

Objectifs

- Etre capable d'expliquer les bases de la variabilité individuelle dans la réponse au médicament.
- Etre capable d'illustrer cette variabilité génétique avec quelques exemples.

Pour atteindre les objectifs, **il est nécessaire de connaître, comprendre et maîtriser les mots clés suivants** : (mots clés soulignés dans le texte)

- Pharmacogénétique
- Polymorphisme

Plan

1. Définition

2. Techniques d'étude

3. Polymorphisme d'ordre pharmacocinétique

3.1. Polymorphisme d'acétylation des médicaments

3.2. Polymorphisme des CYP

3.3. Autres exemples

4. Polymorphisme d'ordre pharmacodynamique

1. Définition

La *pharmacogénétique* étudie la variabilité génétique dans la réponse aux médicaments. Elle analyse le statut génétique et permet d'établir le lien entre le polymorphisme génétique et la variabilité de la réponse à l'effet d'un médicament. Cette variabilité interindividuelle d'origine génétique peut être d'ordre pharmacocinétique : variation d'expression des gènes codant pour des enzymes impliquées dans le métabolisme des médicaments, ou d'ordre pharmacodynamique : variation d'expression de gènes codant pour des récepteurs.

Le *polymorphisme* d'une séquence d'ADN chromosomique se définit comme une modification de séquence observée chez plus de 1 % de la population.

L'expression du génotype est appelée phénotype.

L'objectif à long terme de la pharmacogénétique est de mettre à disposition des cliniciens des tests de dépistage du polymorphisme génétique, réalisables en routine, permettant de prédire la réponse à un médicament et de cerner le risque de survenue d'effets indésirables. Les conséquences cliniques des mutations génétiques restent encore à élucider dans certains cas.

L'objectif de la pharmacogénétique est de pouvoir adapter la thérapeutique (quel médicament et à quelle posologie) en fonction du statut génétique de l'individu.

2. Techniques d'étude

- Génotypage : recherche de mutation, délétion sur prélèvement sanguin par des techniques de biologie moléculaire (PCR avec hybridation d'oligonucléotides, DNA on a chip, microarray..). Il n'y a pas toujours de corrélation démontrée entre la présence de mutation ou délétion et une différence d'activité de l'enzyme.
- Phénotypage : mesure de l'activité enzymatique in vitro (ex. mesure de l'activité de la TPMT (thiopurine méthyltransférase) de globules rouges voir ci après) ou in vivo par l'administration d'une dose test (ex. débrisoquine pour phénotypage de CYP2D6, ...)
- Identification d'un métaboliseur inhabituel : le tableau ci-dessous rassemble les données collectées dans le cadre du suivi du métabolisme de la débrisoquine chez quatre volontaires sains. Il apparaît clairement que le sujet 4 ne métabolise pas cette substance de la même manière que les trois autres. Ce type d'étude, couramment réalisé au cours du développement d'un nouveau médicament, permet de repérer des métabolismes particuliers et d'en entreprendre l'exploration.

Identification of an " aberrant " metabolizer of debrisoquine

Metabolite	*Percent of dose eliminated in urine by four subjects			
	1	2	3	4
Debrisoquine	45	28	27	40
4-Hydroxydebrisoquine	30	37	39	2
5-Hydroxydebrisoquine	0,5	1,3	2,3	0,2
6-Hydroxydebrisoquine -	0,7	1,0	3,6	0,9
7-Hydroxydebrisoquine	1,2	1,9	6,3	4,0
8-Hydroxydebrisoquine	0,3	0,6	1,5	0,2

*Four volunteers took an oral dose (40 mg, 10 μ Ci) of 14 C-labeled debrisoquine, and the urine samples were collected for 0 to 24 hours and assayed for debrisoquine and its hydroxylated metabolites by gas chromatography

- Analyse des modalités de transmission d'un phénotype au sein d'une famille. Cette analyse peut par exemple se faire par l'étude des jumeaux pour apprécier le caractère génétique d'un phénotype. Exemple : La demi-vie d'élimination de la phénylbutazone varie largement au sein d'une population : 20 à 100 heures. Ces variations se retrouvent chez des jumeaux hétérozygotes, par contre, chez des vrais jumeaux, il n'y a pas de différence. Ceci suggère l'existence d'un déterminisme génétique pour ce métabolisme.

		Jumeaux homozygotes		
		t 1/2		
	Age/sexe	Coumarine (h)	Antipyrine (h)	Phénylbutazone (j)
HoM	48/M	25,0	11,3	1,9
HoM	48/M	25,0	11,3	2,1
DT	43/F	55,5	103	2,8
VW	43/F	55,5	9,6	2,9
JG	22/M	36,0	11,5	2,8
PG	22/M	34,0	11,5	2,8
JaT	44/M	74,0	14,9	4,0
JaT	44/M	72,0	14,9	4,0
CJ	55/F	41,0	6,9	3,2
FJ	55/F	42,5	7,1	2,9
GeL	45/M	72,0	12,3	3,9
GuL	45/M	69,0	12,8	4,1
DH	26/F	46,0	11,0	2,6
DW	26/F	44,0	11,0	2,6
Moyenne des écarts		1,5	0,2	0,1

		Jumeaux hétérozygotes		
		t 1/2		
	Age/sexe	Coumarine (h)	Antipyrine (h)	Phénylbutazone (j)
AM	21/F	45,0	15,1	7,3
SM	21/M	22,0	6,3	3,6
DL	36/F	46,5	7,2	2,3
DS	36/F	51,0	15,0	3,3
SA	33/F	34,5	5,1	2,1
FM	33/F	27,5	12,5	1,2
JaH	24/F	7,0	12,0	2,6
JeH	24/F	19,0	6,0	2,3
FD	48/M	24,5	14,7	2,8
PD	48/M	38,0	9,3	3,5
LD	21/F	67,0	8,2	2,9
LW	21/F	72,0	6,9	3,0

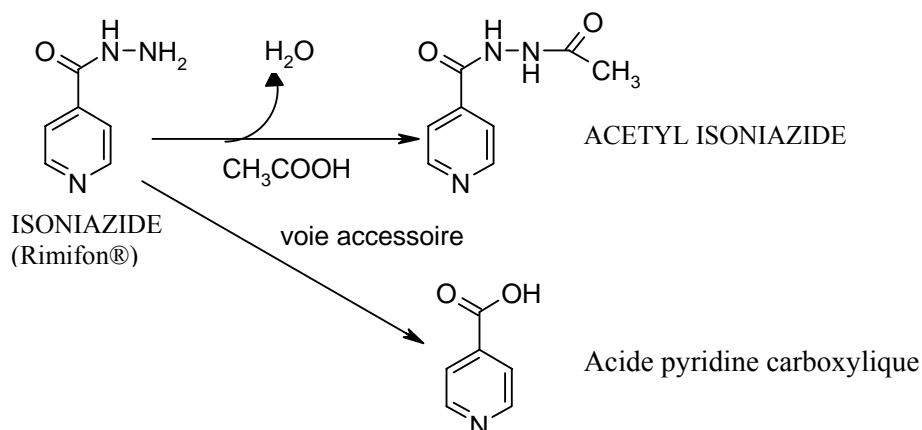
		Jumeaux hétérozygotes t ½		
	Age/sexe	Coumarine (h)	Antipyrine (h)	Phénylbutazone (j)
EK	31/F	40,5	7,7	1,9
RK	31/M	35,0	7,3	2,1
Moyenne des écarts		10,5	5,3	1,0

- Analyse de la distribution, au sein d'une population, des paramètres pharmacocinétiques d'un médicament. Si cette distribution est unimodale, la population ne présente pas de polymorphisme. Si cette distribution est bi- ou plurimodale, il est probable qu'il existe deux ou plusieurs phénotypes différents au sein de cette population, (voir ci-dessous l'exemple du polymorphisme d'acétylation).

3. Polymorphisme d'ordre pharmacocinétique

3.1. Polymorphisme d'acétylation des médicaments

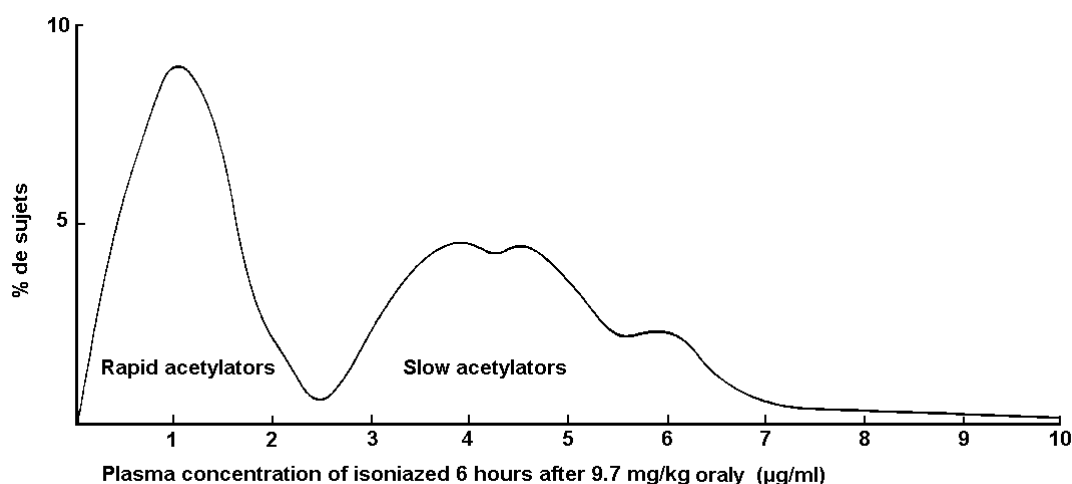
Connu depuis les années 50, il peut être étudié chez des sujets traités par l'isoniazide (un antituberculeux) qui est métabolisé principalement en acétyl isoniazide et secondairement en acide pyridine carboxylique.



Au sein d'une population traitée par l'isoniazide, il est possible de distinguer des individus ayant une activité d'acétylation rapide et des individus acétyleurs lents. Cette distribution bimodale est due à une différence génétique touchant la capacité de biotransformation due à l'activité de la N-acétyltransférase. Ce polymorphisme a essentiellement été mis en évidence avec l'isoniazide, mais il concerne toutes les substances métabolisées par l'acétyltransférase.

En pratique, on détermine des histogrammes représentant le nombre de sujets en fonction de la vitesse ou du pourcentage d'acétylation.

Exemple : histogramme de fréquence : nombre de sujets en fonction de la concentration plasmatique de l'isoniazide 6 heures après l'administration d'une posologie équivalente d'isoniazide. La distribution est bimodale.



Plusieurs paramètres pharmacocinétiques peuvent être utilisés pour analyser une population :

- la demi-vie plasmatique ;
- la concentration plasmatique ;
- la concentration urinaire.

Mais en général, on utilise :

$$\log \frac{[\text{médicament acétylé}]_{\text{plasma}}}{[\text{médicament non acétylé}]_{\text{plasma}}}$$

Le pourcentage d'acétylateurs rapides dans une population européenne est d'environ 50%. Ce pourcentage est très variable selon l'ethnie :

Groupes Ethniques	% d'acétylateurs rapides
Egyptiens	18
Suédois	32
Tchèques	40
Américains	48
Philippins	72
Japonais	88
Esquimaux (canadiens)	100

Les conséquences pratiques pour ce polymorphisme peuvent être :

- diminution de l'effet thérapeutique chez un acétylateur rapide ;
- apparition de produits toxiques et risque accru d'effets indésirables : les risques d'apparition d'effets toxiques par surdosage, en particulier neurologiques sont plus élevés chez un acétylateur lent. Par contre, chez les acétylateurs rapides, la production de métabolite réactif et toxique peut prendre une grande importance d'où un risque d'hépatotoxicité. En fait, on observe chez les acétylateurs rapides un pourcentage d'hépatotoxicité plus élevé que chez les acétylateurs lents lorsque la rifampicine est associée à l'isoniazide. La rifampicine est un inducteur de l'acétyltransférase et l'hépatotoxicité est probablement due à l'acétyl-isoniazide dont l'apparition est favorisée en présence de rifampicine.

En pratique, il faut déterminer le type d'acétylation chez les sujets présentant un terrain particulier où le risque d'hépatotoxicité ou de polynévrite est augmenté. Par ailleurs, il est nécessaire d'adapter la

posologie sachant que la demi-vie plasmatique est de 6 h en cas d'acétylation rapide et de 24 heures en cas d'acétylation lente.

Vivien et coll (Rev. Fr. Mal. Resp. 1973 : 1 :753-772) ont développé une méthode simple d'adaptation de posologie de l'isoniazide fondée sur la concentration plasmatique en isoniazide à la 3^{ème} heure (H3) après une prise orale. Les auteurs ont montré qu'il existait une corrélation linéaire entre la dose d'isoniazide (per os) et la concentration plasmatique en isoniazide : le rapport dose / concentration est constant pour chaque patient ; la pente des droites dose /concentration a une valeur différente pour chaque patient : c'est l'indice d'acétylation I3. En connaissant la concentration plasmatique à la 3^{ème} heure : C3, on peut calculer pour chaque patient l'indice d'acétylation I3 :

$$I3 = (C3 + 0,6) / \text{dose (mg/kg)}$$

Avec C3 en µg/ml ou mg/l

- I3 < 0,45 : acétylateur rapide ;
- I3 = 0,45-0,65 : population intermédiaire ;
- I3 > 0,65 : acétylateur lent

L'indice d'acétylation permet ensuite de déterminer la dose quotidienne d'isoniazide permettant d'obtenir une concentration recommandée d'isoniazide de 1,5 µg/ml à la 3^{ème} heure :

$$\text{Dose quotidienne mg /24 h} = \frac{[\text{Poids (kg)} \times (0,6 + C3)]}{I3} = \frac{[\text{Poids (kg)} \times (0,6 + 1,5)]}{I3}$$

3.2. Polymorphisme des CYP

Un polymorphisme est décrit pour plusieurs isoformes de CYP notamment pour les CYP 2D6 ; CYP 2C9 ; CYP2C19 ; CYP 2B6 (voir site sur les CYP : <http://medecine.iupui.edu/flockhart/table.htm>)

3.2.1 Polymorphisme CYP 2D6 dit polymorphisme d'hydroxylation « débrisoquine/spartéine »

Il existe un polymorphisme d'hydroxylation de la débrisoquine (ganglioplégique antihypertenseur non commercialisé en France) et de la spartéine (" analeptique " cardiovasculaire, non commercialisé en France). Ce polymorphisme concerne le CYP 2D6, CYP métabolisant ces 2 molécules, on parle de polymorphisme « debrisoquine/spartéine » ou polymorphisme du CYP 2D6.

Le polymorphisme d'hydroxylation de la débrisoquine a été mis en évidence en mesurant le pourcentage de débrisoquine hydroxylée par rapport à la débrisoquine non hydroxylée et en réalisant un histogramme de fréquence de ce pourcentage au sein d'une population : l'histogramme obtenu a une distribution bimodale avec 5 à 10% d'hydroxyleurs lents (ou limites). Ce polymorphisme peut dans certains cas expliquer une toxicité qui apparaît dans une faible partie de la population pour des médicaments métabolisés par le CYP 2D6.

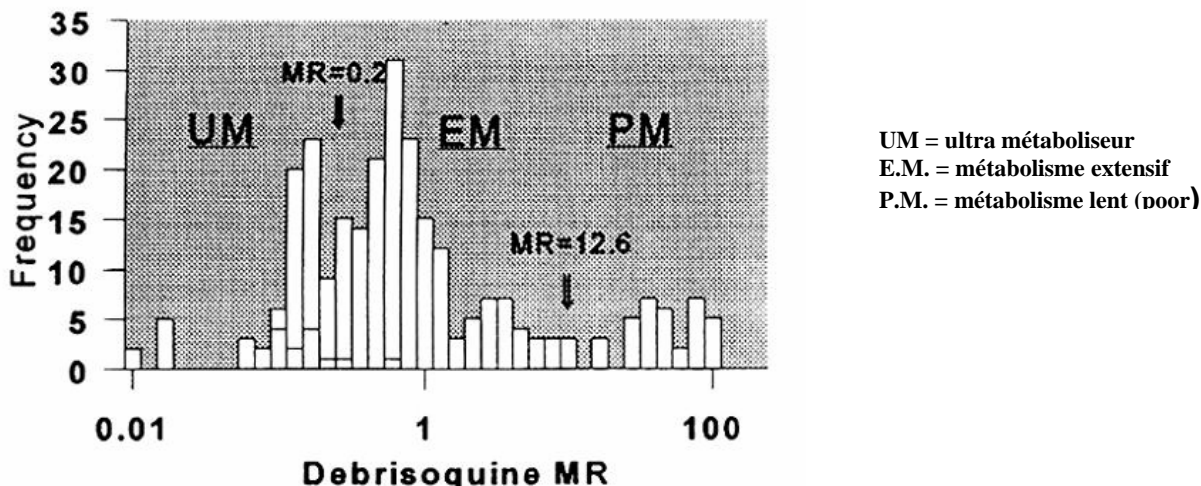


Figure extraite de Dahl et coll., 1995. J. Pharmacol. Exp.Ther.

On distingue 3 phénotypes pour le CYP 2D6 :

- Métaboliseur rapide ou Ultra-metabolizer (UM) : vitesse de métabolisation rapide : ils ont plusieurs copies du gène normal
- Métaboliseur intermédiaire ou Extensive metabolizer (EM) : gène normal
- Métaboliseur lent ou Poor metabolizer (PM) : gène inactif ou absent.

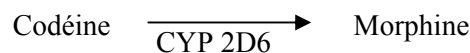
Il y a environ 5-10 % de PM dans la population caucasienne.

Les conséquences cliniques du polymorphisme d'une enzyme impliquée dans le métabolisme d'un médicament sont :

- Accumulation de la molécule mère pour les métaboliseurs lents avec parfois risque d'effets indésirables, de toxicité ;
- Pas d'effet thérapeutique des prodrogues métabolisées par cette enzyme ;
- Métaboliseurs ultrarapides : pas d'effet thérapeutique en raison de concentration trop faible de la molécule active.

Exemples pour le polymorphisme du CYP 2D6 :

- o perhexiline (un antiangoreux qui n'est plus commercialisé en France) : une toxicité neurologique et hépatique a été observée chez des sujets métaboliseurs lents avec dépôt de perhexiline dans le foie.
- o pas d'effet analgésique de la codéine chez les métaboliseurs lents :



- o non réponse au tamoxifène chez des métaboliseurs lents (tamoxifène métabolisé en métabolite actif par le CYP 2D6)
- o Absence de réponse thérapeutique à certains médicaments métabolisés par le CYP 2D6 chez les ultra métaboliseurs : ex non réponse à certains antidépresseurs (amitriptylline, clomipramine, desimipramine...) : il faudra utiliser un antidépresseur empruntant une autre voie métabolique .

3.2.2 Polymorphisme CYP 2C9

Il existe un polymorphisme pour le CYP 2C9 (substrat du CYP 2C9 : ex phénytoïne, S-warfarine..).

Chez les métaboliseurs lents : risque de toxicité à la phénytoïne, risque accru d'hémorragies avec la S-warfarine. Il faut une dose de warfarine environ 30 % plus faible chez les métaboliseurs lents par rapport aux métaboliseurs normaux.

Il y a environ 1-3 % de métaboliseurs lents dans la population caucasienne.

3.2.3 Polymorphisme CYP 2C19

Il y a environ 3-5 % de métaboliseurs lents pour le CYP 2C19 dans la population caucasienne et 15 à 20 % dans la population asiatique.

Le risque de toxicité est accru chez les métaboliseurs lents pour certains médicaments métabolisés par ce CYP, ex pour les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (ex sertaline)

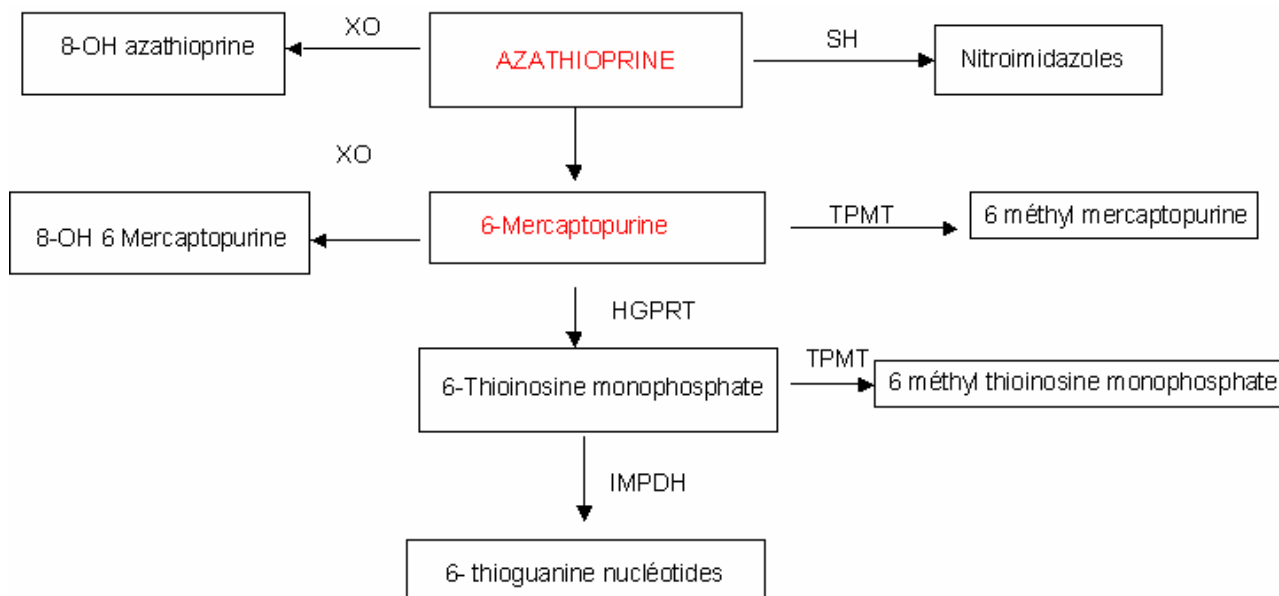
3.3. Autres exemples

- *Polymorphisme de la TPMT*

La TPMT (thiopurine méthyl transférase) est une enzyme impliquée dans le métabolisme de l'azathioprine (Imurel®) et de la 6 mercaptopurine (Purinéthol®) (voir figure ci-dessous) ; médicaments utilisés dans le traitement de certaines leucémies et dans le traitement et la prévention de poussées aiguës des maladies inflammatoires cryptogéniques de l'intestin (ex maladie de Crohn).

Il existe 3 génotypes de TPMT associés à 3 phénotypes : 89 % d'homozygotes normaux avec une activité TPMT élevée ; 11 % d'hétérozygotes avec une TPMT à activité intermédiaire et 1 personne

sur 300 homozygotes mutés déficiente en TPMT. Chez les sujets homozygotes mutés, déficients en TPMT, la prise d'azathioprine ou de 6 mercaptopurine entraîne une toxicité hématologique (leucopénie, aplasie médullaire) liée à une production plus importante de 6 thioguanine nucléotide. Avant l'instauration d'un traitement par azathioprine ou 6 mercaptopurine, il est recommandé de réaliser un phénotypage de la TPMT (mesure de l'activité de la TPMT *in vitro* sur un prélèvement de globules rouges) ou un génotypage. Il faudra exclure le traitement par ces deux molécules chez les homozygotes mutés à activité TPMT nulle ou très faible et adapter la posologie chez les hétérozygotes en fonction de l'activité de la TPMT.



HGPRT = hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase

XO = xanthine oxydase

IMPDH : inositol monophosphate deshydrogénase

SH : molécules sulfurées, essentiellement glutathion

Métabolisme de l'azathioprine et de la 6-mercaptopurine

- *Déficit en cholinestérase*

La succinylcholine est utilisée en anesthésie générale pour bloquer la jonction neuro-musculaire, elle a habituellement une durée d'action très brève car elle est rapidement métabolisée en choline et monosuccinylcholine par des cholinestérases plasmatiques et hépatiques. Chez certains sujets, le blocage de la jonction neuro-musculaire dure plusieurs heures à plusieurs jours. Ces sujets ont une forme anormale de pseudo-cholinestérase qui possède une affinité 100 fois moindre à celle de l'enzyme normale, expliquant un métabolisme très lent.

- *Déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase.*

Cette enzyme catalyse la dégradation du glucose 6P en 6P gluconate, réaction permettant la synthèse de glutathion réduit. En se combinant avec certains métabolites réactifs, le glutathion empêche les substances oxydantes (ex. fève, certains médicaments) de se fixer sur la membrane des érythrocytes dont elles produisent la lyse (d'où une anémie hémolytique). Ce processus est déficitaire chez les sujets ayant un déficit en glucose 6 phosphate deshydrogénase.

En cas de déficit en cette enzyme, certains médicaments peuvent provoquer une hémolyse, par exemple :

- antimalariques (chloroquine, quinine)
- sulfamides antibiotiques
- nitrofuranes
- aspirine
- phénacétine

4. Polymorphisme d'ordre pharmacodynamique

- La résistance à *la warfarine* est essentiellement d'origine pharmacocinétique. Toutefois un mécanisme de résistance de type pharmacodynamique est proposé : la résistance à la warfarine pourrait aussi être due à une variation génétique de la vitamine K1 2,3 époxyde réductase empêchant une fixation irréversible de la warfarine.
- L'hyperthermie maligne induite par les anesthésiques halogénés est un accident rare mais très grave. Dans plus de 50 % des cas, l'hyperthermie maligne est associée à une mutation du récepteur de la ryanodine.
- La tacrine est moins efficace chez des patients qui possèdent l'allèle APOε4 de l'apolipoprotéine E que chez ceux qui ont l'allèle ε2 ou ε3. Dans ce cas, la variabilité pharmacodynamique ne concerne pas directement le récepteur. En fait, l'Apo E avec son récepteur LDL joue un rôle important dans le transport des phospholipides, dont la phosphatidylcholine, maillon important de la synthèse de l'acétylcholine.
- Polymorphisme du gène du transporteur de sérotonine. Cette protéine est un des transporteurs de neurotransmetteur, elle est localisée au niveau de la membrane du neurone présynaptique et sa principale fonction est la recapture de la sérotonine. C'est la cible pharmacologique des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (exemple : Fluoxétine, Prozac®). Plusieurs polymorphismes ont été décrits. Il semble que l'efficacité de la fluoxétine est augmentée chez des patients présentant l'allèle « I » du promoteur du gène de ce transporteur. De même la probabilité d'une absence de réponse thérapeutique est de 83 % chez les patients qui n'ont pas cet allèle « I ».

Pour en savoir plus

- Johnson JA. : "Pharmacogenetics : potential for individualized drug therapy through genetics" Trends in genetics 2003 : 19 (11) : 660-666.
- Ingelman-Sundberg M. "Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy : the past, present and future". Trends in pharmacological Sciences 2004 : 25 (4) : 193-200