIPINE	non	8,4	rénale	0%	(61)
NIFEDIPINE	non	1,3-1,9	rénale	"traces"	(57)

NITRENDIPINE	non	8,6	rénale	"traces"	(62)
PERINDOPRIL	oui	2,9	rénale	2,6	(63)
RAMIPRIL	oui	13-17	rénale	"most excreted as metabolite"	(52,64)
ZOFENOPRIL	oui	0,9	rénale	faible	(65)
ENALAPRIL	oui	0,63	rénale	18	(66)
LISINOPRIL	non	12,6	rénale	25%	(67)
CAPTOPRIL	non	1,93	rénale	58	(66,68)
BENZAEPRIIL	oui		rénale	"major route of elimination...to benazeprilat"	(69)
QUINAPRIL	oui	0,78-0,92	rénale	3	(66)
TRANDOLAPRIL	oui	0,7-1,3	hépatique	< 0,5	(70)
FOSINOPRIL	oui	12	rénale/hépatique	< 1	(71,72)
VALSARTAN	non	6	hépatique	6,4	(73,74)
IRBESARTAN	non	11-17	hépatique	0,5-1,2	(75,76)
CANDESARTAN	oui		hépatique	75	(77,78)
OLMESARTAN	oui	14-15	rénale/hépatique	40%	(79,80)
TELMISARTAN	non	20-24	hépatique	< 1	(81)
LOSARTAN	oui	1,5-2,5	hépatique	4	(82)
EPROSARTAN	non	5-7	hépatique	32	(83,84)
RILMENIDINE	non	6,5	rénale	90	(85)
URAPIDIL	non	2,7	rénale	40-70	(86)
DOXAZOSINE	non	19-22	hépatique	5	(87)
MOXONIDINE	non	2-3	rénale	46,5-77	(88,89)
METHYLDOPA	non	1,3	rénale	70%	(90,91)
CLONIDINE	non	5,2-13	rénale	40-50	(92)
RESERPINE	non	45-168	rénale	"most ... was identified as metabolites"	(93)
MINOXIDIL	non	3	rénale	12	(94)
PRAZOSINE	non	2-3	hépatique	« très métabolisé »	(95)

On peut créer une première catégorie de molécules théoriquement bien retrouvées dans les urines : celles avec une métabolisation pas trop importante et en partie éliminées par le rein. Arbitrairement dans cette catégorie seront considérées les molécules avec au moins 10% de formes inchangées de la dose administrée retrouvées dans les urines. Ces molécules sont **en vert** dans le tableau.

A l'inverse, une deuxième catégorie regroupe toutes les molécules qui ne sont théoriquement pas du tout retrouvées dans les urines : celles ayant une très forte excrétion biliaire et/ou un très fort métabolisme. Ces molécules sont **en rouge** dans le tableau.

Une troisième catégorie est constituée des molécules non retrouvées dans les urines mais qui sont des prodrogues. Ces molécules sont **en orange** dans le tableau.

La quatrième catégorie est constituée des molécules ne pouvant être placées dans les catégories précédentes ou pour lesquelles les informations recueillies ne sont pas suffisamment précises. Ces molécules sont en noir dans le tableau.

Il a donc été nécessaire de continuer les recherches pour trouver les métabolites intéressants.

Les prodrogues ne seront pas suffisamment retrouvées dans le sang ou dans l'urine. Elles sont synthétisées pour disparaître au profit de la molécule d'intérêt après avoir augmenté sa biodisponibilité orale. La majorité des prodrogues retrouvées dans ce tableau concernent la famille des IEC. Elles sont caractérisées par le clivage du groupe ester dans le foie pour donner le dérivé actif (suffixe -pril → -prilat). On voit dans le tableau qu'il y a des exceptions dans cette famille, puisque le captopril n'est pas une prodrogue et a une élimination rénale sous sa forme inchangée de 58%. Malgré leur nature de prodrogue, le lisinopril ou l'énalapril sont retrouvés sous leur forme inchangée dans les urines avec un pourcentage non négligeable.

D'autres molécules importantes sont non retrouvées dans les urines : métoprolool, propranolol, nifédipine, spironolactone, vérapamil, diltiazem et losartan. Heureusement, les métabolites respectifs éliminés par voie rénale sont commercialement disponibles sous forme pure : alpha-hydroxy-métoprolool, 4-hydroxy-propranolol, déhydronifédipine, canrénone, norvérapamil, désacétyldiltiazem, losartan-COOH.

Enfin, d'autres molécules qui ne sont pas retrouvées dans le sang ou l'urine, ne sont pas très utilisées en France. Dix molécules sur 61 ayant l'AMM dans l'HTA sont dans ce cas, et leurs métabolites n'ont pas été recherchés. Ces molécules sont : nébivolol, labétalol, tertatolol, lercanidipine, nicardipine, félodipine, manidipine, nitrendipine, irbésartan, telmisartan. Elles représentent au total 15,38% de parts de marché.

Le Tableau 14 résume les molécules qui ont été ciblées par la méthode développée. Il tient compte des métabolites issus de prodrogues et des molécules pas ou peu retrouvées dans les urines. Les molécules ayant peu d'intérêt d'un point de vue théorique dans leur fréquence de prescription globale ont également été éliminées.

Tableau 14. Résumé des molécules recherchées après optimisation pharmacocinétique.

(Les noms en **gras** sont les molécules mères, les noms en *italique* sont les métabolites.)

Médicament (DCI)	Molécules recherchées par la méthode analytique
BISOPROLOL	BISOPROLOL
ATENOLOL	ATENOLOL
PROPRANOLOL	PROPRANOLOL , <i>4-HYDROXY-PROPRANOLOL</i>
NEBIVOLOL	NEBIVOLOL
METOPROLOL	METOPROLOL , <i>ALPHA-HYDROXY-METOPROLOL</i>
ACEBUTOLOL	ACEBUTOLOL
CELIPROLOL	CELIPROLOL
BETAXOLOL	BETAXOLOL
NADOLOL	NADOLOL

LABETALOL	LABETALOL
TIMOLOL	TIMOLOL
PINDOLOL	PINDOLOL
TERTATOLOL	TERTATOLOL
FUROSEMIDE	FUROSEMIDE
HYDROCHLOROTHIAZIDE	HYDROCHLOROTHIAZIDE
INDAPAMIDE	INDAPAMIDE
SPIRONOLACTONE	SPIRONOLACTONE, CANRENONE
ALTIZIDE	ALTIZIDE
AMILORIDE	AMILORIDE
TRIAMTERENE	TRIAMTERENE
CICLETANINE	CICLETANINE
CHLORTALIDONE	CHLORTHALIDONE
METHYLCHLOTHIAZIDE	/
PIRETANIDE	/
BENDROFLUMETHIAZIDE	BENDROFLUMETHIAZIDE
AMLODIPINE	AMLODIPINE
LERCANIDIPINE	LERCANIDIPINE
NICARDIPINE	NICARDIPINE
VERAPAMIL	VERAPAMIL, NORVERAPAMIL
DILTIAZEM	DILTIAZEM, DESACETYLDILTIAZEM
FELODIPINE	FELODIPINE
MANIDIPINE	MANIDIPINE
ISRADIPINE	/
NIFEDIPINE	NIFEDIPINE, DEHYDRONIFEDIPINE
NITRENDIPINE	NITRENDIPINE
PERINDOPRIL	<i>PERINDOPRILAT</i>
RAMIPRIL	<i>RAMIPRILAT</i>
ZOFENOPRIL	<i>ZOFENOPRILAT</i>
ENALAPRIL	ENALAPRIL, ENALAPRILAT
LISINOPRIL	LISINOPRIL
CAPTOPRIL	CAPTOPRIL
BENAZEPRIL	<i>BENAZEPRILAT</i>
QUINAPRIL	<i>QUINAPRILAT</i>
TRANDOLAPRIL	<i>TRANDOLAPRILAT</i>
FOSINOPRIL	<i>FOSINOPRILAT</i>
VALSARTAN	VALSARTAN
IRBESARTAN	IRBESARTAN
CANDESARTAN	CANDESARTAN
OLMESARTAN	OLMESARTAN
TELMISARTAN	TELMISARTAN
LOSARTAN	LOSARTAN LOSARTAN-COOH
EPROSARTAN	EPROSARTAN
RILMENIDINE	RILMENIDINE
URAPIDIL	URAPIDIL
DOXAZOSINE	DOXAZOSINE

MOXONIDINE	MOXONIDINE
METHYLDOPA	/
CLONIDINE	CLONIDINE
RESERPINE	/
MINOXIDIL	/
PRAZOSINE	/

La recherche se fait donc pour 54 médicaments sur 61 possibles, avec théoriquement 10 molécules difficilement détectables dans les urines, à comparer avec les résultats de la validation interne et externe de la méthode. Cela fait donc au total 44 molécules théoriquement bien retrouvées dans les urines, représentant 84,14% des parts de marché.

IV.2. Optimisation des rapports m/z

Le tableau ci-dessous donne les différentes masses ioniques recherchées en fonction de la molécule et les paramètres (DP et CE). En colonne Q1 sont données les masses ioniques des molécules recherchées et en Q3 les masses des ions fils de détection ou de confirmation. Le DP correspond au potentiel de dissociation (« declustering potential »), qui correspond à la tension appliquée dans la source permettant la fragmentation de la molécule, plus cette tension est élevée, plus la fragmentation est importante. Le CE correspond à l'énergie de collision appliquée dans la cellule de collision (« Q2 ») régulant le degré de fragmentation, cette valeur est optimisée pour chaque ion précurseur. Ces valeurs sont données entre parenthèses pour chaque ion. On voit donc que certaines molécules sont ionisées préférentiellement en mode positif (énergie positive) ou plutôt en mode négatif (énergie négative).

Tableau 15. Rapports m/z sélectionnés pour les différentes molécules analysées.

Molécule	Ion parent (Q1)	Fragment de détection (Q3)	Fragment de confirmation 1 (Q3)	Fragment de confirmation 2 (Q3)	Fragment de confirmation 3 (Q3)
4-OH-PROPRANOLOL	276,021	173 (196/25)	116,1 (196/25)	72 (196/25)	58,1 (196/25)
ACEBUTOLOL	337,135	116 (66/29)	319,1 (66/27)		
ALPHA-OH-METOPROLOL	284,033	116 (196/25)	74 (196/27)		
ALTIZIDE	381,796	340,8 (-60/-24)	268,7 (-60/-40)		
AMILORIDE	230,022	171 (51/25)	115,8 (51/41)		
AMLODIPINE	409,065	238 (56/15)	294 (56/13)		
ATENOLOL	267,092	145,1 (46/33)	190 (46/25)		
ATENOLOL D7	274,11	145 (116/33)	91 (116/61)		
BENAZEPRILAT	397,017	351,1 (121/27)	190,1 (121/39)		
BENDROFLUME THIAZIDE	419,916	289,1 (-170/-36)	327,6 (-170/-38)		
BETAXOLOL	308,356	116,2 (151/27)	56 (151/57)		
BISOPROLOL	326,106	116 (201/25)	56 (201/59)		
CANDESARTAN positif	441,153	263,2 (191/17)	192 (191/31)		
CANDESARTAN négatif	438,959	309,1 (-85/-28)	131,9 (-85/-42)	132,5 (-85/-38)	
CANRENONE	341,086	107 (171/35)	91 (171/81)	187,1 (171/29)	79 (171/79)

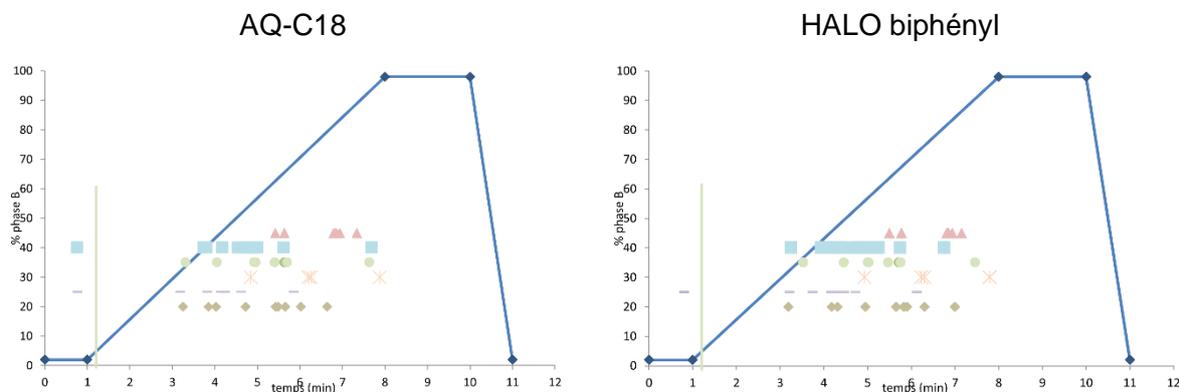
CAPTOPRIL	218,059	115,9 (21/17)	70 (21/31)		
CELIPROLOL	380,186	251,1 (116/29)	307,2 (116/25)		
CHLORTHALIDONE	336,844	145,8 (-140/-28)	319 (-140/-20)	79,9 (-140/-44)	
CLONIDINE	230,18	44 (1/55)	73,8 (1/89)		
DEHYDRONIFEDIPINE	344,952	284 (226/37)	268,1 (226/37)		
DESACETYLDILTIAZEM	373,031	178,1 (96/29)	149,9 (96/53)		
DILTIAZEM	415,053	178,1 (161/15)	108,9 (161/31)		
DOXAZOSINE	452,049	344,1 (221/45)	247,2 (221/63)		
ENALAPRIL	377,128	234,1 (81/25)	117 (81/45)		
ENALAPRILAT	349,009	206 (51/25)	90,9 (51/77)		
ENALAPRILAT D5	354,148	96 (111/69)	308,1 (111/23)		
EPROSARTAN	425,046	206,9 (141/33)	107 (141/77)		
FELODIPINE	384,017	338 (71/11)	352 (71/13)		
FOSINOPRILAT	436,091	152,2 (156/37)	390,3 (156/23)		
FUROSEMIDE	328,86	284,9 (-35/-24)	204,8 (-35/-30)	126,1 (-35/-40)	
HYDROCHLOROTHIAZIDE 13C D2	298,62	269,8269,8 (-125/-28)	269,8269,8 (-125/-28)		
HYDROCHLOROTHIAZIDE 13C D3	298,785	269,8269,8 (-140/-26)	269,8269,8 (-140/-26)		
HYDROCHLOROTHIAZIDE 13C D4	298,785	205,8205,8 (-140/-32)	205,8205,8 (-140/-32)		
HYDROCHLOROTHIAZIDE NEG	295,93	269 (-135/-28)	204,7 (-135/-30)		
INDAPAMIDE	366,003	132 (81/19)	117 (81/49)		
IRBESARTAN	429,196	207,1 (31/33)	195,1 (31/29)		
LABETALOL	329,095	162 (26/33)	91 (26/67)		
LERCANIDIPINE	611,947	280,1 (116/31)	100 (116/53)		
LINISOPRIL positif	406,16	84,1 (36/29)	246,1 (36/31)		
LISINOPRIL négatif	404,227	113,9 (-100/-24)	289,2 (-100/-16)	289,1 (-100/-18)	386,3 (-100/-16)
LOSARTAN	423,056	207,1 (101/31)	405,2 (101/15)	179,9 (101/51)	205 (101/65)
MEBUTAMATE	233,158	172,1 (16/13)			
METOPROLOL	268,128	74 (51/27)	77 (51/73)		
MOXONIDINE	242,055	44 (101/53)	206,1 (101/25)		
NADOLOL	310,134	254,2 (101/23)	57,1 (101/51)		
NEBIVOLOL	406,136	150,9 (91/41)	102,9 (91/79)		
NICARDIPINE	480,156	315,1 (36/31)	166,1 (36/25)		
NIFEDIPINE	346,971	315,1 (111/11)	254,1 (111/25)		
NITRENDIPINE	361,057	315 (91/15)	329 (91/17)		
NORVERAPAMIL	441,166	165,2 (151/77)	149,9 (216/41)		
OLMESARTAN	447,186	429,2 (116/17)	207,1 (116/31)		

PERINDOPRILAT positif	341,03	170,2 (86/25)	144,2 (86/27)		
PERINDOPRILAT négatif	338,982	168 (-130/-28)	321,2 (-130/-20)	206 (-130/-36)	145,9 (-130/-24)
PINDOLOL	249,112	116 (76/23)	172 (76/23)		
PRAZOSINE	384,088	247,1 (101/39)	94,9 (101/75)		
PROPRANOLOL	260,096	115,9 (71/25)	56,1 (71/45)		
PROPRANOLOL D7	267,054	123,1 (121/25)	79,1 (121/25)		
QUINAPRILAT	411,038	206,1 (121/25)	117 (121/49)		
RAMIPRILAT	389,053	206,2 (116/27)	156,2 (116/27)	90,9 (116/79)	
RILMENIDINE	181,155	95 (46/17)	67 (46/23)		
SPIRONOLACTONE	417,094	341,1 (86/21)	107 (86/49)		
TELMISARTAN	515,089	497,3 (206/35)	276,1 (206/95)		
TERTATOLOL	296,112	240,1 (66/23)	74,1 (66/31)		
TIMOLOL	317,076	261,1 (66/23)	74 (66/29)		
TRANDALOPRILAT négatif	401,032	167,9 (-140/-26)	122 (-140/-58)		
TRANDOLAPRILAT positif	403,014	170,1 (106/27)	206,1 (106/29)		
TRIAMTERENE	253,984	237 (161/37)	104 (161/49)	141 (161/59)	
URAPIDIL	388,18	233,1 (76/31)	190,1 (76/47)		
VALSARTAN	436,213	291,1 (66/23)	235,1 (66/25)		
VERAPAMIL	455,21	165,1 (231/35)	150,1 (231/47)		
ZOFENOPRILAT	326,175	178,1 (81/27)	68,1 (81/43)		

IV.3. Optimisation de la chromatographie

IV.3.1. Choix de la colonne

Les tests ont été réalisés avec cinq colonnes présentes au laboratoire et pouvant être utilisées en UHPLC afin d'optimiser la qualité et le temps d'analyse.



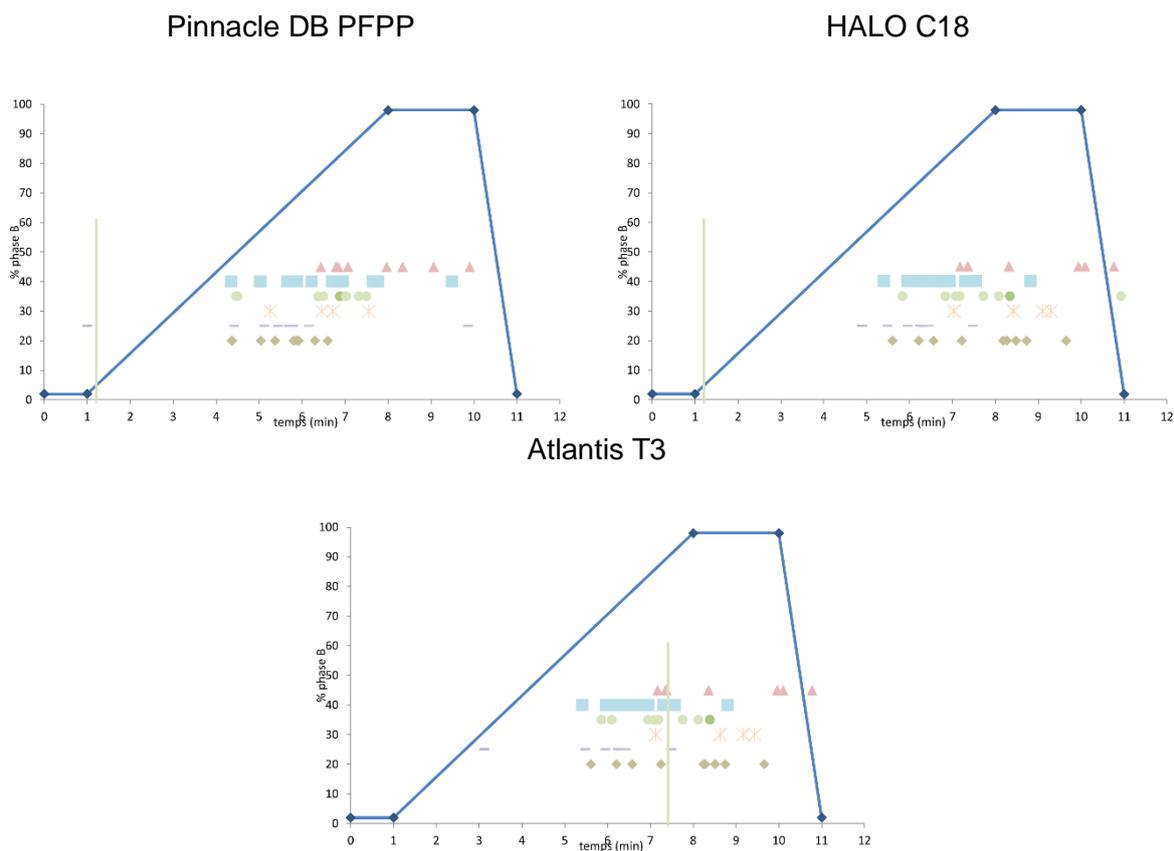


Figure 18. Présentation des résultats de chromatographie en fonction des différentes colonnes testées, avec le gradient 2-98.

La Figure 18 présente la mise en forme des données grâce aux modèles Excel et Shinyapps développés. Ces modèles présentent le gradient utilisé, le temps de rétention (TR) de chaque molécule classée par famille pharmacologique et un calcul du temps mort pour chaque colonne dépendant du débit utilisé. Le TM est représenté par la barre verticale verte. Les familles sont représentées par :

- Triangles roses ▲ : IC
- Carrés bleus ■ : Béta-bloquants
- Ronds verts ● : IEC
- Croix jaunes ✖ : ARA II
- Losanges kakis ◆ : diurétiques
- Tirets violets — : autres

On note qu'il y a une bonne séparation des molécules avec le gradient 2-98 utilisé en premier test avec toutes les colonnes. Le gradient 2-98 permet en théorie de fixer les molécules sur la colonne sans qu'aucune molécule ne puisse passer dans le front de solvant.

Il apparaît qu'il y a une bonne séparation des molécules entre elles même au sein de leur famille pharmacologique, indépendamment de la colonne testée. Comme évoqué dans la partie présentation des molécules anti-hypertensives, il y a des différences de structures chimiques notables entre les familles, mais aussi au sein des familles, ce qui se retrouve dans la séparation chromatographique dans ce test.

Une seule colonne est éliminée à la vue de ce premier test : la colonne Atlantis T3. Elle présente un temps mort trop élevé et ne retient pas assez de molécules. C'est un effet plutôt attendu du fait de sa longueur trois fois supérieure aux autres et aussi à sa chimie retenant beaucoup mieux les molécules polaires.

Il n'y a pas que la présence de la molécule mais aussi la forme des pics qui permet de choisir la bonne colonne.

Cette partie se fait molécule par molécule sur le logiciel de retraitement du spectromètre de masse : Analyst. Aucun exemple n'est montré du fait de la diversité, mais chaque pic a été retraité un à un et un commentaire sur son allure a été rajouté sur un fichier Excel. Ceci a permis de différencier les colonnes et d'éliminer les colonnes Pinnacle DB PFPP et HALO biphenyl, du fait de leur mauvaise répétabilité et de l'allure des pics.

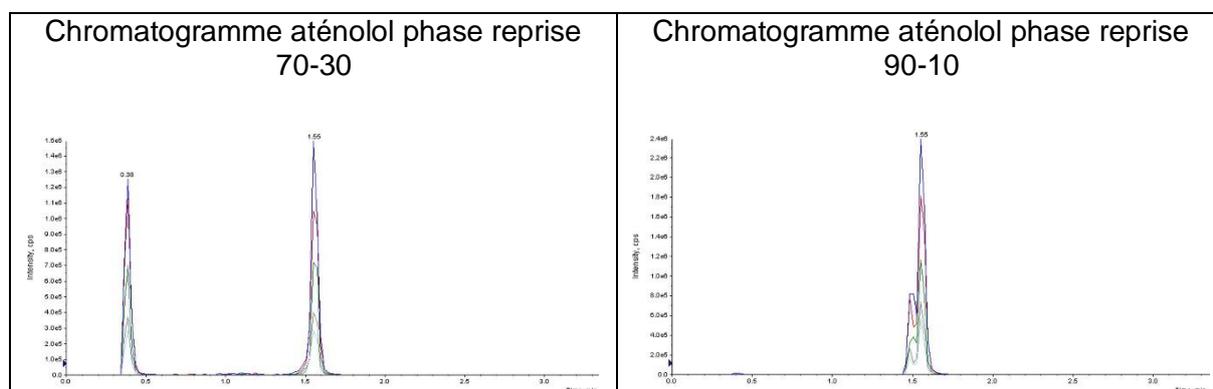


Figure 19. Pics chromatographiques de l'aténolol en fonction de la phase de reprise.

L'allure du pic chromatographique est également dépendante de la phase de reprise, comme le montre l'exemple de l'aténolol présenté dans la Figure 19 illustrant un double pic lorsque la phase de reprise est constituée de 70% de tampon formiate et 30% d'acétonitrile.

L'acétonitrile est un solvant organique permettant aux molécules les plus apolaires de migrer dans le front de solvant et de ne pas être retenues par la colonne. Comme le volume de reprise est faible, seulement une partie de la molécule migre et le reste est retenu d'où la présence du double pic pour l'aténolol. Cet effet est plus faible avec la phase de reprise contenant seulement 10% d'acétonitrile, mais il conduit néanmoins à un pic bifide.

IV.3.2. Choix du gradient

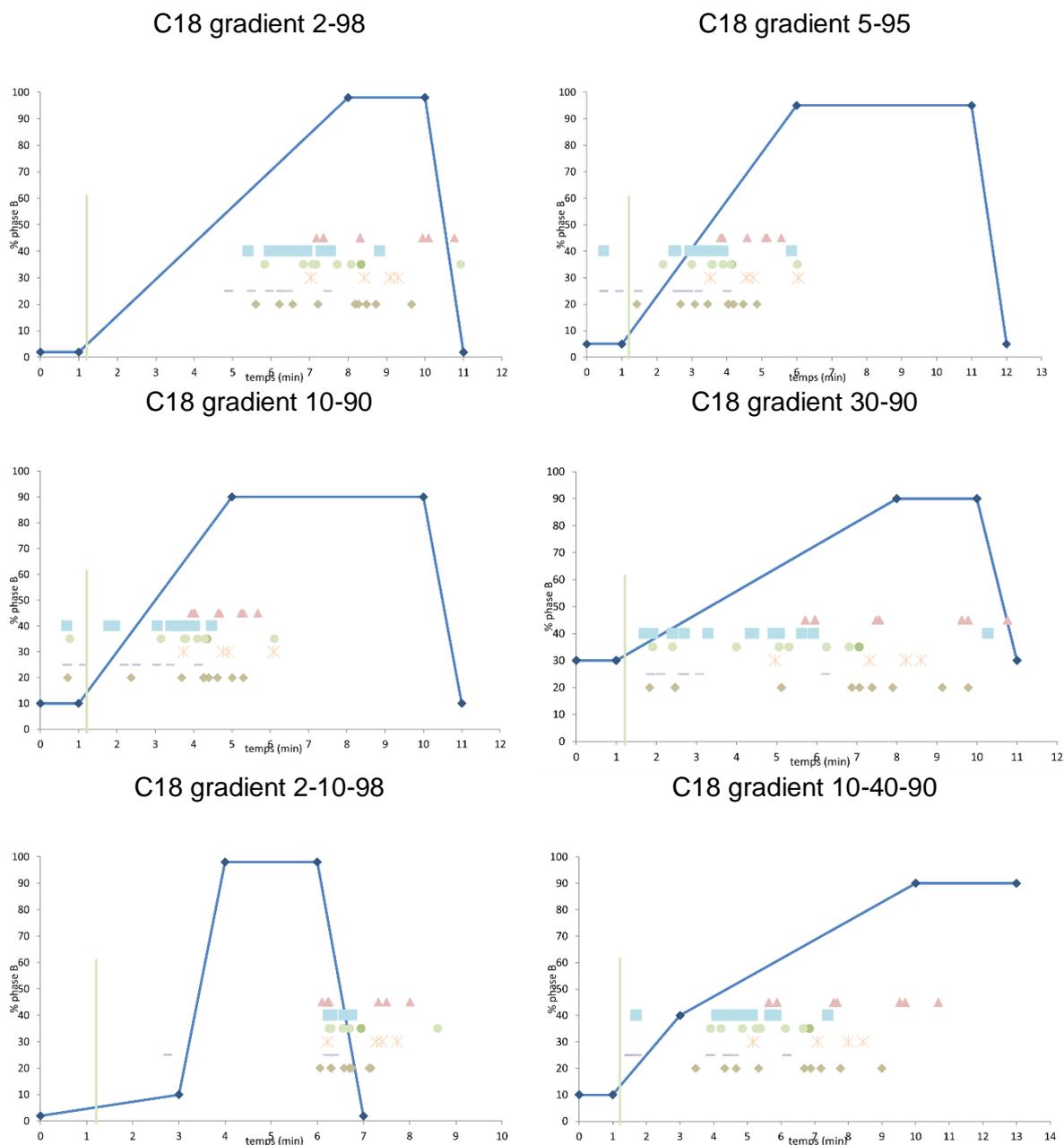


Figure 20. Variations des TR en fonction du gradient utilisé avec la colonne C18.

Six gradients ont été testés sans autre modification des paramètres chromatographiques pour les colonnes C18 et AQ-C18.

Pour la colonne C18 présentée, il apparaît que le gradient 2-10-98 permet de bien fixer les molécules sur la colonne, puisqu'aucune ne sort proche du front de solvant. Mais, l'augmentation très rapide vers une concentration de solvant très apolaire ne permet pas un décrochage suffisant et toutes les molécules sortent en fin de chromatographie. Ceci ne permet pas une séparation correcte et une bonne résolution des pics.

Les gradients 5-95 et 10-90 ne retiennent pas suffisamment les molécules, certaines sortant même dans le front de solvant.

Les trois meilleurs gradients en termes de séparation paraissent être le 2-98, le 30-90 et le 10-40-90.

IV.3.3. Choix de la pression

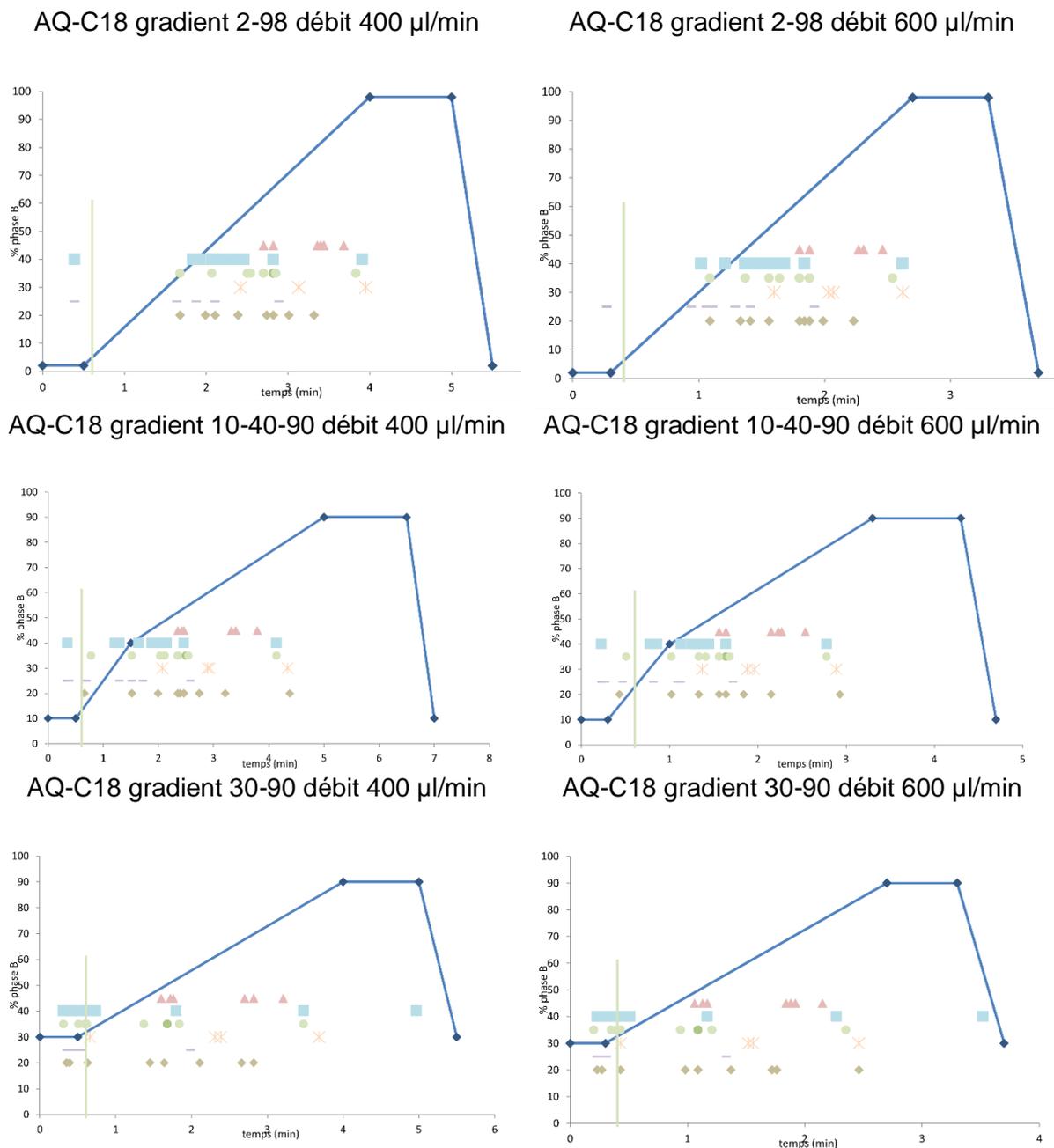


Figure 21. Variations des TR en fonction du débit utilisé avec la colonne AQ-C18.

Pour les deux colonnes en phase inverse, les trois gradients les plus performants ont été testés. Les résultats sont présentés dans la Figure 21 pour la colonne AQ-C18. L'augmentation des débits a permis la réduction du temps d'analyse en passant d'environ 12 minutes entre les échantillons à 6 minutes à 400 µl/min et 4 minutes à 600 µl/min pour le gradient 2-98 par exemple.

Les gradients 10-40-90 et 30-90 ne permettent pas une réponse optimale du fait de la sortie de quelques molécules dans le front de solvant, malgré une bonne séparation par la suite des molécules restantes. On peut citer parmi les non-retenues :

- Aténolol, moxonidine pour 10-40-90 400 µl/min
- Acébutolol, amiloride, atéanolol, captopril, céliprolol, clonidine, énalapril, labétalol, lisinopril, méthyl dopa, minoxidil, pindolol, prazosine, rilménidine, timolol, triamtérène et urapidil pour 10-40-90 600 µl/min
- Acébutolol, amiloride, atéanolol, captopril, céliprolol, clonidine, énalapril, labétalol, lisinopril, méthyl dopa, minoxidil, moxonidine, nadolol, pindolol, prazosine, rilménidine, timolol, triamtérène et urapidil pour 30-90 400 µl/min 600 µl/min.

Le gradient 2-98 paraît le plus conforme aux attentes en nombre de molécules détectées ainsi qu'en séparation. Elles sont toutes bien séparées dans le temps et par rapport aux autres molécules de la même famille. On retrouve avant le front de solvant uniquement : méthyl dopa, moxonidine et atéanolol à 400 µl/min, et méthyl dopa à 600 µl/min. Cette différence est probablement due à une mauvaise répétabilité de la méthode. Le méthyl dopa n'est pas recherché dans la méthode finale donc n'est pas pris en compte dans la performance de la chromatographie.

La meilleure colonne est la HALO C18 2,7µm ; 2,1mm ; 50mm avec un débit de 400µl/min pour le gradient 2-98 et un temps d'analyse par échantillon d'environ 6 minutes.

IV.4. Optimisation de l'extraction

La méthode QuECHERS, bien que très efficace habituellement, n'a donné que des résultats médiocres pour l'extraction des différentes molécules. Effectivement, elle présente une mauvaise reproductibilité inter-échantillons ainsi que des limites de détection trop élevées pour les molécules testées. Les résultats ne seront pas présentés car les tests ont été arrêtés très tôt dans le développement.

La méthode retenue est l'extraction sur cartouche SPE OASIS MCX 3C. Cette technique a été développée au laboratoire par d'autres protagonistes. L'équipe continue les tests (rendement extraction, limites de détection ...) au moment du rendu du manuscrit.

IV.5. Résultats globaux

Un chromatogramme en mode d'ionisation positif est présenté sur la Figure 22. Les caractéristiques de la méthode sont présentées dans le Tableau 16 pour chaque molécule (TR, mode d'ionisation, masse ion parent). Les étalons internes sont présentés **en gras**. Un standard contenant toutes les molécules à une concentration de 50 µg/l a été analysé pour s'assurer que toutes les molécules étaient bien détectées à cette concentration, ce qui est le cas. Certaines sont *a priori* à leur limite de détection, d'autres sont encore très visibles et leur LDD serait plus basse. La mesure plus précise de leur LDD est en cours.

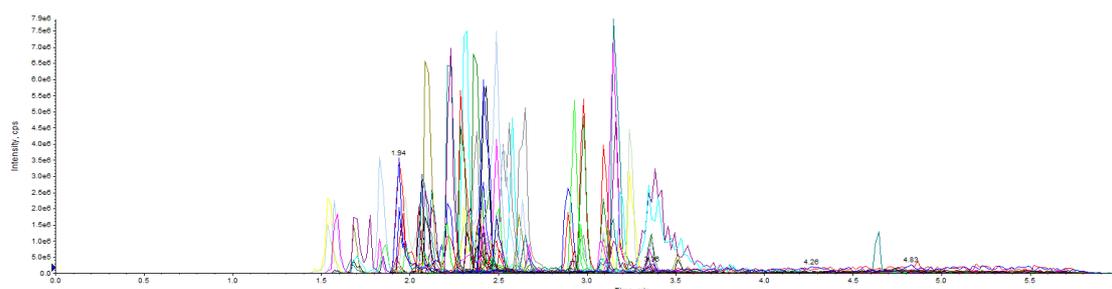


Figure 22. Chromatogramme de toutes les molécules contenues dans un standard à une concentration de 50 µg/l en mode d'ionisation positive.

Tableau 16. Récapitulatif des molécules suivant leur temps de rétention (TR), leur mode d'ionisation, et la masse de l'ion parent.

Molécules	TR (min)	Mode d'ionisation	Ion parent
RILMENIDINE	1,9	Positif	181,155
CAPTOPRIL	2,2	Positif	218,059
AMILORIDE	1,6	Positif	230,022
CLONIDINE	1,7	Positif	230,18
MOXONIDINE	1,5	Positif	242,055
PINDOLOL	1,8	Positif	249,112
TRIAMTERENE	1,9	Positif	253,984
PROPRANOLOL	2,4	Positif	260,096
CICLETANINE	2,5	Positif	261,926
PROPRANOLOL D7	2,4	Positif	267,054
ATENOLOL	1,5	Positif	267,092
METOPROLOL	2,1	Positif	268,128
ATENOLOL D7	1,5	Positif	274,11
4-OH-PROPRANOLOL	2,1	Positif	276,021
ALPHA HYDROXY METOPROLOL	1,7	Positif	284,033
TERTATOLOL	2,4	Positif	296,112
BETAXOLOL	2,4	Positif	308,356
NADOLOL	1,8	Positif	310,134
TIMOLOL	2,05	Positif	317,076
BISOPROLOL	2,3	Positif	326,106
ZOFENOPRILAT	3	Positif	326,175
LABELALOL	2,3	Positif	329,095
ACEBUTOLOL	2,1	Positif	337,135
PERINDOPRILAT	2	Positif	341,03
CANRENONE	3,4	Positif	341,086
DEHYDRONIFEDIPINE	3,2	Positif	344,952
NIFEDIPINE	3,2	Positif	346,971
ENALAPRILAT	2	Positif	349,009
ENALAPRILAT D5	2	Positif	354,148

NITRENDIPINE	3,5	Positif	361,057
INDAPAMIDE	2,9	Positif	366,003
DESACETYLDILTIAZEM	2,4	Positif	373,031
ENALAPRIL	2,4	Positif	377,128
CELIPROLOL	2,2	Positif	380,186
FELODIPINE	3,8	Positif	384,017
PRAZOSINE	2,2	Positif	384,088
URAPIDIL	2	Positif	388,18
RAMIPRILAT	2,3	Positif	389,053
BENZAEPRIAT	2,3	Positif	397,017
TRANDOLAPRILAT	2,5	Positif	403,014
NEBIVOLOL	2,7	Positif	406,136
LINISOPRIL	1,7	Positif	406,16
AMLODIPINE	2,6	Positif	409,065
QUINAPRILAT	2,5	Positif	411,038
DILTIAZEM	2,5	Positif	415,053
SPIRONOLACTONE	3,3	Positif	417,094
LOSARTAN	3	Positif	423,056
EPROSARTAN	2,5	Positif	425,046
IRBESARTAN	3,1	Positif	429,196
FOSINOPRILAT	3,3	Positif	436,091
VALSARTAN	3,2	Positif	436,213
LOSARTAN COOH	3,14	Positif	436,978
CANDESARTAN	2,9	Positif	441,153
NORVERAPAMIL	2,6	Positif	441,166
OLMESARTAN	2,4	Positif	447,186
DOXAZOSINE	2,5	Positif	452,049
VERAPAMIL	2,6	Positif	455,21
NICARDIPINE	2,7	Positif	480,156
TELMISARTAN	3,1	Positif	515,089
LERCANIDIPINE	3,1	Positif	611,947
MANIDIPINE	3,1	Positif	612,182
CICLETANINE	/	Négatif	259,852
HYDROCHLOROTHIAZIDE	/	Négatif	295,93
HYDROCHLOROTHIAZIDE 13C D2	/	Négatif	298,62
FUROSEMIDE	/	Négatif	328,86
CHLORTHALIDONE	/	Négatif	336,844
PERINDOPRILAT	/	Négatif	338,982
ALTIZIDE	/	Négatif	381,796
TRANDALOPRILAT	/	Négatif	401,032
LISINOPRIL	/	Négatif	404,227
BENDROFLUMETHIAZIDE	/	Négatif	419,916
LOSARTAN COOH	/	Négatif	434,967
CANDESARTAN	/	Négatif	438,959

Compte tenu du nombre de molécules présentes en mode d'ionisation positif, il a été jugé nécessaire d'utiliser le mode Scheduled multiple reaction monitoring (MRM), alors qu'en mode d'ionisation négatif l'acquisition est réalisée en conditions product-ion scan (PIS).

IV.6. Résultats de l'étude clinique

Les résultats présentés sont des résultats précoces avant la fin du recueil. Ils datent du 02 mars 2022.

Au total, 243 échantillons ont été recueillis sur une période de 30 jours.

Tableau 17. Données démographiques des patients de l'étude clinique.

Sexe	F	M	Total
Nombre de patients	78	165	243
Moyenne d'Age (écart type) ans	64 (18)	68 (11)	66 (14)
Age minimum	23	32	23
Age maximum	91	93	93
Moyenne de Nb de jours d'hospitalisation (écart type)	11 (15)	12 (13)	12 (13)

Les échantillons concernent un total de 78 femmes et de 165 hommes avec un âge moyen de 66 ans. Tous les patients sont des adultes avec un âge minimum de 23 ans et une durée d'hospitalisation moyenne de 12 jours au moment du recueil de l'échantillon.

Tableau 18. Fréquence de demande de biochimie urinaire en fonction du service prescripteur.

Services prescripteurs	Fréquence	Services prescripteurs	Fréquence
REANIMATION	70	NEUROLOGIE	2
NEPHROLOGIE	59	RHUMATOLOGIE	2
POLYCLINIQUE	19	SSR	2
MEDECINE INTERNE	19	UROLOGIE	2
GERIATRIE	10	CHIRURGIE DIGESTIVE	2
HEMATOLOGIE	9	EHPAD SOINS	1
GROSSESSES PATHOLOGIQUES	7	HC POLYCLINIQUE	1
ORL ET CERVICO-FACIAL	6	MALADIES INFECTIEUSES	1
OBSTETRIQUE	5	MPR	1
CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	4	ORTHO-TRAUMATO	1
CARDIOLOGIE	3	PATHOLOGIES RESPIRATOIRES	1
HEPATO GASTRO ENTERO	6	SOINS PALLIATIFS	1
NEUROVASCULAIRE	3	UOTC	1
CHIRURGIE VASCULAIRE	2	UOTH	1
HEBERGEMENT MPR	2	Total	243

Les demandes de biochimie urinaire sont hétérogènes en fréquence de prescriptions entre services. Le Tableau 18 montre en effet que les services de réanimation ou de néphrologie par exemple, ont une demande beaucoup plus importante que les autres (70 et 59 échantillons recueillis, respectivement).

De manière attendue, on retrouve aussi le service des grossesses pathologiques ou d'hématologie pour le suivi des protéines urinaires.

Tableau 19. Nombre de patients en fonction du nombre de molécules antihypertensives prescrites.

	nombre patients	%
1 molécule	104	44
2 molécules	64	27
3 molécules	45	19
4 molécules	13	6
5 molécules	7	3
6 molécules	3	1
Total	236	100

Après recueil des traitements antihypertenseurs grâce aux prescriptions informatiques, il a été possible de créer le Tableau 19. Ce tableau permet de comptabiliser le nombre de patients suivant leur traitement : on retrouve 104 patients ayant une seule ligne de médicament, 64 patients ayant 2 lignes, etc... Au total, 236 échantillons sur 243 recueillis contiennent théoriquement au moins un médicament antihypertenseur.

Aucun patient n'a reçu plus de 6 lignes de traitement en même temps dans cette étude. Les molécules sont comptabilisées même si elles ne sont pas utilisées dans leur AMM antihypertensive, c'est probablement pour cela que 6 lignes de traitements peuvent être retrouvées. En effet, il n'y a aucune recommandation dans le traitement de l'HTA à avoir 6 médicaments anti-hypertenseurs en même temps.

Tableau 20. Fréquence des molécules antihypertensives prescrites.

Molécules	Nombre d'échantillons	Molécules	Nombre d'échantillons
BISOPROLOL	86	NEBIVOLOL	7
FUROSEMIDE	80	ATENOLOL	5
AMLODIPINE	67	LERCANIDIPINE	5
URAPIDIL	58	ACEBUTOLOL	2
NICARDIPINE	45	BETAXOLOL	2
SPIRONOLACTONE	27	PERINDOPRIL	2
HYDROCHLOROTHIAZIDE	21	VERAPAMIL	2
RAMIPRIL	22	AMILORIDE	1
IRBESARTAN	18	MOXONIDINE	1
LABETALOL	12	PROPRANOLOL	1
CANDESARTAN	10		

Seules les molécules présentes dans le Tableau 20 ont été retrouvées dans les dossiers informatiques des patients et pourront être potentiellement retrouvées dans les échantillons recueillis.

La principale molécule est le bisoprolol avec une fréquence d'apparition de 86 sur 236 échantillons (36,4%). Au total, 21 molécules différentes ont été retrouvées sur un total théorique de 61 molécules ayant l'AMM (34,4%) et 21 sur 54 molécules présentes dans la méthode développée (38,9%).

Aucun test analytique n'a été fait avant la fin d'écriture de ce manuscrit et les résultats ne pourront donc pas être présentés.

V. Discussion

Ce travail a commencé à la suite de la lecture de l'article de Bouhanick *et al.* 2019 (27), faisant un état des lieux des dosages disponibles dans les différents laboratoires de pharmacologie et toxicologie français quant au suivi de l'observance de l'HTA. Il s'inscrit dans les recommandations de la SFTHA (17) :

- Point 20 « *Utiliser de plus en plus la détection urinaire des médicaments antihypertenseurs par spectrométrie de masse (LCMS/MS), chez l'hypertendu résistant pour documenter l'inobservance médicamenteuse et établir les bases d'un dialogue constructif avec le patient, afin d'éviter de lourds et coûteux examens complémentaires.* »

L'article cité ci-dessus avait été précédé par la thèse de sciences du Dr Idir Hamdidouche en 2017, intitulée « Observance des traitements antihypertenseurs. Méthodologie et aspect clinique. »(96)

Ces deux travaux mettent en avant le fait qu'il est nécessaire d'avoir des méthodes directes de détection de l'observance/inobservance. Ils montrent aussi qu'actuellement, aucune méthode proposée n'est capable de détecter toutes les molécules dans un seul centre. Un choix doit être réalisé par le clinicien et le suivi de l'observance ne peut être fait que sur une partie du traitement et non la totalité. Il nous a donc paru judicieux de développer une méthode contenant le plus grand nombre possible de médicaments anti-hypertenseurs, permettant de s'adapter au mieux aux besoins du clinicien.

*

La méthode présentée n'est pas complètement stabilisée au moment de la rédaction de ce mémoire. Des tests supplémentaires doivent être réalisés concernant : la justesse, la répétabilité, le coefficient d'extraction, l'étude de stabilité. Ceci permettra de s'assurer de la bonne qualité de la méthode et déterminera des limites de détection inférieures (LDD) précises pour chaque molécule.

Un intérêt tout particulier a été prêté à certaines molécules. En effet, certains couples de molécules ont le même TR avec des masses moléculaires des ions parents proches, induisant un risque de « crosstalk », c'est-à-dire de signal croisé entre les molécules. C'est le cas pour :

- Amiloride et clonidine (TR : 1,6 et 1,7 respectivement pour une masse moléculaire de 230 environ).
- Fosinoprilat et valsartan (TR : 3,3 et 3,2 respectivement pour une masse moléculaire de 436 environ).
- Candésartan et norvérapamil (TR : 2,9 et 2,6 respectivement pour une masse moléculaire de 441 environ).

Les couples amiloride/clonidine et fosinoprilat/valsartan ont des TR trop proches pour être bien séparés, mais les ions fils de détection sont bien différents (respectivement : 171/115,8 ; 44/73,8 ; 152,2/390,3 ; 291,1/235,1). Le couple candésartan/norvérapamil est suffisamment séparé par la chromatographie, d'autant que les ions fils de détection sont différents (respectivement 263,2/192 ;165,2/149,9). Il sera nécessaire par la suite d'injecter les molécules séparément et de quantifier le signal sur la transition de l'autre molécule du couple.

*

54 molécules sont proposées dans la méthode de screening urinaire développée, sur 61 ayant l'AMM dans l'HTA en France. Ce chiffre n'est que peu représentatif de l'utilisation des antihypertenseurs. S'il est pondéré par la part de marché globale calculée avec le volume des ventes en officine en 2018, ces 54 molécules représentent 99,5 % des prescriptions dans l'HTA.

*

La qualité de la méthode a été évalué par rapport à la littérature, avant la réalisation des tests sur des échantillons patients. Pour ce faire, j'ai fait une revue des différentes méthodes publiées et une comparaison de différents paramètres. Le Tableau 21 fait une liste non exhaustive de différentes méthodes de détection ou de dosage de certaines molécules à visée cardiovasculaire, dont des anti-hypertenseurs.

Tableau 21. Recueil des propriétés de différentes techniques présentées dans la littérature pour l'analyse des traitements antihypertenseurs

Auteurs et année	Nombre molécules	Matrice	Mode de préparation	méthode	réf.
Deventer <i>et al.</i> 2002	19	urine	LLE	LC-MS/MS qualitative	(97)
Murray <i>et al.</i> 2009	49	urine	SPE	HPLC-MS/MS et UHPLCMS/MS qualitative	(98)
Gonzalez <i>et al.</i> 2010	55/18	plasma	Précipitation	LC-MS/MS quantitative/qualitative	(99)
Jung <i>et al.</i> 2012	13	urine	LLE	LC-MS/MS qualitative	(100)
Strauch <i>et al.</i> 2013	11/2	sérum	SPE	LC-MS/MS quantitative/qualitative	(101)
Tomaszewski <i>et al.</i> 2014	40	urine	dilution	HPLC-MS/MS qualitative	(102)
Florczak <i>et al.</i> 2015	19	sérum	SPE	LC-MS/MS quantitative	(103)
Schmieder <i>et al.</i> 2016	40	urine	LLE	LC-MS/MS qualitative	(104)
Lawson <i>et al.</i> 2016	23	urine	Dilution	LC-MS/MS qualitative	(105)
van der Nagel <i>et al.</i> 2017	8	plasma	Précipitation	UHPLC-MS/MS quantitative	(106)
De Nicolo <i>et al.</i> 2017	10	urine	Dilution	UHPLC-MS/MS quantitative	(107)
Hamdidouche <i>et al.</i> 2017	14	urine	Dilution	UHPLC-MS/MS qualitative	(108)
Gundersen <i>et al.</i> 2018	21	sérum	Précipitation	UHPLC-MS/MS quantitative	(109)
Punt <i>et al.</i> 2019	52	plasma	Précipitation	LC-MS/MS quantitative/semi	(110)
Lauder <i>et al.</i> 2020	78	plasma/urine/salive	Précipitation	LC-MS/MS qualitative	(111)
Ritscher <i>et al.</i> 2020	6	sérum/urine	LLE	HPLC-MS/MS quantitative	(112)

LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée avec un spectromètre de masse en tandem.

HPLC : chromatographie liquide haute pression
UHPLC : chromatographie liquide ultra haute pression
LLE : extraction liquide-liquide
SPE : extraction en phase solide

Cette liste montre que toutes les méthodes de détection ou de quantification utilisent des techniques similaires, basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

Environ la moitié des techniques sont développées pour l'urine et l'autre moitié pour le sang (plasma ou sérum). Une seule se concentre sur la détection dans la salive et compare les résultats avec les concentrations plasmatiques et urinaires.

Les méthodes d'extraction sont *a contrario* très hétérogènes : extractions liquide-liquide, séparations en phase solide, simples dilutions, précipitations de protéines. Mais aucune n'a utilisé des sels QuEChERS, comme notre méthode.

La majorité des méthodes se concentrent sur un nombre restreint de molécules et la majorité du temps avec omission des molécules les moins représentatives. D'autres méthodes présentent un nombre important de médicaments, mais incluant d'autres classes pharmacologiques : des antiagrégants plaquettaires, des antivitamine-K, des anti-angoreux... Le principe pour eux est le suivi de l'observance du patient cardiaque en général.

Certains auteurs se sont concentrés sur une méthode qualitative ressemblant à celle décrite dans ce manuscrit.

C'est le cas de Tomaszewski *et al.* (102) qui recherchent 40 molécules antihypertensives différentes (ou leurs métabolites) dans les urines. La plupart de ces 40 molécules sont également recherchées dans notre méthode. Les mêmes molécules et métabolites sont recherchés pour les diurétiques et les IEC. Pour les bêta-bloquants, ils ont choisi l'hydroxynébivolol mais pas le 4-hydroxypropranolol, ni l'alpha-hydroxy métoprolol. Le nébivolol fait effectivement partie du groupe des médicaments potentiellement non retrouvés dans l'urine, tout comme le labétalol qui est pourtant présent dans leur liste sans un de ses métabolites. Pour les ARA II, ils utilisent les métabolites, même pour le candésartan qui est pourtant théoriquement retrouvé dans l'urine (70% sous forme inchangée). *A contrario*, ils utilisent le telmisartan qui ne l'est pas. Ils utilisent bien le losartan-COOH. La durée de passage en chromatographie est de 12 minutes sur une colonne C18. Aucune donnée de LDD n'est communiquée malheureusement.

De Nicolo *et al.* (107) ne recherchent que 10 molécules différentes sans utilisation de métabolites. Le telmisartan est bien retrouvé dans les urines de patients dans leurs tests alors que dans la théorie il ne devrait pas être présent, d'où l'intérêt de réaliser des études cliniques en situation réelle. Ils présentent des LDD plus basses que celles testées jusqu'ici pour notre technique : au maximum 39,06 µg/l et jusqu'à 0,39 µg/l pour le ramipril. Ramipril qui est d'ailleurs évoqué comme difficilement détectable et qui pourrait être avantageusement remplacé par le ramiprilat d'après leurs conclusions.

*

La pharmacocinétique de certaines molécules ne permet pas de bien contrôler l'observance par la détection urinaire. Comme le montrent Ritscher *et al.* (112) des molécules avec une biodisponibilité faible, une excrétion rénale diminuée, ainsi qu'un métabolisme élevé conduisent à une sous-estimation de l'observance du patient par l'analyse urinaire. Ce sont des faux-négatifs. L'évaluation de l'observance par la détection urinaire est de plus sensible à

une observance partielle, conduisant potentiellement à des faux-positifs dans les cas de demi-vies longues.

L'analyse plasmatique exclusive n'est pas non plus la meilleure solution comme le précise l'article de Hamdidouche *et al.* (113). En effet, les molécules utilisées dans l'HTA n'ont pas toutes une zone thérapeutique prédéfinie permettant de s'assurer d'une exposition attendue (ni de l'adaptation de posologie par STP). Ces auteurs concluent que l'analyse urinaire est un très bon outil pour différencier les patients non-répondeurs à leur traitement, des patients non-observants nécessitant un dialogue thérapeutique et une prise en charge particulière.

*

Pour limiter le problème de demi-vie courte ou de faible excrétion urinaire de certaines molécules, il est possible de rechercher les métabolites d'intérêts, comme pour les IEC par exemple.

Pour classer au mieux les patients observants et non-observants (comprenant les non-observants totaux et les non-observants irréguliers), le Dr Hamdidouche, dans sa thèse, propose de calculer des seuils théoriques d'observance basés sur les paramètres pharmacocinétiques.

La concentration urinaire moyenne attendue sur 24 heures est calculée suivant la formule :

$$CU = \frac{DJ * \%FU}{diurèse}$$

Avec :

CU : concentration urinaire moyenne en µg/l

DJ : dose journalière minimale habituellement utilisée en mg

%FU : fraction urinaire théorique en pourcent

La diurèse est estimée à 1,5L par jour arbitrairement.

Ceci permet de calculer théoriquement des concentrations urinaires pouvant être comparées avec les LDD de la méthode. Ces valeurs sont présentées dans le Tableau 22

Tableau 22. Concentrations urinaires (CU) théoriques des principaux médicaments anti-hypertenseurs en fonction de la dose journalière minimale et de la fraction d'excrétion urinaire.

Molécules	Dose journalière minimale (mg)	Fraction urinaire (%)	CU (µg/l)
ACEBUTOLOL	400	15	40000
AMILORIDE	2,5	50	833
AMLODIPINE	5	9	300
ATENOLOL	50	42,5	14167
BENDROFLUMETHIAZIDE	2,5	20	333
BETAXOLOL	20	16	2133
BISOPROLOL	10	50	3333
CANDESARTAN	8	75	4000
CAPTOPRIL	50	58	19333
CELIPROLOL	200	10	13333
CHLORTALIDONE	12,5	50	4167
CLONIDINE	0,15	45	45

DILTIAZEM	200	2	2667
DOXAZOSINE	4	5	133
ENALAPRIL	5	18	600
EPROSARTAN	600	32	128000
FUROSEMIDE	20	66,5	8867
HYDROCHLOROTHIAZIDE	12,5	68,5	5708
INDAPAMIDE	1,5	7	70
IRBESARTAN	150	0,8	800
LISINOPRIL	20	25	3333
LOSARTAN	50	4	1333
MOXONIDINE	0,2	62	83
NADOLOL	80	13,5	7200
NICARDIPINE	60	0,03	12
OLMESARTAN	10	40	2667
PERINDOPRIL	3,4	2,6	59
PINDOLOL	15	45	4500
QUINAPRIL	20	3	400
RILMENIDINE	1	90	600
TIMOLOL	10	20	1333
TRIAMTERENE	50	4,4	1467
URAPIDIL	60	55	22000
VALSARTAN	80	6,4	3413

Certaines molécules ont des seuils très élevés, comme l'acébutolol ou l'éprosartan. A l'inverse d'autres molécules ont des concentrations urinaires attendues du même ordre de grandeur que les LDD actuelles, voire en-dessous comme l'indapamide ou la nicardipine.

Les valeurs n'ont pas été calculées pour toutes les molécules, mais uniquement pour celles présentant des caractéristiques pharmacocinétiques disponibles et chiffrées. De plus, ces seuils ne sont pas à utiliser directement, seul leur ordre de grandeur a un sens. Effectivement, la dose, la diurèse et les particularités pharmacocinétiques de chaque individu ne sont pas prises en compte.

*

Le recueil des échantillons ainsi que les caractéristiques des traitements des patients correspondants, seront nécessaires à la réalisation de la validation externe de la méthode de screening. Il faut s'assurer de la qualité de la méthode dans des conditions réelles de test.

Toutefois, il existe un biais dans le recueil des échantillons : ce n'est pas parce que les patients sont hospitalisés qu'ils sont réellement tous observants. En effet, l'étude de Strauch *et al.* (101) ne retrouve une observance totale que pour 81% des patients hospitalisés, mais ce chiffre est plus important que pour la population traitée en ville (de l'ordre de 53 % (114)).

Un précédent recueil avait été réalisé (189 échantillons), provenant de patients avec des caractéristiques démographiques semblables (âge moyen 66 ans, 74 femmes, 115 hommes). 27 molécules avaient été retrouvées dans les dossiers des patients, mais l'information sur les médicaments anti-hypertenseurs avait été recueillie dans les prescriptions d'entrée, hospitalières ou de sortie. Ceci représentait un biais important puisqu'il est nécessaire de

s'assurer de la prise médicamenteuse au moment du recueil de l'échantillon. C'est pour cela que, lors de la deuxième campagne de recueil, nous nous sommes assurés que le patient était hospitalisé depuis au moins 2 jours et que les médicaments anti-hypertenseurs recueillis étaient ceux prescrits à l'hôpital.

Des différences non négligeables concernant la nature des médicaments sont retrouvées entre les deux recueils. Certaines molécules n'étaient que peu retrouvées la première fois et sont beaucoup plus présentes lors du deuxième recueil. C'est le cas pour :

- Urapidil retrouvé 8 fois (3,62% du total) et 58 fois (12,24% du total), respectivement
- Nicardipine retrouvée 1 fois (0,45% du total) et 45 fois (9,49% du total), respectivement
- Labétalol retrouvé 1 fois (0,45% du total) et 12 fois (2,53% du total), respectivement

A l'inverse, une molécule était fortement représentée lors de la première session, beaucoup moins lors de la seconde :

- Périndopril retrouvé 15 fois (6,79% du total) et 2 fois (0,42% du total), respectivement

L'urapidil est utilisé dans la prise en charge de l'HTA dans sa forme orale et dans la prise en charge urgente de l'HTA ou dans la gestion des hypotensions contrôlées en anesthésie pour la voie injectable (115).

La nicardipine est utilisée dans l'HTA maligne et l'encéphalopathie hypertensive, dans la dissection aortique et dans la pré-éclampsie sévère sous forme injectable et dans la prise en charge de l'HTA sous forme orale (116).

Effectivement, la première session de recueil n'a jamais retrouvé d'urapidil ou de nicardipine injectable, alors qu'ils sont très présents la deuxième fois.

Le labétalol est utilisé dans la prise en charge de l'HTA (117). Il n'a pratiquement été prescrit que dans les services de suivi de grossesse (grossesse pathologique, obstétrique). Il est donc utilisé en traitement symptomatique et non chronique pour cette indication et n'était donc pas retrouvé lors de la première session de recueil.

Le périndopril et le ramipril ont des indications similaires (118,119), ont été prescrits par des services similaires aussi (avec une majorité pour la réanimation et la néphrologie). Ils sont tous deux présents à la pharmacie à usage intérieur (PUI) de Limoges et sont tout aussi bien présentés, seuls et en association. Aucune explication n'a été trouvée pour cette décroissance d'utilisation entre les deux sessions de recueil, alors que le ramipril conserve sa fréquence de prescription.

Quelques molécules avaient été trouvées lors du premier et ont disparu du deuxième recueil :

- Indapamide
- Valsartan
- Altizide
- Losartan
- Métoprolol
- Trandolapril
- Isradipine
- Rilménidine
- Telmisartan

A l'inverse certaines molécules sont apparues :

- Amiloride
- Moxonidine
- Betaxolol

Aucune molécule ci-dessus n'a une représentation suffisamment significative et le hasard seul pourrait expliquer leur apparition/disparition de la liste. Ceci suggère que nos échantillonnages ne sont pas encore de taille suffisante pour être parfaitement représentatifs des prescriptions hospitalières.

Tableau 23. Comparaison des molécules antihypertensives prescrites dans l'étude clinique avec leur volume de vente en officine en 2018.

Médicament	Fréquence de recueil	% associé part de marché 2018 officine	rang fréquence étude clinique	rang volume de vente 2018 officine
BISOPROLOL	86	7,39	1	5
FUROSEMIDE	80	12,14	2	1
AMLODIPINE	67	6,76	3	7
URAPIDIL	58	0,92	4	27
NICARDIPINE	45	1,91	5	17
SPIRONOLACTONE	27	2,47	6	13
HYDROCHLOROTHIAZIDE	21	10,74	7	2
RAMIPRIL	22	6,88	8	6
IRBESARTAN	18	6,02	9	8
LABETALOL	12	0,22	10	38
CANDESARTAN	10	2,28	11	14
NEBIVOLOL	7	2,05	12	15
ATENOLOL	5	2,94	13	10
LERCANIDIPINE	5	4,44	14	9
ACEBUTOLOL	2	1,54	15	23
BETAXOLOL	2	0,3	16	35
PERINDOPRIL	2	7,71	17	4
VERAPAMIL	2	1,84	18	21
AMILORIDE	1	0,42	19	33
MOXONIDINE	1	0,12	20	45
PROPRANOLOL	1	2,85	21	11

Le Tableau 23 permet de comparer les différentes molécules prescrites dans l'étude clinique avec leur pourcentage de part de marché des ventes en officine en 2018. Ceci permet de savoir si les molécules retrouvées sont représentatives de leurs ventes en ville. Un rang est associé en fonction de leur fréquence décroissante dans le recueil d'échantillons et en fonction de leur volume de vente décroissant. Par exemple, le bisoprolol est la molécule la plus retrouvée (rang 1) dans l'étude clinique et la cinquième par son volume de vente.

On retrouve des molécules surreprésentées dans l'étude clinique en comparaison de leur volume de vente :

- Urapidil
- Nicardipine
- Labétalol
- Bétaxolol
- Amiloride
- Moxonidine

Nous l'avons vu pour l'urapidil, la nicardipine et le labétalol, ces molécules ont des indications particulières d'usage à l'hôpital différentes de celles pratiquées en ville, ce qui expliquerait leur sur-représentation dans l'étude. Cela doit être le cas également pour le bétaxolol, l'amiloride et le moxonidine.

A l'inverse, des molécules sont sous-représentées voire absentes de ce classement par rapport à leur rang de volume de vente :

- Périndopril
- Valsartan (rang 3)
- Indapamide (rang 12)
- Métoprolol (rang 16)
- Zofénopril (rang 18)
- Olmésartan (rang 19)
- Énalapril (rang 20)

En utilisant cette méthode de recueil prospective, il est peu probable que toutes les molécules puissent être retrouvées dans des échantillons patients. En effet, certaines molécules sont très présentes dans l'HTA et leurs autres indications, tandis que d'autres sont très peu utilisées (cf. nombre de boîtes vendues en officine dans la partie Sélection des molécules antihypertensives en France).

D'autant plus que le recueil se fait sur des patients hospitalisés, dont les traitements sont fournis par la PUI qui ne possède qu'un nombre limité de médicaments. En effet, 36 molécules sur les 61 possibles sont disponibles à la PUI de Limoges. Cela fait donc déjà 21 molécules retrouvées dans les échantillons sur 36 disponibles à la PUI (58,3%).

*

L'adhérence et la persistance thérapeutique sont une des clés de la réussite du traitement de l'HTA, mais aussi de toutes les autres maladies chroniques. Parmi elles, l'insuffisance cardiaque (IC). L'étude rétrospective Scalvini *et al.* de 2021 présente l'adhérence et la persistance aux traitements dans l'IC pour 100 785 patients dans leur première année de traitement. Les patients avaient une adhérence de 65 % avec une persistance thérapeutique de 47% pour les inhibiteurs du SRA, une adhérence de 52% et une persistance de 35% pour les bêta-bloquants et une adhérence de 23% et une persistance de 14% pour les minéralocorticoïdes. Ces chiffres sont donc du même ordre de grandeur que pour l'HTA avec une adhérence thérapeutique aux alentours de 53% (114).

La méthode développée dans ce travail concentre des médicaments ayant l'AMM aussi bien pour l'HTA que pour l'IC. Avec la même méthodologie de l'extraction thériaque HTA, une nouvelle recherche a été réalisée avec comme indication : « Insuffisance cardiaque pour

identifier les molécules présentes dans la méthode de screening ayant aussi l'AMM pour l'IC (Tableau 24).

Tableau 24. Médicaments utilisés dans l'insuffisance cardiaque recherchés par la méthode de screening urinaire des médicaments antihypertenseurs.

Médicaments	Présence dans la méthode HTA	Médicaments	Présence dans la méthode HTA
ALTIZIDE	OUI	HCTZ	OUI
AMILORIDE	OUI	IVABRADINE	NON
BISOPROLOL	OUI	LISINOPRIL	OUI
BUMETANIDE	NON	LOSARTAN	OUI
CANDESARTAN	OUI	METOPROLOL	OUI
CAPTOPRIL	OUI	NEBIVOLOL	OUI
CARVEDILOL	NON	PERINDOPRIL	OUI
DAPAGLIFLOZINE	NON	PROPRANOLOL	OUI
DIGOXINE	NON	QUINAPRIL	OUI
EMPAGLIFLOZINE	NON	RAMIPRIL	OUI
ENALAPRIL	OUI	SACUBITRIL	NON
FOSINOPRIL	OUI	SPIRONOLACTONE	OUI
FUROSEMIDE	OUI	VALSARTAN	OUI

Sur un total de 26 molécules ayant l'AMM pour l'IC, 19 (73%) sont recherchées par la méthode développée pour l'HTA. Parmi les molécules absentes, on note un bêta-bloquant (carvédilol), deux inhibiteurs du cotransporteur glucose-sodium SGLT2 (dapaglifozine et empaglifozine), un glucoside cardiotonique (digoxine), un diurétique de l'anse (bumétanide) et deux autres classes de l'insuffisance coronarienne (sacubitril et ivabradine).

En utilisant la méthode de screening HTA, il serait donc possible d'estimer l'observance du patient atteint d'IC par exemple, si le patient est traité par certains des médicaments ayant la double indication.

Conclusion

La prévalence de l'hypertension artérielle en France et dans le monde est très importante. Dans l'escalade thérapeutique nécessaire au contrôle tensionnel, une des étapes clé est de s'assurer de l'observance thérapeutique du patient. C'est dans ce cadre-là que le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges a décidé de développer une méthode de recherche large (ou « screening » urinaire) des différentes molécules antihypertensives commercialisées en France.

Cette méthode est finalement capable de détecter 54 molécules, ainsi que leurs métabolites, sur 61 sur le marché. Cela représente 99,5 % des boîtes de médicaments antihypertenseurs vendus en officine.

Les molécules d'intérêt sont extraites de l'urine à l'aide de cartouches SPE et ensuite séparées et analysées par HPLC-MS/MS. Cette méthode de détection est la méthode de référence dans la littérature. Des tests sont encore en cours pour s'assurer de la validité interne de la méthode (répétabilité, coefficient d'extraction, LDD ...). Les résultats actuellement disponibles montrent des signes encourageants de bonne faisabilité sur un nombre important de molécules.

Certaines molécules qui sont ciblées par cette technique ne l'ont été dans aucune des méthodes précédemment publiées et les tests en cours permettront de savoir s'il est nécessaire d'améliorer la technique analytique, ou de rechercher les métabolites d'intérêt par exemple.

Une étude clinique sur des reliquats d'échantillons urinaires de patients prenant des médicaments antihypertenseurs est en cours, afin de s'assurer de la validité externe de la méthode. A l'heure actuelle, malgré un nombre important d'échantillons recueillis, une fraction seulement de tous les médicaments disponibles sont représentés dans les prescriptions hospitalières des patients, correspondant aux médicaments les plus prescrits à l'hôpital. Le recueil d'échantillons doit donc être poursuivi pour augmenter la diversité des molécules. Pour enrichir ce panel, le service a pris la décision d'inclure à nouveau des patients au moment de leur admission à l'hôpital, à condition de connaître leurs prescriptions ambulatoires.

La méthode développée pour objectiver l'observance dans l'HTA pourra être étendue à l'avenir, par exemple pour objectiver l'observance dans l'IC, ce qui ne nécessitera de rajouter que quelques molécules. De la même façon que ce qui a été fait pour l'HTA, une étude des fréquences de prescription et de la littérature permettra alors un choix raisonné des médicaments ou métabolites à privilégier.

Références bibliographiques

1. SFHTA_HAS_Fiche-Memo-HTA_PRISE-EN-CHARGE-HTA-ESSENTIELLE.pdf [Internet]. [cité 23 déc 2020]. Disponible sur: http://www.sfhta.eu/wp-content/uploads/2018/06/SFHTA_HAS_Fiche-Memo-HTA_PRISE-EN-CHARGE-HTA-ESSENTIELLE.pdf
2. Blacher J, Safar M. Physiopathologie de l'hypertension artérielle essentielle. EMC - Cardiologie. janv 2008;3(2):1-7.
3. Atlas SA. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. JMCP. oct 2007;13(8 Supp B):9-20.
4. Charles L, Triscott J, Dobbs B. Secondary Hypertension: Discovering the Underlying Cause. Am Fam Physician. 1 oct 2017;96(7):453-61.
5. Michel Y, Brandstatter H. Lecture de la mesure ambulatoire de la pression artérielle (MAPA) par le médecin de premier recours. Revue Médicale Suisse. 2009;5.
6. Godtfredsen NS. Smoking Reduction, Smoking Cessation, and Mortality: A 16-year Follow-up of 19,732 Men and Women from the Copenhagen Centre for Prospective Population Studies. American Journal of Epidemiology. 1 déc 2002;156(11):994-1001.
7. Grover S, Coupal L, Kouache M, Lowensteyn I, Marchand S, Campbell N. Estimating the Benefits of Patient and Physician Adherence to Cardiovascular Prevention Guidelines: The MyHealthCheckup Survey. Canadian Journal of Cardiology. 1 mars 2011;27(2):159-66.
8. synthese_avec_schema.pdf [Internet]. [cité 23 déc 2020]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2013-10/synthese_avec_schema.pdf
9. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). Journal of Hypertension. juill 2013;31(7):1281-357.
10. Lawes CMM, Vander Hoorn S, Rodgers A, International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. Lancet. 3 mai 2008;371(9623):1513-8.
11. Perrine A-L, Lecoffre C, Olié V. Prévalence de l'hypertension artérielle chez les adultes en France en 2015, étude ESTEBAN. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique. 1 mars 2018;66:S50.
12. Godet-Mardirossian H, Girerd X, Vernay M, Chamontin B, Castetbon K, de Peretti C. Patterns of hypertension management in France (ENNS 2006-2007). Eur J Prev Cardiol. avr 2012;19(2):213-20.
13. Denolle T, Chamontin B, Doll G, Fauvel J-P, Girerd X, Herpin D, et al. Prise en charge de l'HTA résistante. 2013;4.
14. Morris LS, Schulz RM. Patient compliance--an overview. J Clin Pharm Ther. oct 1992;17(5):283-95.

15. Schneider MP, Herzig L, Hugentobler D. Adhésion thérapeutique du patient chronique : des concepts à la prise en charge ambulatoire. :5.
16. Osterberg L, Blaschke T. Adherence to medication. *N Engl J Med.* 4 août 2005;353(5):487-97.
17. LIVRE-SFHTA_STRATEGIE-NATIONALE-DE-SANTE-MALADIES-HYPERTENSIVES_DECEMBRE-2017.pdf [Internet]. [cité 10 mars 2021]. Disponible sur: http://www.sfhta.eu/wp-content/uploads/2017/12/LIVRE-SFHTA_STRATEGIE-NATIONALE-DE-SANTE-MALADIES-HYPERTENSIVES_DECEMBRE-2017.pdf
18. Sabaté E, World Health Organization, éditeurs. Adherence to long-term therapies: evidence for action. Geneva: World Health Organization; 2003. 198 p.
19. Hayes P, Casey M, Glynn LG, Molloy GJ, Durand H, O'Brien E, et al. Prevalence of treatment-resistant hypertension after considering pseudo-resistance and morbidity: a cross-sectional study in Irish primary care. *Br J Gen Pract.* juin 2018;68(671):e394-400.
20. Sulbarán T, Silva E, Calmón G, Vegas A. Epidemiologic aspects of arterial hypertension in Maracaibo, Venezuela. *J Hum Hypertens.* avr 2000;14 Suppl 1:S6-9.
21. Heller RF, Rose G, Pedoe HD, Christie DG. Blood pressure measurement in the United Kingdom Heart Disease Prevention Project. *Journal of Epidemiology & Community Health.* 1 déc 1978;32(4):235-8.
22. Flack JM, Novikov SV, Ferrario CM. Benefits of adherence to anti-hypertensive drug therapy. *European Heart Journal.* 2 mars 1996;17(suppl A):16-20.
23. Morisky DE, Levine DM, Green LW, Shapiro S, Russell RP, Smith CR. Five-year blood pressure control and mortality following health education for hypertensive patients. *Am J Public Health.* févr 1983;73(2):153-62.
24. Ahmad A, Chiu V, Arain MA. Users' Perceptions of an in-Home Electronic Medication Dispensing System: A Qualitative Study. *MDER.* févr 2020;Volume 13:31-9.
25. Korb-Savoldelli V, Gillaizeau F, Pouchot J, Lenain E, Postel-Vinay N, Plouin P-F, et al. Validation of a French version of the 8-item Morisky medication adherence scale in hypertensive adults. *J Clin Hypertens (Greenwich).* juill 2012;14(7):429-34.
26. Girerd X, Hanon O, Anagnostopoulos K, Ciupek C, Mourad JJ, Consoli S. [Assessment of antihypertensive compliance using a self-administered questionnaire: development and use in a hypertension clinic]. *Presse Med.* 16 juin 2001;30(21):1044-8.
27. Bouhanick B, Vaisse B, Schavgoulidze A, Gandia P. Dosage des médicaments antihypertenseurs en France en 2019 et observance. *Mise au point.* 2019;8.
28. Leopold G, Pabst J, Ungethüm W, Bühring K-U. Basic Pharmacokinetics of Bisoprolol, a New Highly Beta₁-selective Adrenoceptor Antagonist. *The Journal of Clinical Pharmacology.* 12 nov 1986;26(8):616-21.
29. Wan S, Koda R, Maronde R. Pharmacokinetics, pharmacology of atenolol and effect of renal disease. *British Journal of Clinical Pharmacology.* juin 1979;7(6):569-74.
30. Schafer-Korting M, Mutschler E. Pharmacokinetics of bendroflumethiazide alone and in combination with propranolol and hydralazine. *Eur J Clin Pharmacol.* 1982;21(4):315-23.

31. Lalonde RL, Pieper JA, Straka RJ, Bottorff MB, Mirvis DM. Propranolol pharmacokinetics and pharmacodynamics after single doses and at steady-state. *Eur J Clin Pharmacol.* 1987;33(3):315-8.
32. Gray CL, Ndefo UA. Nebivolol: A new antihypertensive agent. *American Journal of Health-System Pharmacy.* 15 juin 2008;65(12):1125-33.
33. RegArdh CG, LandahF S, Larsson M, Lundborg P, Steen B. Pharmacokinetics of Metoprolol and its Metabolite a-OH-Metoprolol in Healthy, Non-Smoking, Elderly Individuals. :6.
34. Singh BN, Thoden WR, Ward A. Acebutolol: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Efficacy in Hypertension, Angina Pectoris and Arrhythmia. *Drugs.* juin 1985;29(6):531-69.
35. Milne RJ, Buckley MM-T. Celiprolol: An Updated Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy in Cardiovascular Disease. *Drugs.* juin 1991;41(6):941-69.
36. Beresford R, Heel RC. Betaxolol: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy in Hypertension. *Drugs.* janv 1986;31(1):6-28.
37. Schafer-Korting M, Bach N, Knauf H, Mutschler E. Pharmacokinetics of nadolol in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 1984;26(1):125-7.
38. MacCarthy EP, Bloomfield SS. Labetalol: A Review of Its Pharmacology, Pharmacokinetics, Clinical Uses and Adverse Effects. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* 8 juill 1983;3(4):193-217.
39. Dunn FG, Frohlich ED. Pharmacokinetics, Mechanisms of Action, Indications, and Adverse Effects of Timolol Maleate, A Nonselective Beta-Adrenoreceptor Blocking Agent. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* 12 nov 1981;1(3):188-200.
40. Golightly LK. Pindolol: A Review of Its Pharmacology, Pharmacokinetics, Clinical Uses, and Adverse Effects. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* 6 mai 1982;2(3):134-47.
41. Campbell DB, Chignon JC, Devissaguet JPh. Biodisposition of Tertatolol in Man: A Review. *Am J Nephrol.* 1986;6(2):61-8.
42. Hammarlund-Udenaes M, Benet LZ. Furosemide pharmacokinetics and pharmacodynamics in health and disease—An update. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics.* févr 1989;17(1):1-46.
43. Beermann B, Groschinsky-Grind M. Pharmacokinetics of hydrochlorothiazide in man. *Eur J Clin Pharmacol.* 1977;12(4):297-303.
44. Caruso FS, Szabadi RR, Vukovich RA. Pharmacokinetics and clinical pharmacology of indapamide. *American Heart Journal.* 1 juill 1983;106(1, Part 2):212-20.
45. Kojima K, Yamamoto K, Fujioka H, Kaneko H. Pharmacokinetics of Spironolactone and Potassium Canrenoate in Humans. *Journal of Pharmacobio-Dynamics.* 1985;8(3):161-6.

46. Résumé des caractéristiques du produit - ALDACTAZINE 25 mg/15 mg, comprimé sécable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=69724251&typedoc=R#RcpPr opPharmacocinetiques>
47. Vidt DG. Mechanism of Action, Pharmacokinetics, Adverse Effects, and Therapeutic Uses of Amiloride Hydrochloride, A New Potassium-Sparing Diuretic. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 12 nov 1981;1(3):179-87.
48. Gilfrich HJ, Kremer G, Möhrke W, Mutschler E, Völger K-D. Pharmacokinetics of triamterene after i.v. administration to man: Determination of bioavailability. *Eur J Clin Pharmacol*. août 1983;25(2):237-41.
49. Résumé des caractéristiques du produit - CICLETANINE BIOGARAN 50 mg, gélule - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=64828545&typedoc=R#RcpPr opPharmacocinetiques>
50. Kountz DS, Goldman A, Mikhail J, Ezer M. Chlorthalidone: The Forgotten Diuretic. *Postgraduate Medicine*. janv 2012;124(1):60-6.
51. Résumé des caractéristiques du produit - ISOBAR, comprimé sécable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=63028269&typedoc=R#RcpPr opPharmacocinetique>
52. Ruf G, Gera S, Luus HG, Trenk D, de la Rey N, Löffler K, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ramipril and pirtanide administered alone and in combination. *Eur J Clin Pharmacol*. juill 1994;46(6):545-50.
53. Meredith PA, Elliott HL. Clinical Pharmacokinetics of Amlodipine: *Clinical Pharmacokinetics*. janv 1992;22(1):22-31.
54. Bang LM, Chapman TM, Goa KL. Lercanidipine: A Review of its Efficacy in the Management of Hypertension. *Drugs*. 2003;63(22):2449-72.
55. Résumé des caractéristiques du produit - NICARDIPINE AGUETTANT 10 mg/10 ml, solution injectable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=67962026&typedoc=R#RcpPr opPharmacocinetiques>
56. Singh BN, Josephson MA. Clinical pharmacology, pharmacokinetics, and hemodynamic effects of nicardipine. *American Heart Journal*. févr 1990;119(2):427-34.
57. Echizen H, Eichelbaum M. Clinical Pharmacokinetics of Verapamil, Nifedipine and Diltiazem: *Clinical Pharmacokinetics*. 1986;11(6):425-49.
58. Hamann SR, Blouin RA, McAllister RG. Clinical Pharmacokinetics of Verapamil: *Clinical Pharmacokinetics*. 1984;9(1):26-41.

59. Dunselman PHJM, Edgar B. Felodipine Clinical Pharmacokinetics: Clinical Pharmacokinetics. déc 1991;21(6):418-30.
60. Cheer SM, McClellan K. Manidipine: A Review of its Use in Hypertension. Drugs. 2001;61(12):1777-99.
61. Clifton GD, Blouin RA, Dilea C, Schran HF, Hassell AE, Gonasun LM, et al. The Pharmacokinetics of Oral Isradipine in Normal Volunteers. The Journal of Clinical Pharmacology. janv 1988;28(1):36-42.
62. Eichelbaum M, Mikus G, Mast V, Fischer C, Kuhlmann U, Machleidt C. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nitrendipine in healthy subjects and patients with kidney and liver disease. J Cardiovasc Pharmacol. 1988;12 Suppl 4:S6-10.
63. Macfadyen RJ, Lees KR, Reid JL. Perindopril: A Review of its Pharmacokinetics and Clinical Pharmacology. Drugs. 1990;39(Supplement 1):49-63.
64. Meisel S, Shamiss A, Rosenthal T. Clinical Pharmacokinetics of Ramipril: Clinical Pharmacokinetics. janv 1994;26(1):7-15.
65. Marzo A, Bo L, Mazzucchellia P, Montia N, Tettamantia R, Crivellia F, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Zofenopril in Healthy Volunteers. Arzneimittelforschung. 28 déc 2011;49(12):992-6.
66. Vertes V, Haynie R. Comparative pharmacokinetics of captopril, enalapril, and quinapril. The American Journal of Cardiology. avr 1992;69(10):C8-16.
67. Beermann B. Pharmacokinetics of lisinopril. The American Journal of Medicine. sept 1988;85(3):25-30.
68. Duchin KL, McKinstry DN, Cohen AI, Migdalof BH. Pharmacokinetics of Captopril in Healthy Subjects and in Patients with Cardiovascular Diseases: Clinical Pharmacokinetics. avr 1988;14(4):241-59.
69. Gengo FM, Brady E. The pharmacokinetics of benazepril relative to other ace inhibitors: Pharmacokinetics of benazepril vs. other ACE inhibitors. Clin Cardiol. août 1991;14(S4):44-50.
70. Wiseman LR, McTavish D. Trandolapril: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Use in Essential Hypertension. Drugs. juill 1994;48(1):71-90.
71. Shionoiri H, Naruse M, Minamisawa K, Ueda S, Himeno H, Hiroto S, et al. Fosinopril: Clinical Pharmacokinetics and Clinical Potential. Clinical Pharmacokinetics. juin 1997;32(6):460-80.
72. Résumé des caractéristiques du produit - FOZITEC 20 mg, comprimé - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 2 févr 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=68272505&typedoc=R#RcpPropPharmacocinetique>
73. Müller P, Flesch G, De Gasparo M, Gasparini M, Howald H. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of the angiotensin II antagonist valsartan at steady state in

- healthy, normotensive subjects. *European journal of clinical pharmacology*. 1997;52(6):441-9.
74. Résumé des caractéristiques du produit - VALSARTAN ZENTIVA 160 mg, comprimé pelliculé sécable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 2 févr 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60282789&typedoc=R#RcpPropPharmacocinetiques>
 75. Marino MR, Langenbacher K, Ford NF, Uderman HD. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of irbesartan in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. mars 1998;38(3):246-55.
 76. Résumé des caractéristiques du produit - IRBESARTAN BIOGARAN 150 mg, comprimé pelliculé - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 2 févr 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=66359477&typedoc=R#RcpPropPharmacocinetiques>
 77. Gleiter CH, Mörike KE. Clinical pharmacokinetics of candesartan. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41(1):7-17.
 78. McClellan KJ, Goa KL. Candesartan Cilexetil. *Drugs*. 1 nov 1998;56(5):847-69.
 79. Gardner SF, Franks AM. Olmesartan medoxomil: the seventh angiotensin receptor antagonist. *Annals of Pharmacotherapy*. 2003;37(1):99-105.
 80. Résumé des caractéristiques du produit - ALTEIS 10 mg, comprimé pelliculé - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=62597926&typedoc=R#RcpPropPharmacocinetiques>
 81. Deppe S, Böger RH, Weiss J, Benndorf RA. Telmisartan: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. juill 2010;6(7):863-71.
 82. Sica DA, Gehr TWB, Ghosh S. Clinical Pharmacokinetics of Losartan: *Clinical Pharmacokinetics*. 2005;44(8):797-814.
 83. Blum RA, Kazierad DJ, Tenero DM. A review of eprosartan pharmacokinetic and pharmacodynamic drug interaction studies. *Pharmacotherapy*. avr 1999;19(4 Pt 2):79S-85S.
 84. McClellan KJ, Balfour JA. Eprosartan. *Drugs*. 1 mai 1998;55(5):713-8.
 85. Genissel P, Bromet N. Pharmacokinetics of rilmenidine. *Am J Med*. 18 sept 1989;87(3C):18S-23S.
 86. Kirsten R, Nelson K, Steinijans VW, Zech K, Haerlin R. Clinical Pharmacokinetics of Urapidil: *Clinical Pharmacokinetics*. mars 1988;14(3):129-40.
 87. Résumé des caractéristiques du produit - ZOXAN LP 4 mg, comprimé à libération prolongée - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60282789&typedoc=R#RcpPropPharmacocinetiques>

publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60562606&typedoc=R#RcpPr opPharmacocinetiques

88. He MM, Abraham TL, Lindsay TJ, Schaefer HC, Pouliquen IJ, Payne C, et al. Metabolism and Disposition of the Antihypertensive Agent Moxonidine in Humans. *Drug Metab Dispos.* 1 mars 2003;31(3):334-42.
89. Kirch W, Hutt H-J, Plänitz V. Pharmacodynamic Action and Pharmacokinetics of Moxonidine After Single Oral Administration in Hypertensive Patients. *The Journal of Clinical Pharmacology.* déc 1990;30(12):1088-95.
90. Myhre E, Rugstad HE, Hansen T. Clinical Pharmacokinetics of Methyldopa: *Clinical Pharmacokinetics.* 1982;7(3):221-33.
91. Résumé des caractéristiques du produit - ALDOMET 250 mg, comprimé enrobé - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60578560&typedoc=R#RcpPr opPharmacocinetiques>
92. Lowenthal DT. Pharmacokinetics of clonidine. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1980;2 Suppl 1:S29-37.
93. Stitzel RE. The biological fate of reserpine. *Pharmacol Rev.* sept 1976;28(3):179-208.
94. Lowenthal DT, Affrime MB. Pharmacology and pharmacokinetics of minoxidil. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1980;2 Suppl 2:S93-106.
95. Résumé des caractéristiques du produit - MINIPRESS 1 mg, comprimé sécable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 31 janv 2022]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=68079933&typedoc=R#RcpPr opPharmacocinetiques>
96. Hamdidouche I. Observance des traitements antihypertenseurs, méthodologie et application clinique [Internet] [These]. Sorbonne Paris Cité; 2014 [cité 6 mars 2022]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/s176988>
97. Deventer K, Delbeke FT, Roels K, Van Eenoo P. Screening for 18 diuretics and probenecid in doping analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr.* déc 2002;16(8):529-35.
98. Murray GJ, Danaceau JP. Simultaneous extraction and screening of diuretics, beta-blockers, selected stimulants and steroids in human urine by HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 15 nov 2009;877(30):3857-64.
99. Gonzalez O, Alonso RM, Ferreirós N, Weinmann W, Zimmermann R, Dresen S. Development of an LC-MS/MS method for the quantitation of 55 compounds prescribed in combined cardiovascular therapy. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 1 févr 2011;879(3-4):243-52.
100. Jung O, Gechter JL, Wunder C, Paulke A, Bartel C, Geiger H, et al. Resistant hypertension? Assessment of adherence by toxicological urine analysis. *J Hypertens.* avr 2013;31(4):766-74.

101. Strauch B, Petrák O, Zelinka T, Rosa J, Somlóová Z, Indra T, et al. Precise assessment of noncompliance with the antihypertensive therapy in patients with resistant hypertension using toxicological serum analysis. *J Hypertens.* déc 2013;31(12):2455-61.
102. Tomaszewski M, White C, Patel P, Masca N, Damani R, Hepworth J, et al. High rates of non-adherence to antihypertensive treatment revealed by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HP LC-MS/MS) urine analysis. *Heart.* 1 juin 2014;100(11):855-61.
103. Florczak E, Tokarczyk B, Warchoń-Celińska E, Szwench-Pietrasz E, Prejbisz A, Gosk M, et al. Assessment of adherence to treatment in patients with resistant hypertension using toxicological serum analysis. A subgroup evaluation of the RESIST-POL study. *Pol Arch Med Wewn.* 2015;125(1-2):65-72.
104. Schmieder RE, Ott C, Schmid A, Friedrich S, Kistner I, Ditting T, et al. Adherence to Antihypertensive Medication in Treatment-Resistant Hypertension Undergoing Renal Denervation. *J Am Heart Assoc.* 12 févr 2016;5(2):e002343.
105. Lawson AJ, Shipman KE, George S, Dasgupta I. A Novel 'Dilute-and-Shoot' Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method for the Screening of Antihypertensive Drugs in Urine. *J Anal Toxicol.* 1 sept 2015;bkv102.
106. van der Nagel BCH, Versmissen J, Bahmany S, van Gelder T, Koch BCP. High-throughput quantification of 8 antihypertensive drugs and active metabolites in human plasma using UPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 15 août 2017;1060:367-73.
107. De Nicolò A, Avataneo V, Rabbia F, Sciandra M, Tosello F, Cusato J, et al. UHPLC-MS/MS method with sample dilution to test therapeutic adherence through quantification of ten antihypertensive drugs in urine samples. *J Pharm Biomed Anal.* 5 août 2017;142:279-85.
108. Hamdidouche I, Jullien V, Boutouyrie P, Billaud E, Azizi M, Laurent S. Routine urinary detection of antihypertensive drugs for systematic evaluation of adherence to treatment in hypertensive patients. *J Hypertens.* sept 2017;35(9):1891-8.
109. Gundersen POM, Helland A, Spigset O, Hegstad S. Quantification of 21 antihypertensive drugs in serum using UHPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 1 juill 2018;1089:84-93.
110. Punt AM, Stienstra NA, van Kleef MEA, Lafeber M, Spiering W, Blankestijn PJ, et al. Screening of cardiovascular agents in plasma with LC-MS/MS: A valuable tool for objective drug adherence assessment. *Journal of Chromatography B.* juill 2019;1121:103-10.
111. Lauder L, Ewen S, Kunz M, Richter LHJ, Jacobs CM, Kindermann I, et al. Adherence to Antihypertensive Drugs Assessed by Hyphenated High-Resolution Mass Spectrometry Analysis of Oral Fluids. *J Am Heart Assoc.* 21 juill 2020;9(14):e014180.
112. Ritscher S, Hoyer M, Georges C, Wunder C, Wallemacq P, Persu A, et al. Benefit of serum drug monitoring complementing urine analysis to assess adherence to antihypertensive drugs in first-line therapy. *PLoS One.* 2020;15(8):e0237383.

113. Hamdidouche I, Jullien V, Boutouyrie P, Billaud E, Azizi M, Laurent S. Drug adherence in hypertension: from methodological issues to cardiovascular outcomes. *J Hypertens.* juin 2017;35(6):1133-44.
114. Berra E, Azizi M, Capron A, Høieggen A, Rabbia F, Kjeldsen SE, et al. Evaluation of Adherence Should Become an Integral Part of Assessment of Patients With Apparently Treatment-Resistant Hypertension. *Hypertension.* août 2016;68(2):297-306.
115. Urapidil : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 4 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/urapidil-3614.html>
116. LOXEN 10 mg/10 ml sol inj IV [Internet]. VIDAL. [cité 4 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/loxen-10-mg-10-ml-sol-inj-iv-10328.html>
117. TRANDATE 200 mg cp pellic [Internet]. VIDAL. [cité 4 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/trandate-200-mg-cp-pellic-16689.html>
118. TRIATEC 1,25 mg cp [Internet]. VIDAL. [cité 4 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/triatec-1-25-mg-cp-65374.html>
119. COVERSYL 10 mg cp pellic [Internet]. VIDAL. [cité 4 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/cover syl-10-mg-cp-pellic-67834.html>

Serment De Galien

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

Développement et évaluation d'une méthode de screening des médicaments antihypertenseurs dans l'urine par HPLC-MS/MS pour le suivi de l'observance et le diagnostic de la résistance au traitement.

Près de la moitié des patients hypertendus traités n'ont pas des chiffres tensionnels contrôlés. Avant de diagnostiquer une hypertension artérielle résistante, il est nécessaire de s'assurer de la bonne observance du patient. C'est dans cet objectif qu'il a été développé une méthode de screening par HPLC-MS/MS dans les urines pour 54 molécules antihypertensives, ainsi que leurs métabolites.

Une étude bibliographique a été réalisée pour définir les différentes molécules, leurs fréquences de prescription et leurs paramètres pharmacocinétiques.

Différentes conditions analytiques ont été testées et les meilleures ont été comparées à la littérature (validation interne), et utilisées en conditions réelles dans une étude clinique regroupant des patients prenant des traitements antihypertenseurs (validation externe).

Mots-clés : hypertension artérielle, observance, HPLC-MS/MS, urine

Development and evaluation of a method for screening antihypertensive drugs in urine by HPLC-MS/MS for compliance monitoring and diagnosis of treatment resistance.

Almost half of hypertensive patients treated have uncontrolled hypertension. Before diagnosing resistant hypertension, it is necessary to check patient compliance. In this aim, a HPLC-MS/MS technique was developed to screen 54 antihypertensive drugs and their metabolites in urine.

A literature survey was carried out to define the different molecules, their prescription frequencies and their pharmacokinetic parameters.

Different analytical conditions were tested and the best ones were compared to the literature (internal validation), and used in real conditions in a clinical study of patients taking antihypertensive treatments (external validation).

Keywords : arterial hypertension, compliance, HPLC-MS/MS, urine

