



**HAL**  
open science

# Place actuelle des examens de pharmacogénétique en oncologie

Hortense Lictevout-Lesage Cockenpot

► **To cite this version:**

Hortense Lictevout-Lesage Cockenpot. Place actuelle des examens de pharmacogénétique en oncologie. Sciences pharmaceutiques. 2020. dumas-03269001

**HAL Id: dumas-03269001**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03269001v1>**

Submitted on 1 Feb 2022

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

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

UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE

Faculté de Pharmacie d'Amiens

---

**THÈSE n°60**

Pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Soutenue publiquement le 11 décembre 2020

Par Hortense LICTEVOUT-LESAGE

**PLACE ACTUELLE DES EXAMENS DE  
PHARMACOGÉNÉTIQUE EN ONCOLOGIE**

Membres du Jury

Présidente :

- Madame le Docteur **Sophie LIABEUF**, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Directrice de thèse :

- Madame le Docteur **Sandra BODEAU**, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier

Membres :

- Madame le Docteur **Aline HOUESSINON**, Chef de Clinique Assistante
- Madame le Docteur **Chloé SAUZAY**, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier





UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE

Faculté de Pharmacie d'Amiens

---

**THÈSE n°60**

Pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

**PLACE ACTUELLE DES EXAMENS DE  
PHARMACOGÉNÉTIQUE EN ONCOLOGIE**

Soutenue publiquement le 11 décembre 2020

Par Hortense LICTEVOUT-LESAGE

## REMERCIEMENTS

A la présidente du jury de Thèse, le Docteur **Sophie LIABEUF**,

De me faire l'honneur de présider cette thèse. Veuillez trouver dans ce travail mes sincères remerciements et l'expression de mon profond respect.

A ma directrice de Thèse, le Docteur **Sandra BODEAU**,

De m'avoir fait le plaisir d'encadrer ce travail. Votre bienveillance, vos conseils avisés, votre adaptabilité en cette période particulière et vos relectures m'ont été d'une aide précieuse. Je vous prie d'accepter mes plus sincères remerciements et ma profonde reconnaissance.

Aux membres du jury de Thèse, le Docteur **Aline HOUESSINON** et le Docteur **Chloé SAUZAY**,  
A qui j'adresse ma plus profonde gratitude pour l'intérêt porté à ce travail et pour avoir accepté de le juger.

L'écriture de cette Thèse a été pour moi très riche en enseignements dans chacun de vos domaines d'exercice. C'est une véritable chance pour une pharmacienne d'officine de compter chacune d'entre vous parmi les membres du jury.

### **A mes parents,**

Qui ont œuvré pour mon bonheur et ma réussite. Je vous remercie pour votre soutien inconditionnel, en particulier durant ces six années d'étude. Grâce à cette question aussi fréquente que stressante « quand-est ce que tu passes ta thèse ? » vous m'avez permis de ne pas reporter ce travail en cette période incertaine. Que cet ouvrage vous témoigne toute mon affection. Un petit mot particulier pour Maman, qui a accepté de relire et de corriger ce travail.

### **A ma sœur et mes frères,**

*Astrid, Georges et Wallerand*, qui après avoir été envahis de médicaments, pathologies, plantes ou champignons, sont désormais, je l'espère, ravis d'avoir une pharmacienne dans la famille ! Je ne vous remercierai jamais assez pour ce que vous m'avez apporté pendant toutes ces années passées à vos côtés. Aujourd'hui je tiens surtout à vous remercier d'avoir égayé mes traditionnelles révisions à la maison durant ces années d'études.

### **A mes grands-parents,**

Pour vos encouragements et votre soutien à chaque étape de mon parcours. Merci d'être si fiers de moi.

### **A ma marraine et mon parrain,**

*Stéphanie et Éric*, vous avez toujours été présents lors des moments importants pour moi. Cette thèse est l'occasion de vous remercier de tout cœur.

### **A mon mari, *Pierrot***

En témoignage du bonheur, de la joie et de l'amour que tu m'apportes chaque jour. Je te remercie pour ton soutien, ton écoute lors de ces années d'études mais aussi ta patience quant à l'écriture de cette thèse. Désormais nous avançons vers d'autres projets ensemble !

### **A ma belle-famille,**

Qui d'une certaine façon m'a transmis le virus de la pharmacie d'officine. Merci de m'avoir accueillie et de m'avoir permis d'écrire les premières lignes de ce manuscrit bien entourée.

**A mes amies de la fac,**

A *Sophie*, de m'avoir encouragée lors de notre première année. Celle-ci a marqué le début d'une belle amitié, de beaucoup de fous rires, de soirées diverses et variées mais aussi de tutos qui m'auront servis jusqu'à l'écriture de ce manuscrit.

A *Louise, Manon, Massiva, Octavie, Claire* pour nos révisions, nos sorties, nos fous-rires en cours, nos « coups de stress », pour cette organisation sans failles et nos fiches qui nous auront permis d'en arriver jusque-là.

**A mes amies d'enfance,**

A *Suzon, Anne-Sophie, Apolline*, mes témoins de choc, sans qui ces dernières années auraient été bien tristes. Merci pour tous ces moments inoubliables. Vous m'êtes indispensables.

A *Hortense, Marine et Jacinthe*, merci pour votre présence et votre amitié qui m'est précieuse.

**A l'ensemble des officinaux que j'ai pu rencontrer,**

Merci à l'ensemble de l'équipe de la pharmacie Fauquet qui m'a beaucoup appris durant mes études.

A *Monsieur Gratpanche*, qui m'offre ce premier poste d'adjointe, à son équipe qui me fait confiance et avec laquelle nous échangeons beaucoup. C'est un vrai plaisir de travailler avec vous.

## TABLE DES MATIERES

<i>LISTE DES PRINCIPALES ABRÉVIATIONS</i> .....	9
<i>LISTE DES FIGURES</i> .....	10
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>11</b>
<b>1. LA PHARMACOGÉNÉTIQUE DANS LE DOMAINE DE L'ONCOLOGIE</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1. QU'EST-CE QUE LA PHARMACOGÉNÉTIQUE ?</b> .....	<b>12</b>
1.1.1. Rappels de biologie moléculaire .....	12
1.1.2. Histoire de la pharmacogénétique .....	14
1.1.3. Définitions.....	16
1.1.3.1. Génotype et phénotype .....	16
1.1.3.2. Polymorphisme génétique .....	16
1.1.3.2.1. Les Single Nucleotide Polymorphism ou « SNP ».....	17
1.1.3.2.2. Les Copy Number Variations ou « CNV » .....	17
1.1.3.2.3. Les polymorphismes de répétition .....	18
1.1.3.3. Pharmacogénomique et pharmacogénétique.....	19
1.1.4. Objectifs de la PGx .....	20
1.1.5. Domaines d'application .....	22
<b>1.2. IMPACT DE LA PGx DANS LA VARIABILITÉ DE LA RÉPONSE AUX TRAITEMENTS</b> .....	<b>24</b>
1.2.1. Pharmacocinétique (PK) .....	24
1.2.1.1. Absorption (ou résorption) .....	25
1.2.1.2. Distribution .....	26
1.2.1.3. Métabolisme .....	27
1.2.1.3.1. La phase I .....	28
1.2.1.3.2. La phase II .....	29
1.2.1.3.3. La phase III .....	29
1.2.1.4. Élimination .....	30
1.2.1.4.1. Élimination rénale.....	30
1.2.1.4.2. Élimination hépatique.....	31
1.2.2. Pharmacodynamie (PD) .....	32
1.2.2.1. Cibles thérapeutiques des anticancéreux .....	33
1.2.2.2. Exemple de mutations des cibles .....	35
1.2.2.2.1. Les récepteurs.....	35
1.2.2.2.2. Les enzymes .....	37
1.2.2.2.3. Mécanismes de transport.....	38
1.2.2.3. Particularité du profil génétique de la tumeur.....	38
<b>1.3. IMPORTANCE DE LA MAITRISE DE LA VARIABILITÉ DE RÉPONSE EN ONCOLOGIE</b> .....	<b>39</b>
1.3.1. Critères actuels d'adaptation des traitements anticancéreux.....	41
1.3.2. Autres outils de personnalisation du traitement anticancéreux .....	41
1.3.2.1. Exemple du STP .....	41
1.3.2.2. Perspectives de la PGx.....	42
<b>2. EXAMENS DE PHARMACOGÉNÉTIQUE EN ONCOLOGIE</b> .....	<b>43</b>
<b>2.1. TECHNIQUES D'ANALYSE</b> .....	<b>43</b>
2.1.1. Le génotypage.....	43
2.1.1.1. Définition.....	43
2.1.1.2. Techniques de génotypage .....	43
2.1.1.2.1. Principe de la Réaction de Polymérisation en Chaîne ou « PCR » .....	43
2.1.1.2.2. Principe du séquençage .....	46
2.1.2. Le phénotypage .....	50
2.1.2.1. Définition.....	50

2.1.2.2.	Technique de phénotypage.....	50
<b>2.2.</b>	<b>TESTS PHARMACOGÉNÉTIQUES ET RECOMMANDATIONS ASSOCIÉS EN ONCOLOGIE .....</b>	<b>51</b>
2.2.1.	Test pharmacogénétique DPD et fluoropyrimidines .....	51
2.2.1.1.	Pharmacologie du 5-fluorouracile et de la capécitabine.....	51
2.2.1.1.1.	Pharmacocinétique.....	51
2.2.1.1.2.	Pharmacodynamie .....	53
2.2.1.2.	Intérêt du test .....	53
2.2.1.3.	Recommandations relatives à la réalisation du test .....	54
2.2.2.	Test pharmacogénétique TPMT et thiopurines .....	56
2.2.2.1.	Pharmacologie des thiopurines.....	56
2.2.2.1.1.	Pharmacocinétique.....	57
2.2.2.1.2.	Pharmacodynamie.....	58
2.2.2.2.	Intérêt du test .....	59
2.2.2.3.	Recommandations relatives à la réalisation du test .....	61
2.2.3.	Test pharmacogénétique UGT1A1 et irinotécan .....	62
2.2.3.1.	Pharmacologie de l'irinotécan.....	62
2.2.3.1.1.	Pharmacocinétique.....	62
2.2.3.1.2.	Pharmacodynamie.....	63
2.2.3.2.	Intérêt du test .....	64
2.2.3.3.	Recommandations relatives à la réalisation du test .....	65
2.2.4.	Test pharmacogénétique MTHFR et méthotrexate .....	66
2.2.4.1.	Pharmacologie du méthotrexate .....	66
2.2.4.1.1.	Pharmacocinétique.....	66
2.2.4.1.2.	Pharmacodynamie.....	67
2.2.4.2.	Intérêt du test .....	69
2.2.4.3.	Recommandations relatives à la réalisation du test .....	70
2.2.5.	Test pharmacogénétique CYP2D6 et tamoxifène .....	71
2.2.5.1.	Pharmacologie du tamoxifène .....	71
2.2.5.1.1.	Pharmacocinétique.....	71
2.2.5.1.2.	Pharmacodynamie.....	72
2.2.5.2.	Intérêt du test .....	72
2.2.5.3.	Recommandations relatives à la réalisation du test .....	74
<b>3.</b>	<b>APPLICATIONS PRATIQUES .....</b>	<b>76</b>
3.1.	CAS CLINIQUE 1 : Découverte d'une pancytopenie profonde chez un patient traité par Imurel® .....	76
3.1.1.	Présentation du cas .....	76
3.1.2.	Résultats .....	78
3.1.3.	Discussion .....	81
3.2.	CAS CLINIQUE 2 : Prescription de Xeloda® et déficit en DPD .....	82
3.2.1.	Présentation du cas .....	82
3.2.2.	Résultats .....	83
3.2.3.	Discussion .....	84
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>86</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>88</b>

## LISTE DES PRINCIPALES ABRÉVIATIONS

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ANSM** : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

**AZA** : Azathioprine

**CYP2D6** : Cytochrome P 450 2D6

**DPD** : Dihydroxyribose Déshydrogénase

**HAS** : Haute Autorité de Santé

**IRT** : Irinotécan

**MTHFR** : Méthylène-tétrahydrofolate réductase

**MTX** : Méthotrexate

**NFS** : Numération Formule Sanguine

**PD** : Pharmacodynamie

**PGx** : Pharmacogénétique

**PK** : Pharmacocinétique

**P-gp** : Glycoprotéine P (également nommée transporteur ABCB1 ou MDR1)

**RNPGx** : Réseau National de Pharmacogénétique

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism

**TMF** : Tamoxifène

**TPMT** : Thiopurine S Méthyl Transférase

**UGT1A1** : uridine glucuronosyltransférase 1A1

**5-FU** : 5-fluorouracile

**6-MP** : 6-Mercaptopurine

## LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : STRUCTURE PRIMAIRE D'UN FRAGMENT D'ADN.....	12
FIGURE 2 : ORGANISATION MOLECULAIRE DU GENE .....	13
FIGURE 3 : LE POLYMORPHISME « SNP » .....	17
FIGURE 4 : LE POLYMORPHISME « CNV » .....	18
FIGURE 5 : LE POLYMORPHISME DE REPETITION.....	19
FIGURE 6 : LIEN ENTRE LE GENOTYPE ET LE PHENOTYPE.....	21
FIGURE 7 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU DEVENIR D'UN MEDICAMENT DANS L'ORGANISME .....	24
FIGURE 8 : TRANSPORTEURS SLC ET ABC .....	25
FIGURE 9 : ETAPES DE METABOLISATION .....	28
FIGURE 10 : ENZYMES DU METABOLISME EN FONCTION DE LEUR IMPORTANCE RELATIVE.....	29
FIGURE 11 : PRINCIPAUX TRANSPORTEURS D'INFLUX ET D'EFFLUX DE LA CELLULE TUBULAIRE RENALE.....	31
FIGURE 12 : PRINCIPAUX TRANSPORTEURS D'INFLUX ET D'EFFLUX EXPRIMES PAR LES HEPATOCYTES .....	32
FIGURE 13 : CAPACITE DISTINCTIVE DES CANCERS ET CIBLES THERAPEUTIQUES .....	33
FIGURE 14 : ORIGINES DE LA VARIABILITE DANS LA REPONSE AUX MEDICAMENTS .....	40
FIGURE 15 : LES DIFFERENTES ETAPES DE LA PCR .....	44
FIGURE 16 : PRINCIPE DE LA PCR TAQMAN® .....	46
FIGURE 17 : LECTURE DE LA PCR.....	46
FIGURE 18 : METHODE DE SEQUENÇAGE SELON SANGER.....	48
FIGURE 19 : SEQUENÇAGE DE L'ADN A HAUT DEBIT, EXEMPLE DU PYROSEQUENÇAGE.....	49
FIGURE 20 : METABOLISME DU 5-FU.....	52
FIGURE 21 : METABOLISME DE L'AZA. ....	57
FIGURE 22 : MECANISME D'ACTION DE L'AZATHIOPRINE VIA RAC1.....	59
FIGURE 23 : POLYMORPHISME DU GENE TMPT ET REPRESENTATION DANS LA POPULATION .....	60
FIGURE 24 : METABOLISME DE L'IRT .....	63
FIGURE 25 : ARBRE DECISIONNEL D'AIDE A LA PRESCRIPTION D'IRINOTECAN .....	65
FIGURE 26 : METABOLISME DU MTX .....	67
FIGURE 27 : MECANISME D'ACTION SIMPLIFIE DU MTX.....	68
FIGURE 28 : METABOLISME DU TAMOXIFENE.....	72
FIGURE 29 : SCHEMA DES CORRESPONDANCES ENTRE HAPLOTYPES ET PHENOTYPE POUR LE CYP2D6 .....	74
FIGURE 30 : EVOLUTION DES LEUCOCYTES, DE L'HÉMOGLOBINE ET DES THROMBOCYTES EN FONCTION DU TEMPS.....	79

## INTRODUCTION

En 2017, d'après l'Institut National du Cancer (INCa), plus de 320 000 personnes ont été traitées par chimiothérapie en France. Qu'elles soient conventionnelles ou de plus en plus ciblées et complexes, elles sont souvent très coûteuses, ont un index thérapeutique étroit et sont parfois responsables d'une toxicité importante. La réponse aux anticancéreux est variable entre les patients. Elle dépend de nombreux paramètres liés ou non à l'individu : l'alimentation, l'âge, le sexe, les pathologies associées, les co-médications, l'environnement, la génétique ... L'individualisation thérapeutique est donc un enjeu important dans ce domaine afin d'optimiser la prise en charge à tous points de vue : efficacité, toxicité, coût. La pharmacogénétique est une approche de personnalisation du traitement qui connaît un développement important actuellement. Elle étudie l'influence des variations génétiques de l'individu impliquées dans la réponse au médicament. Cette discipline se présente comme un outil de prise de décision clinique afin d'optimiser l'efficacité thérapeutique et de réduire le risque d'effet indésirable. Grâce à l'identification et la caractérisation des polymorphismes génétiques, il est possible d'anticiper une réponse à un traitement ou de prévenir un échec thérapeutique.

Dans ce travail de thèse, nous nous focaliserons sur l'étude de 5 anticancéreux pour lesquels la recherche de variants génétiques a été documentée dans la littérature. Il s'agit du 5-fluorouracile et son analogue la capécitabine, des thiopurines (azathioprine et 6-mercaptopurine), de l'irinotécan, du méthotrexate et du tamoxifène. Après un rappel sur les bases de la pharmacogénétique, l'objectif est de décrire les examens de pharmacogénétique qui peuvent permettre d'améliorer l'efficacité et/ou de diminuer la toxicité des traitements anticancéreux.

# 1. LA PHARMACOGÉNÉTIQUE DANS LE DOMAINE DE L'ONCOLOGIE

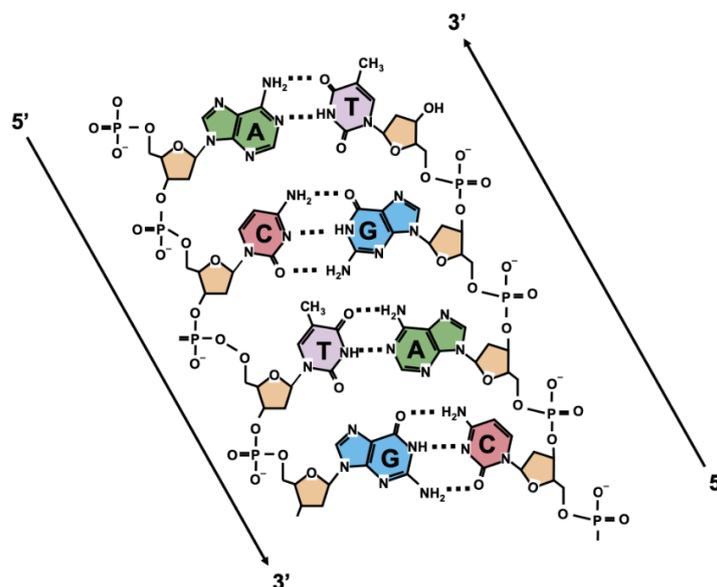
## 1.1. QU'EST-CE QUE LA PHARMACOGÉNÉTIQUE ?

### 1.1.1. Rappels de biologie moléculaire

Un individu est caractérisé par son génome qui représente l'ensemble de son matériel génétique codé dans son acide désoxyribonucléique (ADN). Le génome humain est composé de 46 chromosomes : 22 paires d'autosomes et 1 paire de chromosomes sexuels (X et Y). Chaque chromosome est constitué d'une double hélice d'ADN formée de séquences de nucléotides. Le nucléotide est formé de 3 unités : une base azotée, un groupement phosphate et un pentose (désoxyribose). Il existe 4 nucléotides qui se différencient par leur base nucléique :

- **Les purines :**
  - **A** : désoxyadénosine 5' monphosphate (dAMP)
  - **G** : désoxyguanosine 5' monphosphate (dGMP)
- **Les pyrimidines :**
  - **T** : désoxythymidine 5' monphosphate (dTMP)
  - **C** : désoxycytosine 5' monphosphate (dCMP)

Elles ont la particularité de s'unir deux à deux par complémentarité formant ainsi des paires de base à l'origine du code génétique (A avec T et C avec G) comme cela est représenté sur la figure 1 (1) :



**FIGURE 1 : STRUCTURE PRIMAIRE D'UN FRAGMENT D'ADN**

Source : Robert, 2010 (1)

Le gène est un segment d'ADN codant pour une protéine. Il peut être responsable d'un caractère ou commander des fonctions moléculaires (tissus, cellules, organisme). Il se réplique et peut être transcrit en acide ribonucléique messenger (ARNm) qui sera lui-même traduit en protéine. Les protéines sont les effecteurs qui portent les fonctions biologiques (développement, différenciation, métabolisme). Les gènes sont formés d'une alternance de régions codantes (exons) et non codantes (introns) (2).

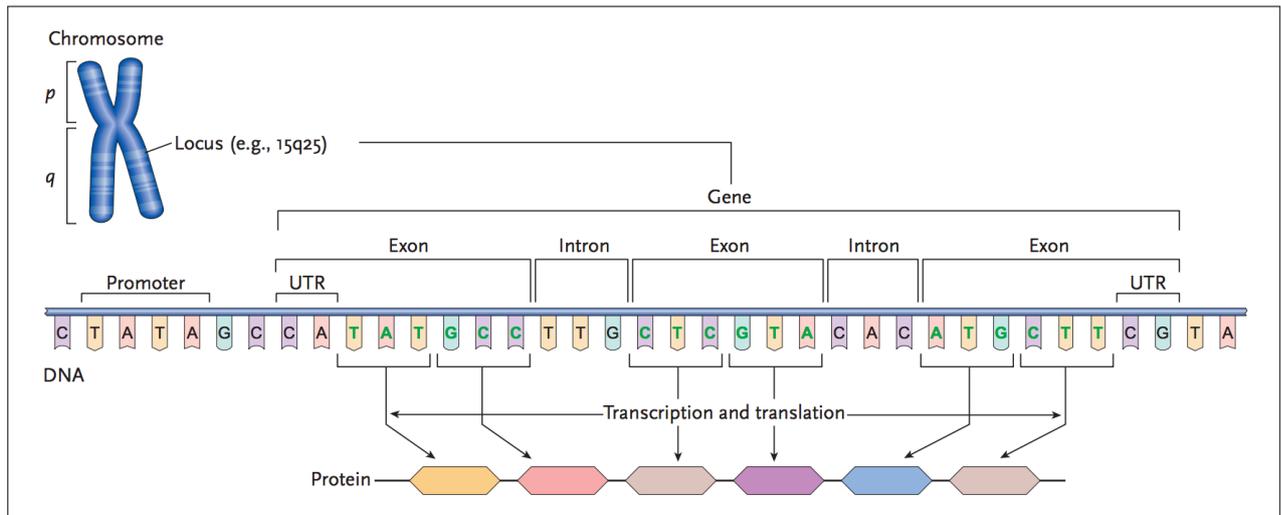


FIGURE 2 : ORGANISATION MOLECULAIRE DU GENE  
Source : Mroziewicz et al. 2010 (2)

Comme le montre la figure 2, les gènes commencent et se terminent toujours par un exon. Le premier et dernier exon renferment une séquence non traduite mais transcrite dans l'ARN : la séquence UTR (untranslated region) qui porte des séquences signal. Il existe également des séquences régulatrices de gènes :

- Un promoteur, composé de quelques centaines de nucléotides. Il est situé en amont du gène au niveau de l'extrémité 5'. Il est reconnu par l'ARN polymérase qui va s'y fixer et déterminer le début et l'orientation de la transcription. Ce promoteur permet d'induire ou de diminuer la transcription d'un gène.
- Un opéron, qui agit sous le contrôle du promoteur pour lancer la transcription.
- Le silencer qui est un inhibiteur, situé entre le promoteur et le gène de structure, permet de ralentir ou d'arrêter la transcription.
- L'enhancer qui est un activateur de la transcription (trans-activateur), il agit à distance et peut se trouver en amont ou en aval du gène de structure.

Il est important de noter que tous les gènes ne codent pas pour des protéines. Certains sont transcrits en ARN particuliers qui ne seront pas traduits (ARN ribosomiques, ARN de transfert, microARN, etc.).

### 1.1.2. Histoire de la pharmacogénétique

Pour certains spécialistes, il est possible de remonter à 510 avant JC. En effet, **Pythagore** évoquait déjà le fait que « *ce qui peut être nourriture pour certains peut être poison violent pour d'autres* » à propos du favisme (déficit en glucose-6-phosphatedéshydrogénase ou G6PD). Il découvre ainsi que chez certains individus la consommation de fèves provoque une anémie hémolytique (3) (4).

La théorie de l'évolution de **Darwin** en 1858 décrit la sélection naturelle. Elle s'appuie sur le fait que l'apparition spontanée de nouvelles variations dans les caractères transmis rendent l'organisme plus compétitif dans la lutte pour la survie. L'observation de l'environnement des espèces reste cependant une limite qui n'explique pas l'origine de ces variations et leur transmission.

Les prémices de la génétique apparaissent en 1865 avec Johann Gregor **Mendel**. Il découvre que les caractères individuels sont déterminés par des « facteurs » distincts hérités des parents. Grâce à l'étude de la génétique des pois il découvrira que chaque caractère peut présenter deux formes différentes et leur expression est liée à un facteur dominant par rapport à l'autre (qualifié de récessif).

En 1909 le botaniste Wilhelm **Johannsen** invente le terme de « gène » et conçoit que l'ensemble de l'organisme participe à l'hérédité. Il propose les termes de « génotype » et de « phénotype » en 1912. A cette époque le phénotype est une réalité concrète alors que le génotype semble totalement abstrait.

Entre 1880 et 1920, Thomas Hunt **Morgan** en travaillant sur une drosophile décrit la théorie de l'hérédité chromosomique (Prix Nobel 1933). La transmission du caractère « couleur des yeux » ne s'effectue pas selon les lois de Mendel et semble en relation avec le sexe. A partir

de cette découverte, il y a une évolution du concept de « gène », qui devient un élément situé sur un chromosome qui sera responsable d'un caractère.

En 1914, le médecin Archibald **Garrod** travaille sur l'alcaptonurie (ou maladie de l'urine noire). Suite à ses observations, il affirme que des enzymes détoxifient les xénobiotiques afin qu'ils puissent être éliminés sans danger. Il observe ainsi que les personnes traitées par du sulfonal (hypnotique utilisé vers la fin du 19<sup>ème</sup> siècle) ayant un déficit enzymatique sont plus à risque de développer un effet secondaire grave (comme la porphyrie). Il est le premier à établir le lien entre un gène et une enzyme mais aussi entre une maladie humaine et les lois de Mendel sur l'hérédité. Il proposera plus tard le terme « d'individualité chimique ». Le concept selon lequel les variantes génétiques provoquent des altérations du métabolisme des médicaments est donc né (5).

En 1918, **Marshall** et ses collègues rapportent que les populations noires sont plus résistantes que les caucasiens aux gaz moutarde. En 1929, ces découvertes sur les différences de réponse à des xénobiotiques seront étoffées par d'autres études sur la réponse à la cocaïne, à l'euphtaline, à l'éphédrine et à l'atropine. L'auteur commence à établir un lien entre l'origine ethnique et la réponse aux xénobiotiques.

Dans les années 1950, des études révolutionnaires sur l'isoniazide (4) et la primaquine mettent en lumière la relation entre la réponse au traitement et le patrimoine génétique d'un individu. Cela coïncide en 1953 avec la découverte de la double hélice d'ADN par **Watson et Cricks**.

En 1959, Friedrich **Vogel** définit le terme « pharmacogénétique » comme l'étude des bases héréditaires de la variabilité des effets des médicaments. Le premier livre sur le sujet, « Pharmacogenetics Heredity and the Responses to Drugs » de W. **Kalow**, a été publié en 1962. A la fin des années 1970, un lien fut établi entre le CYP2D6 et la débrisoquine (1977), suivi par les premiers articles scientifiques sur la thiopurine S-méthyltransférase (TPMT) et l'azathioprine en 1980 (6).

Le séquençage de l'ADN en 1977 par les méthodes de **Sanger** et de **Gilbert** permettra l'identification de polymorphismes impliqués dans la réponse aux médicaments dès 1980. La découverte de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) par **Mullis** en 1986 permettra de compléter les méthodes de génotypage. Le projet génome humain commencera en 1988 et s'achèvera en 2003 avec le séquençage complet de l'ADN du génome humain.

### 1.1.3. Définitions

#### 1.1.3.1. Génotype et phénotype

**Le génotype** est l'ensemble des variants génétiques portés par un individu. Il fait référence à la constitution des gènes sur le plan moléculaire. Le **phénotype** représente l'ensemble des caractéristiques observables et résulte de la variation génotypique ainsi que de son interaction avec l'environnement. C'est l'expression clinique des gènes.

Chaque individu hérite de deux copies de la plupart des gènes, une de chaque parent. Il possède deux versions alléliques d'un même gène qui déterminent son génotype :

- Si les deux allèles portés par les chromosomes sont identiques, l'individu est qualifié **d'homozygote**.
- Si les deux allèles sont différents, l'individu est **hétérozygote**.

Les allèles d'un même gène peuvent s'influencer par une relation de dominance et de récessivité.

- Un allèle **dominant** présent dans le génotype sera exprimé et visible dans le phénotype.
- Un allèle **récessif** présent dans le génotype ne sera pas exprimé ni visible dans le phénotype si l'autre est dominant.

#### 1.1.3.2. Polymorphisme génétique

En comparant les séquences génomiques entre les individus, 99,9% de ressemblances sont observées. Les différences s'expliquent au niveau moléculaire par certaines mutations et altérations du génome qui sont à l'origine de l'existence de variants de gènes. Ces variants génétiques sont sources de diversité entre les individus (7).

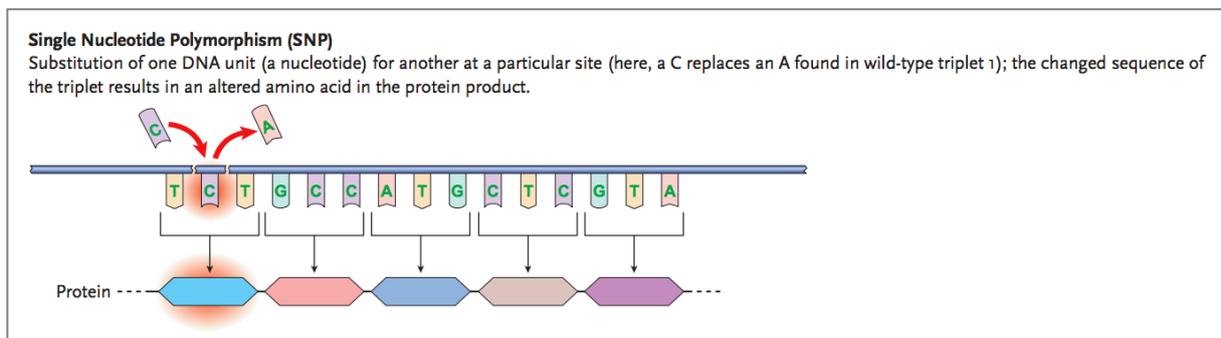
Il est important de distinguer les termes mutation et polymorphisme :

- Une **mutation** génétique est rare car elle survient chez moins de 1% de la population. Elle aura des effets délétères et souvent pathogènes.
- Un **polymorphisme** génétique est une variation pouvant être retrouvée chez plus de 1% de la population et n'est pas obligatoirement pathologique.

Il existe différentes modifications de la séquence d'ADN à l'origine de polymorphismes (2).

#### 1.1.3.2.1. Les Single Nucleotide Polymorphism ou « SNP »

Les SNP correspondent à la substitution d'un nucléotide par un autre (figure 3). Ils représentent 90% des variations génétiques (8). On dénombre plus de 10 millions de SNP pour 3 milliards de paires de base. Il faut distinguer les transitions (remplacement d'une base pyrimidique ou purique par une autre base de même nature) et les transversions (remplacement d'une base purique par une base pyrimidique, ou inversement).

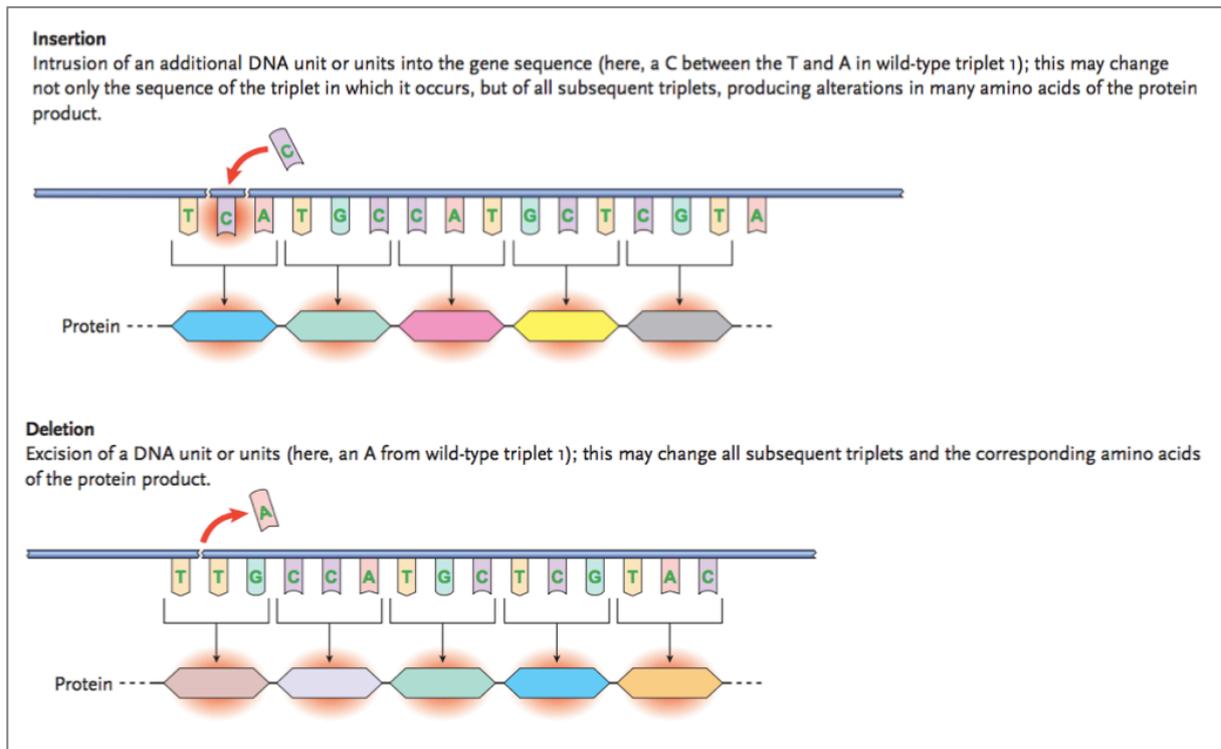


**FIGURE 3 : LE POLYMORPHISME « SNP »**  
Source : Mroziejewicz et al. 2010 (2)

#### 1.1.3.2.2. Les Copy Number Variations ou « CNV »

Les CNV correspondent à une insertion ou une délétion de bases (2). Elles peuvent impliquer une seule base (comme c'est le cas sur la figure 4) ou des centaines de milliers de nucléotides. Ces délétions ou insertions vont entraîner un décalage du cadre de lecture au niveau des séquences codantes. Cela donnera lieu à l'apparition d'un codon Stop prématuré et à l'aboutissement d'une protéine incomplète, souvent non fonctionnelle. Dans certains cas plus

rares la protéine codée présentera une délétion ou une insertion d'un ou plusieurs acides aminés, avec des conséquences fonctionnelles variables (9).



**FIGURE 4** : LE POLYMORPHISME « CNV »  
Source : Mroziejcz et al. 2010 (2)

Le schéma du haut (figure 4) illustre une insertion et le schéma du bas une délétion nucléotidique.

#### 1.1.3.2.3. Les polymorphismes de répétition

Les polymorphismes de répétition sont des séquences répétées en tandem de nombreuses fois, à partir de motifs de longueur variable (figure 5). Ces séquences sont nommées différemment selon leur taille : les microsatellites, minisatellites, satellites ou mégasatellites (2).



Certains polymorphismes du gène DPD sont responsables d'une accumulation du médicament engendrant un risque accru de toxicité (11).

- Il peut également s'agir des gènes qui codent pour des protéines impliquées directement (récepteurs, protéine de transduction du signal) ou indirectement (transporteurs d'efflux) dans la réponse clinique au médicament (**pharmacodynamie**). C'est le cas par exemple des modifications génétiques entraînant une surexpression de la glycoprotéine P (protéine d'efflux P-gp) codée par le gène *ABCB1* empêchant le médicament de se lier à sa cible.

Dans le cas des médicaments anticancéreux, la réponse peut être influencée par l'ADN ou l'ARN tumoral. En effet il peut y avoir un échappement thérapeutique en cas de mutation de ce dernier. C'est le cas notamment en cas de mutation de c-ABL, ce qui provoque une résistance à l'imatinib (12). De même, il existe des mutations dans le cas des cancers du sein : quand le récepteur des oestrogènes associé ou non à celui de la progestérone est mis en évidence il pourra être proposé un traitement anti-hormonal comme le tamoxifène. Dans le cas de l'expression de l'oncogène Her-2/neu, le traitement par l'Herceptin® (trastuzumab), un anticorps dirigé contre cet oncogène peut être envisagé (13).

Il est important de souligner que la pharmacogénétique n'est pas concernée par l'étude du génome tumoral. Par conséquent les variations de réponses liées à la génétique de la tumeur ne seront pas étudiées dans cette thèse.

#### **1.1.4. Objectifs de la PGx**

La réponse aux médicaments dépend de facteurs endogènes (tels que l'âge, le sexe, la grossesse, l'insuffisance rénale ou hépatique, l'inflammation, les maladies, la génétique, l'appartenance ethnique ...) mais aussi exogènes (comme l'alimentation, le tabac, l'alcool, l'environnement, les xénobiotiques, ...). Elle peut être extrêmement variable dans le temps et d'un individu à l'autre.

Comme nous l'avons vu précédemment il est possible grâce à la pharmacogénétique de faire le lien entre le génotype, le phénotype et les effets cliniques (figure 6) (14).

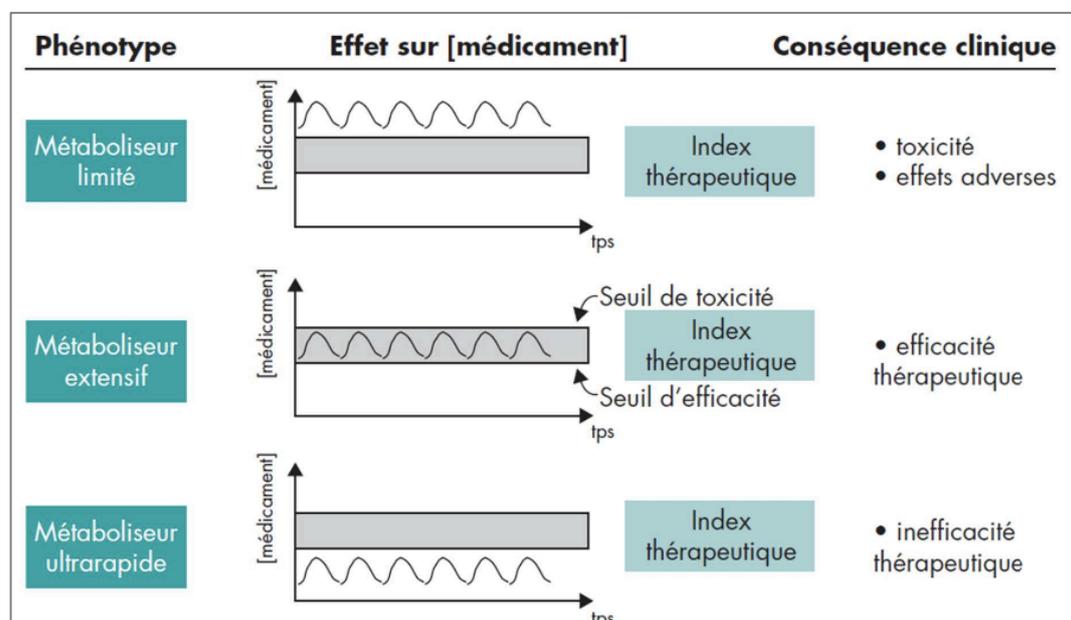
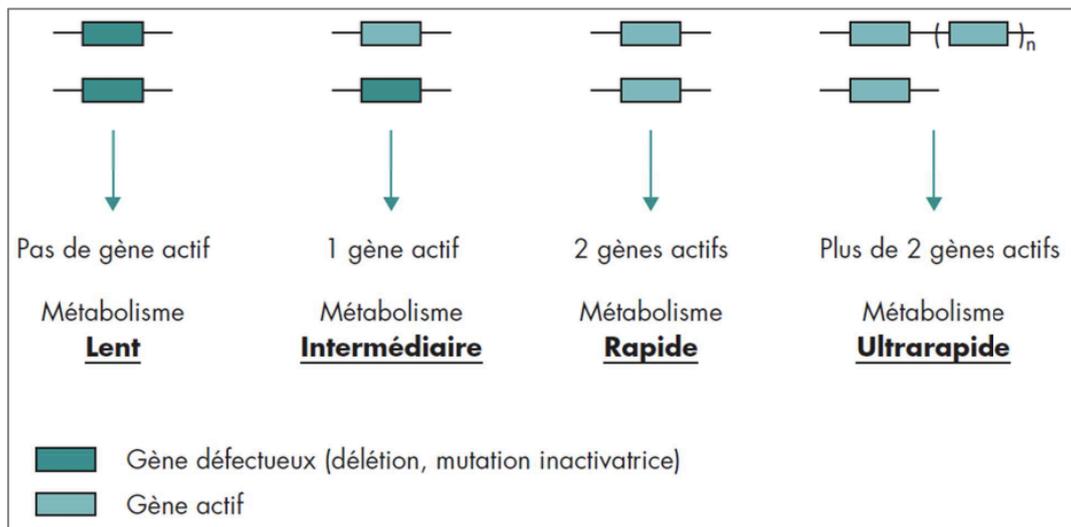


FIGURE 6 : LIEN ENTRE LE GENOTYPE ET LE PHENOTYPE  
 Source : Lecomte et al. 2006 (14)

- Dans le 1<sup>er</sup> cas, le patient présente une mutation inactivatrice sur les 2 gènes (homozygote) impliqués dans le métabolisme du médicament. La diminution du métabolisme conduit à une accumulation du médicament dans l'organisme à l'origine de la majoration du risque de toxicité chez le patient.
- Dans le 2<sup>nd</sup> cas, le patient présente une mutation inactivatrice sur 1 seul gène (hétérozygote). Le médicament est métabolisé normalement. Sa concentration est dans la zone des concentrations thérapeutiques garantissant efficacité thérapeutique.
- Dans le 3<sup>ème</sup> cas, le patient ne présente aucune mutation inactivatrice (homozygote). Comme les gènes sont actifs le médicament va être métabolisé et éliminé plus rapidement. Il en résulte un risque d'inefficacité chez le patient.

- Dans le 4<sup>ème</sup> cas, le patient présente 2 gènes actifs et un gène actif supplémentaire. Le médicament va être métabolisé et éliminé encore plus rapidement que dans le 3<sup>ème</sup> cas. Sa concentration sera quasiment nulle, ce qui explique une non-réponse thérapeutique.

Notons que ce schéma ne concerne que les médicaments qui ne sont pas des prodrogues, c'est-à-dire qui ne sont pas activés secondairement à leur métabolisme. Dans le cas des prodrogues, la métabolisation produira le métabolite actif. Par exemple, chez un métaboliseur rapide, la prodrogue sera très vite métabolisée en composé actif et pourra être à l'origine d'une toxicité plus importante. En outre, il semble nécessaire de souligner le fait qu'il existe également des cas où l'étape de métabolisation aboutit à la formation de composés toxiques.

La pharmacogénétique va ainsi permettre :

- D'identifier les patients non répondeurs à certaines thérapies, pour lesquels le traitement serait tout simplement une perte de temps et donc de chance de réussite.
- D'adapter les posologies des médicaments afin d'en prévenir la toxicité et éviter les effets secondaires.

La pharmacogénétique apparaît donc comme un outil d'individualisation thérapeutique permettant d'optimiser les traitements médicamenteux en termes de sécurité d'emploi et d'efficacité. Pour ce faire, tout l'enjeu est de mettre au point des tests pharmacogénétiques simples et de faire des études permettant d'évaluer l'impact réel du SNP identifié sur la réponse aux médicaments.

#### 1.1.5. Domaines d'application

La pharmacogénétique permet à la fois une approche prospective et rétrospective. Dans le cas d'une étude **prospective**, l'objectif est de prévoir la réponse aux traitements. Ainsi les applications seront le choix de la dose, le choix du traitement et la prévision d'une toxicité (15). Dans le cas d'une **rétrospection**, il s'agit de documenter et de comprendre un échec thérapeutique ou l'arrivée d'un effet secondaire suite à la prise d'un médicament. Dans cette optique, la pharmacogénétique permet un apport à la pharmacovigilance (16).

La pharmacogénétique présente un intérêt majeur pour les médicaments dont l'index thérapeutique est étroit ou encore pour ceux dont la réponse clinique est difficile à évaluer rapidement (17). C'est le cas dans le domaine de l'oncologie et c'est pourquoi l'individualisation du traitement est particulièrement importante. L'azathioprine (AZA) en est l'exemple le plus ancien avec la thiopurine S-méthyltransférase (TPMT). Dans ce domaine, il est possible de citer d'autres exemples de couples médicaments/gènes fréquemment étudiés tel que le 5-fluorouracile (5-FU) et la dihydropyrimidine deshydrogenase (DPD), l'irinotécan (IRT) et l'uridine diphosphate glucuronosyltransférase 1A1 (UGT1A1), le méthotrexate (MTX) et la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) ou encore le tamoxifène (TMF) et le cytochrome P450 2D6 (CYP2D6).

Au cours de cette thèse, nous développerons uniquement l'intérêt de l'utilisation des tests pharmacogénétiques dans le domaine de l'oncologie. Néanmoins, il existe d'autres exemples d'applications :

- Pour les médicaments dont la réponse clinique est difficile à évaluer rapidement tels que **les immunosuppresseurs** (18) : Tacrolimus (CYP3A4, CYP3A5), Azathioprine (TPMT), Acide mycophénolique (UGT 1A9), Ciclosporine (ABCB1, CYP3A4)
- Pour certains médicaments utilisés en **cardiologie** (19) : Warfarine et AVK (VKORC1, CYP 2C9), Clopidogrel (CYP2C19), Simvastatine (gène *SLCO1B1*).
- Pour les médicaments prescrits en **psychiatrie et neurologie** : halopéridol et antidépresseurs sérotoninergiques (CYP2D6), et les antiépileptiques principalement (20) (21) (22).
- La pharmacogénétique est également présente dans le domaine de l'infectiologie. C'est le cas en virologie, le génotype HLA-B\*5701 semble associé à une hypersensibilité à l'abacavir (23).
- Enfin dans le **traitement de la douleur**, nous pouvons citer les dérivés morphiniques (codéine, tramadol, morphine) et la méthadone métabolisés par le CYP2D6 (24) (25).

Il semblerait toutefois que les applications cliniques soient encore limitées en France (26). Plusieurs explications peuvent être proposées pour expliquer cette utilisation restreinte. La première est le fait que l'effet ne soit pas linéaire entre les polymorphismes génétiques et le

phénotype : l'âge, l'épigénétique, ou encore la prise d'autres traitements auront une influence. La 2<sup>nd</sup>e limite est le manque de connaissances et de formation en génétique moléculaire afin de prescrire et d'interpréter les tests PGx. Le 3<sup>ème</sup> frein à la diffusion des tests PGx est l'évolution constante de la nomenclature des SNP. De nouveaux variants sont découverts constamment et le nombre de gènes est exorbitant. Trop nombreux à mémoriser en l'état actuel, cela complique la prise de décision médicale. Enfin, la 4<sup>ème</sup> et dernière limite reste le coût du test. La plupart ne sont pas obligatoires et donc non pris en charge par les organismes de sécurité sociale. En 2017, seuls 22 000 patients ont bénéficié de tests pharmacogénétiques (27). Cela représente une faible proportion comparée à la population cible et crée des différences d'accès aux soins.

## 1.2. IMPACT DE LA PGx DANS LA VARIABILITÉ DE LA RÉPONSE AUX

### TRAITEMENTS

#### 1.2.1. Pharmacocinétique (PK)

La PK est l'étude du devenir du médicament dans l'organisme. Elle comprend 4 étapes communément appelées A.D.M.E : Absorption (ou résorption), Distribution, Métabolisation (ou biotransformation), Élimination (figure 7).

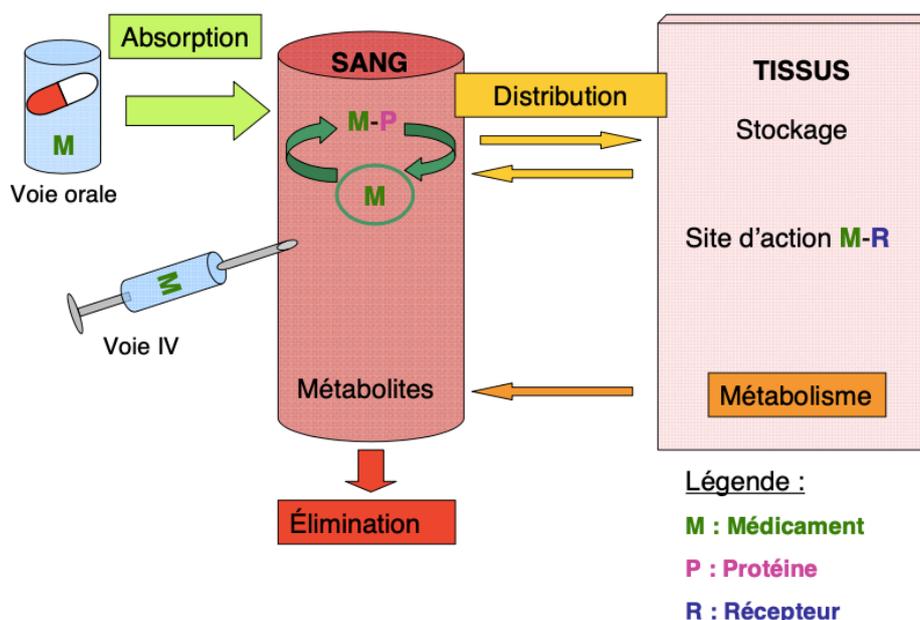


FIGURE 7 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU DEVENIR D'UN MEDICAMENT DANS L'ORGANISME

Source : Felice K, 2013

### 1.2.1.1. Absorption (ou résorption)

La résorption correspond au passage du médicament de son lieu d'administration jusqu'au compartiment sanguin. Elle concerne toutes les voies d'administration, sauf la voie intraveineuse. Lors du passage du médicament dans le sang, le passage à travers des membranes biologiques s'effectue par deux mécanismes principaux :

- La **diffusion passive**, selon un gradient de concentration. Grâce à ses caractères physicochimiques (non ionisé, liposoluble) le médicament franchit naturellement la membrane biologique. C'est le cas le plus fréquent.
- Le **transport actif**, grâce à une protéine transmembranaire qui joue le rôle de transporteur. Ce passage s'effectue contre le gradient de concentration, il demande de l'énergie (adénosine triphosphate ou ATP) et il est donc sélectif et saturable.

Le transport actif s'effectue par des transporteurs d'influx ou des transporteurs d'efflux (28). Ils sont présents en grande quantité au niveau des organes et jouent un rôle de barrière. On les retrouve par exemple, au niveau des entérocytes, des tubules rénaux, des canaux biliaires, du placenta ou encore de la barrière hématoencéphalique. Les transporteurs sont représentés par 2 super familles (Figure 8) :

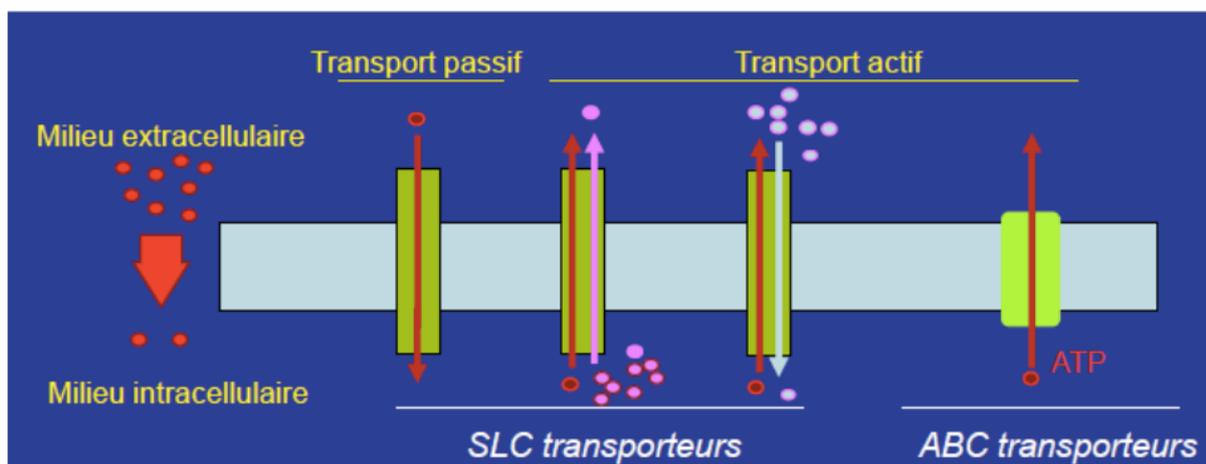


FIGURE 8 : TRANSPORTEURS SLC ET ABC

Source : D'après O. Fardel.

On retrouve les transporteurs « solute carrier » (SLC) et les transporteurs « ATP-binding cassette » (ABC) (29). Les transporteurs SLC utilisent le transport passif facilité (composés hydrophiles) ou un transport actif secondaire, c'est-à-dire couplé à un transport d'ion ou de

métabolite qui se fait selon un gradient de concentration (antiport ou symport). Les transporteurs ABC ont une activité ATPase.

Le **transporteur d'efflux** expulse les substances endogènes et exogènes potentiellement toxiques hors des cellules et protège ainsi l'organisme. C'est le cas de la glycoprotéine P (P-gp nommée également ABCB1 ou MDR1). Elle appartient à la superfamille des transporteurs ABC et a été l'un des premiers transporteurs mis en évidence dans les phénomènes de résistance multidrogue (MDR) des cellules cancéreuses. La P-gp montre une grande variabilité interindividuelle d'expression et de fonction, ceci ayant une influence directe sur la disponibilité systémique de ses substrats. Cette variabilité est en partie due à un polymorphisme génétique auquel est soumis le gène *MDR*.

Les **transporteurs d'influx** facilitent l'entrée des substances dans les cellules. Les transporteurs SLC en sont les principaux représentants. Il est possible de distinguer :

- Les transporteurs d'anions organiques (OAT) qui transportent les petites molécules.
- Les transporteurs d'anions inorganiques (OATP) localisés au niveau de la membrane basolatérale des hépatocytes. Ils transportent des anions endogènes (prostaglandine, urée) et exogènes (antibiotiques, antiviraux, méthotrexate, AINS)
- Les transporteurs de cations inorganiques (OCT).

#### 1.2.1.2. Distribution

La distribution du médicament dans l'organisme permet de transporter le médicament du compartiment sanguin vers les tissus et les organes cibles. Le volume de distribution ( $V_d$ ) est le paramètre PK qui représente le volume fictif dans lequel devrait se distribuer le médicament pour être à la même concentration que celle du plasma. Un volume élevé signifie que le médicament a une distribution tissulaire importante.

Dans le compartiment sanguin, le médicament peut être retrouvé sous deux formes : liée ou libre. Lorsqu'il est lié aux protéines plasmatiques, il est inactif et ne peut pas traverser les membranes biologiques. Seule la forme libre du médicament est « active » et peut diffuser dans les tissus. Les médicaments se fixent différemment aux protéines en fonction de leur liposolubilité. Ainsi, le pourcentage de la forme liée par rapport à la forme libre caractérise le

médicament et peut varier de 0 à 99%. Notons que le pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques peut être diminué en cas de compétition avec un autre médicament très fortement lié aux protéines plasmatiques ou en cas de pathologies (insuffisance rénale ou hépatique) ou d'état physiologique (grossesse, âge) pouvant moduler leur concentration.

Comme cela a été précédemment décrit dans le paragraphe sur l'absorption, la diffusion dans les tissus et les organes est le jeu d'une diffusion passive ou d'un transport actif à ces niveaux. Ce phénomène va dépendre de la perméabilité des capillaires, et de l'accessibilité des différents tissus (ex : barrière hémato-encéphalique). La diffusion du médicament va également dépendre de la vascularisation des organes et du débit sanguin. Plus un tissu est vascularisé plus le médicament va pouvoir venir s'y fixer et atteindre sa cible.

#### 1.2.1.3. Métabolisme

La métabolisation permet de transformer les médicaments en métabolites par des processus enzymatiques. Cette étape permet de favoriser l'élimination du xénobiotique en le rendant plus hydrosoluble. Elle a lieu principalement dans le foie mais elle peut également avoir lieu dans les reins, les intestins, les poumons. Elle aboutit le plus souvent à la production de métabolites inactifs. Toutefois, dans le cas d'administration de prodrogues, les métabolites seront rendus actifs par cette étape. Cette biotransformation (figure 9) comprend trois phases : **fonctionnalisation** (phase I), **conjugaison** (phase II) et **expulsion** (phase III) (14).

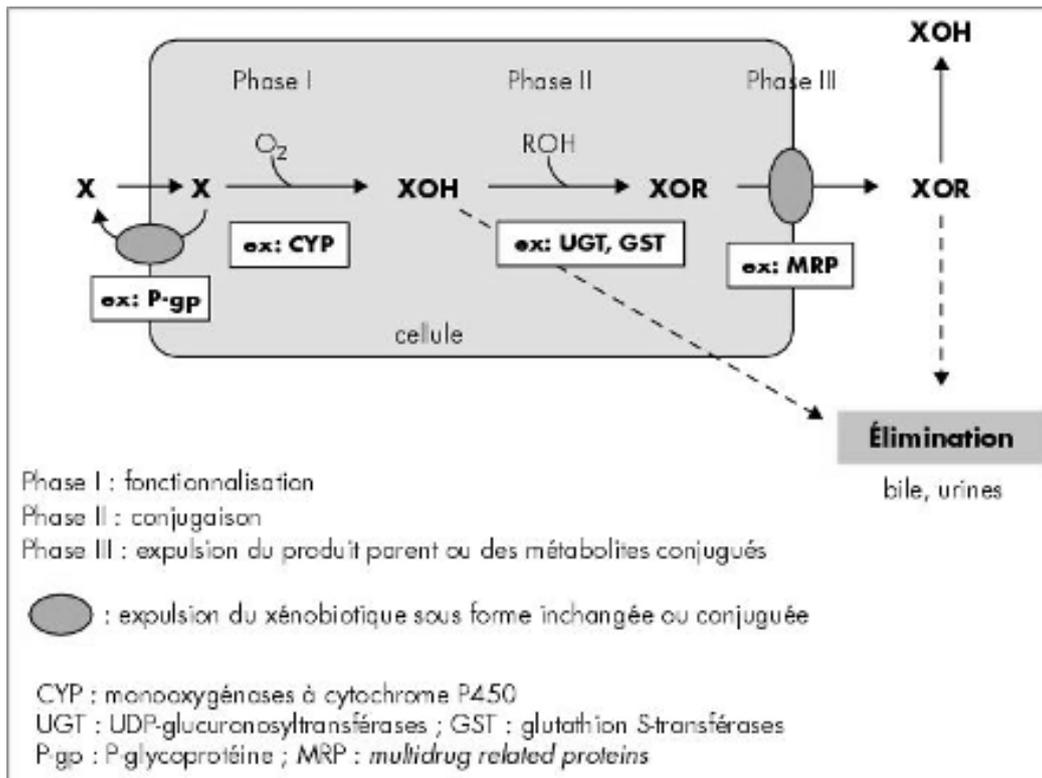


FIGURE 9 : ÉTAPES DE METABOLISATION  
Source : Lecomte et al. 2006 (14)

### 1.2.1.3.1. La phase I

La phase I ou phase de fonctionnalisation est caractérisée par des réactions enzymatiques d'oxydo-réduction. Ce sont des réactions de modification de la structure d'un médicament par l'addition ou bien l'élimination d'un groupement chimique. Les systèmes enzymatiques concernés sont principalement la superfamille des cytochromes P450. Ils sont situés soit dans la membrane externe du réticulum endoplasmique, soit dans la membrane interne ou externe des mitochondries. Il existe un grand nombre d'iso-enzymes du cytochrome P450, classées en 18 familles et 44 sous-familles (30). Le plus important est le CYP3A4 : il catalyse les réactions du métabolisme de 30% des médicaments (31). La figure 10 représente les différentes enzymes responsables du métabolisme en fonction de leur importance relative (32).

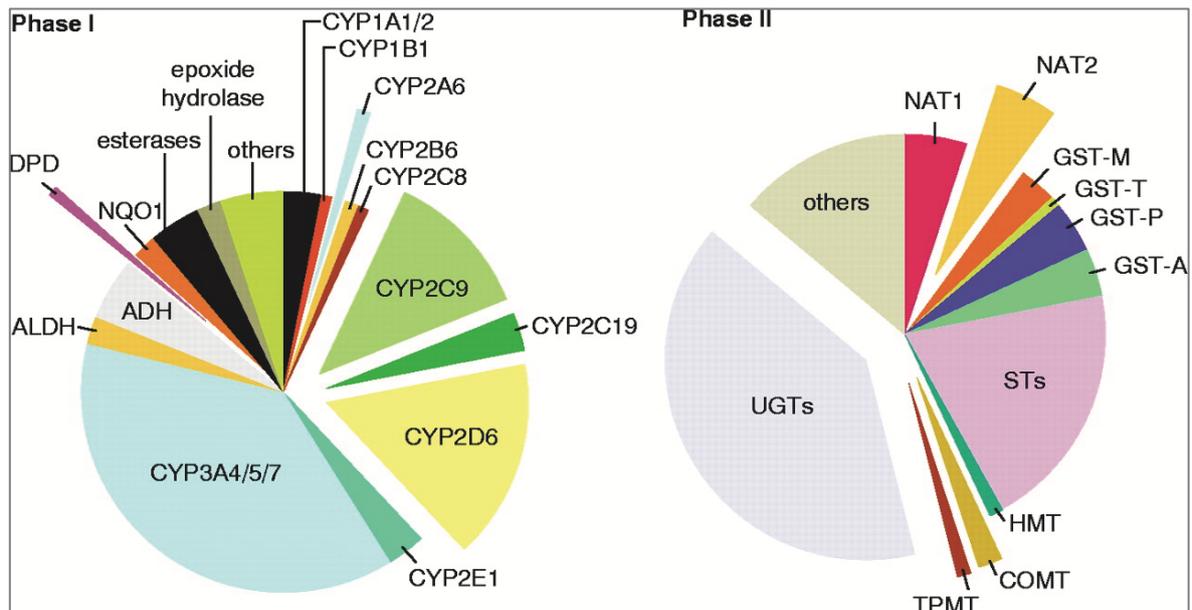


FIGURE 10 : ENZYMES DU METABOLISME EN FONCTION DE LEUR IMPORTANCE RELATIVE  
 Source : Evans & Relling 1999

Légende : ADH, alcool déshydrogénase ; ALDH, aldéhyde déshydrogénase ; CYP, cytochrome P450 ; DPD, dihydropyrimidine déshydrogénase ; NQO1, NADPH quinone oxidoreductase ; COMT, catéchol O-méthyltransférase ; GST, glutathion S-transférase ; HMT, histamine méthyltransférase ; NAT, N-acétyltransférase ; STs, sulfotransférases ; TPMT, thiopurine S-méthyltransférase ; UGTs, uridine 59-triphosphate glucuronosyltransférases.

#### 1.2.1.3.2. La phase II

La phase II ou phase de conjugaison permet de coupler le médicament à un acide organique dans le but de le rendre plus hydrosoluble. Les enzymes qui responsables ces réactions sont des transférases qui catalysent le transfert d'un co-substrat spécifique (groupement méthyle, acétyle, glycine, glutathion, ...). En fonction du groupement transféré, les réactions de conjugaison portent des noms différents. Les plus répandues sont la glucurono-conjugaison, la sulfo-conjugaison, l'acétylation, la méthylation, la glycine-conjugaison et la glutathion-conjugaison.

#### 1.2.1.3.3. La phase III

La phase III correspond à l'expulsion du xénobiotique inchangé ou du métabolite (actif ou inactif). Cette phase de transport à travers la membrane cellulaire est assurée par des transporteurs ABC et SLC.

Enfin, il est important de souligner que les médicaments ne passent pas nécessairement par ces 3 phases. Certains ne sont pas métabolisés et éliminés directement sous forme inchangée. D'autres ne passent que par les phases I ou II.

#### 1.2.1.4. Élimination

L'élimination est la sortie du médicament de l'organisme par une voie d'excrétion : rein (urines), poumons (air expiré), foie (fécale), peau (sudation), œil (lacrymale), bouche (salivaire). Cette phase va commencer dès la pénétration du xénobiotique dans l'organisme.

##### 1.2.1.4.1. Élimination rénale

Le rein est le principal organe d'élimination des médicaments. Le néphron est l'unité de fonctionnelle du rein. Son rôle est d'assurer la filtration glomérulaire puis les échanges tubulaires. L'excrétion urinaire repose sur trois processus :

- La **filtration glomérulaire** qui permet le passage du médicament du sang vers les urines. Elle dépend du poids moléculaire des médicaments ou des métabolites (leur taille devant être inférieure à 50 kDa), de leur fixation aux protéines plasmatiques et du débit de filtration glomérulaire. La filtration concerne donc avant tout les molécules de petite taille, chargées électriquement (hydrosolubles) et non liées aux protéines (fraction libre). Il s'agit d'un transport passif uniquement ayant pour seule limite des facteurs physiques tels que les forces de diffusion ou électriques, la pression et la concentration.
- La **sécrétion tubulaire** permet de faire passer certaines molécules dans l'urine par des systèmes de transport actifs. La sécrétion tubulaire implique des transporteurs d'influx situés au pôle basolatéral des cellules tubulaires proximales. Ils appartiennent principalement à la superfamille SLC (OAT1, OAT3, OCT2, OATP4C1). Elle implique également des transporteurs d'efflux au pôle apical tels que MRP2, MRP4, BCRP, MDR1, MATE1, MATE2K (33).
- La **réabsorption tubulaire** concerne une partie des molécules filtrées. Cette étape permet le retour du métabolite de l'urine vers le sang. C'est un mécanisme généralement passif sous l'influence du pH urinaire. Les molécules non ionisées au pH de 5 à 8 sont concernées. Il est possible que certains médicaments soient réabsorbés par un transport actif. Dans ce

cas la réabsorption fait appel à des transporteurs d'influx au pôle apical (OAT2, OAT4, URAT1, OATP1A1, PEPT1, OCTN) et d'efflux au pôle basal (MRP6) (33).

Le schéma ci-dessous (figure 11) permet de situer les différents transporteurs d'influx et d'efflux responsables des processus de résorption et de sécrétion tubulaire (34).

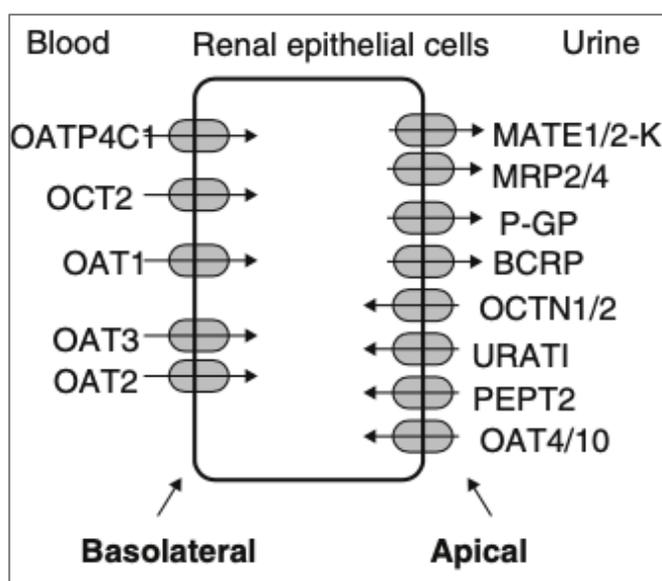


FIGURE 11 : PRINCIPAUX TRANSPORTEURS D'INFLUX ET D'EFFLUX DE LA CELLULE TUBULAIRE RENALE.  
Source : Xiaodong Liu, 2019 (34)

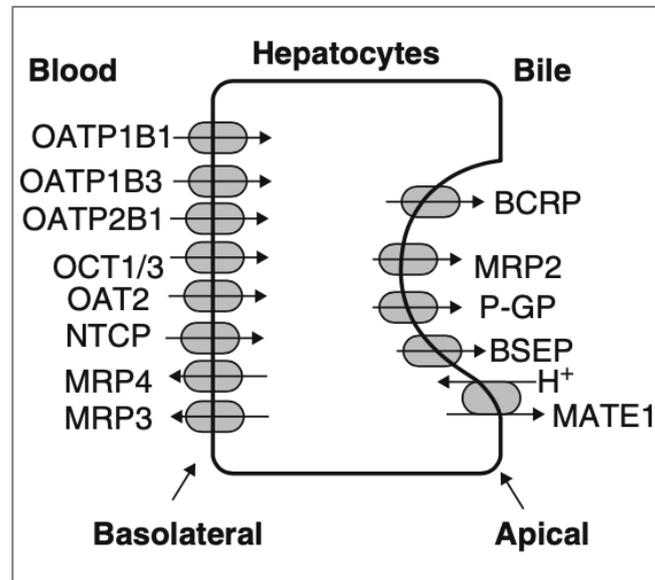
*Légende* : BCRP breast cancer resistance protein, BSEP bile salt export pump, MATEs multidrug and toxin extrusions, MRPs multidrug resistance-associated proteins, NTCP sodium taurocholate co-transporting polypeptide, OATs organic anion transporters, OATPs organic anion-transporting polypeptides, OCTNs organic cation and carnitine transporters, OCTs organic cation transporters, PEPTs peptide transporters, and P-GP P-glycoprotein.

#### 1.2.1.4.2. Élimination hépatique

Le 2<sup>ème</sup> organe le plus important pour l'élimination est le foie. Le xénobiotique présent dans le sang va être capté par les hépatocytes puis être transformé avant d'être excrété dans la bile au moyen de systèmes de transports actifs. Le métabolite libéré dans la lumière intestinale sera ensuite éliminé par les fèces. Cela concerne principalement les grosses molécules liposolubles et les métabolites conjugués.

Au niveau de l'hépatocyte (figure 12), les transporteurs situés au pôle sinusoidal vont extraire les médicaments présents dans le sang et ceux du pôle canaliculaire vont les excréter dans la bile (34). Les transporteurs d'influx appartiennent principalement à la superfamille des SLC

avec pour principaux représentants SLCO1B et 2B (OATP1B et 2B), SLC22A7 (OAT2) et SLC22A1 (OCT1). Les transporteurs d'efflux sont principalement les transporteurs ABC avec ABCB11 (BSEP), ABCC (MRP3, MRP4), ABCG (BCRP) et le transporteur SLC47A2 (MATE1) (33).



**FIGURE 12** : PRINCIPAUX TRANSPORTEURS D'INFLUX ET D'EFFLUX EXPRIMÉS PAR LES HEPATOCYTES  
 Source : Xiaodong Liu, 2019 (34)

Dans certains cas, le métabolite conjugué excrété dans la bile peut subir une hydrolyse par les enzymes de la flore intestinale. Cette déconjugaison va redonner naissance à la molécule initiale qui à son tour peut être réabsorbé. Ce cycle, appelé cycle entéro-hépatique, peut être répété plusieurs fois et est responsable d'une augmentation de l'exposition à un médicament.

### 1.2.2. Pharmacodynamie (PD)

La PD est l'étude de l'effet d'un médicament sur l'organisme. Paul Ehrlich disait : « Les substances n'agissent pas si elles ne se fixent pas », c'est à dire qu'un médicament pour être efficace doit pouvoir se lier à une cible. Il devra y avoir une reconnaissance entre les 2 partenaires (affinité et sélectivité) et une réponse cellulaire responsable d'un effet thérapeutique. La cible est souvent un récepteur, un transporteur, une enzyme ou le matériel génétique (ADN ou ARN). L'interaction du médicament avec son site d'action va entraîner une réponse pharmacologique via des mécanismes de signalisation intracellulaire.

### 1.2.2.1. Cibles thérapeutiques des anticancéreux

La figure 13 illustre les 8 capacités distinctives des cancers qui sont : l'autonomie de croissance, l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de la croissance, l'éviction de l'apoptose, la réplication indéfinie, l'induction de l'angiogenèse, l'invasion et les métastases, la dérégulation du métabolisme énergétique cellulaire, l'éviction d'une destruction par le système immunitaire, l'inflammation favorisant les tumeurs et l'instabilité des mutations du génome (35).

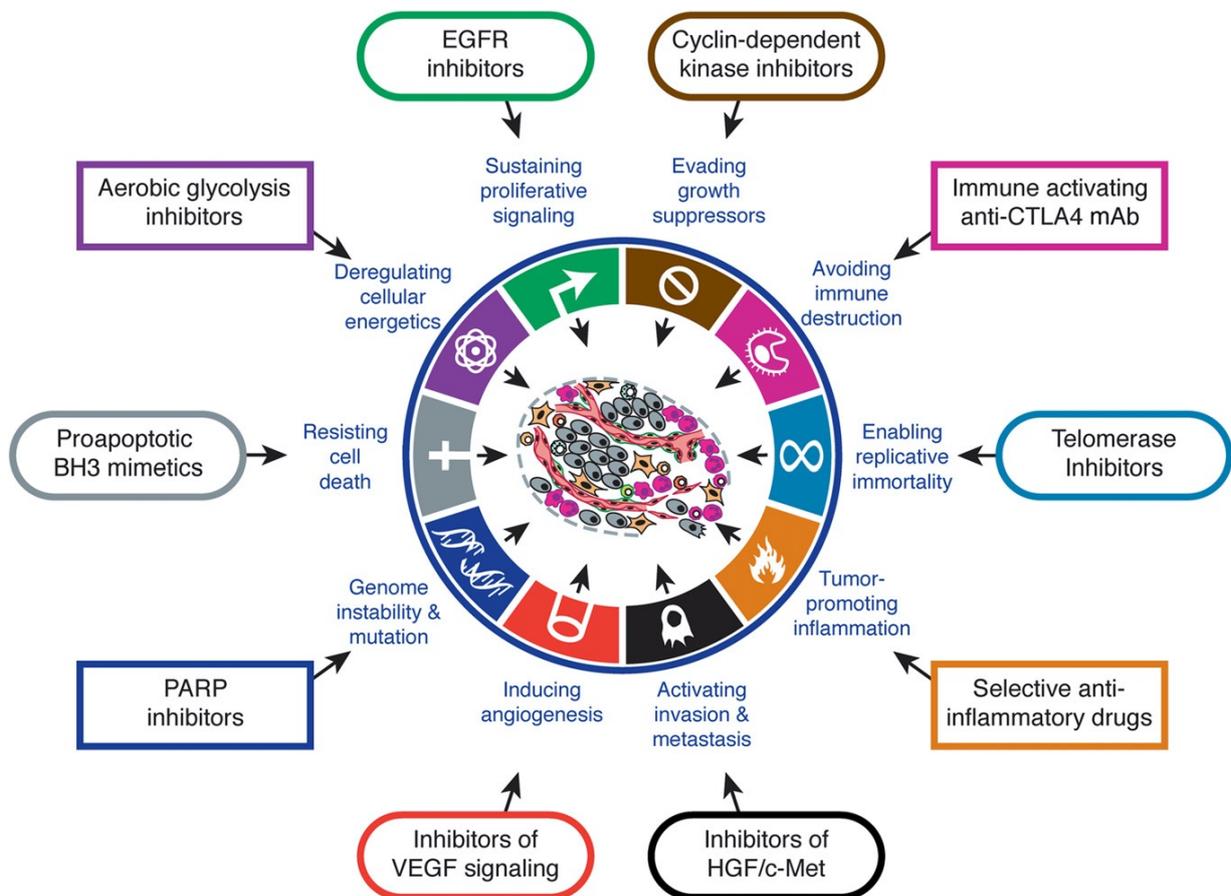


FIGURE 13 : CAPACITÉ DISTINCTIVE DES CANCERS ET CIBLES THÉRAPEUTIQUES  
Source : Douglas Hanahan and Robert A. Weinberg, Cell 2011 (35)

Ainsi, très succinctement, les médicaments anticancéreux peuvent être classés en différentes catégories par rapport à leur cibles thérapeutiques.

Tout d'abord, les médicaments agissant au niveau de l'ADN (36). Également connues sous le nom de « chimiothérapies conventionnelles », ce sont les anticancéreux les plus anciens.

Non spécifiques des cellules cancéreuses elles peuvent être cytostatiques, antinéoplasiques ou cytotoxiques. Utilisées en polychimiothérapies, leurs objectifs sont d'agir sur des cibles différentes pour obtenir une synergie d'effet. La chimiothérapie est administrée sous forme de cycles (cures) qui permettent de diminuer le nombre de cellules tumorales tout en laissant aux cellules saines le temps de se régénérer. Concernant leurs mécanismes d'action, les antimétabolites (exemple : le 5-FU, le méthotrexate) inhibent la synthèse des acides nucléiques en inhibant des enzymes clés ou en jouant le rôle de substrat piège. Les agents alkylants créent des liaisons covalentes avec l'ADN entraînant une inhibition de la réplication et la transcription. De plus ils induisent la libération de radicaux libres entraînant des cassures des brins d'ADN. Les agents intercalants (exemple : les anthracyclines) provoquent une détorsion de la molécule d'ADN. Ainsi les ARN et ADN polymérase ne peuvent plus progresser, ce qui inhibe la réplication et la transcription. Les agents scindant réalisent de nombreuses cassures des brins d'ADN en se comportant comme des endonucléases. Les inhibiteurs des topoisomérases (exemple : l'irinotécan) inhibent la religation en stabilisant le complexe topoisomérase-ADN. Ils interfèrent non seulement dans l'élaboration de la molécule d'ADN, mais aussi avec la tubuline.

L'hormonothérapie est utilisée dans le traitement des cancers hormonaux-dépendants selon deux stratégies : l'inhibition de la sécrétion d'hormones endogènes ou le blocage d'un récepteur. Par exemple dans le cas du cancer du sein on utilise un anticancéreux dirigé contre les œstrogènes tels que les antagonistes des récepteurs aux œstrogènes (exemple : le tamoxifène) et les inhibiteurs de l'aromatase.

Il est possible de cibler le système immunitaire du patient pour le rendre apte à se défendre contre les cellules cancéreuses grâce à l'immunothérapie. Parmi les traitements, il existe l'immunostimulation (vaccins), la thérapie cellulaire (greffes) et l'inhibition des points de contrôle du système immunitaire (anticorps monoclonaux anti-CTLA4 ou anti-PD1).

Enfin, les thérapies ciblées peuvent être utilisées. Elles sont spécifiques de la cellule cancéreuse puisque la cible pharmacologique est exprimée ou surexprimée dans le cancer. Elles permettent de cibler spécifiquement des récepteurs, des enzymes ou des voies de signalisation responsables de la division, de la croissance et de la prolifération des cellules

**tumorales.** Parmi elles, les inhibiteurs des protéines kinases bloquent la fixation de l'ATP au niveau du récepteur entraînant le blocage de la transduction du signal secondaire à leur activation. Les anti-angiogéniques bloquent le récepteur du Vascular Endothelial Growth Factor, (VEGFR) et empêchent ainsi la prolifération des néo-vaisseaux de la cellule tumorale. Les anti-EGF-R (récepteurs aux facteurs de croissance épidermique ou Epidermal Growth factor) peuvent être bloqués par des anticorps monoclonaux ou par des anticancéreux interférant avec les voies de signalisation contrôlant la prolifération cellulaire. Les inhibiteurs des PARP (poly-ADP-ribose-polymérase) permettent de supprimer les mécanismes de réponse cellulaire en cas d'altération de l'ADN. Les inhibiteurs du protéasome vont dégrader les protéines responsables la régulation du cycle cellulaire.

En cancérologie, l'identification de cibles fait l'objet d'importantes recherches. Les cibles thérapeutiques que nous venons de présenter dans ce paragraphe ne sont pas exhaustives.

#### 1.2.2.2. Exemple de mutations des cibles

Dans le domaine de la cancérologie, les exemples de polymorphismes modifiant des paramètres pharmacodynamiques ne relèvent pas du domaine de la pharmacogénétique. En effet, il ne s'agit pas de modifications du patrimoine génétique du patient ayant une influence sur le devenir du médicament. Ce sujet très dense relèvera surtout du domaine de l'oncobiologie moléculaire par l'étude des processus d'échappements thérapeutiques. C'est la raison pour laquelle, après avoir détaillé les différentes cibles, nous allons donner seulement quelques exemples de mutations de cibles.

##### 1.2.2.2.1. Les récepteurs

Le récepteur est une protéine sur laquelle va venir se fixer un médiateur chimique. Ce dernier peut être endogène, c'est à dire sécrété par l'organisme (c'est le cas des hormones ou des neuromédiateurs), ou exogène lorsqu'il s'agit d'un médicament (activateur ou inhibiteur). Le récepteur est capable de reconnaître et de fixer de façon spécifique un « ligand ». Cette réponse est réversible et saturable. Le ligand peut être un agoniste ou un antagoniste :

- **L'agoniste** est une molécule capable d'engendrer, par sa liaison à ses récepteurs, une réponse biologique semblable à celle du médiateur endogène. Cet agoniste est dit « entier » lorsqu'il engendre une réponse maximale ou « partiel » lorsque la réponse n'est pas totale. Il peut aussi être « inverse » quand il s'oppose à la liaison du médiateur à son récepteur et entraîne une réponse opposée à celle de l'agoniste.
- **L'antagoniste** est une molécule dont l'interaction avec le récepteur ne déclenche pas de réponse biologique et s'oppose à l'effet du médiateur endogène. Le ligand endogène ne peut donc plus aller se fixer car le récepteur est bloqué.

Les récepteurs présents au niveau **membranaire** peuvent être des récepteurs couplés aux protéines G (RCP-G), des récepteurs à activité canal ionique, des récepteurs à activité guanylate cyclase, les récepteurs à activité protéine kinase. Ils ont fait l'objet de découvertes scientifiques importantes au cours de la dernière décennie. Exprimé sur les cellules tumorales le récepteur tyrosine kinase (RTK) est impliqué dans la régulation des réponses cellulaires telles que la survie, la prolifération et la mobilité. L'imatinib qui inhibe le RTK Kit codé par l'oncogène *c-Kit* est une cible thérapeutique bien connue à ce niveau. Il est également exprimé sur les cellules endothéliales impliquées dans la vascularisation de la tumeur. Les cibles thérapeutiques à ce niveau vont inhiber leurs récepteurs le VEGF-R (bevacizumab) et l'EGF-R (cétuximab)).

Au niveau **nucléaire**, les récepteurs sont des protéines directement localisées dans le noyau de la cellule ou provenant du cytosol après un passage de la membrane nucléaire. Il peut s'agir de facteurs de transcription qui se lient à la région promotrice des gènes soit pour augmenter ou pour réprimer la transcription de l'ADN. Leurs ligands doivent être suffisamment lipophiles pour pouvoir traverser les membranes plasmiques et nucléaires pour se lier aux récepteurs. Les ligands peuvent être des hormones circulantes, de médiateurs synthétisés par la cellule ou encore des métabolites cytosoliques. Dans le cancer du sein, le tamoxifène agit comme un antagoniste au niveau du sein en venant se fixer sur le récepteur aux œstrogènes. Cependant il possède des effets agonistes au niveau de l'os, de l'endomètre et sur les lipides sanguins, ce qui entraîne une diminution de la perte osseuse et du taux de LDL cholestérol.

Certaines mutations au niveau du récepteur entraînent une diminution de l'entrée des molécules anticancéreuses dans la cellule tumorale. L'imatinib, utilisé en 1<sup>ère</sup> intention dans les leucémies myéloïdes chroniques (LMC), est un exemple d'anticancéreux ou les phénomènes

de résistances sont devenus un problème majeur en clinique ces dernières années. Rappelons que la LMC est liée à la translocation chromosomique t (9; 22) (q34; q11) qui donne naissance à un oncogène de fusion sur les chromosomes 9 et 22. Ce dernier induit la production d'une protéine tyrosine-kinase BCR-ABL non régulée qui sera responsable d'une myéloprolifération. L'imatinib se lie de manière compétitive au site de liaison de l'ATP de la tyrosine kinase BCR-ABL et empêche ainsi la cascade de signalisation responsable de la prolifération de la cellule tumorale. Parmi les mécanismes de résistances mis en évidence (12), des mutations génétiques du gène de fusion BCR-ABL ont été mises en évidence (37) (38) (39). Certaines mutations entraînent la surexpression de la protéine kinase BCR-ABL, d'autres induisent un changement de conformation du site de liaison ou perturbent le contact avec le médicament ce qui entraîne une perte de réponse à l'imatinib. L'analyse des mutations du gène de fusion *BCR-ABL* permet de déterminer la meilleure stratégie de traitement et d'orienter le choix de l'ITK à utiliser (40). Il sera alors possible de s'orienter vers des ITK de 2<sup>nde</sup> génération tels que le nilotinib, le dasatinib, le bosutinib ou le ponatinib (41).

#### 1.2.2.2.2. Les enzymes

Certains médicaments agissent sur les systèmes enzymatiques qui catalysent des réactions chimiques dans l'organisme. Vingt-cinq pour cent des médicaments actuels sont des inhibiteurs ou plus rarement des activateurs enzymatiques. Des enzymes interviennent au niveau des grandes voies métaboliques, comme c'est le cas de la dihydrofolate réductase (inhibée par le MTX). Il existe également des enzymes impliquées dans le métabolisme des médiateurs ou encore dans les voies de signalisation intracellulaires.

Nous prendrons comme 1<sup>er</sup> exemple la voie de signalisation Ras/RAF/MEK/ERK. Elle est majoritairement impliquée dans la régulation de la prolifération cellulaire, de la survie, de l'adhésion, de la mobilité et de la différenciation des cellules. Son activation incontrôlée est un événement fréquemment retrouvé dans les cellules cancéreuses. Elle est composée de la protéine Ras et des 3 kinases : RAF, MEK et ERK. Elle va s'activer en réponse à des stimuli extracellulaires (cytokines, hormones ou facteurs de croissance) et entraîner une cascade de phosphorylation protéique responsable de la réponse cellulaire. La mutation oncogénique de la protéine Ras entraîne une sur-activation de la voie de signalisation et la surexpression de facteurs de croissance (42). Trente pour cent des tumeurs présentent une mutation des gènes

Ras (43). Leurs connaissances ainsi que celle des mécanismes de signalisation a permis de mettre au point des thérapies ciblées. Comme il n'est pas possible actuellement de bloquer directement la protéine Ras, une des possibilités thérapeutiques est le blocage en aval avec, par exemple, le sorafénib (inhibiteur de RAF kinase).

Le 2<sup>nd</sup> exemple choisi concerne l'important réseau enzymatique du 5-FU. En cas de surexpression de l'enzyme DPD, son activité accrue sera responsable d'une augmentation du catabolisme au 5-FU et plus largement de résistance au 5-FU (44).

Enfin le 3<sup>ème</sup> exemple cité sera le réseau enzymatique de l'irinotécan. L'action thérapeutique de son métabolite, le SN-38 dépend du fonctionnement normal de la topoisomérase I. La diminution de l'expression du gène *TOP1* qui code pour la topoisomérase I entraîne un changement de conformation du site de fixation. Ce changement au niveau du site de liaison de la topoisomérase I entraîne la formation de liaisons non stables entre le SN-38 et le complexe Topo-ADN. L'effet cytostatique est donc moindre car de cette façon il n'y a plus de mort cellulaire (45).

#### 1.2.2.2.3. Mécanismes de transport

Les mécanismes de transport font appel à des systèmes de pompes ioniques, de canaux ioniques ou encore de transporteurs ioniques. Des phénomènes de résistances peuvent être expliqués par des modifications génétiques au niveau des transporteurs. C'est le cas par exemple de la surexpression des protéines d'efflux telles que la glycoprotéine P (P-gp) codée par le gène *ABCB1* ou MDR1 (Multidrug Resistance-associated Protein). Le médicament anticancéreux est de cette façon rejeté en dehors de la cellule et il ne peut donc pas se lier à sa cible (46).

#### 1.2.2.3. Particularité du profil génétique de la tumeur

L'analyse et la caractérisation des tumeurs du point de vue des récepteurs, des mutations présentes ou de la surexpression de protéines à la surface des cellules permet de définir les marqueurs tumoraux. Ils seront utiles pour le choix du traitement et peuvent être utilisés pour prédire l'efficacité et la toxicité d'une molécule (47).

L'expression et le profil génétique de la tumeur ne seront pas développés dans cette thèse. En effet, nous avons montré, par différents exemples, que la PD des anticancéreux est par essence liée aux mécanismes d'action exercée sur les cellules tumorales. Par définition, la pharmacogénétique s'applique aux paramètres génétiques acquis du patient et non pas à des mutations secondaires comme cela est le cas dans les cancers.

En résumé, nous avons démontré que pharmacogénétique allait étudier les variations de gènes et leurs conséquences au niveau (48) :

- Des protéines impliquées dans la PK (faisant varier les concentrations en médicament au cours des différentes étapes A, D, M et E)
- Des cibles du médicament, soit la PD (en cas de modification des récepteurs ou des systèmes participant à la réponse cellulaire). Dans ce cas, c'est la sensibilité du patient au médicament qui est modifiée, malgré des concentrations correctes.

La PGx des médicaments anticancéreux va donc principalement reposer sur l'étude des paramètres PK.

### **1.3. IMPORTANCE DE LA MAITRISE DE LA VARIABILITÉ DE RÉPONSE EN**

#### **ONCOLOGIE**

L'index thérapeutique étroit des anticancéreux implique une adaptation constante des posologies afin de garantir une bonne efficacité et d'éviter une intoxication. Les chimiothérapies possèdent une toxicité importante, souvent communes à de nombreuses classes. Il s'agit notamment des toxicités digestives (nausées et vomissements, diarrhées, constipation), hématologique (myélotoxicité), neurologique (neuropathies périphériques), cutanéomuqueuse (mucites, alopecie, syndrome main-pieds) et gonadique (stérilité). Elles peuvent également être responsables de syndrome de lyse tumorale (hyperuricémie, hyperkaliémie, augmentation des LDH) ou encore de toxicité d'organes (néphrotoxicité, cardiotoxicité, hépatotoxicité). Ces effets secondaires potentiellement graves constituent une perte de chance pour le patient.

Toutefois, il existe des variabilités inter-individuelles et intra-individuelles importantes en termes de réponse et de toxicité. Elles s'expliquent par des différences au niveau de la pharmacocinétique, de la population cible traitée et de l'environnement (figure 14) (49).

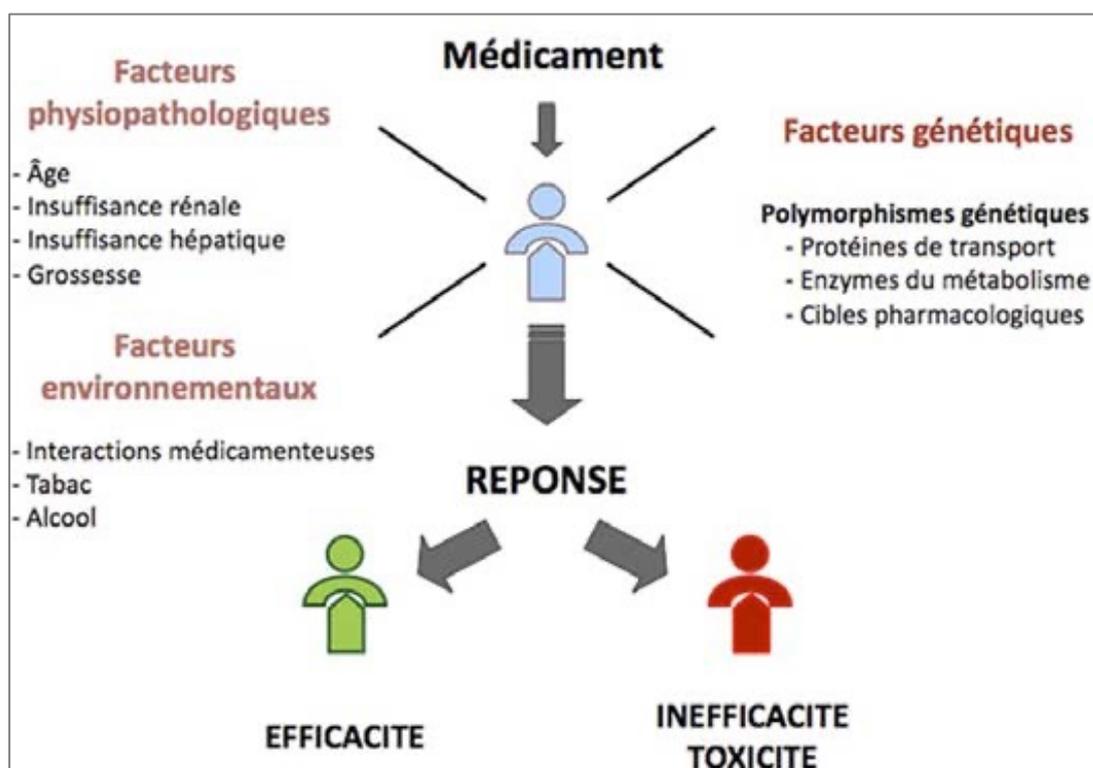


FIGURE 14 : ORIGINES DE LA VARIABILITÉ DANS LA RÉPONSE AUX MÉDICAMENTS  
 Source : Narjoz et al. 2012 (49)

Ainsi, les variations inter-individuelles peuvent en partie être expliquées par :

- Des facteurs physiologiques : l'âge, la taille, le poids, la surface corporelle, la polymorbidité.
- Des modifications physiologiques pouvant induire une modification de la pharmacocinétique du médicament : fonctions rénales ou hépatiques (élimination), grossesse (distribution).
- L'environnement (alimentation, jus de pamplemousse, tabac, alcool, prise simultanée de xénobiotiques).

Les variations intra-individuelles sont les changements qui s'opèrent chez un individu. Il peut s'agir d'une pathologie aiguë, de déshydratation, d'un syndrome inflammatoire.

### **1.3.1. Critères actuels d'adaptation des traitements anticancéreux**

Classiquement l'efficacité des chimiothérapies est jugée à distance de leur administration. Parmi les paramètres utilisés l'efficacité peut reposer sur des critères **cliniques**, tels que l'état général du patient (score OMS), la présence d'effets secondaires, l'apparition de nouveaux symptômes pouvant faire suspecter une rechute ou l'apparition de métastases, mais surtout l'impact sur la qualité de vie. Ce dernier paramètre est principalement utilisé en recherche clinique avec les notions de « survie » sans progression ou globale. Elle repose aussi sur des critères **biologiques**, tels que le suivi des biomarqueurs tumoraux. Leur étude constitue un outil précieux pour aboutir à un traitement personnalisé. Utilisés à visée prédictive, ils permettent de prédire la réponse ou non à une thérapie donnée (50). La combinaison aux critères **radiologiques et anatomo-pathologiques** permet d'évaluer la réponse, la progression et la stabilité des lésions tumorales notamment grâce au Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST) (51).

Notons que le calcul des posologies des anticancéreux n'est pas toujours évident en pratique clinique. Il se base principalement sur des abaques indiquant la dose à administrer en fonction de la surface corporelle du patient (52).

### **1.3.2. Autres outils de personnalisation du traitement anticancéreux**

#### **1.3.2.1. Exemple du STP**

Le **suivi thérapeutique pharmacologique** (STP) consiste à mesurer la concentration sanguine d'un médicament. Il peut être mis en œuvre pour les médicaments répondant à des critères précis :

- Lorsqu'il existe une marge thérapeutique étroite, c'est à dire que les concentrations toxiques sont proches des concentrations thérapeutiques.
- Lorsqu'il existe une variabilité importante de la PK du médicament. Dans ce cas, les posologies ne permettent pas de présumer de l'efficacité du traitement.
- Lorsqu'il existe une relation connue entre la concentration sanguine et l'efficacité clinique, en particulier lorsque la réponse pharmacologique est difficilement mesurable cliniquement ou biologiquement.
- Lorsqu'il existe une corrélation entre la concentration sanguine et la toxicité.

La détermination des concentrations résiduelles à l'état d'équilibre, permettra d'adapter les posologies à chaque patient afin de maximiser l'efficacité thérapeutique tout en minimisant l'apparition des effets indésirables.

#### **1.3.2.2. Perspectives de la PGx**

Lorsqu'il est réalisable, le STP va surtout permettre de documenter une toxicité ou une inefficacité, de contrôler l'observance ou l'activité et de comprendre la PK et la PD de chaque individu. Réalisé à posteriori, lors de l'administration du médicament, il ne permettra pas d'anticiper la réponse au médicament. En ce sens, la pharmacogénétique s'impose comme un nouvel outil prédictif de la réponse aux anticancéreux. Elle a pour but de prédire, de décrire ou de comprendre certains mécanismes d'inefficacité ou de toxicité grâce aux examens de phénotypage et de génotypage. Il sera désormais possible d'adapter les posologies en fonction des polymorphismes et phénotypes identifiés. La mise en évidence de facteurs de risque individuels liés à des particularités pharmacogénétiques permettrait une meilleure prise en charge globale car les examens de pharmacogénétique s'effectuent en amont d'une prescription d'anticancéreux.

## **2. EXAMENS DE PHARMACOGÉNÉTIQUE EN ONCOLOGIE**

### **2.1. TECHNIQUES D'ANALYSE**

#### **2.1.1. Le génotypage**

##### **2.1.1.1. Définition**

Le génotypage est l'étude des gènes. L'ADN est analysé afin d'identifier directement les anomalies génétiques et de prédire le phénotype en cas de corrélation. Les méthodes de génotypage reposent sur l'utilisation de techniques de biologie moléculaire telles que la technique de réaction de polymérisation en chaîne (PCR : Polymerase Chain Reaction) ou le séquençage. Le génotypage a un intérêt diagnostique (en cas de suspicion de phénotype déficitaire ou ultrarapide par exemple) et un intérêt expérimental (pour les phénotypes non connus). En pratique clinique, le génotypage est la technique la plus utilisée car, contrairement au phénotype, il n'y a pas d'influence de facteurs confondants (pathologies, co-administration de traitements). Il est facile à réaliser, permanent mais sa détermination n'a un intérêt que lorsqu'une corrélation entre le génotype et le phénotype a été démontrée.

##### **2.1.1.2. Techniques de génotypage**

Il existe deux techniques de génotypage : la Réaction de Polymérisation en chaîne (PCR) qui permet de rechercher une variation précise et le séquençage qui va permettre l'analyse complète d'une séquence d'ADN.

###### **2.1.1.2.1. Principe de la Réaction de Polymérisation en Chaîne ou « PCR »**

La PCR est une méthode permettant d'amplifier une séquence cible d'ADN. C'est une étape indispensable avant d'identifier un polymorphisme. La principale technique utilisée est la PCR Taqman® que nous allons détailler ici.

Le mélange réactionnel suivant doit être préparé avant l'étape d'amplification par PCR :

- L'échantillon d'ADN génomique à amplifier. Il est extrait à partir d'échantillons divers : sang, frottis buccal, racine de cheveux, ....

- L'ADN polymérase. Celle utilisée est extraite des bactéries thermophiles (*Thermus aquaticus*) : la Taq polymérase. Elle présente la particularité de résister à la chaleur et d'être active à de hautes températures.
- Un mélange des 4 désoxyribonucléotides (dNTP) qui entrent dans la polymérisation de l'ADN.
- Une paire d'oligonucléotides ou « amorces » spécifiques de la séquence d'ADN à amplifier. Ce sont de courtes séquences d'ADN servant de point de départ à la synthèse d'un brin d'ADN complémentaire. Les amorces vont se fixer sur leurs séquences cibles par complémentarité aux extrémités 5' et 3' du gène.

Le mélange réactionnel ainsi préparé est placé dans un thermocycleur afin d'y subir plusieurs étapes (figure 15) :

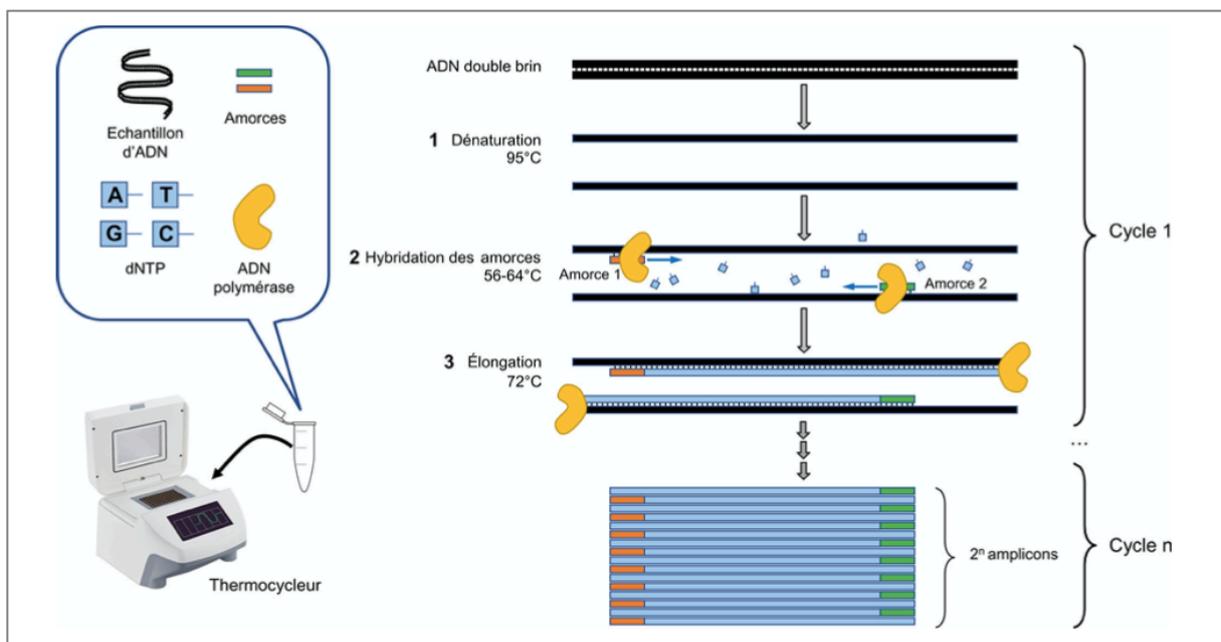


FIGURE 15 : LES DIFFERENTES ETAPES DE LA PCR

Source : Uhel F, 2019 (53)

- **La dénaturation de l'ADN** : l'élévation de la température à 95°C assure la cassure des liaisons hydrogènes qui va permettre au double brin d'ADN de se dissocier. A cette température, les enzymes autres que la Taq polymérase seraient dénaturées.

- **L'hybridation** : C'est à cette étape que les amorces vont venir se fixer aux brins d'ADN de manière spécifique et complémentaire. L'hybridation est réalisée entre et 56°C et 64°C, la température dépend de la taille et du type d'amorce.
- **L'élongation** : C'est l'étape de polymérisation des amorces. Elle s'effectue à 72°C. Les amorces hybridées servent de point de départ à la polymérisation, qui se fait par ajout successifs de désoxyribonucléotides (dNTP) présents en excès dans le mélange.

La succession des cycles permet une augmentation exponentielle de la quantité d'ADN. La réaction est réalisée de façon automatique grâce à un thermocycleur. Il permet de générer en moins d'une heure des millions de copies de la séquence cible à partir de très faibles concentrations initiales d'ADN (de l'ordre de 10–15 mol/L ou 1 ng/mL) (53).

La PCR quantitative en temps réel, appelée « RT-qPCR » permet de mesurer l'amplification tout au long de la réaction enzymatique. Plusieurs techniques de mesure de l'amplification existent. Dans le cas des génotypages, la PCR TaqMan® est souvent mise en œuvre. Le principe de cette technique est basé sur l'activité 5' exonucléasique de la Taq polymérase pour hydrolyser une sonde hybridée à sa séquence cible. Le mélange réactionnel comporte : une sonde marquée par un fluorochrome VIC® et une sonde marquée par un fluorochrome FAM™ qui diffère de la première d'un nucléotide (SNP recherché), ainsi que 2 amorces spécifiques de la cible pour l'amplification. Le fluorochrome émetteur ou « reporter » (VIC® ou FAM™ selon l'allèle) est fixé sur l'extrémité 5' de la sonde. Il est inhibé par un second fluorochrome suppresseur ou « quencher » présent en 3'. Après l'étape de dénaturation, l'amorce marquée VIC® ou FAM™ vient s'hybrider à la séquence complémentaire du brin d'ADN à amplifier. Le « quencher » est assez proche du « reporter » pour absorber son énergie de fluorescence. Lors de l'étape de polymérisation de l'ADN, la Taq polymérase coupe la sonde et libère le fluorochrome « reporter » qui ne sera plus inhibé par le « quencher » et pourra émettre sa fluorescence (figure 16) (53).

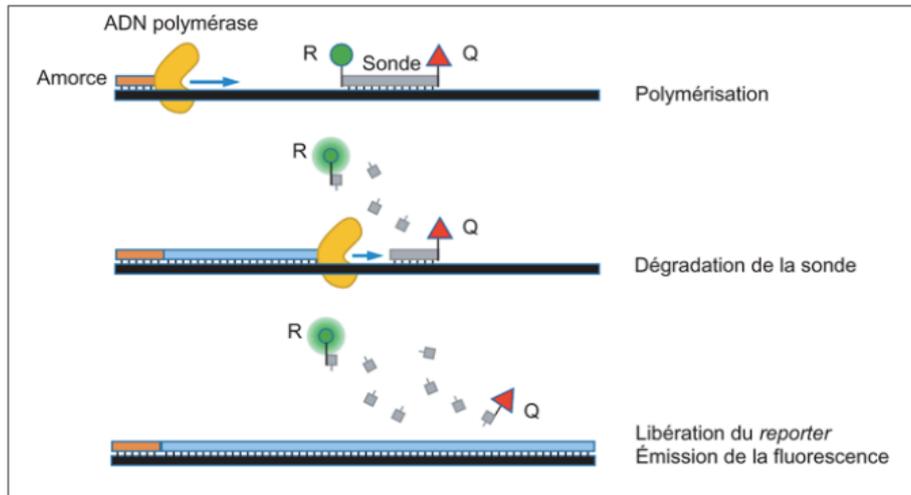


FIGURE 16 : PRINCIPE DE LA PCR TAQMAN®  
 Source : Uhel F, 2019 (53)

Un échantillon homozygote pour l'allèle 1 engendrera 100% de fluorescence VIC®, un échantillon homozygote pour l'allèle 2 engendrera 100% de fluorescence FAM™, et un échantillon hétérozygote engendrera une fluorescence VIC® et FAM™ (figure 17).

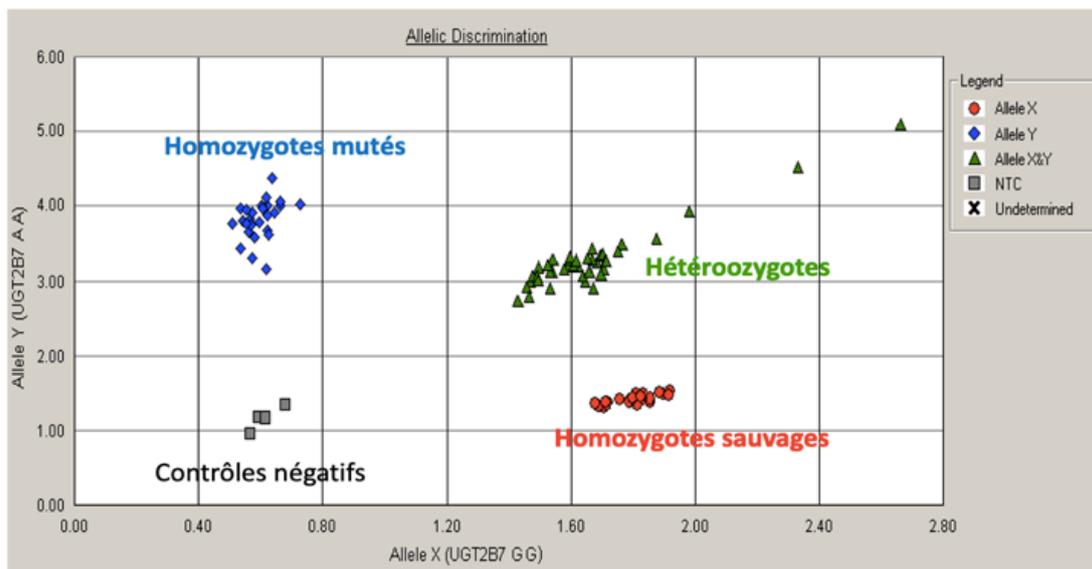


FIGURE 17 : LECTURE DE LA PCR  
 Source : Tinniere G. 2014 (54)

#### 2.1.1.2.2. Principe du séquençage

Le séquençage est une méthode permettant de déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN donné (55).

Le **séquençage de Sanger** ou séquençage de 1<sup>ère</sup> génération est la méthode la plus ancienne et la plus utilisée actuellement dans les laboratoires de diagnostic moléculaire (56). Cette technique est utilisée pour analyser un seul gène ou un petit groupe de gènes. La méthode de séquençage de Sanger demande l'utilisation d'un tube pour chaque type de base, soit 4 tubes contenant :

- Le brin d'ADN à séquencer
- Une séquence amorce
- Des nucléotides (dNTP) permettant d'être ajoutés au brin complémentaire
- L'ADN polymérase qui va permettre l'élongation et donc la formation d'un brin complémentaire
- Des didésoxynucléotides (ddNTP) ou « base stop » correspondant à chaque base, et permettant d'interrompre la polymérisation des chaînes.

L'élongation est assurée par une ADN polymérase pour former des brins d'ADN complémentaires grâce à l'ajout de nucléotides (dNTP). Si une base-stop (ddNTP) est insérée, la synthèse du fragment est interrompue. À la fin des cycles, le mélange contient donc des fragments de tailles différentes (57). Les fragments générés se termineront tous par un ddNTP, ce qui permet de localiser ce nucléotide sur la séquence. Ces fragments d'ADN obtenus sont marqués par une sonde radioactive puis séparés selon leur taille grâce à une électrophorèse. Ils seront ensuite lus par un photorécepteur. Cette approche est chronophage et ne permet d'explorer qu'un nombre limité de gènes (figure 18).

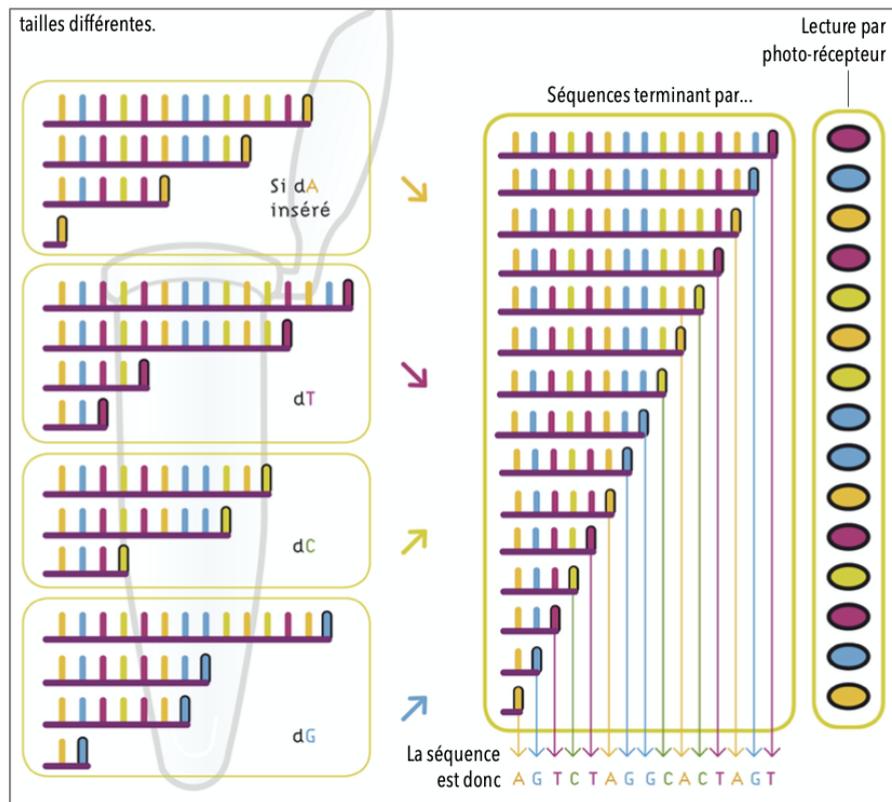


FIGURE 18 : METHODE DE SEQUENÇAGE SELON SANGER  
 Source : André C. 2018

Actuellement, des méthodes de **séquençage haut débit** ou « Next Generation Sequencing » (NGS) sont de plus en plus utilisées. Elles permettent d'augmenter la capacité d'analyse de gènes (meilleur rendement, plus rentable et plus fiable). Ces nouvelles techniques sont en effet capables de séquencer simultanément et indépendamment de 80 mégabases (Mb) à 100 gigabases (Gb) d'ADN, soit 10 000 à 100 000 fois plus que les séquenceurs capillaires les plus performants (56). Il est désormais possible de séquencer non plus un fragment simple d'ADN, mais un mélange complexe, allant jusqu'à un génome entier (58). En pratique, le séquençage haut débit comporte 3 étapes schématisées sur la figure 19 (53) :

- **La réalisation d'une librairie**, qui consiste à produire des copies de courts fragments d'ADN d'intérêt. Il peut s'agir de « capture » (obtenu par hybridation) ou « d'amplicons » (obtenus par PCR). Pour ce faire, il existe des kits d'enrichissement commerciaux pour ligaturer les fragments à de courtes séquences universelles (adaptateurs).
- **L'amplification clonale** de chaque fragment ciblé. Différentes plateformes existent, avec des techniques différentes : support solide (Illumina®), émulsion sur billes (ePCR).
- **Le séquençage parallèle** qui permet une détection par différentes méthodes biochimiques avec, par exemple : le pyroséquençage (figure 5), le séquençage par terminateur

réversible, le séquençage par ligation. Durant le séquençage l'automate va recueillir des données physiques en temps réel.

Il y aura ensuite une dernière étape d'analyse bio-informatique des données.

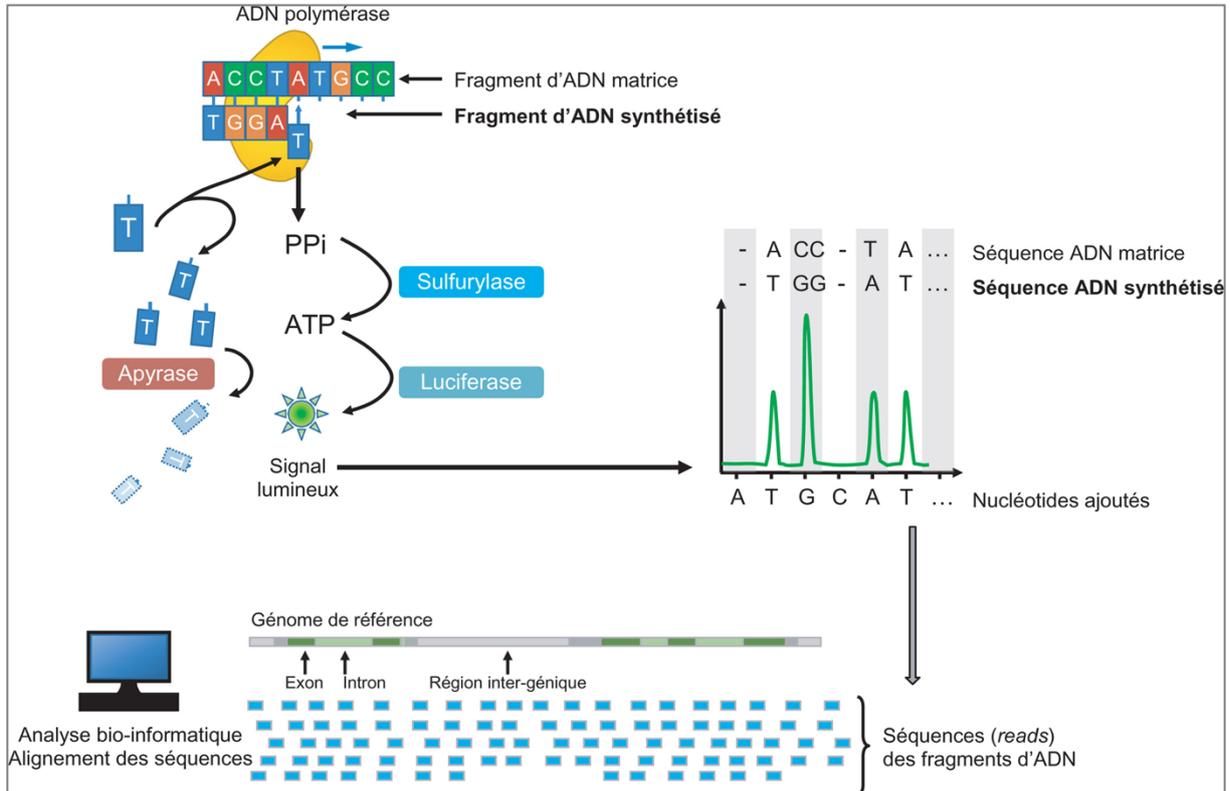


FIGURE 19 : SEQUENÇAGE DE L'ADN A HAUT DEBIT, EXEMPLE DU PYROSEQUENÇAGE

Source : Uhel F, 2019 (53)

L'exploitation des données peut s'avérer problématique avec ces NGS. Il faut réussir à transformer les signaux informatiques bruts en données biologiques exploitables pour le clinicien. Cela s'effectue en plusieurs étapes grâce à des logiciels spécialisés. Dans un premier temps, ils vont transformer les signaux bruts en séquences, qui seront alignées sur un génome de référence afin de leur conférer une localisation génomique. Ensuite, il y aura une recherche de variants par comparaison avec un génome de référence. La dernière étape consiste à annoter ces variants. Différents fichiers aux formats différents sont générés pour chacune des étapes (59).

## 2.1.2. Le phénotypage

### 2.1.2.1. Définition

Le phénotypage est l'identification d'un phénotype, c'est à dire les traits observables chez un patient. Les méthodes de phénotypage reposent sur une mesure directe de l'activité enzymatique. Elles sont principalement applicables dans le domaine des polymorphismes affectant la biodisponibilité des médicaments, et en particulier leur métabolisme.

### 2.1.2.2. Technique de phénotypage

Cela consiste à doser un substrat métabolisé par une enzyme spécifique. Le substrat peut être un médicament (substrat exogène) ou un métabolite (substrat endogène). Un échantillon biologique (urine, sang) est recueilli afin de quantifier le substrat et de son (ou ses) métabolite(s). Les paramètres pharmacocinétiques ou son indice de métabolisation : rapport [molécule métabolisée / molécule inchangée] sont déterminés. Ce rapport est le reflet de l'activité enzymatique étudiée. Les résultats obtenus permettent de définir un profil métabolique individuel pour un patient donné (30).

Il est possible de distinguer le phénotypage isolé et le phénotypage simultané. Dans le 1<sup>er</sup> cas un substrat test spécifique à une enzyme est administré. Dans le 2<sup>nd</sup> cas, plusieurs substrats tests spécifiques sont administrés. Cela permet de détecter de manière simultanée l'activité enzymatique de multiples enzymes dans un test unique.

Cette technique comporte quelques limites. Tout d'abord l'activité de l'enzyme n'est pas permanente et peut varier. Cette variation peut être liée à une co-administration avec d'autres médicaments ou à une diminution pathologique du métabolisme (comme c'est le cas chez des patients ayant une fonction hépatique altérée). Il est donc important de renouveler le test en cas de suspicion de modification du métabolisme (apparition d'une toxicité).

Dans le cas des substrats exogènes, un grand nombre de médicaments peuvent être utilisés tels que la caféine (phénotypage du CYP1A2), l'oméprazole (phénotypage du CYP2C19), le midazolam (phénotypage du CYP3A), le dextrometorphane (phénotypage du CYP2D6), le losartan, la warfarine ou l'ibuprofène (phénotypage du CYP2C9), .... La survenue

d'effets secondaires avec ces substrats tests ou leur contre-indication médicale est une seconde limite à cette technique. En pratique courante, l'utilisation des substrats exogènes reste très limitée.

## **2.2. TESTS PHARMACOGÉNÉTIQUES ET RECOMMANDATIONS ASSOCIÉS EN ONCOLOGIE**

### **2.2.1. Test pharmacogénétique DPD et fluoropyrimidines**

#### **2.2.1.1. Pharmacologie du 5-fluorouracile et de la capécitabine**

La capécitabine (Xeloda®) est un médicament anticancéreux de la classe des antimétabolites analogue de la pyrimidine. Il s'agit du précurseur du 5-fluorouracile (5-FU) (60). Contrairement au 5-FU, il est administré par voie orale et permet la prise en charge ambulatoire des patients traités par le fluoropyrimidine. Cette molécule est principalement indiquée dans la prise en charge des cancers colorectaux, des cancers gastriques et des cancers du sein. Sa posologie est de 1250 à 2500 mg/m<sup>2</sup>/jour en fonction du plan de prise et de l'existence d'une radiothérapie ou d'une chimiothérapie concomitante.

##### **2.2.1.1.1. Pharmacocinétique**

Après avoir été administrée par voie orale, la capécitabine est rapidement absorbée. La capécitabine et ses métabolites sont peu liés aux protéines plasmatiques. Elle diffuse rapidement et a une affinité particulière pour les tissus de la tumeur par rapport aux tissus sains. Concernant son métabolisme (figure 20) celui-ci a lieu principalement dans le foie (61). La capécitabine est une prodrogue qui nécessite une métabolisation en 5-FU (62).

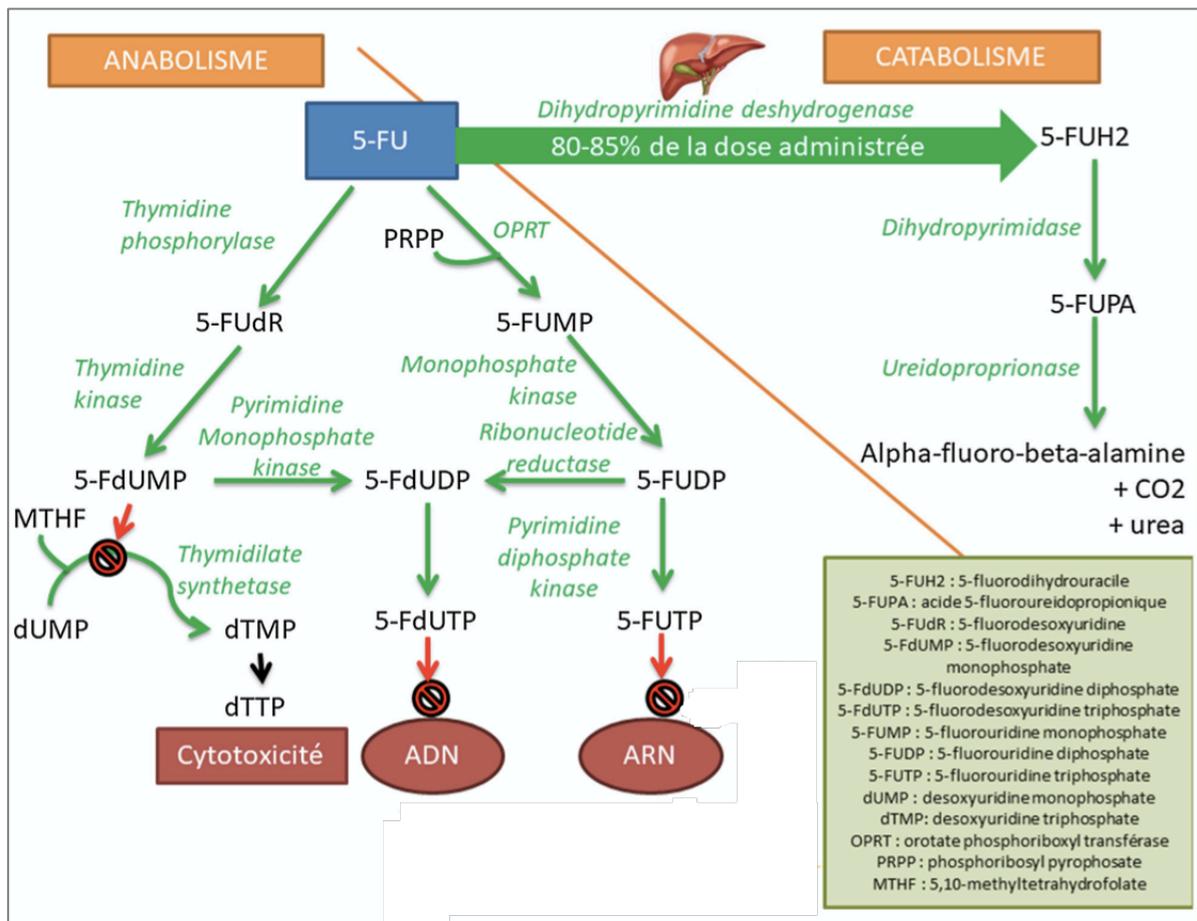


FIGURE 20 : METABOLISME DU 5-FU  
 Source : Launay, 2018 (62)

Elle sera d'abord métabolisée en 5'désoxy-5-fluoro-cytidine (5'dFCR) par la carboxylestérase hépatique puis en 5'désoxy-5-fluoro-uridine (5'dFUR) par la cytidine-désaminase (présente dans le foie ou la tumeur) avant d'être transformée en 5-FU par la thymidine-phosphorylase (ThyPase).

- **Anabolisme** : Seule une faible fraction du 5-FU est métabolisée en métabolites actifs. Ces composés cytotoxiques s'incorporent dans la biosynthèse des acides nucléiques et la perturbent. Il existe 3 voies anaboliques majeures donnant naissance à différents composés :
  - o La voie du 5-fluorodésoxyuridine monophosphate (5-FdUMP)
  - o La voie du 5-FU-triphosphate (5-FUTP)
  - o La voie du FU-monophosphate (5-FdUTP)
- **Catabolisme** : Le 5-FU est très majoritairement (80-85%) catabolisé par la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) (63). Cette enzyme réduit le 5-FU en 5-fluorodihydrouracile (5-FUH2) dans les lymphocytes et la plupart des tissus. Au niveau du

foie, la dihydropyrimidinase, catabolise le 5-FUH2 en acide 5-fluorouréidopropionique (5-FUPA). Enfin, la  $\beta$ -uréidopropionase, transforme finalement le 5-FUPA en  $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine (FBAL) et en urée (64).

Enfin, la capécitabine et ses métabolites sont éliminés principalement par voie urinaire, à 95,5%.

#### 2.2.1.1.2. Pharmacodynamie

Les 3 métabolites principaux ont une activité antimétabolite (65) :

- Le **5-FdUMP** en présence de 6-méthylènetétrahydrofolate se lie à la thymidilate-synthétase (TS). Il en résulte un blocage de la méthylation de l'uracile en thymine avec une inhibition de la synthèse d'ADN et un arrêt de la prolifération cellulaire.
- Le **5-FUTP** est incorporé à la place de l'uracile dans les ARNs. Cela génère des erreurs de lecture du code génétique lors de la synthèse de protéines et d'enzymes, mais aussi la production de coenzymes inefficaces et de ribosomes immatures.
- Le **5-FdUTP** est incorporé dans l'ADN et va le fragmenter.

Le 5-FU perturbe la synthèse de l'ADN et inhibe la synthèse de l'ARN et des protéines. Ainsi la division et la croissance de la cellule ne sont plus possibles ce qui entraîne la mort cellulaire.

#### 2.2.1.2. Intérêt du test

Le 5-FU est un médicament prescrit très fréquemment dans le cas de tumeurs solides. D'après l'Institut National du Cancer (INCa), 155 794 patients ont été traités par une fluoropyrimidine dans le cadre de leur traitement anticancéreux en France en 2015 (66). C'est environ 80 000 patients exposés par an actuellement (11).

Comme de nombreux cytotoxiques, ses effets secondaires sont importants. Les principaux effets indésirables rencontrés sont notamment d'ordre gastro-intestinaux (stomatites, diarrhées, nausées et vomissements) et hématologiques (neutropénie, anémie et thrombopénie). Il existe également une toxicité cutanée non négligeable (syndrome mains pieds, dermatite et sécheresse cutanée). Des cas de toxicité hépatique cardiaque et respiratoire ont été décrits ainsi que des troubles musculo-squelettiques et une grande

asthénie (11) (68) (63). Le 5-FU injectable et la capécitabine induisent des toxicités sévères (de grade 3 et 4) chez 10-40 % des patients et des toxicités létales (de grade 5) chez 0,2–0,8 % des patients (66).

La clairance d'élimination du 5-FU est sous influence de l'enzyme DPD. Son activité est extrêmement variable. Cette variation interindividuelle s'explique en partie par la génétique. La protéine DPD est codée par le gène *DPD* situé sur la centromérique du chromosome 1 au niveau 1p22. Le gène se compose de 23 exons (950 kb). En cas de polymorphisme génétique, une diminution de l'activité de l'enzyme DPD peut être à l'origine d'un surdosage et d'une toxicité accrue lors de l'administration d'une dose standard de 5-FU. Il y a 35 ans, Tuchman M. avait déjà identifié des cas de toxicités sévères et létales chez des patients déficitaires en DPD (69). Depuis, la littérature est très abondante concernant le lien entre le déficit en DPD et le risque de toxicité sévère associé, en particulier digestive, cutanée et hématologique (70). Il semblerait que 3 à 5% des caucasiens soient porteur d'un déficit partiel majeur. La prévalence du déficit complet serait comprise entre 0,02 et 0,3% (71).

Le seul antidote au surdosage en 5-FU, l'uridine triacetate (Vistogard®) n'agit pas sur la voie catabolique du DPD. Il agit comme un substrat qui va entrer en compétition avec les métabolites actifs du 5-FU. Il n'est d'ailleurs disponible que sous ATU, dans le cadre des surdosages accidentels survenant dans les 96h suivant l'administration d'une dose supra-thérapeutique de 5-FU. De plus ce médicament n'est pas disponible en France ou en Europe et demande un délai de 36h pour son acheminement (62). Il est donc primordial d'identifier tous les patients ayant un risque de toxicité majoré avant de débiter le traitement afin de pouvoir diminuer la posologie, voire de changer de chimiothérapie anticancéreuse.

### **2.2.1.3. Recommandations relatives à la réalisation du test**

Sur la base des recommandations du Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique (GPCO) et du réseau national de pharmacogénétique (RNPGx), appuyées par l'ANSM, le dépistage systématique d'un déficit en DPD est désormais obligatoire avant toute mise en route de traitement par 5-FU ou sa prodrogue, la capécitabine (72). Depuis 2019, le résumé des caractéristiques du produit (RCP) du 5-FU précise que la prescription et la délivrance sont dépendants de l'obtention du résultat du dépistage d'un déficit en DPD (73). Le médecin doit

mentionner sur la prescription « *résultats uracilémie pris en compte* » et le pharmacien doit s'en assurer lors de la dispensation. Pour les patients dont le gène *DPD* est muté ou dont l'activité de l'enzyme est diminuée, une réduction de la dose initiale administrée ainsi qu'une adaptation posologique en cas de toxicité sont recommandées. Un contrôle de la concentration sanguine du 5-FU pourra être prescrit chez le patient après l'initiation du traitement afin de s'assurer que la diminution de posologie n'ait pas un impact sur l'efficacité du traitement (concentration infra-thérapeutique). En cas de risque toxique léthal, un changement de chimiothérapie doit être envisagé. Cela peut poser un problème dans certains cancers (colon, rectum), en l'absence d'alternatives thérapeutiques.

Concernant le **génotypage**, la recherche de 4 variants est actuellement conseillée pour le dépistage de déficit en DPYD :

- L'allèle *DPYD\*2A* (correspondant au polymorphisme c.1905+1G>A ou identifiant rs3918290),
- L'allèle *DPYD\*2A* (correspondant au polymorphisme c.2846A>T ou identifiant rs67376798),
- L'allèle *DPYD\*13* (correspondant au polymorphisme c1679T>G ou identifiant rs55886062),
- L'allèle *HapB3* (correspondant au polymorphisme c1236G>A ou identifiant rs56038477)

La présence de variants ne signifie pas toujours que le patient développera une toxicité importante. Le variant dont la fonctionnalité est la mieux établie et qui influence en partie la réponse au 5-FU est l'allèle *DPYD\*2A* (rs3918290). Situé dans un site d'épissage alternatif, il occasionne une délétion de 165 pb correspondant à l'exon 14.

Le **phénotypage** est le test obligatoire avant toute délivrance de 5-FU ou de capécitabine. Certains laboratoires réalisent la mesure directe de l'activité DPD dans les cellules mononuclées du sang périphérique (lymphocytes et monocytes) par une méthode radio-enzymatique. Cependant, cette méthode est coûteuse. La méthode la plus pratiquée est une méthode indirecte qui consiste à mesurer la concentration d'un substrat endogène de l'enzyme DPD appelé uracile dans un échantillon sanguin. Il peut éventuellement être complété par le dosage de son métabolite le dihydrouracile afin de calculer le rapport [dihydro-uracile/ uracile plasmatique] (également noté UH2/U).

Les valeurs seuils de la concentration en uracile sont les suivantes :

- Lorsque l'uracilémie est supérieure ou égale à 150 ng/mL, il y a un déficit complet en DPD associé à un risque de toxicité très sévère aux fluoropyrimidines. Le 5-FU et ses dérivés sont formellement contre-indiqués.
- Lorsque l'uracilémie est comprise entre 16 ng/mL et 150 ng/mL, il existe un déficit partiel en DPD associé à un risque accru de toxicité aux fluoropyrimidines. La posologie doit être ajustée chez le patient. Il est recommandé de réduire la dose d'anticancéreux de 50% par rapport à la dose standard. Ensuite, le clinicien pourra adapter cette dose en fonction de la tolérance ou d'un dosage pharmacocinétique sanguin du 5-FHU et de son métabolite, le 5-FUH2.

Le choix des valeurs seuils utilisées pour l'interprétation du rapport UH2/U peut varier d'un laboratoire à l'autre car il existe une hétérogénéité des méthodes analytiques. Dans la littérature, ces valeurs oscillent entre 0 et 4 (voire 6) en cas de présence d'un déficit. La valeur permet de statuer sur la profondeur du déficit, qui peut être partiel, modéré, intermédiaire, profond ou complet. Lorsque la valeur est supérieure à 6, il y a une absence de déficit, ou un déficit qualifié de « partiel » si les concentrations en uracile sont inférieures à 100 ng/mL. Il n'existe donc pas de valeur consensuelle pour ce ratio, mais les experts s'accordent à dire que les patients déficitaires complets présentent des valeurs extrêmes du rapport UH2/U.

## **2.2.2. Test pharmacogénétique TPMT et thiopurines**

### **2.2.2.1. Pharmacologie des thiopurines**

L'azathioprine ou AZA (Imurel®) et son métabolite la 6-mercaptopurine ou 6-MP (Purinéthol®) sont des antimétabolites immunosuppresseurs de la famille des thiopurines (analogues des purines). Leur première utilisation chez l'homme date de 1962. L'AZA est prescrit dans la prévention des rejets aigus du greffon mais aussi dans les maladies dysimmunitaires telles que : les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI), la polyarthrite rhumatoïde (PR), le lupus érythémateux disséminé, le plus souvent dans les formes sévères de ces maladies. Le 6-MP est principalement indiqué dans le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) et des leucémies aiguës myéloblastiques (LAM). Les posologies recommandées par le Vidal sont 1 à 3 mg/kg/j pour l'AZA et 2,5 à 5 mg/kg/j pour le 6-MP selon les indications. Lors de

l'initiation du traitement, il est recommandé d'utiliser une dose comprise entre 2 et 2,5 mg/kg/j pour l'AZA et entre 1 et 1,5 mg/kg/j pour le 6-MP. Cette dose peut être adaptée en fonction de la réponse clinico-biologique, de la tolérance et des résultats des dosages sanguins (74).

#### 2.2.2.1.1. Pharmacocinétique

L'**absorption** de l'AZA est incomplète (50 à 72%) et variable. Sa **distribution** est uniforme dans tous les tissus à l'exception du LCR, dans lequel ses concentrations sont faibles. L'AZA est peu lié aux protéines plasmatiques (30%). Concernant sa **métabolisation** ; l'AZA est transformé de façon non enzymatique en présence de glutathion en 6-MP après la perte de son noyau imidazolé dans le globule rouge. Le 6-MP est transporté vers les cellules et sera au carrefour de trois voies enzymatiques compétitives (Figure 21) (75):

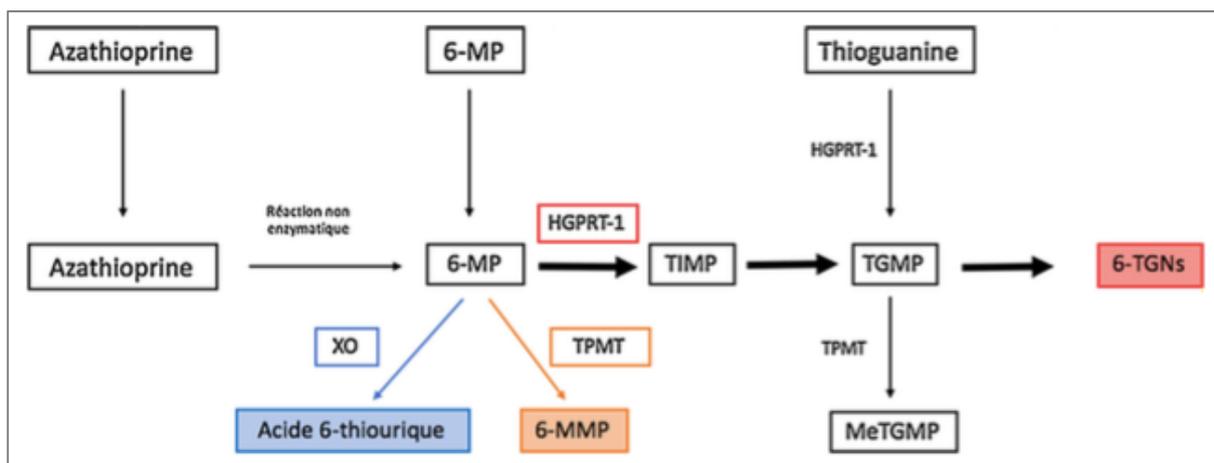


FIGURE 21 : MÉTABOLISME DE L'AZA.

Source : Guillotin V, 2017 (75)

- La voie de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase 1 (**HGPRT-1**). Le 6-MP est transformé en thioinosine monophosphate (TIMP) puis en thioguanine monophosphate (TGMP) aboutissant à la formation de métabolites actifs (6-TGNs) qui iront s'incorporer à l'ADN et à l'ARN en tant que fausse base.
- La voie de la xanthine oxydase (**XO**), qui permet la détoxification de 6-MP intracellulaire en acide 6-thiourique inactif.

- La voie de la thiopurine méthyltransférase (**TPMT**), qui permet la détoxification de 6-MP intracellulaire en 6-méthyl mercaptopurine (6-MMP) inactif.

La voie de la TPMT permet donc de diminuer la quantité de 6-MP circulante en la transformant en 6-MMP. Cela a pour conséquence de diminuer la quantité de 6-MP empruntant la voie de l'HGPRT-1 responsable de l'activité thérapeutique de l'AZA.

**L'élimination** se fait sous forme urinaire et fécale.

#### 2.2.2.1.2. Pharmacodynamie

Les pseudo-nucléotides (6-TGNs) formés durant la métabolisation inhibent la phosphoribosyl-pyrophosphate amidotransférase entraînant une inhibition de la synthèse de novo des purines. Ils sont également incorporés dans les acides nucléiques, ce qui provoque des cassures simples brins et un blocage en phases G2-M du cycle cellulaire. La protéine RAC-1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1) est la cible des 6-TGNs phosphorylés. Cette protéine joue un rôle dans la stimulation des lymphocytes T-CD28 (76) (figure 22). Sans cette stimulation, l'apoptose est induite (77). La synthèse lymphocytaire étant inhibée, la réponse immunitaire sera diminuée chez le patient. L'action cytotoxique est principalement exercée sur les lymphocytes T et, dans une moindre mesure, sur les lymphocytes B et les cellules NK (Natural Killer). L'AZA inhibe aussi la réponse à des mitogènes et les réactions lymphocytaires mixtes.

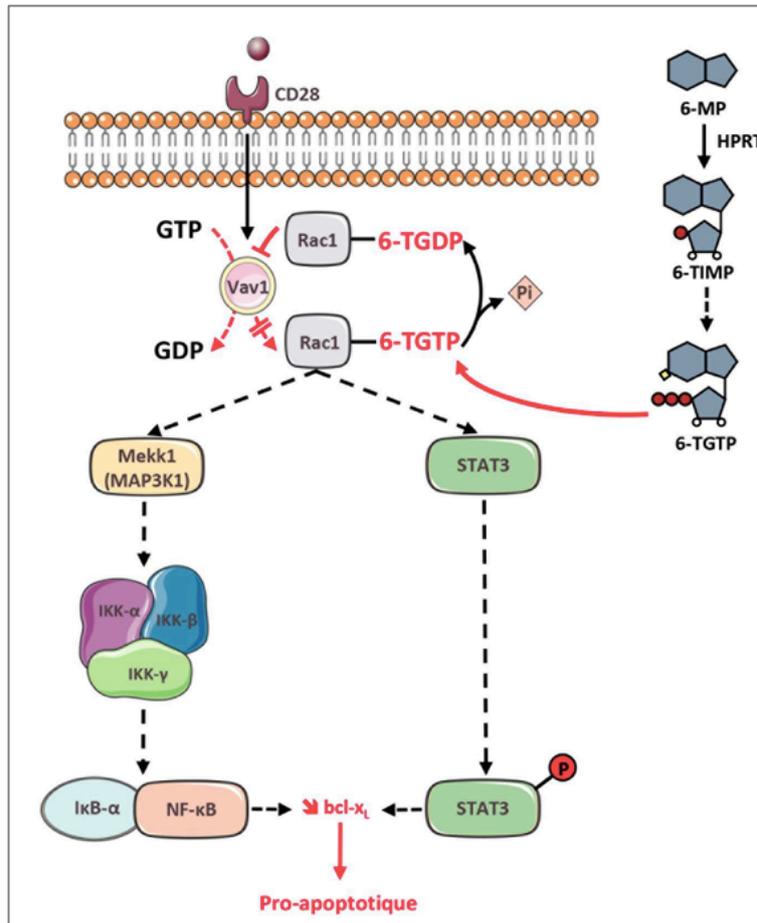


FIGURE 22 : MÉCANISME D'ACTION DE L'AZATHIOPRINE VIA RAC1  
 Source : Adapté de Tide et al. 2003 et de Poppe et al. 2006 par Chouchana L.

#### 2.2.2.2. Intérêt du test

L'AZA est un anticancéreux qui a pour principal effet secondaire une toxicité hématologique. Il existe une myélosuppression dose-dépendante avec une forme précoce et sévère prédictible par la mesure de l'activité de la TPMT ainsi que des formes tardives imprévisibles. Dix à trente pour cent des patients ne tolèrent pas leur traitement à cause des effets secondaires pouvant mettre en jeu le pronostic vital (77).

Depuis les années 1980, un facteur génétique responsable de la toxicité hématologique a été identifié. La TPMT est une enzyme de phase II qui assure la S-méthylation des cycles aromatiques et des hétérocycles sulfhydriles des thiopurines afin de les rendre inactifs. C'est une enzyme cytoplasmique de 34 Kpb qui est composée de 254 acides aminés. Elle est présente dans de nombreux tissus et notamment dans le cœur, les cellules sanguines, le placenta, l'intestin. Le gène codant pour cette enzyme est localisé sur le chromosome 6q22.3

et est composé de 10 exons. Actuellement 37 polymorphismes ont été identifiés. Il s'agit pour la plupart de SNP. L'allèle sauvage (non muté) présent chez 92 à 98% des patients est nommé TPMT\*1. Le TPMT\*1 est associé au phénotype « métaboliseur rapide » et à une concentration intra-érythrocytaire en 6-TGNs plus faible.

Les variants les plus étudiés sont (29) (figure 23). :

- TPMT\*2 (identifiant rs1800462, correspondant au polymorphisme c.238G>C, Pro80Ala),
- TPMT\*3A (identifiant rs1800460 correspondant au polymorphisme c.460G>A, Ala154Thr et identifiant rs1142345 correspondant au polymorphisme c.719A>G, Tyr240Cys)
- TPMT\*3B (identifiant rs1800460 correspondant au polymorphisme c.460G>A, Ala154Thr)
- TPMT\*3C (identifiant rs1142345 correspondant au polymorphisme c.719A>G, Tyr240Cys)

Leur fréquence allélique varie en fonction de l'appartenance ethnique (75). Chez les Occidentaux la fréquence allélique est de 0,1 pour le variant TPMT\*3A. Le variant TPMT\*3C possède une fréquence allélique de 0,01 à 0,02 chez les Occidentaux et les Asiatiques et 0,06 chez les sujets d'origine Africaine (78).

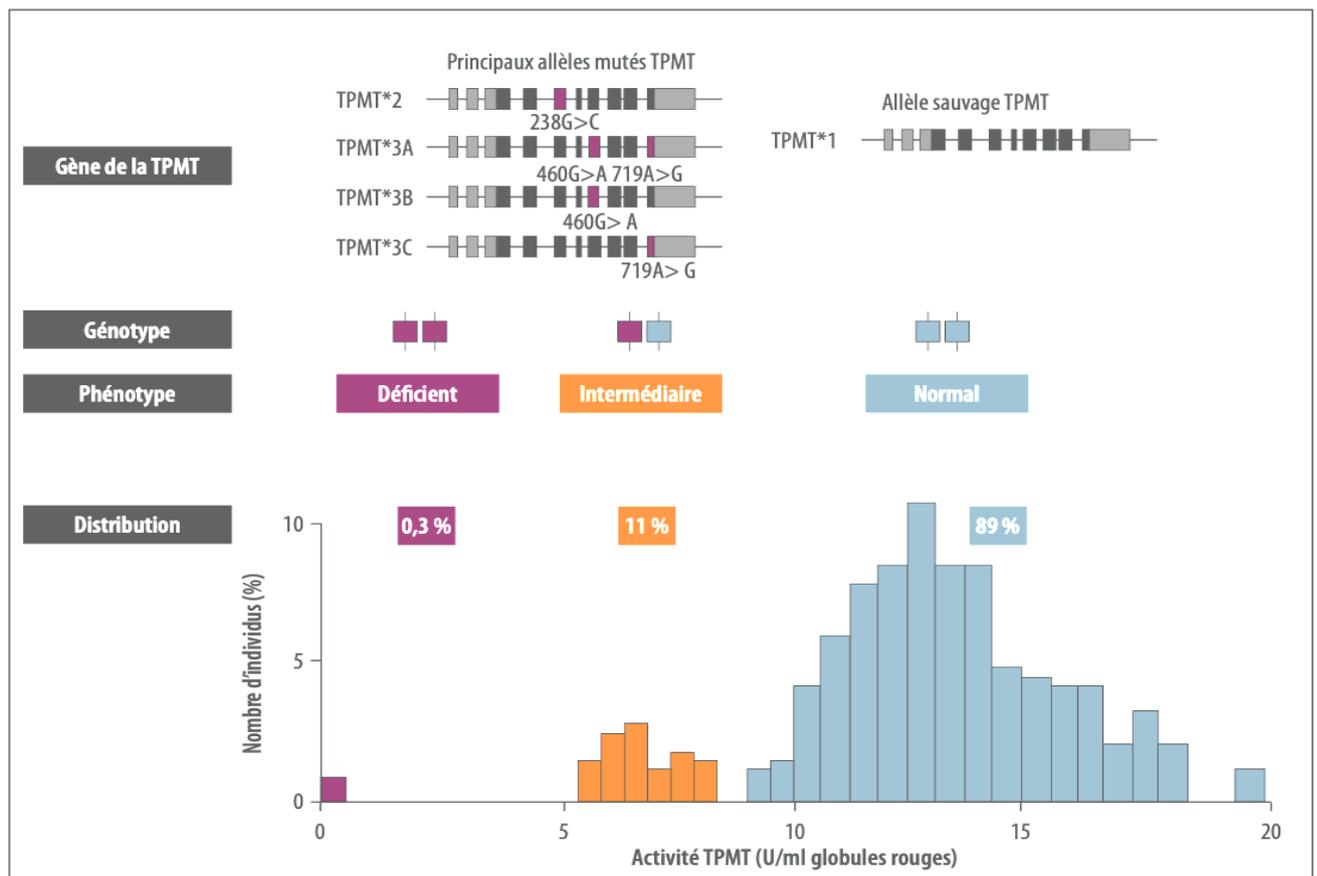


FIGURE 23 : POLYMORPHISME DU GÈNE TPMT ET REPRÉSENTATION DANS LA POPULATION

Source : Guillotin V, 2017 (75)

Cependant, d'autres gènes moins étudiés peuvent contribuer à la toxicité de l'AZA : le gène *NUDT15* et le gène *ITPA* (79).

### 2.2.2.3. Recommandations relatives à la réalisation du test

**Le phénotypage** de la TPMT consiste à mesurer l'activité de la TPMT érythrocytaire. Il existe une relation inverse entre la concentration intra érythrocytaire des thioguanines et l'activité enzymatique de la TPMT leucocytaire. Il existe 2 méthodes de dosage : radiochimique ou par chromatographie liquide haute performance (CLHP).

**Le génotypage** de la TPMT consiste à rechercher la présence de 3 mutations :

- G460>A (TPMT\*3A),
- A719>G (TPMT\*3C et TPMT\*3A)
- G238>C (TPMT\*2)

Le RNGPx évalue cette recommandation comme étant indispensable notamment dans la prévention des myélotoxicités induites dans le cas de LAL (leucémies aiguës lymphoblastiques) (72). La seule recherche de ces 3 mutations permet de détecter plus de 95% des sujets génétiquement déficients. Le génotypage de la TPMT est une mise en garde et précaution d'emploi avant d'initier un traitement par AZA. Chez les patients déficitaires homozygotes, il existe un risque important de développer une toxicité hématologique par accumulation de 6-TGNs cytotoxiques. Pour ces patients, le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) de l'AZA indique de s'orienter vers un autre traitement non thiopurinique. Si ce n'est pas possible, il est recommandé de diminuer la posologie initiale à 10% de la dose usuelle et de réaliser une administration seulement 3 fois par semaine. Les patients hétérozygotes présentent également un risque accru de toxicité. Le RCP mentionne de réduire la posologie initiale de 30 à 70% (soit 1 à 1,5 mg/kg/jour). Chez ces patients, une surveillance régulière de la numération formule sanguine ainsi qu'un dosage érythrocytaire des métabolites actifs (6-TGNs) sont recommandés après l'instauration du traitement. Il est également possible de proposer un dosage des métabolites 6-MMP inactifs, corrélés au risque de développer une toxicité hépatique. Ainsi, une activité trop forte de la TPMT entraînera une augmentation de la 6-MMP et une diminution des 6-TGNs. Dans ce cas, l'augmentation des doses d'AZA n'aura aucune conséquence thérapeutique mais potentialisera les effets hépatotoxiques chez les patients «

shunters ». Le dosage des métabolites peut être recommandé dans le suivi du traitement pour distinguer les patients « shunters », sous dosés, non observants, ou résistants.

### **2.2.3. Test pharmacogénétique UGT1A1 et irinotécan**

#### **2.2.3.1. Pharmacologie de l'irinotécan**

L'irinotécan (IRT) est un médicament antinéoplasique disponible uniquement en milieu hospitalier. C'est un inhibiteur de topoisomérase de type 1 disponible en France depuis 25 ans. Actuellement deux spécialités contenant la substance active sont commercialisées : Onivyde® et Campto®. Campto® est surtout utilisé en association pour traiter des tumeurs solides métastatiques ou avancées dans certains cancers tels que les cancers colorectaux. Il est généralement associé au 5-FU dans le protocole « FOLFIRI » ou encore au 5-FU et à l'oxaliplatine dans le protocole « FOLFORINOX ». Il peut également être associé à certains anticorps monoclonaux tels que le cétuximab ou le bevacizumab. Depuis 2015, une formulation liposomale PEGylée de l'IRT, Onivyde®, possède une AMM dans certains cancers pancréatiques (80). La posologie recommandée en monothérapie est de 350 mg/m<sup>2</sup> de Campto® administré en perfusion intraveineuse de 30 à 90 minutes toutes les 3 semaines. En association au 5-FU, la dose recommandée est de 180 mg/m<sup>2</sup> toutes les 2 semaines.

##### **2.2.3.1.1. Pharmacocinétique**

Le pic plasmatique du métabolite actif, le SN-38, est atteint 1h30 après le début de la perfusion. La liaison aux protéines plasmatiques est d'environ 65 % pour l'IRT et de 95 % pour le SN-38.

Le **métabolisme** de l'IRT a lieu au niveau du foie (figure 24). Il peut être séparé en 2 phases (81) :

- L'hydrolyse en molécule active : l'IRT est une prodrogue qui sera métabolisée en 7-éthyl 10-hydroxycamptothécine (SN-38). Ce dérivé actif, 100 à 1000 fois plus puissant, est métabolisé par la carboxylestérase 2.
- L'inactivation de la molécule active : le SN-38 est ensuite glucuronoconjugué par une l'uridine diphosphate-glucuronyltransférase de type 1 (UGT1A1) en un dérivé inactif et atoxique : le SN-38 glucuronide (SN-38G), qui sera éliminé par la bile et les urines.

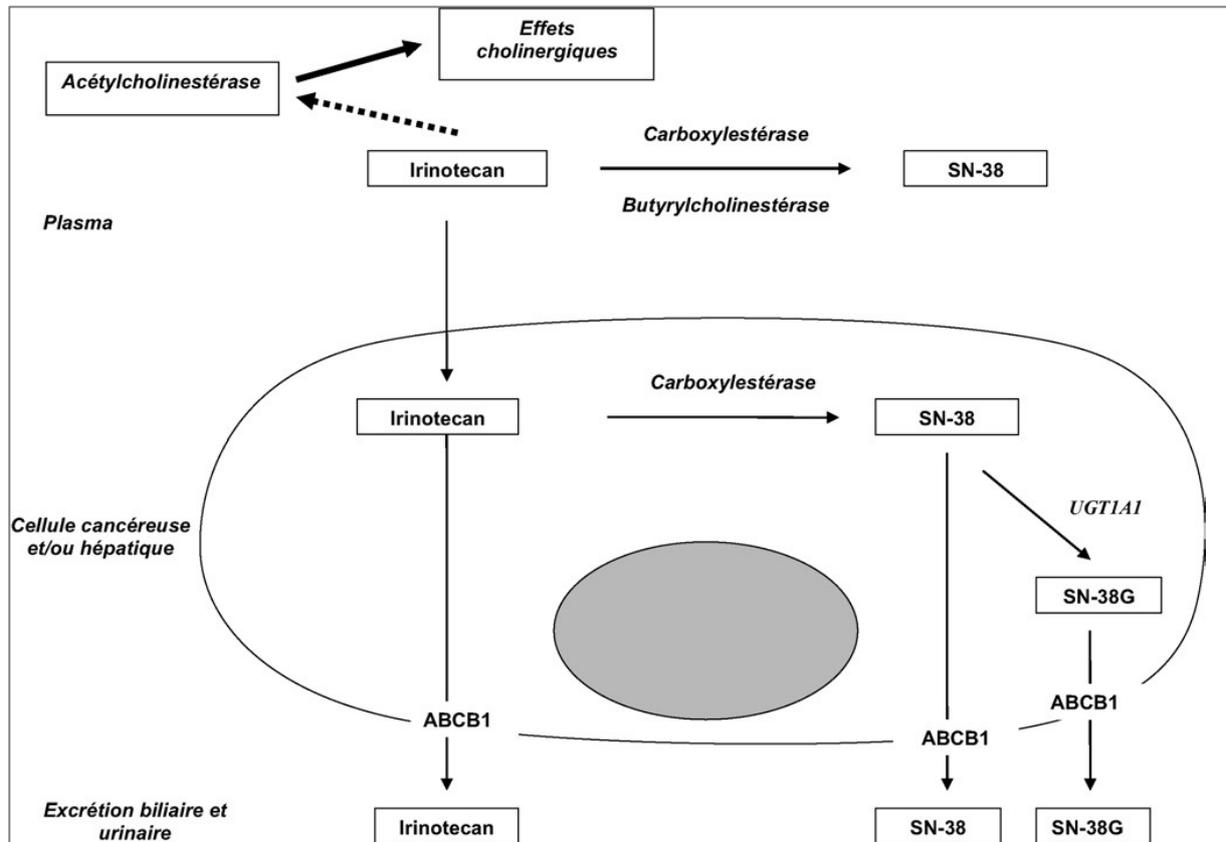


FIGURE 24 : METABOLISME DE L'IRT

Source : Ceppa, 2017 (81)

Il est important de souligner que le SN-38G peut subir un cycle entérohépatique. Il peut donc subir une déconjugaison sous l'action de bactéries intestinales. Il sera donc actif et toxique au niveau intestinal pour les cellules à renouvellement rapide (81).

Des métabolites inactifs de l'IRT appelés NPC (7-éthyl-10-[4-(1-pipéridino)-1-amino]carbonyloxycamptothécine) et APC (7-éthyl-10-[4-N-(acide-5-aminopentanoïque)-1-pipéridino]carbonyloxycamptothécine) sont produits par action des CYP3A.

Concernant l'élimination, 50 % de la dose d'IRT administrée par voie intraveineuse est excrétée sous forme inchangée, dont 33 % principalement dans les fèces et 22 % dans les urines. La clairance plasmatique moyenne est de 15 L/h/m<sup>2</sup>.

#### 2.2.3.1.2. Pharmacodynamie

L'IRT est un inhibiteur de topoisomérase I. La topoisomérase I nucléaire est une enzyme qui assure la relaxation de l'ADN et permet le bon déroulement de la transcription et de la

réplication ainsi que leur coordination. Elle joue également un rôle dans la recombinaison et la détection des dommages de l'ADN. Comme cela a été préalablement décrit, l'IRT est métabolisé par la carboxylestérase dans la plupart des tissus en SN-38, qui est le métabolite actif de l'IRT. Le SN-38 transforme la topoisomérase I en un poison cellulaire en inhibant l'étape de religation, ce qui se traduit par une « stabilisation » du complexe covalent ADN-enzyme, appelé complexe de clivage. Cela génère des coupures monobrin de l'ADN qui perturbent les phénomènes de réplication de l'ADN au niveau de la fourche de réplication et sont à l'origine de la mort cellulaire.

#### 2.2.3.2. Intérêt du test

Les effets secondaires de l'irinotécan sont principalement : la myélosuppression, la neutropénie et les diarrhées (aigues ou retardées). Bien que la toxicité de l'IRT dépende des gènes du CYP3A et ABC, c'est la variance génétique de l'UGT1A qui est la plus documentée et étudiée actuellement. Ainsi, la toxicité de l'IRT est dose-dépendante et inversement corrélée à l'activité de l'UGT1A1. Ainsi, en cas de diminution de son activité, il y a une accumulation de SN-38 toxique pour les cellules intestinales entraînant une diarrhée de grade 3 ou 4 et des neutropénies plus fréquentes. Plus de 60 variants génétiques ont été décrits sur le gène codant pour l'UGT1A1 dont certains ont été corrélés à son activité. Le gène de l'UGT1A1 est situé en position 2q37 et composé de 5 exons. Dans la famille des gènes de l'UGT1A, seul l'exon 1 est variable, définissant une spécificité de substrat. L'exon 1 possède son propre promoteur qui est une TATA box. Dans la population générale, cette TATA box comporte 6 répétitions du motif dinucléotidique « TA » schématisé (TA)<sub>6</sub>TAA. Le polymorphisme provient de l'insertion d'un ou plusieurs dinucléotide(s) « TA » dans la TATA box à l'origine d'un déficit enzymatique. Le nombre de répétition « TA » porté par le patient peut aller de 5 à 8 et il est proportionnel au déficit enzymatique. L'allèle variant hébergeant sept répétitions « TA » correspondant à la séquence (TA)<sub>7</sub>TAA est l'allèle UGT1A1\*28 (82). La bilirubine étant un substrat de l'UGT1A1, l'homozygotie pour l'allèle UGT1A1\*28, à l'origine d'un déficit partiel de l'activité UGT1A1, est associée à une hyperbilirubinémie (maladie de Gilbert). Ce variant allélique est présent chez 40% des caucasiens, 45% des afro-américains et 10% des japonais. Les sujets homozygotes pour l'allèle UGT1A1\*28 représentent environ 15 % de la population caucasienne.

### 2.2.3.3. Recommandations relatives à la réalisation du test

Actuellement en France, le génotypage n'est pas systématiquement réalisé avant la mise en œuvre d'un traitement par IRT. Dans le RCP des différents médicaments contenant de l'IRT il est simplement mentionné des précautions d'emploi ou des adaptations de posologies. Cependant le génotypage est recommandé en pré-thérapeutique dans le cadre du protocole FOLFIRI fort. Ces recommandations sont schématisées ci-dessous (figure 25) par Boyer et al. grâce à un arbre décisionnel d'aide à la prescription d'IRT (83).

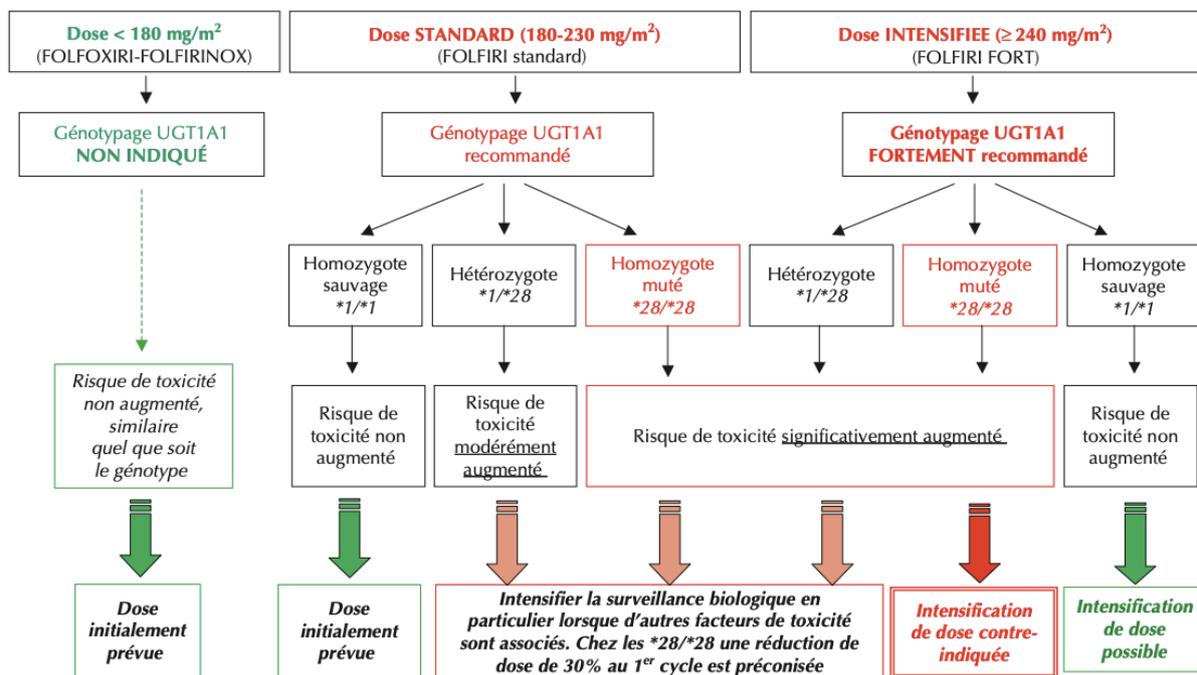


FIGURE 25 : ARBRE DECISIONNEL D'AIDE A LA PRESCRIPTION D'IRINOTECAN

Source : Boyer, 2014 (83)

Le RNPgX recommande le génotypage de l'UGT1A1 avant la mise en œuvre d'un traitement par IRT (20). Le génotypage repose principalement sur la recherche de la mutation \*28. Les recommandations émises sont fonction des doses d'IRT :

- Pour des faibles doses (moins de 180 mg/m<sup>2</sup>/semaine) le génotypage UGT1A1 n'est pas indiqué. Dans ce cas, la présence de l'allèle UGT1A1\*28 n'est pas un facteur de risque majeur de toxicité.
- Pour des doses standard (180 – 230 mg/m<sup>2</sup>) les patients porteurs de de l'allèle UGT1A1\*28 ont un risque de toxicité augmenté. Le génotypage est donc recommandé ainsi que

l'intensification de la surveillance biologique. Pour les patients homozygotes mutés \*28/\*28 une réduction de dose de 30% au cours du 1<sup>er</sup> cycle est préconisée.

- Pour les hautes doses (supérieures ou égales à 240 mg/m<sup>2</sup>) les recommandations sont les mêmes que pour les doses standard, cependant il sera contre indiqué d'intensifier les doses chez les patients homozygotes mutés \*28/\*28.

## **2.2.4. Test pharmacogénétique MTHFR et méthotrexate**

### **2.2.4.1. Pharmacologie du méthotrexate**

Le méthotrexate (MTX) est un antimétabolite analogue naturel de l'acide folique. Il peut être administré par voie orale (Imeth<sup>®</sup>, Novatrex<sup>®</sup>) ou par voie injectable (Metoject<sup>®</sup>, Nordimet<sup>®</sup>, Prexate<sup>®</sup>, Ledertrexate<sup>®</sup>). Il est indiqué en cancérologie dans le traitement de diverses hémopathies (leucémie lymphoblastique) ou de tumeurs solides. Les posologies varient en fonction des indications et des protocoles : de 15 à 50 mg/m<sup>2</sup> pour les doses conventionnelles et jusqu'à 1 000 à 12 000 mg/m<sup>2</sup> dans les protocoles à haut dosage (84). Le MTX possède plusieurs actions : anti-proliférative, anti-inflammatoire, immunomodulatrice , anti-angiogénique et pro-apoptotique (85).

#### **2.2.4.1.1. Pharmacocinétique**

Après une administration par voie orale, la biodisponibilité est bonne (en moyenne de 60%), avec toutefois une forte variabilité interindividuelle (surtout pour une dose supérieure à 20 mg/m<sup>2</sup>). A plus forte dose, une réduction de la biodisponibilité est observée. Après une administration par voie IM, la biodisponibilité atteint 76 à 100% avec un pic plasmatique atteint en 30 minutes.

Concernant la **diffusion**, la liaison aux protéines plasmatiques est d'environ 50% et la diffusion tissulaire est bonne, avec un passage dans le sang et les tissus très rapide. Le passage à travers les membranes cellulaires s'effectue grâce à des transporteurs d'influx de type OATP (codé par les gènes *SLC*) et des transporteurs d'efflux de type MRP (codé par les gènes *ABC*) (86).

Le **métabolisme** est principalement hépatique mais peut également avoir lieu dans les cellules néoplasiques (figure 26). Au niveau tissulaire, le MTX est métabolisé en dérivés

polyglutamylés (MTX-PG), forme de stockage du MTX. Au niveau hépatique, le MTX est partiellement métabolisé en 7-hydroxyméthotrexate moins actif que le MTX sur la DHFR. Le MTX est également métabolisé en acide 2,4 diamino-10-méthylptéroïque (DAMPA) par des bactéries intestinales. La demi-vie plasmatique du MTX est de de 2 à 7 heures (87).

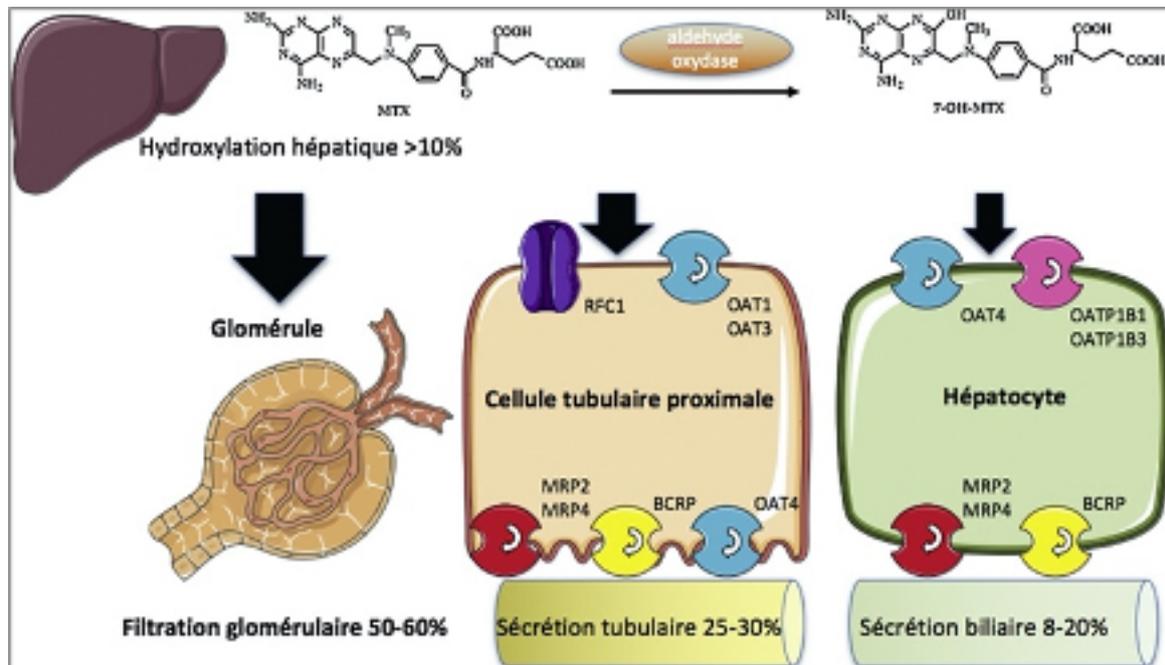


FIGURE 26 : METABOLISME DU MTX  
 Source : Garcia, 2018 (87)

**L'élimination** du MTX (80%) et du 7-hydroxyméthotrexate (10%) est principalement urinaire par filtration glomérulaire. A fortes doses, le MTX est éliminé par sécrétion tubulaire grâce au transporteur OAT3 (SLC22A8) localisé sur la membrane basolatérale de la cellule tubulaire proximale (88). Une faible proportion est éliminée dans les fèces et peut subir un cycle entéro-hépatique. Chez les patients ayant une fonction rénale non altérée, l'élimination est effectuée en 48h et pour la majorité dans les 8 à 12 premières heures. La demi-vie d'élimination est située entre 8 et 15 heures mais le MTX peut rester stocké dans les cellules.

#### 2.2.4.1.2. Pharmacodynamie

Le MTX est un antagoniste des folates qui va être transporté dans de nombreuses cellules (hématies, lymphocytes, hépatocytes et synoviosites) grâce à un transporteur : le reduced folate carrier 1 (RFC1). Une fois dans la cellule, la folyl polyglutamate synthase (FPGS)

active le MTX par ajout de résidus gamma-glutamates. Ce MTX polyglutamylé (MTX PG) est la forme active du médicament. Grâce à l'addition de radicaux glutamylés, le MTX peut rester dans la cellule et exercer son effet thérapeutique (89) (90).

Cela se traduit par différentes actions, présentées sur la figure 27 (91) :

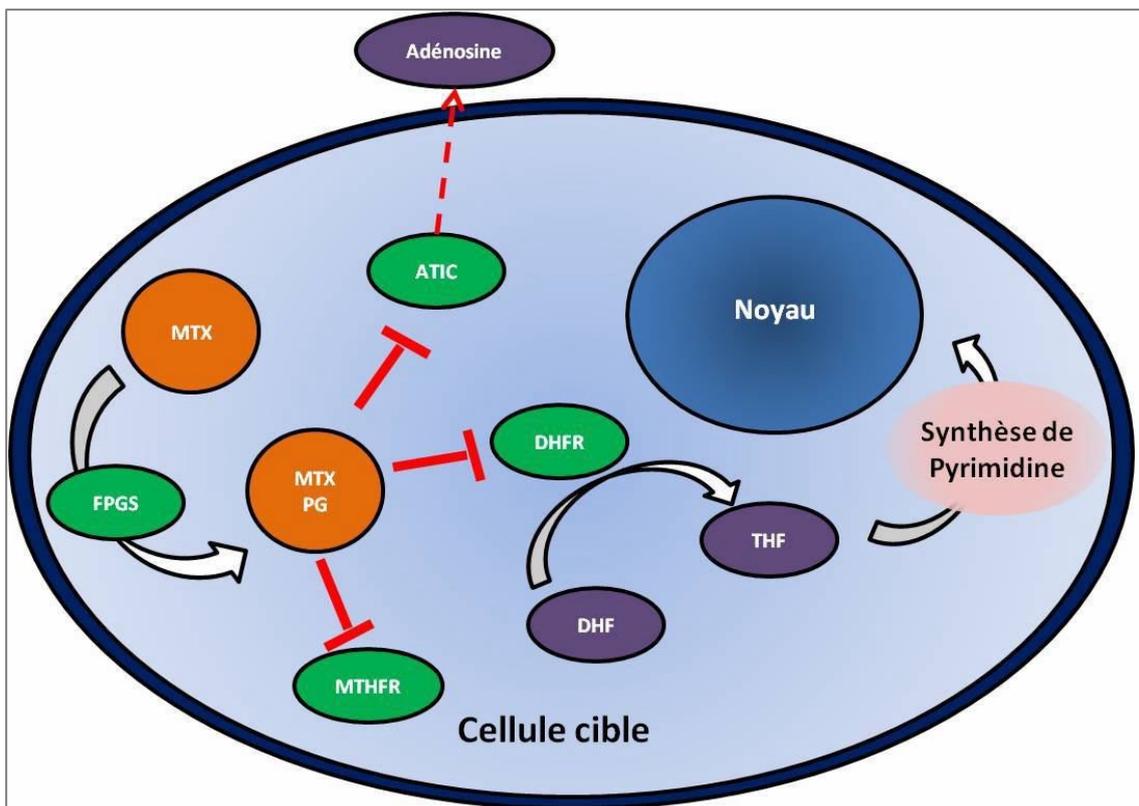


FIGURE 27 : MECANISME D'ACTION SIMPLIFIE DU MTX

Source : Legueullec, 2017 (91)

- Le MTX PG inhibe la dihydrofolate réductase (**DHFR**). En se liant à l'enzyme DHFR, il n'y a plus de formation de dihydrofolate (DHF) en tétrahydrofolate (THF). Cela aura un effet sur le métabolisme des pyrimidines et va entraîner une inhibition de la synthèse d'ADN.
- Le MTX PG va également inhiber la thymidylate synthase (**TS**), enzyme qui joue un rôle dans la synthèse de novo de la thymidine.
- Une action inhibitrice des réactions de transméthylation (**MTHFR**) et interfère donc avec la méthylation de l'ADN dans le noyau.
- Le MTX PG provoque une accumulation de l'enzyme IMP-cyclohydrolase (**ATIC**) conduisant à la libération d'adénosine au niveau intracellulaire. Ce mécanisme est responsable d'un effet anti-inflammatoire puissant.

Cette addition de résidus glutamyl peut être inhibée par la gamma-glutamyl-hydroxylase (GGH). Dans ce cas, le MTX va être rejeté en dehors de la cellule par des transports actifs de la super famille ABC.

#### 2.2.4.2. Intérêt du test

L'utilisation du MTX peut s'avérer complexe en pratique clinique du fait, notamment, de la variabilité interindividuelle importante du MTX. Cela se traduit, lors de l'administration d'une même dose de MTX, par une grande variabilité des concentrations sanguines. Ainsi, l'administration d'une même dose de MTX peu aussi bien aboutir à l'effet thérapeutique escompté qu'à une inefficacité ou à une toxicité. La variabilité génétique de gènes codant pour des protéines impliquées dans le transport du médicament ainsi que ses cibles thérapeutiques peut expliquer, en partie, cette variabilité (87).

Son administration à forte dose obéit à des protocoles spécifiques et doit être réalisée en milieu hospitalier. Le MTX possède une toxicité importante : les effets secondaires d'origine digestifs, cutanés, hématologiques, hépatiques et rénaux sont souvent associés à une mauvaise élimination de celui-ci. Pour limiter au maximum ces effets graves, il est recommandé de faire un bilan initial (hématologique, rénal, et hépatique). La supplémentation en acide folinique et l'hyper-hydratation alcaline sont pratiquées pour diminuer le risque de toxicité :

- La supplémentation en acide folinique permet de reconstituer la réserve cellulaire de folates réduits et ainsi rétablir la synthèse des nucléotides. Ce « sauvetage » par acide folinique doit se faire 24 à 36 heures après l'administration de MTX. Elle peut être prolongée en cas de suspicion de retard à l'élimination du MTX.
- L'hyperhydratation alcaline consiste à maintenir une diurèse abondante avec du bicarbonate à 1,4% qui favorisera l'élimination des cristaux urinaires, limitant ainsi la néphrotoxicité du MTX.

En cas de surexposition au MTX, il existe un antidote : le Voraxaze<sup>®</sup> (glucarpidase, carboxypeptidase G2 ou encore CPDG2). Celui-ci est administré en cas de méthotrexatémie systémique élevée ou d'altération précoce de la fonction rénale au décours de l'administration. Il devra être utilisé dans les 96 heures. C'est un médicament d'urgence disponible sous ATU, mais ses difficultés d'obtention en France restent un obstacle.

Les effets secondaires graves, l'adaptation des posologies ou encore le défaut d'approvisionnement en antidote peuvent avoir un impact négatif sur la survie des patients traités par MTX. Dans ce contexte, la recherche de polymorphismes génétiques impliqués dans la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du MTX qui permettrait d'identifier des patients à risque de toxicité avant d'initier le traitement semble particulièrement intéressante (72).

La MTHFR est une enzyme clé de l'homéostasie et du métabolisme intracellulaire des folates. De nombreuses études portent sur le lien entre le gène codant pour cette enzyme et l'apparition de toxicité (72) (86). Le gène MTHFR situé sur le chromosome 1 en position p36.22 est composé de 11 exons. Il existe plusieurs variants documentés mais deux polymorphismes du gène *MTHFR* ont été identifiés comme responsables d'une baisse d'activité de l'enzyme : c.677T (rs1801133) et c.1298C (rs1801131).

#### **2.2.4.3. Recommandations relatives à la réalisation du test**

A l'heure actuelle les résultats restent parfois contradictoires selon les études (92). Des études plus importantes sont nécessaires pour déterminer le rôle du polymorphisme de *MTHFR* dans les réponses des patients. Il n'existe donc pas de recommandations établies actuellement pour le génotypage de *MTHFR* (93).

D'autres gènes sont à l'étude concernant la pharmacogénétique du MTX. Il peut s'agir de gènes codants pour des enzymes du métabolisme du MTX (gène *GGH*). Cela peut être des gènes codants pour des cibles du MTX comme le gène *TYMS* codant pour l'enzyme TS (94). Il existe des mutations pouvant rendre cette enzyme résistante à son inhibition par le MTX. Une forte expression du gène *TYMS* semble corrélée à une diminution des leucopénies et anémies chez les enfants traités par MTX (86). Enfin, les gènes codant pour des protéines de transport du MTX sont également très nombreux : le gène *ABCC2* (codant pour la protéine d'efflux MRP2)(95), le gène *SLC22A8* (codant pour le transporteur OAT3 jouant un rôle dans l'élimination du MTX)(96), le gène *ABCC4* (codant pour la protéine d'efflux MRP4), le gène *SLC19A1* (codant pour la protéine d'influx RCF1).

Il est actuellement possible de mettre en évidence un retard à l'élimination en monitorant les concentrations sanguines de MTX. Le praticien peut ainsi poursuivre le sauvetage par l'acide folinique et maintenir l'hyperhydratation alcaline en cas de retard à l'élimination (97). Le STP du méthotrexate est recommandé lorsque ce médicament est administré à haute dose ( $>1\text{g/m}^2$ ) dans divers protocoles de chimiothérapie (98).

## **2.2.5. Test pharmacogénétique CYP2D6 et tamoxifène**

### **2.2.5.1. Pharmacologie du tamoxifène**

Le tamoxifène (TMF) est utilisé comme hormonothérapie en ambulatoire dans la prise en charge des cancers du sein sous le nom commercial Nolvadex®(99). Il est indiqué dans le traitement du carcinome mammaire en traitement adjuvant (pour prévenir les récurrences) ou encore dans les formes évoluées avec progression locale et/ou métastatique. La réponse au traitement hormonal est meilleure si les récepteurs aux œstrogènes (RE) et/ou à la progestérone (RP) sont exprimés. Ses principaux effets indésirables sont les accidents thromboemboliques, le risque de développer un cancer endométrial, les myalgies ou arthralgies et les bouffées de chaleur (100).

#### **2.2.5.1.1. Pharmacocinétique**

Le tamoxifène est administré par voie orale (VO). Il est fortement lié aux protéines plasmatiques. Le pic des concentrations plasmatiques ( $C_{\text{max}}$ ) est atteint en 4 à 7h. La demi-vie d'élimination de la molécule mère étant de 7 jours, l'état d'équilibre est atteint après 5 à 6 semaines de traitement (100).

Le tamoxifène nécessite une bio-activation en 4-hydroxytamoxifène et en endoxifène (N-déméthyl-4-hydroxytamoxifène). Ce dernier présente une activité pharmacologique similaire à celle du 4-hydroxytamoxifène, mais il est retrouvé à une concentration plasmatique 10 fois supérieure à celle du tamoxifène (101). Le métabolisme du tamoxifène s'effectue par l'intermédiaire de deux voies principales schématisées sur la figure 28 (102) :

- Celle du **N-desméthyl-tamoxifène** (NDT), un composé formé en forte concentration via le CYP3A4. Ce composé majoritaire sera transformé en endoxifène par le CYP D6.
- La voie du **4-hydroxytamoxifène**, produit en moindre quantité via le CYP2D6. Ce composé est beaucoup plus actif que le tamoxifène en raison de son affinité 100 fois supérieure pour le récepteur des œstrogènes. Pour être métabolisé en endoxifène il emprunte les CYP3A4/5. Cette voie n'est responsable que d'une infime partie de la production de l'endoxifène.

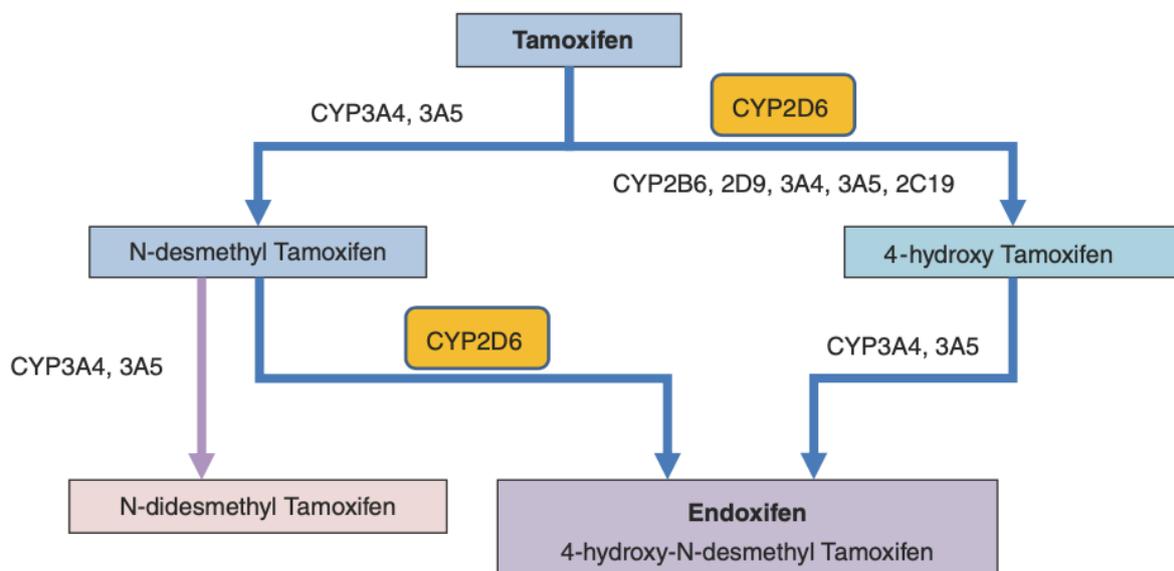


FIGURE 28 : METABOLISME DU TAMOXIFENE

Source : Huber-Wechselberger, 2012 (102)

Le tamoxifène est principalement éliminé par voie fécale après un cycle entéro-hépatique.

#### 2.2.5.1.2. Pharmacodynamie

Le tamoxifène possède des propriétés inhibitrices au niveau des récepteurs aux œstrogènes des cellules mammaires hormonosensibles. Il s'agit d'un modulateur sélectif des récepteurs aux œstrogènes. C'est un antagoniste du récepteur à l'œstradiol au niveau du sein mais il possède cependant une activité œstrogénique au niveau de l'os, de l'endomètre et des lipides sanguins (99).

#### 2.2.5.2. Intérêt du test

Le statut du polymorphisme *CYP2D6* peut être associé à une variabilité de la réponse clinique au tamoxifène. Le gène du *CYP2D6* est situé sur le bras long du chromosome 22 (22q13,1). Il

est impliqué dans le métabolisme de 20 à 25% des médicaments dont 48 classes thérapeutiques différentes. C'est un gène hautement polymorphe avec près de 80 allèles décrits (103).

Comme nous l'avons vu précédemment le CYP2D6 joue un rôle déterminant dans le métabolisme du tamoxifène. Ainsi il est possible d'identifier 4 types de métabolismes en fonction du statut du CYP2D6 (Figure 29 ) (101):

- **Augmenté** (ultrarapid metaboliser ou « UM ») qui ont plus de 2 copies d'allèles. Ces métaboliseurs ultra rapides représentent environ 1% des sujets Caucasiens et 3% des sujets Africains.
- **Normal** (extensive metaboliser ou « EM ») soit homozygotes sauvages, soit hétérozygotes pour un allèle non fonctionnel, soit hétérozygote pour un allèle à fonction réduite.
- **Diminué** (intermediate metaboliser ou « IM ») qui associent soit 2 allèles à fonction réduite soit la combinaison d'un allèle à fonction réduite et un allèle non fonctionnel.
- **Nul** (poor metaboliser ou « PM ») (homozygotes pour des allèles non fonctionnels ou doubles hétérozygotes) qui représentent environ 7% des sujets Caucasiens. Sur le plan phénotypique, ces derniers sont très bien différenciés de tous les autres groupes phénotypiques.

<u>Allèles</u>	<u>Variants</u>
	CYP2D6*1, CYP2D6*2
	CYP2D6*9, CYP2D6*10, CYP2D6*41
	CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*5, CYP2D6*6
<b>Haplotype</b>	<b>Phénotype = activité enzymatique prédite</b>
	Augmentée = ultrarapid metabolizer ( <b>UM</b> ) (Duplication du gène avec variant normal)
	Normale = extensive metabolizer ( <b>EM</b> )
	
 ?	Diminuée = intermediate metabolizer ( <b>IM</b> )
	
 ?	Nulle = poor metabolizer ( <b>PM</b> )
	

**FIGURE 29** : SCHÉMA DES CORRESPONDANCES ENTRE HAPLOTYPES ET PHÉNOTYPES POUR LE CYP2D6  
Source : Barrière, 2010 (101)

Certaines études ont montré que le statut CYP2D6 PM était associé à un risque de récurrence ou de décès plus important que les statuts CYP2D6 EM dans certaines situations telles que : chez les patientes en post-ménopause, et chez les patientes positives pour les récepteurs aux œstrogènes et traitées pendant 5 ans par 20 mg/j de tamoxifène. Ce taux de survie diminué chez les patientes porteuses du phénotype PM serait la conséquence d'une moindre formation de métabolite actif. L'apparition de certains effets secondaires, tels que les bouffées de chaleur seraient en lien avec le polymorphisme. Elles seraient plus fréquentes chez les patientes porteuses du phénotype UM ou EM (104).

### 2.2.5.3. Recommandations relatives à la réalisation du test

A ce jour, chez les patientes devant être traitées par TMF il semble indispensable d'identifier les métaboliseurs lents. Le Consortium de mise en œuvre de pharmacogénétique clinique (CIPC) a émis des recommandations thérapeutiques pour chaque phénotype (105). Dans le cas d'un métaboliseur lent, il recommande l'utilisation d'une hormonothérapie alternative telle qu'un inhibiteur de l'aromatase. Il stipule également que chez les métaboliseurs lents

ayant une contre-indication à l'inhibiteur d'aromatase il est possible d'augmenter les posologies de tamoxifène à 40 mg par jour. Cependant, même avec une posologie augmentée, la concentration en endoxifène n'atteint pas celle des métaboliseurs normaux.

Toutefois, les résultats conflictuels publiés font qu'il n'existe pas de recommandations de génotypage du CYP2D6 chez les patientes traitées par TMF (106). Différentes limites au génotypage peuvent expliquer le résultat de ces études controversées (107):

- Le gène *CYP2D6* est un gène particulièrement complexe difficile à génotyper. En effet, le génotypage est couramment réalisé à partir d'ADN issu de la tumeur (qui subit souvent une délétion) et non pas à partir de l'ADN germinale. De plus, il existe de très nombreux variants qui ne sont pas tous testés par les laboratoires. La complexité de détermination peut entraîner une contradiction des résultats du phénotype d'un laboratoire à l'autre.
- Les études portent souvent sur les femmes ménopausées. Les résultats ne peuvent donc pas être extrapolables aux femmes non ménopausées qui sont pourtant les principales concernées par la prescription de TMF.
- En l'état actuel des connaissances, il existe une supériorité des traitements alternatifs (tels que l'anastrozole), par rapport au TMF quel que soit le statut du CYP2D6 de la patiente.

Le génotypage du CYP2D6 dont l'objectif est d'évaluer la tolérance et la réponse au traitement nécessite encore quelques études. Actuellement, la recherche porte également sur d'autres pharmacogènes tels que le *CYP2C19* et le *CYP3A4* tous les deux impliqués dans le métabolisme du TMF.

Pour le clinicien, la seule préconisation pourrait-être de ne pas associer le TMF à des inhibiteurs du CYP2D6. Effectivement, les inhibiteurs puissants tels que les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSNa) comme la duloxétine et les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (IRS) comme la paroxétine et la fluoxétine provoquent une diminution de la production d'endoxifène (108).

### **3. APPLICATIONS PRATIQUES**

Afin d'illustrer l'intérêt des analyses pharmacogénétiques, nous présenterons dans cette partie deux cas cliniques. Le premier portera sur la découverte fortuite d'un déficit en TPMT suite à une intoxication à l'Imurel® (azathioprine). Le 2<sup>nd</sup> cas permet de mettre en application l'adaptation des posologies de Xeloda® (capécitabine) suite au diagnostic d'un phénotype intermédiaire en DPD (déficit partiel).

#### **3.1. CAS CLINIQUE 1 : Découverte d'une pancytopenie profonde chez un patient traité par Imurel®**

##### **3.1.1. Présentation du cas**

Lors de mon stage de 5<sup>ème</sup> année hospitalière dans le service de Néphrologie, Dialyse et Transplantation du CHU Amiens-Picardie, j'ai eu la chance de travailler sur le cas d'un patient transplanté rénal traité par Imurel® (azathioprine), qui fut hospitalisé pour une pancytopenie profonde.

Parmi les antécédents du patient on note :

- Une hypertension artérielle (HTA) traitée par l'amlodipine 10 mg,
- Une greffe rénale sur néphronophtise héréditaire en août 2017.

Concernant son traitement médicamenteux, le patient reçoit le traitement immunosuppresseur suivant :

- Cortancyl® (prednisone) 10 mg / jour,
- Advagraf® (tacrolimus) 15 mg / jour.
- Le patient était initialement traité par du Cellcept® (mycophénolate mofétil) à la posologie de 250 mg 2 fois par jour. Une prescription d'Imurel® (azathioprine) à 50 mg 3 fois par jour est initiée le 30/01/2018 en remplacement du Cellcept® car le patient évoquait un désir d'enfant.

En février 2018, le patient se rend chez son médecin traitant pour une odynophagie sans hyperthermie. Le médecin instaure de l'Augmentin® (amoxicilline + acide clavulanique) devant ce tableau clinique inaugural d'une angine typique. Trois jours plus tard, le patient s'est présenté aux urgences pour des ecchymoses spontanées des 4 membres et un syndrome hémorragique. La numération formule sanguine (NFS) retrouve :

- Une anémie normocytaire arégénérative (hémoglobine : 8,6 g/dL ; VGM : 88fl ; réticulocytes < 20000/mm<sup>3</sup>).
- Une agranulocytose (polynucléaires neutrophiles [PNN] : 16/mm<sup>3</sup>).
- Une thrombopénie profonde (thrombocytes : 5 000/mm<sup>3</sup>).

Le reste du bilan était normal. Le patient ne présentait pas d'altération de l'état général, la pression artérielle était de 132/72 mmHg, sa fréquence cardiaque à 97 bpm, sa saturation à 98% en air ambiant, et sa température à 37,5°C.

Le patient a été hospitalisé et fut isolé dans une chambre à flux laminaire. Devant ce tableau de pancytopénie plusieurs étiologies sont envisagées :

- **Est-ce une aplasie d'origine virale ?** Une PCR pour le cytomégalo virus (CMV) et Epstein Barr Virus (EBV) ont été prescrites pour explorer une étiologie virale.
- **Est-ce une insuffisance médullaire liée à une myélodysplasie ou une hémopathie maligne ?** Parmi les pathologies évoquées : un lymphome non Hodgkinien (LNH), une leucémie aigue lymphoblastique (LAL), une leucémie aiguë myéloïde (LAM), syndrome myélodysplasique (SMD). Le médecin en charge du patient a réalisé un examen clinique complet avec la recherche de ganglions et prescrit un myélogramme et une biopsie ostéo-médullaire (BOM).
- **Est-ce une complication d'une maladie rare telle que l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) ?** Cette maladie génétique touche les jeunes adultes. Le gène muté PIGA est responsable de la fabrication d'une molécule appelée « ancre GPI ». Cette ancre permet à des protéines spécifiques (CD55 et CD59) de se fixer en surface des cellules sanguines, pour les protéger contre certaines attaques de notre propre système immunitaire. En effet, en absence de protection, le complément, un élément normalement présent dans le sang, se fixe sur les globules rouges et les détruit par hémolyse (109). Cette maladie rare devra être recherchée chez le patient grâce à une prise

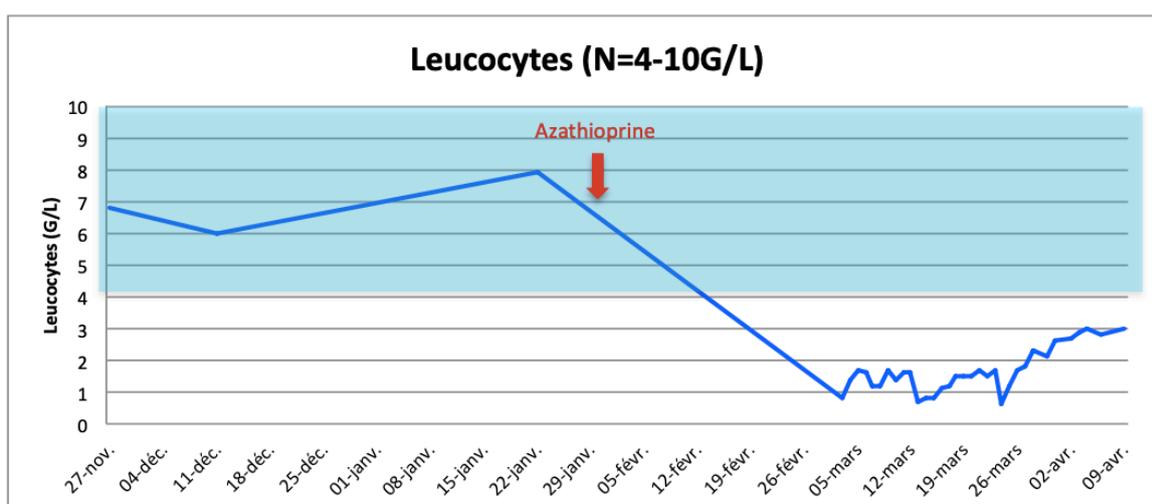
de sang qui permettra de mettre en évidence par cytométrie de flux la présence ou non de clones HPN, responsables de la maladie.

- **Est-ce que cela peut-être un effet indésirable lié à un médicament ?** L'Augmentin® et l'Imurel® ont été arrêtés dans l'attente des examens complémentaires et résultats biologiques. L'interne demande de réaliser le génotypage de la TPMT.

### 3.1.2. Résultats

Le premier myélogramme était dilué. La réalisation d'un 2<sup>nd</sup> myélogramme en crête iliaque droite a permis d'affirmer le diagnostic d'une aplasie. Il retrouve une moelle globalement pauvre avec quelques polynucléaires éosinophiles et quelques plasmocytes. La biopsie ostéo-médullaire (BOM) retrouve une moelle désertique et conclut donc à une sévère hypoplasie médullaire sans myélofibrose. Ces deux examens associés aux résultats de l'hémogramme permettent de diagnostiquer une **aplasie sévère**.

Concernant la prise en charge, le patient a bénéficié d'un soutien transfusionnel avec un concentré plaquettaire standard (4 UI) et des culots globulaires environ 1 jour sur 2 pour contrôler les signes hémorragiques. Le patient aura une NFS tous les deux jours, afin de suivre l'évolution des leucocytes, de l'hémoglobine et des thrombocytes. Les résultats sont présentés ci-dessous (figure 30) :



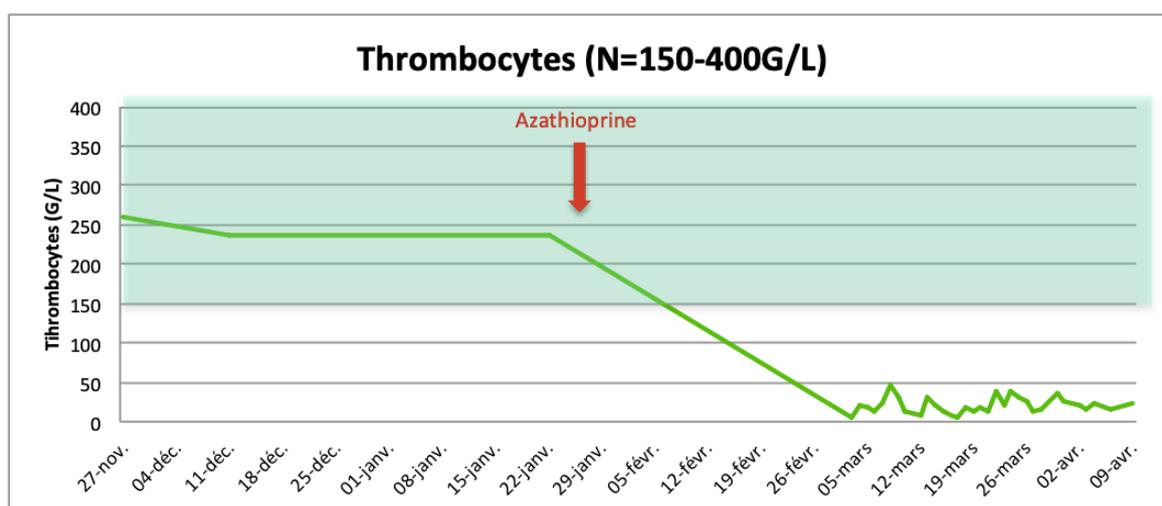
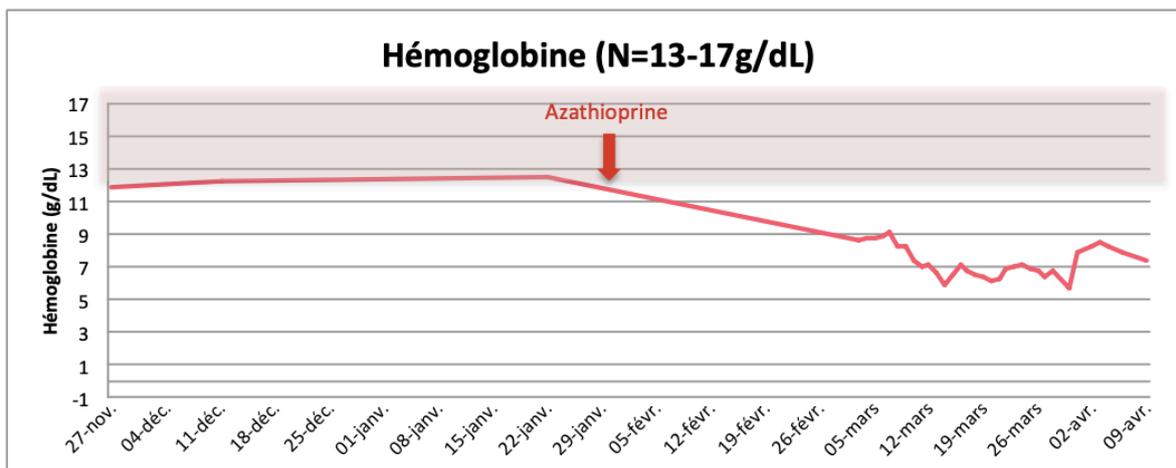


FIGURE 30 : EVOLUTION DES LEUCOCYTES, DE L'HÉMOGLOBINE ET DES THROMBOCYTES EN FONCTION DU TEMPS.

Le patient a bénéficié d'injections de Granocyte® (lénograstim) pendant 10 jours sans résultats. Après la présentation du cas en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) avec avis des hématologues, des néphrologues et des référents nationaux du centre d'aplasie, le Revolade® (eltrombopag) est introduit à la dose de 50 mg initialement et jusqu'à 100 mg. Ils ont également décidé d'initier le Noxafil® (posaconazole) en prophylaxie antifongique. Sur le plan infectieux, suite à une hémoculture positive à *Serratia Marcesens*, une hyperthermie à 40°C et une CRP à 232 mg/L, un traitement par Tazocilline® (pipéracilline) a été initié après obtention de l'antibiogramme pour une durée de 15 jours. Devant la sévérité de l'aplasie, et l'absence de reprise spontanée de l'hématopoïèse à 3 semaines de l'arrêt du traitement, un génotypage HLA complet a été demandé en vue d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). La conservation des gamètes a été envisagée dans le contexte de désir d'enfant.

Concernant l'étiologie, la prise de sang ne retrouve pas de clone HPN dans les lignées rouges et blanches, ce qui exclut l'hypothèse de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. La recherche des mutations en faveur d'une hémopathie indique l'absence de mutations génétiques détectées. L'étiologie virale a été explorée par PCR. Le résultat de la PCR est négatif pour le CMV mais la PCR EBV s'est révélée positive à 2,26 log. Cette dernière s'est majorée à 4,48 log durant l'hospitalisation indiquant une réplication du virus sans doute liée à l'immunodépression. Le patient a bénéficié d'une cure de rituximab à la dose de 375 mg/m<sup>2</sup> (diminue la réplication virale en ciblant les lymphocytes B).

Concernant l'étiologie médicamenteuse, les différents graphiques ci-dessus (figure 30) permettent de mettre en évidence la chute brutale des paramètres hématologiques peu de temps après l'instauration de l'AZA. Ce médicament peut induire une myélotoxicité plus importante chez les patients ayant une mutation de la TPMT. Cette hypothèse sera confirmée par le génotypage de la TPMT qui indique une activité partiellement déficitaire de cette enzyme chez le patient. Le diagnostic retenu est donc une aplasie médullaire toxique à l'Imurel®.

Le traitement de sortie du patient est composé de :

- Cortancyl® (prednisone) 10 mg/j,
- Advagraf® (tacrolimus) 4 mg/j. Après un premier épisode de surdosage en Advagraf® secondaire à l'introduction du posaconazole, les doses d'Advagraf® ont été diminuées après un contrôle de la concentration résiduelle (C<sub>min</sub>).
- Noxafil® (posaconazole) 100mg 3cp le soir (jusqu'à ce que les PNN soient supérieurs à 1G/L),
- Revolade® (eltrombopag) 100 mg le matin,
- Aranesp® (darbépoétine alpha) 150 µg une fois par semaine,
- Amlor® (amlodipine) 10 mg le matin,
- Spéciafoldine® (acide folique) 5 mg matin et soir,
- Contramal® (tramadol) 50 mg matin et soir si douleurs,
- Doliprane® (paracétamol) 1g 4 fois par jour si douleurs,
- et Kayexalate® (polystyrène sulfonate) 1 cuillère mesure par jour.

L'Imurel® a été arrêté et les médecins devaient revoir le patient afin de d'envisager la reprise d'une immunosuppression par Cellcept® après la sortie d'aplasie.

### 3.1.3. Discussion

Ici, le génotypage de la TPMT a permis d'étayer le diagnostic et de documenter l'apparition d'une pancytopenie chez un patient transplanté rénal. Ces effets secondaires rares mais graves, peuvent être, en partie, prédits par les examens de pharmacogénétique. Leur réalisation systématique, avant la mise en route d'un traitement par AZA, pourrait permettre de prévenir la survenue des complications hématologiques comme l'aplasie médullaire. Dans le cas d'un déficit partiel comme chez ce patient, il est recommandé de diminuer la posologie initiale en AZA de 30 à 70% par rapport à la posologie initiale. La dose peut toutefois être augmentée toutes les 2 à 4 semaines en fonction de la réponse clinique.

Afin de détecter la sensibilité à l'AZA, un dosage des métabolites 6-TGNs (actif) et 6-MMP (inactif) chez le patient aurait également pu être envisagé. Les 6-TGNs sont responsables de l'activité thérapeutique du médicament mais aussi de la toxicité hématologique. De plus, il semblerait que le patient n'ait pas bénéficié de surveillance de la NFS suite à la prescription de l'AZA. Or, chez 1% des patients traités par des thiopurines l'effet hématotoxique peut se manifester les premiers jours. A ce jour, la GETAID (Groupe d'Étude Thérapeutique des Affections Inflammatoires du Tube Digestif) recommande une surveillance rigoureuse de la NFS tout au long du traitement. Afin de mettre en évidence une toxicité hématologique précoce, il est préconisé de réaliser une NFS une fois par semaine durant le 1<sup>er</sup> mois, puis une fois par mois jusqu'à ce que la posologie optimale soit atteinte (c'est à dire pendant 3 à 6 mois). Enfin, pour le risque d'hématotoxicité tardive il est recommandé d'effectuer une surveillance trimestrielle de la NFS.

La question du changement d'immunosuppresseur qui consiste à remplacer le Cellcept® par l'AZA peut également être soulevée. Le CRAT (centre de référence sur les agents tératogènes) nous indique que le mycophénolate mofétil (Cellcept®) possède des propriétés clastogènes sur les tests expérimentaux. Lorsqu'il existe une exposition paternelle, avant la conception, le prescripteur pourra envisager par précaution un relais par un immunosuppresseur non clastogène (ciclosporine, tacrolimus...), afin que le spermatozoïde fécondant ne soit pas

exposé au mycophénolate. Néanmoins, aucun effet tératogène n'est attribué au traitement paternel par cette molécule à ce jour.

### **3.2. CAS CLINIQUE 2 : Prescription de Xeloda® et déficit en DPD**

#### **3.2.1. Présentation du cas**

Nous illustrons les modalités de prescription de la capécitabine en présentant le cas clinique d'une patiente de 56 ans qui a été traitée par cette chimiothérapie pour un adénocarcinome mammaire. La patiente avait comme antécédents :

- Une HTA et une protéinurie (sans insuffisance rénale), pour lesquels il existe un suivi néphrologique depuis 2015.
- Un cancer mammaire droit découvert en 2012, d'emblée métastatique au niveau osseux et pleuropulmonaire. Elle a été traitée initialement par chimiothérapie (Fluorouracile, Epirubicine, Cyclophosphamide dit « FEC » et Taxotère® [docetaxel]) puis par radiothérapie associée au Taxol® (paclitaxel) et l'Avastin® (bevacizumab). En 2016, des masses ovariennes sont apparues. La patiente a subi une annexectomie bilatérale. Secondairement à la progression, l'Avastin® a été arrêté et l'Arimidex® (anastrozole) a été introduit en juillet 2016. Suite à une nouvelle progression au niveau pulmonaire et osseux, un traitement par Aromasine® (exemestane) et Afinitor® (évérolimus) a été initié en décembre 2016.
- Un épisode d'insuffisance rénale aiguë fonctionnelle et d'hépatite lié à la prise d'Afinitor® a conduit à son arrêt en 2017.

Concernant son traitement médicamenteux, la patiente était traitée en 2017 par :

- Seresta® (oxazepam) 50 mg,
- Bisocé® (bisoprolol) 2.5 mg
- Coveram® (périndopril + amlodipine) 10/10 mg,
- Tahor® (atorvastatine) 10mg,
- Orozamudol® (tramadol) 50mg,
- et Aromasine® (exemestane) 25mg.

Il n'a pas été possible de connaître les éventuelles modifications du traitement depuis 2017. Néanmoins nous savons qu'au début de l'année 2019, la patiente a bénéficié de 3 cures d'Halaven® (eribuline), une chimiothérapie qui agit dans le cancer du sein localement avancé ou métastatique comme inhibiteur des microtubules. Lors d'une consultation avec son oncologue en mars 2019, celui-ci constate une intensification des lésions au TEP-scanner et l'apparition de foyers pulmonaires et pelvien rétro-utérin. Devant ce tableau, il décidera de prescrire le Xeloda® (capécitabine) après une recherche de déficit en DPD.

### 3.2.2. Résultats

L'examen de pharmacogénétique a été réalisé en mars 2019. Le phénotypage repose sur la détermination de la concentration plasmatique en uracile et en dihydrouracile complétée par le calcul du rapport UH2/U. Dans le laboratoire où le test de la patiente a été réalisé, les valeurs seuils du ratio UH2/U sont définies de la façon suivante :

- $UH2/U > 6$  : absence de déficit
- $3 < UH2/U < 6$  : déficit partiel
- $UH2/U < 3$  : déficit profond ou complet si  $UH2/U < 1$ .

Rappelons que la concentration en uracilémie (U) supérieure ou égale à 150 ng/mL évoque un déficit complet en DPD. Dans ce cas, le traitement par les fluoropyrimidines est contre-indiqué. Une uracilémie comprise entre 16 ng/mL et 150 ng/mL indique un déficit partiel en DPD et nécessite une diminution des posologies.

Les résultats de la patiente sont les suivants :

- Uracilémie (U) : 26,40 ng/mL
- Ratio UH2/U : 7,05

Le phénotype retenu est donc « partiellement déficitaire ». Les doses de Xeloda® avaient été réduites de 50% lors du premier cycle, à raison de 1300 mg matin et soir.

Deux mois après l'instauration du traitement, les résultats de la NFS indiquent que le traitement était bien toléré. L'oncologue lui propose donc d'augmenter à 1800 mg matin et soir soit une réduction de dose de -25 % par rapport à la dose de référence. Le bilan biologique était sans particularité hormis une carence martiale avec un coefficient de saturation à 18 %.

Le médecin a prescrit 1 comprimé de Fumafer® (fumarate ferreux) en précisant qu'il n'y avait pas d'anémie associée (hémoglobine : 14,1 g/dL).

Par la suite, le traitement à la dose de 1 800 mg matin et soir fut bien toléré. Le médecin avait cependant relevé un syndrome mains-pieds de grade 1 qui malgré l'application d'un émollient a évolué en grade 2 (crevasses importantes). La patiente présentait par ailleurs une petite toux sèche qui s'est vite améliorée. Ces effets secondaires bénins ne nécessitaient en aucun cas une nouvelle réduction de dose. Cependant en juillet 2019, la patiente a bénéficié d'un nouveau TEP-scanner de contrôle qui montrait une progression aux niveaux ganglionnaire pleural, hépatique, péritonéal et osseux. Les marqueurs tumoraux étaient également en faveur de cette progression : le CA 15-3 était à 58 versus 37 et l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) était toujours négatif à 1,8.

L'oncologue choisira, après une échographie cardiaque, de mettre en place un traitement par Caelyx® (doxorubicine) à raison d'une injection toutes les 4 semaines. Le traitement sera débuté à distance afin d'attendre que les crevasses au niveau des pieds s'améliorent. La patiente va bénéficier d'une vitaminothérapie par B1 B6 ainsi que des soins de supports tels que l'Emend® (aprépitant), le Primpéran® (métoclopramide) et le Zophren® (ondansétron).

### **3.2.3. Discussion**

Le phénotype retenu chez la patiente est « partiellement » déficitaire. L'élévation modérée de l'uracilémie ainsi qu'un ratio UH2/U supérieur à 6 sont en faveur d'un déficit modéré de l'activité de l'enzyme DPYD, expliquant le terme « partiellement » dans le résultat du phénotype de la patiente. Les recommandations de l'ANSM et de l'HAS préconisant un phénotypage, le génotypage n'a pas été réalisé chez la patiente. Toutefois, dans ce type de situation, la recherche des principaux variants \*2A, \*13, p.D949V et HapB3 peut être une approche complémentaire utile pour confirmer le déficit enzymatique (66).

La patiente avait bénéficié en 2017 d'un traitement par le protocole « FEC ». Même si à cette date, il n'y avait pas de recommandations de l'ANSM concernant la recherche d'un déficit en DPD, il aurait été intéressant de connaître la tolérance de la patiente au cours de ce 1<sup>er</sup> traitement à base de fluoropyrimidines. En effet, dans le cas d'un déficit partiel en DPD

l'ajustement des posologies ne semble pas toujours pertinent. D'après le référentiel de l'Inca et de la HAS concernant la recherche de déficit en DPD paru en décembre 2018 (11) « *l'expérience des cliniciens [...] les ont amenés à constater que, la plupart du temps, l'absence de prise en compte de ce facteur pour l'initiation du traitement n'avait eu aucune conséquence notable sur l'état général des patients* ».

Il est également intéressant de se pencher sur l'effet possible d'une diminution de la posologie qui peut représenter une perte de chance pour la patiente du point de vue de l'efficacité. La proportion de patient ayant un déficit partiel est plus importante comparativement aux patients déficitaires complets (0.02-0.3%). Toutefois, la gravité des effets secondaires étant moindre chez les patients déficitaires partiels, une initiation à posologie standard avec un monitoring étroit des effets indésirables pourrait être envisagée, en particulier chez les patients présentant une élévation modérée de l'uracilémie.

De plus, la seule réaction secondaire au traitement développée par la patiente a été un syndrome mains-pieds. Or le statut DPD déficitaire ne semble pas corrélé à une toxicité cutanée de faible grade.

La patiente n'était pas observante avec son antihypertenseur (Coveram®) et le Tahor®. Nous pouvons nous interroger sur l'observance thérapeutique avec le Xeloda®. Selon cette hypothèse, celle-ci aurait pu entraîner une moindre efficacité du traitement et donc une perte de chance pour la patiente. Certains outils tels que le STP peuvent être utiles aux cliniciens dans ce contexte afin de contrôler la prise du traitement (110). Il consiste en un dosage pharmacocinétique sanguin du 5-FHU et de son métabolite, le 5-FUH2.

## CONCLUSION

L'individualisation thérapeutique est un enjeu important en oncologie afin d'optimiser la prise en charge à tous points de vue : efficacité, toxicité, coût. La variabilité de réponse à un anticancéreux peut s'expliquer par une modification d'activité ou d'expression des protéines à différents niveaux. Il peut s'agir d'une altération des protéines responsables du métabolisme du médicament (pharmacocinétique) ou d'un changement des protéines qui conditionnent l'action de celui-ci (pharmacodynamie). La pharmacogénétique, qui étudie l'influence des variations génétiques de l'individu sur la réponse aux médicaments explique une partie de cette variabilité interindividuelle. Cette discipline en pleine expansion s'impose comme un outil important d'aide à la prise de décision pour le clinicien, complémentaire au suivi thérapeutique pharmacologique.

A l'heure actuelle, les recommandations disponibles concernent uniquement un nombre restreint d'anticancéreux : les fluoropyrimidines, les thiopurines, et l'irinotécan. Concernant le méthotrexate et le tamoxifène, il n'est pas possible pour le moment d'établir de préconisations. Dans la littérature, les études de pharmacogénétique réalisées sur ces deux médicaments retrouvent des résultats souvent hétérogènes et discordants.

Les applications de la pharmacogénétique sont encore peu nombreuses en France, faute de recommandations homogènes. Cette discipline plutôt récente nécessite à l'avenir de nouvelles études pour prouver la pertinence clinique de certains polymorphismes. L'application plus large de la pharmacogénétique implique également l'existence de tests rapides, fiables et peu coûteux. De plus, elle va nécessiter de former les différents professionnels afin d'intégrer cette discipline dans la pratique clinique. Le pharmacien biologiste pourra être amené à coopérer avec l'oncologue afin de proposer des adaptations de posologie en fonction du phénotype ou du génotype du patient.

Pour la première fois, en 2019 le pharmacien d'officine est confronté à cette nouvelle discipline. Effectivement, l'ANSM a rendu obligatoire la recherche d'un déficit en DPD, au travers d'un dosage de la concentration d'uracile avant la mise en place d'un traitement par

Xeloda®. Le prescripteur doit apposer la mention « *résultats uracilémie pris en compte* » sur l'ordonnance et le pharmacien doit s'assurer de la présence de cette mention avant toute dispensation. Afin d'optimiser la prise en charge ambulatoire des patients sous anticancéreux, il semble important que le pharmacien d'officine soit formé à la pharmacogénétique. Il paraît essentiel qu'il soit capable d'identifier les protéines (enzymes, transporteurs, récepteurs) qui influencent la réponse à un médicament. Il doit également être vigilant, en sachant que certains polymorphismes génétiques peuvent être responsables d'effets indésirables potentiellement graves ou entraîner une non-réponse à un traitement.

## **BIBLIOGRAPHIE**

1. Robert J. Polymorphismes génétiques. Bulletin du Cancer. nov 2010;97(11):1253-64.
2. Mroziewicz M, Tyndale RF. Pharmacogenetics: a tool for identifying genetic factors in drug dependence and response to treatment. Addict Sci Clin Pract. déc 2010;5(2):17-29.
3. Battin J. Les maladies génétiques du Bassin méditerranéen: Une perspective historique. Archives de Pédiatrie. 1 janv 1998;5:S397-406.
4. Siest G, Visvikis Siest S. La pharmacogénomique, meilleur exemple de médecine personnalisée. HEGEL [Internet]. 2016 ;(1). Disponible sur: <http://hdl.handle.net/2042/58962>
5. Weber WW. The legacy of pharmacogenetics and potential applications. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. août 2001;479(1-2):1-18.
6. Roden DM, Wilke RA, Kroemer HK, Stein CM. Pharmacogenomics: The genetics of variable drug responses. Circulation. 19 avr 2011;123(15):1661-70.
7. Letarte N. La pharmacothérapie personnalisée et la pharmacogénétique.
8. Courivaud C, Saas P, Ducloux D. Polymorphismes génétiques : comment interpréter les études ? Néphrologie & Thérapeutique. juin 2012;8(3):141-5.
9. Hanna N, Parfait B, Vidaud D, Vidaud M. Mécanismes et conséquences des mutations. Med Sci (Paris). 1 nov 2005;21(11):969-80.
10. Pharmacogénétique et pharmacogénomique. Rapport 06-01 – Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps [Internet]. Disponible sur: <http://www.academie-medecine.fr/pharmacogenetique-et-pharmacogenomique-rapport-06-01/>
11. Cancer : recherche d'un déficit en enzyme DPD avant chimiothérapie [Internet]. Haute Autorité de Santé. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2966449/fr/cancer-recherche-d-un-deficit-en-enzyme-dpd-avant-chimiotherapie](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2966449/fr/cancer-recherche-d-un-deficit-en-enzyme-dpd-avant-chimiotherapie)
12. Weisberg E, Griffin JD. Resistance to imatinib (Glivec): update on clinical mechanisms. Drug Resistance Updates. oct 2003;6(5):231-8.
13. Hertz DL, McLeod HL, Hoskins JM. Pharmacogenetics of breast cancer therapies. The Breast. 1 oct 2009;18:S59-63.
14. Lecomte T, Laurent-Puig P, Lorient M-A. Pharmacogénétique en hépato-gastroentérologie. Hépatogastro & Oncologie Digestive. 1 juill 2006;13(4):275-87.
15. Thervet É. Pharmacogénétique appliquée. Néphrologie & Thérapeutique. avr 2016;12:S99-103.

16. Bondon-Guitton E, Despas F, Becquemont L. Apport de la pharmacogénétique à la pharmacovigilance. *Therapies*. avr 2016;71(2):217-22.
17. Beaune P-H. La pharmacogénétique : de la recherche fondamentale aux applications cliniques. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 1 nov 2007;65(6):365-70.
18. Woillard J-B, Chouchana L, Picard N, Lorient M-A. Pharmacogénétique des immunosuppresseurs : état des connaissances et des pratiques – recommandations du Réseau national de pharmacogénétique (RNPGx). *Therapies*. avr 2017;72(2):269-84.
19. Lamoureux F, Dufloy T. Pharmacogénétique en cardiovasculaire : état des connaissances et des pratiques – recommandations du Réseau national de pharmacogénétique (RNPGx). *Therapies*. avr 2017;72(2):245-55.
20. Quaranta S, Thomas F. Pharmacogénétique des médicaments anticancéreux : état des connaissances et des pratiques – recommandations du Réseau national de pharmacogénétique (RNPGx). *Therapies*. avr 2017;72(2):193-204.
21. David A. Pharmacorésistance aux psychotropes et anomalies pharmacogénétiques du cytochrome P450 2D6 : vers une médecine personnalisée en pédopsychiatrie, présentation d'un protocole de recherche. 2019;9.
22. Masse C, Vandell P. Apports de la pharmacogénétique. *Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique*. janv 2016;174(1):53-6.
23. Servonnet A, Leclercq E, Delacour H, Ceppa F. Génotype HLA-B\*5701 et hypersensibilité à l'abacavir. *Pathologie Biologie*. déc 2010;58(6):e95-100.
24. Landau R. Polymorphisme génétique et traitement par les opiacés. *La Presse Médicale*. oct 2008;37(10):1415-22.
25. Allorge D. La pharmaco-toxicogénétique et ses applications médicales. *Revue Francophone des Laboratoires*. févr 2016;2016(479):51-8.
26. Adam de Beaumais T, Baruchel A, Jacqz-Aigrain E. Approches méthodologiques en pharmacogénétique : le modèle des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant. *Revue d'Oncologie Hématologie Pédiatrique*. déc 2015;3(4):215-20.
27. Barin-Le Guellec C, Picard N, Alarcán H, Barreau M, Becquemont L, Quaranta S, et al. La pharmacogénétique au service du soin en France : une discipline qui évolue ! *Therapies*. oct 2019;S0040595719301544.
28. Nigam SK. What do drug transporters really do? *Nat Rev Drug Discov*. janv 2015;14(1):29-44.
29. Chouchana L, Lorient MA. Pharmacogénétique des thiopurines. :4.
30. Samer CF, Rollason V, Lorenzini KI, Daali Y, Desmeules JA. Intérêt des outils d'investigation

des enzymes métaboliques en pratique clinique. Douleur analg. déc 2013;26(4):241-7.

31. Interactions médicamenteuses et cytochromes - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. Disponible sur: [https://www.anism.sante.fr/Dossiers/Interactions-medicamenteuses/Interactions-medicamenteuses-et-cytochromes/\(offset\)/1](https://www.anism.sante.fr/Dossiers/Interactions-medicamenteuses/Interactions-medicamenteuses-et-cytochromes/(offset)/1)

32. Chouchana L. Optimisation de la réponse aux thiopurines par la pharmacogénétique: approches in vitro et cliniques. Paris Descartes; 2014.

33. Guellec CL, Benz I. Rôle des transporteurs dans l'élimination des médicaments et leurs effets indésirables. :8.

34. Liu X, Pan G, éditeurs. Drug Transporters in Drug Disposition, Effects and Toxicity [Internet]. Singapore: Springer Singapore; 2019. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1141). Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-7647-4>

35. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell. mars 2011;144(5):646-74.

36. Faure S. Anticancéreux cytotoxiques. Actualités Pharmaceutiques. juin 2010;49(497):51-4.

37. Huan C, Jin L, Heng W, Na A, Yuming P, Xin D, et al. MXD1 regulates the imatinib resistance of chronic myeloid leukemia cells by repressing BCR-ABL1 expression. Leukemia Research. déc 2018;75:1-6.

38. Roche-Lestienne C, Mahon F-X, Preudhomme C. Origines de la résistance au traitement par imatinib mésylate : un exemple riche d'enseignements. Med Sci (Paris). déc 2004;20(12):1125-30.

39. Gambacorti-Passerini CB, Gunby RH, Piazza R, Galiotta A, Rostagno R, Scapozza L. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia-chromosome-positive leukaemias. The Lancet Oncology. 1 févr 2003;4(2):75-85.

40. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. Blood. 8 août 2013;122(6):872-84.

41. Hochhaus A, Rosée PL, Müller MC, Ernst T, Cross NCP. Impact of *BCR-ABL* mutations on patients with chronic myeloid leukemia. Cell Cycle. 15 janv 2011;10(2):250-60.

42. Saab F. Inhibiteurs de la voie Raf/MEK/ERK: Synthèse de composés à structure 4-azaindolique et évaluation de leur efficacité par la mise au point de tests TR-FRET. :301.

43. Baines AT, Xu D, Der CJ. Inhibition of Ras for cancer treatment: the search continues. Future Medicinal Chemistry. oct 2011;3(14):1787-808.

44. Zhang N, Yin Y, Xu S-J, Chen W-S. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Resistance and Reversal

Strategies. 2008;19.

45. Hammond WA, Swaika A, Mody K. Pharmacologic resistance in colorectal cancer: a review. Therapeutic Advances in Medical Oncology. :28.

46. Guerci AP. Résistance multidrogue induite par la surexpression du gène mdr1. La Revue de Médecine Interne. janv 1993;14(8):772-9.

47. de Chaisemartin L, Lorient M-A. Pharmacogénétique des médicaments anticancéreux. Pathologie Biologie. mars 2005;53(2):116-24.

48. Tallet A, Le Guellec C. Vers une personnalisation des traitements par la pharmacogénétique. Actualités Pharmaceutiques. nov 2011;50(510):26-33.

49. Narjoz C, Moreau C, Beaune P, Lorient M-A. Intérêt clinique de la pharmacogénétique : anticiper les toxicités et mieux prédire l'efficacité des médicaments. Réanimation. janv 2012;21(S2):354-62.

50. Flippot R, Massard C, Auclin E, Azria D, Bourien H, Rochigneux P, et al. Quelle vision des biomarqueurs en 2017 ? Promesses et défis de la médecine personnalisée en oncologie. Bulletin du Cancer. sept 2017;104(9):735-43.

51. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). European Journal of Cancer. 1 janv 2009;45(2):228-47.

52. Gougnard T, Charlier C, Plomteux G. Surveillance thérapeutique des traitements anticancéreux. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 1 juill 2000;15(4):258-61.

53. Uhel F, Zafrani L, Commission de la recherche translationnelle de la Société de réanimation de langue française. Nouvelles techniques de biologie moléculaire. Méd Intensive Réa [Internet]. 2019; Disponible sur: <https://rea.revuesonline.com/10.3166/rea-2019-0119>

54. Tinnière G. Place actuelle des examens de pharmacogénétique et analyse du génotype CYP2C19 chez des patients traités par voriconazole au CHU de Rouen. Rouen; 2014.

55. Lamoril J, Ameziane N, Deybach J-C, Bouizegarène P, Bogard M. Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 1 oct 2008;23(5):260-79.

56. Lacoste C, Fabre A, Pécheux C, Lévy N, Krahn M, Malzac P, et al. Le séquençage d'ADN à haut débit en pratique clinique. Archives de Pédiatrie. avr 2017;24(4):373-83.

57. André C. Les nouvelles techniques de séquençage [Internet]. 2018. Disponible sur: [http://www.myobase.org/doc\\_num.php?explnum\\_id=17017](http://www.myobase.org/doc_num.php?explnum_id=17017)

58. Stern MH. Deep sequencing or next generation sequencing. :10.

59. Guéguen P, Redon S, Le Maréchal C. Puces à ADN (microArrays) et séquençage de nouvelle génération. *Revue Francophone des Laboratoires*. juin 2015;2015(473):63-70.
60. VIDAL - XELODA 500 mg cp pellic - Synthèse [Internet]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/Medicament/xeloda-17897.htm>
61. Fluoropyrimidine Pathway, Pharmacokinetics Overview [Internet]. PharmGKB. Disponible sur: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA150653776>
62. Launay M, Pourroy B, Ciccolini J. Gestion des toxicités précoces sévères au 5-fluorouracile : point sur le uridine triacetate (Vistogard®). *Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien*. oct 2018;53(4):354-8.
63. Boisdrion-Celle M, Guérin-Meyer V, Capitain O. 5-fluorouracile : MSI, pharmacocinétique, DPD, TYMS et MTHFR. In 2013. p. 75-92.
64. Gamelin E, Boisdrion-Celle M, Morel A, Capitain O. La pharmacogénétique Du concept à la pratique clinique Pharmacogénétique des anticancéreux. :12.
65. Fluoropyrimidine Pathway, Pharmacodynamics Overview [Internet]. PharmGKB. [cité 9 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165291507>
66. Lorient M-A, Ciccolini J, Thomas F, Barin-Le-Guellec C, Royer B, Milano G, et al. Dépistage du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de fluoropyrimidines : mise au point et recommandations nationales du GPCO-Unicancer et du RNPGx. *Bulletin du Cancer*. avr 2018;105(4):397-407.
67. Vaflard P, Ederhy S, Torregrosa C, André T, Cohen R, Lopez-Trabada D. La toxicité cardiaque des fluoropyrimidines : 5-fluorouracile, capécitabine, le composé S-1 et le trifluridine/tipiracil. *Bulletin du Cancer*. juill 2018;105(7-8):707-19.
68. Coursier S, Martelet S, Guillermet A, Emptoz J, Villier C, Bontemps H. Toxicité sévère à la capécitabine liée à un déficit enzymatique en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD). *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. mars 2010;34(3):218-23.
69. Tuchman M, Stoeckeler JS, Kiang DT, O'Dea RF, Ramnaraine ML, Mirkin BL. Familial pyrimidinemia and pyrimidinuria associated with severe fluorouracil toxicity. *N Engl J Med*. 25 juill 1985;313(4):245-9.
70. Very Important Pharmacogene: DPYD [Internet]. PharmGKB. [cité 9 nov 2020]. Disponible sur: <https://www.pharmgkb.org/vip/PA166169426>
71. Lorient M-A, Masskouri F, Carni P, Le Malicot K, Seitz J-F, Michel P, et al. Intérêts et limites de la recherche du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase dans le suivi des patients traités par fluoropyrimidines : résultats de deux enquêtes nationales de pratiques réalisées auprès des médecins et des biologistes. *Bulletin du Cancer*. sept 2019;106(9):759-75.
72. Quaranta S, Thomas F. Pharmacogénétique des médicaments anticancéreux : état des

connaissances et des pratiques – recommandations du Réseau national de pharmacogénétique (RNPGx). *Thérapies*. avr 2017;72(2):193-204.

73. Marquot G, Frison C, Lebel D, Bussièrès J-F, Métras M-É. Recommandations relatives à la réalisation de tests de pharmacogénétique dans les monographies de médicaments au Canada, en France et aux États-Unis. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 1 sept 2020;78(5):447-57.

74. VIDAL - IMUREL 50 mg cp pellic - Synthèse [Internet]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/Medicament/imurel-65182.htm>

75. Guillotin V, Galli G, Viillard J-F. Intérêt de la recherche du polymorphisme de la thiopurine méthyltransférase et du dosage des métabolites chez les patients traités par azathioprine. *La Revue de Médecine Interne*. juin 2018;39(6):421-6.

76. Antimétabolites immunosuppresseurs [Internet]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antimetabolites-immunosuppresseurs>

77. Wolf A, Burnat P, Garcia-Hejl C, Ceppa F. Étude pharmacologique et pharmacogénétique de deux immunomodulateurs : l'azathioprine et la 6-mercaptopurine. Stratégies de prévention des complications. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. mars 2009;33(3):176-84.

78. Becquemont L. Pharmacogenetics [Internet]. Disponible sur: [www.pharmacogenetics.fr](http://www.pharmacogenetics.fr)

79. Wahlund M, Nilsson A, Kahlin AZ, Broliden K, Myrberg IH, Appell ML, et al. The Role of TPMT, ITPA, and NUDT15 Variants during Mercaptopurine Treatment of Swedish Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. *The Journal of Pediatrics*. 1 janv 2020;216:150-157.e1.

80. Bailly C. Irinotecan: 25 years of cancer treatment. *Pharmacological Research*. oct 2019;148:104398.

81. Ceppa F, Fontan E, Cremades S, Bihannic R, Bousquet A, Beauvillain L, et al. Implication de la pharmacogénétique dans les traitements des cancers colorectaux. *La Revue de Médecine Interne*. sept 2007;28(9):594-602.

82. Irinotecan Pathway, Pharmacokinetics Overview [Internet]. PharmGKB. Disponible sur: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA2001>

83. Boyer J-C, Etienne-Grimaldi M-C, Thomas F, Quaranta S, Picard N, Loriot M-A, et al. Interest of UGT1A1 genotyping within digestive cancers treatment by irinotecan. *Bulletin du Cancer*. juin 2014;101(6):533-53.

84. Lagarce L, Zenut M, Lainé-Cessac P. Pharmacologie du méthotrexate. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. mars 2015;44(3):203-11.

85. Beylot-Barry M, Le Maitre M, Goujon C. Méthotrexate. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. juin 2019;146(6-7):459-65.
86. Bihan K. Pharmacogénétique du méthotrexate. *Correspondances en Onco-Hématologie*. 2014;IX(6):5.
87. Garcia H, Leblond V, Goldwasser F, Bouscary D, Raffoux E, Boissel N, et al. Toxicité rénale du méthotrexate à haute dose. *Néphrologie & Thérapeutique*. avr 2018;14:S103-13.
88. Rizwan AN, Burckhardt G. Organic Anion Transporters of the SLC22 Family: Biopharmaceutical, Physiological, and Pathological Roles. *Pharm Res*. mars 2007;24(3):450-70.
89. Lansiaux A. Antimetabolites. *Bulletin du Cancer*. nov 2011;98(11):1263-74.
90. Perdriger A, Rihouey D, Verdier M-C. Pharmacogénomique et traitement de la polyarthrite rhumatoïde. *Revue du Rhumatisme Monographies*. août 2010;77(4):341-5.
91. Le Quellec A, Carvajal Alegria G, Guellec D, Saraux A. Le méthotrexate au centre de la stratégie thérapeutique de la PR. *Revue du Rhumatisme Monographies*. sept 2017;84(4):383-7.
92. Very Important Pharmacogene: MTHFR [Internet]. PharmGKB. Disponible sur: <https://www.pharmgkb.org/vip/PA166169429>
93. Lopez-Lopez E, Martin-Guerrero I, Ballesteros J, Garcia-Orad A. A systematic review and meta-analysis of MTHFR polymorphisms in methotrexate toxicity prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *The Pharmacogenomics Journal*. déc 2013;13(6):498-506.
94. Ansari M, St-Onge G, Krajinovic M. Pharmacogénétique de la leucémie lymphoblastique aiguë. *Med Sci (Paris)*. 1 nov 2007;23(11):961-7.
95. Hulot J-S, Villard E, Maguy A, Morel V, Mir L, Tostivint I, et al. A mutation in the drug transporter gene ABCC2 associated with impaired methotrexate elimination: *Pharmacogenetics and Genomics*. mai 2005;15(5):277-85.
96. VanWert AL, Sweet DH. Impaired Clearance of Methotrexate in Organic Anion Transporter 3 (Slc22a8) Knockout Mice: A Gender Specific Impact of Reduced Foliates. *Pharm Res*. févr 2008;25(2):453-62.
97. Reutenauer S, Chauveau D, Récher C. Surdosage au méthotrexate : complications, prise en charge et prévention. *Réanimation*. oct 2009;18(7):654-8.
98. Le Guellec C, Blasco H, Benz I, Hulin A. Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique du méthotrexate au décours de son administration à haute-dose. *Therapies*. 1 mai 2010;65(3):163-9.
99. VIDAL - NOLVADEX 10 mg cp pellic - Synthèse [Internet]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/Medicament/nolvadex-11912.htm>

100. Chantry A-S, Quaranta S, Ciccolini J, Lacarelle B. Clinical application, limits and perspectives of pharmacogenetic and pharmacokinetic analysis of anticancer drugs. *Annales de biologie clinique*. sept 2014;72(5):527-42.
101. Barrière J, Formento J-L, Milano G, Ferrero J-M. Polymorphismes du CYP2D6 et tamoxifène : perspectives thérapeutiques dans la prise en charge des cancers du sein hormonodépendants. *Bulletin du Cancer*. mars 2010;97(3):311-20.
102. Huber-Wechselberger AE, Niedetzky P, Aigner I, Haschke-Becher E. Impact of CYP2D6 polymorphism on tamoxifen therapy: where are we? *Wien Med Wochenschr*. juin 2012;162(11-12):252-61.
103. Netgen. Le polymorphisme génétique du cytochrome P450 2D6 : le Bon, l'Ultrapide, l'Intermédiaire et le Lent [Internet]. *Revue Médicale Suisse*. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2004/RMS-2476/23775>
104. Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, Safgren SL, Ames MM, Visscher DW, et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol*. 20 déc 2005;23(36):9312-8.
105. Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar H-J, Schwab M, Province M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and Tamoxifen Therapy. *Clin Pharmacol Ther*. mai 2018;103(5):770-7.
106. Thomas F. Pharmacogénétique et tamoxifène dans le cancer du sein : où en est-on ? *La lettre du pharmacologue*. 2015;4.
107. Dean L. Tamoxifen Therapy and CYP2D6 Genotype. :16.
108. Moulis M, Khouri C, Mallaret M. Antidépresseurs et tamoxifène : une interaction méconnue. *Therapies*. 1 mars 2014;69(2):178-9.
109. Patriquin CJ, Kiss T, Caplan S, Chin-Yee I, Grewal K, Grossman J, et al. How we treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: A consensus statement of the Canadian PNH Network and review of the national registry. *Eur J Haematol*. janv 2019;102(1):36-52.
110. Lemaitre F, Goirand F, Launay M, Chatelut E, Boyer J-C, Evrard A, et al. Suivi thérapeutique pharmacologique du 5-fluorouracile : mise au point et recommandations du groupe STP-PT de la SFPT et du GPCO-Unicancer. *Bulletin du Cancer*. 1 sept 2018;105(9):790-803.

Hortense LICTEVOUT-LESAGE

## PLACE ACTUELLE DES EXAMENS DE PHARMACOGENETIQUE EN ONCOLOGIE

Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en pharmacie

Université Picardie Jules Vernes, 2020

**Mots clés :** *pharmacogénétique, génotypage, phénotypage, oncologie, anticancéreux, médecine personnalisée, capécitabine, 5-FU, irinotécan, IRT, méthotrexate, MTX, tamoxifène, azathioprine, AZA, DPD, TPMT, UGT1A1.*

**Résumé :** L'individualisation thérapeutique est un enjeu important en oncologie afin d'optimiser la prise en charge à tous points de vue : efficacité, toxicité, coût. La pharmacogénétique qui étudie l'influence des variations génétiques (de l'individu) impliquées dans la réponse au médicament se présente comme un outil de prise de décision clinique afin d'optimiser l'efficacité thérapeutique et de réduire le risque d'effet indésirable. Grâce à l'identification et la caractérisation des polymorphismes génétiques ou des phénotypes il est possible d'anticiper une réponse à un traitement ou de prévenir un échec thérapeutique. Cette thèse bibliographique étudie 5 anticancéreux pour lesquels la recherche de variants génétiques a été documentée dans la littérature. Il s'agit du 5-fluorouracile et son analogue la capécitabine, les thiopurines (azathioprine et 6-mercaptopurine), de l'irinotécan, le méthotrexate et le tamoxifène.

### Membres du Jury

Présidente :

- Madame le Docteur **Sophie LIABEUF**, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Directrice de thèse :

- Madame le Docteur **Sandra BODEAU**, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier

Membres :

- Madame le Docteur **Aline HOUESSINON**, Chef de Clinique Assistante
- Madame le Docteur **Chloé SAUZAY**, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier