

PHARMACOGÉNÉTIQUE DES IMMUNOSUPPRESSEURS

par

E. THERVET*, **, D. ANGLICHEAU*, **,
P. BEAUNE** et C. LEGENDRE*

Depuis ces dernières années, le choix des traitements immunosuppresseurs pouvant être utilisés après transplantation rénale s'est considérablement élargi. Les opportunités ainsi ouvertes rendent difficile la décision pour l'utilisation de chacune des molécules chez un individu donné. La pharmacologie peut intervenir pour individualiser au mieux le traitement par le biais des données pharmacocinétiques, pharmacodynamiques et pharmacogénétiques.

La pharmacocinétique repose sur le dosage sanguin d'un médicament. Cette mesure relativement simple est utile pour des médicaments présentant un faible index thérapeutique mais reste un reflet indirect de l'action d'une molécule sur sa cible. La pharmacodynamie repose sur la mesure de l'action d'un agent thérapeutique sur sa cible. Il peut s'agir par exemple de la mesure de l'inhibition d'un enzyme cible, comme la calcineurine en cas de traitement par la cyclosporine ou le tacrolimus [1].

La dernière approche pharmacologique est celle de la « pharmacogénétique » ou de la « pharmacogénomique ». Même si ces termes sont synonymes en pratique courante, la pharmacogénomique utilise une approche du génome dans son ensemble. Le rôle de la pharmacogénétique est d'élucider les bases héréditaires des différences de réponses individuelles à des médicaments en permettant ainsi d'identifier le traitement adéquat et la dose optimale pour chaque patient. Lorsqu'un médicament est administré, il est absorbé et distribué à son site d'action, où il va interagir avec des cibles telles que des récepteurs ou des enzymes. Il subit ensuite un métabolisme et enfin est excrété. Chacune de ces étapes peut présenter des variations génétiques cliniquement significatives. Dans le domaine de la transplantation, il est bien connu que les receveurs d'une greffe répondent de façon variable aux

* Service de Néphrologie et de Transplantation rénale, Hôpital Saint-Louis, Paris.

** Unité de Toxicologie moléculaire, INSERM UMR S490, Centre universitaire des Saints-Pères, Paris.

traitements immunosuppresseurs. Les variations interindividuelles sont plus importantes que les variations intra-individuelles. Cette constatation est compatible avec la notion que l'hérédité est un des déterminants de la réponse aux traitements. Dans la population générale, il est admis que la génétique intervient pour 20 à 95 p. 100 de la variation de la biodisponibilité et les effets d'un traitement [2]. Des facteurs épigénétiques, tels que la fonction de l'organe, les interactions médicamenteuses et la nature de la pathologie, peuvent aussi influencer les effets d'un traitement. L'identification récente de polymorphismes génétiques des enzymes du métabolisme des xénobiotiques (EMX) et des transporteurs a conduit à l'hypothèse que des facteurs génétiques pourraient être impliqués dans la variabilité interindividuelle des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des traitements immunosuppresseurs, de leur efficacité et de leurs effets indésirables.

GÉNÉRALITÉS

Trois grandes étapes sont nécessaires à une étude pharmacogénétique. Dans un premier temps, il convient de caractériser les enzymes impliqués dans le métabolisme d'une molécule donnée. Il faut ensuite montrer qu'il existe un polymorphisme de l'activité de cet enzyme. Cela est souvent réalisé par la détermination de l'activité enzymatique dans des populations larges. Enfin, le caractère génétique de ce polymorphisme doit être démontré par des études de génétique formelle ou par la mise en évidence de mutations ou de **polymorphisme de gène** (*Single Nucleotide Polymorphism* ou *SNP*). Le séquençage d'une population large ou de sujets sélectionnés sur leur niveau variable d'activité enzymatique permet de préciser l'existence de mutations ou de SNP pour le gène d'intérêt. Ces polymorphismes n'auront un intérêt que s'ils sont responsables de conséquences fonctionnelles cliniquement significatives. Ces modifications phénotypiques peuvent être cliniques, pharmacocinétiques, pharmacodynamiques ou démontrées par la mesure de l'activité d'un enzyme.

TRANSMISSION MONOGÉNIQUE D'UN ENZYME IMPLIQUÉ DANS UN MÉTABOLISME SPÉCIFIQUE : L'EXEMPLE DE LA THIOPURINE MÉTHYLTRANSFÉRISE (TPMT) (fig. 1)

La plupart des transmissions pharmacogénétiques identifiées initialement ont été découvertes par une analyse phénotypique permettant de détecter une activité enzymatique possédant un profil bi- ou trimodal. Ces polymorphismes sont monogéniques. C'est le cas pour l'exemple classique de l'azathioprine (AZA) et de la TPMT. L'AZA est un traitement immunosuppresseur de la famille des inhibiteurs de la synthèse des bases puriques. La toxicité et l'efficacité thérapeutique de l'AZA sont secondaires aux caractéristiques de son métabolisme. La transformation enzymatique de l'AZA conduit à la formation de 6-mercaptopurine (6-MP). L'hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase (HGPRT) transforme la 6-MP

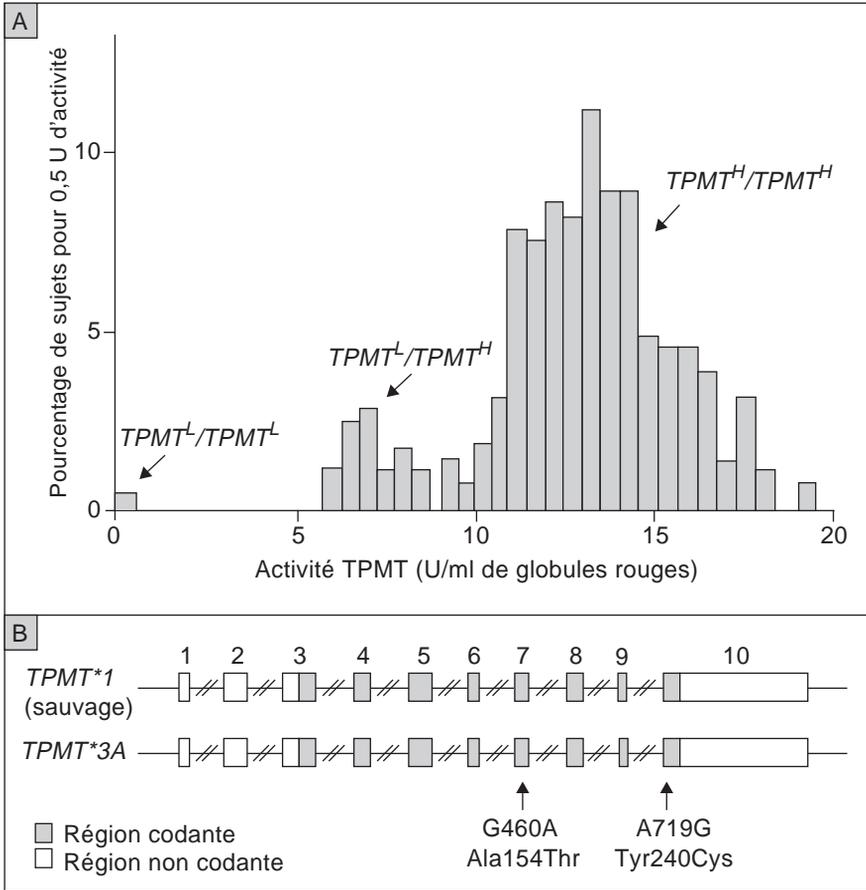


FIG. 1. — Pharmacogénétique de la thiopurine S-méthyltransférase (TPMT) (Panel A) et du gène de la *TPMT* (Panel B).

Le panel A montre le niveau de l'activité TPMT dans les érythrocytes. Le génotype présumé pour le gène de la *TPMT* est également montré. *TPMT^L* et *TPMT^H* sont les allèles qui entraînent respectivement un bas et un haut niveau d'activité. Le panel B montre le gène de la *TPMT* humaine. *TPMT*1* est l'allèle le plus fréquent chez les sujets blancs, et *TPMT*3A*, l'allèle variant le plus commun (d'après Weinshilboum R. Inheritance and drug response. N Engl J Med, 2003, **348**, 529-537, avec permission).

en 6-thioguanine nucléotides (6-TGN) responsables de l'effet immunosuppresseur et d'une toxicité proportionnelle à leurs concentrations. La TPMT transforme la 6-MP en 6-méthyl mercaptopurine (6-MMP) par méthylation de la fonction thiol. Durant les années 80, d'importantes différences interindividuelles de l'activité TPMT ont été rapportées. Une mesure de l'activité TPMT est réalisable grâce à une simple prise de sang. En effet, si le site principal de la TPMT est hépatique, cette enzyme est également présente dans les érythrocytes. L'activité TPMT est mesurée alors par la production de 6-MMP, par méthode radiochimique ou HPLC [3]. Des études de génétique formelle ont montré que les différences interindividuelles étaient d'origine génétique avec une transmission de type autosomique codominante [4].

Le polymorphisme génétique de la TPMT va expliquer les épisodes toxiques rencontrés chez certains individus. Lorsque des patients ayant une activité TPMT basse ou indétectable reçoivent des doses habituelles d'AZA, ils présentent des concentrations élevées de métabolites actifs, les 6-thioguanine nucléotides et une myélotoxicité induite par le traitement. À l'inverse chez les patients avec une activité très élevée de TPMT, l'efficacité de l'AZA est diminuée, probablement en raison du métabolisme rapide du traitement [5, 6]. Nous avons aussi montré que le profil évolutif de l'activité TPMT après transplantation rénale était corrélé avec les résultats à court et à long terme après transplantation [7, 8]. Les variations de l'activité TPMT sont secondaires à des polymorphismes génétiques du gène de la TPMT. Ce gène a une taille d'environ 34 kb et consiste en 10 exons et 9 introns. Il est localisé au chromosome 6 (sous localisation 6p22.3). L'allèle *TPMT*3A*, qui représente le variant responsable d'une activité faible de la TPMT le plus fréquent dans la population caucasienne, code pour une protéine avec deux SNP, G460A dans l'exon 7 et A719G dans l'exon 10, entraînant des modifications de la séquences d'acides aminés [9]. Les patients porteurs de ces SNP à l'état homozygote ont un risque augmenté d'accident de myélotoxicité après traitement par AZA. Les deux approches, déterminations phénotypique et génotypique, ont été parmi les premiers tests pharmacogénétiques à être utilisés en pratique clinique.

POLYMORPHISME D'UNE VOIE MÉTABOLIQUE COMMUNE : L'EXEMPLE DES CYTOCHROMES P450

Les cytochromes P450 (CYP) sont classés en familles et sous-familles selon le pourcentage de similarités entre les séquences d'acides aminés. Les membres de la sous-famille CYP3A sont impliqués dans le métabolisme d'endobiotiques, de médicaments et de molécules pro-carcinogènes de structures diverses. Des différences significatives interindividuelles contribuent à des variabilités de la biodisponibilité orale et de la clairance systémique des substrats des CYP3A [10]. Les activités CYP3A chez l'homme reflètent l'expression hétérogène d'au moins deux membres de la sous-famille CYP3A, les CYP3A4 et CYP3A5, dont les gènes sont situés de façon adjacente sur le chromosome 7q21. Des informations existent sur l'influence des polymorphismes génétiques des *CYP3A* sur les données pharmacocinétiques du tacrolimus. En ce qui concerne le gène *CYP3A4*, plus de 20 SNP ont été décrits. Une étude portant sur un SNP localisé dans la région 5' du gène, responsable de l'allèle *CYP3A4*1B*, a montré que les patients porteurs de cet allèle ont une concentration résiduelle de tacrolimus ajustée à la dose, reflétant la dose de tacrolimus nécessaire pour obtenir la concentration cible, plus basse que les patients avec le génotype sauvage (*1/*1) [11]. En ce qui concerne le *CYP3A5*, l'analyse de la composition en ADN complémentaire (ADNc) a montré que seuls les individus avec au moins un allèle *CYP3A5*1* (A à la position 6986) produisent de hauts niveaux d'ARNm et expriment la protéine CYP3A5. Celle-ci représente alors au moins 50 p. 100 du contenu total en CYP3A [12]. Les porteurs de l'allèle *CYP3A5*3* (G en position 6986) ont une variabilité de séquence dans l'intron 3 qui crée un site d'épissage et code pour un ARNm tronqué avec un codon stop prématuré. Nous avons montré que les besoins en tacrolimus sont associés avec ce polymorphisme du *CYP3A5* [13]. Les patients avec un génotype *CYP3A5*1/*1* ont un haut niveau de métabolisme

intestinal et hépatique, et la dose quotidienne nécessaire pour obtenir des taux résiduels de tacrolimus adéquats est plus élevée. La plus grande fréquence de cet allèle dans la population noire pourrait en partie expliquer les moins bons résultats observés après transplantation rénale dans cette population. Nos observations sont en accord avec celles de MacPhee et coll., qui ont noté que la présence d'un SNP dans le pseudogène *CYP3A1* (A/G44), lui-même en déséquilibre de liaison avec l'allèle *CYP3A5*3*, était corrélée avec les besoins en tacrolimus [14].

Les résultats pour la cyclosporine (CsA) sont plus sujets à controverse. Même s'il est admis que la CsA est métabolisée par le CYP3A4 dans le foie et dans l'intestin grêle, et de façon moins importante par le CYP3A5 [15], il n'a pas été montré de liens entre les besoins en CsA et la présence d'un allèle *CYP3A4*1B* ou le polymorphisme du *CYP3A5* [11].

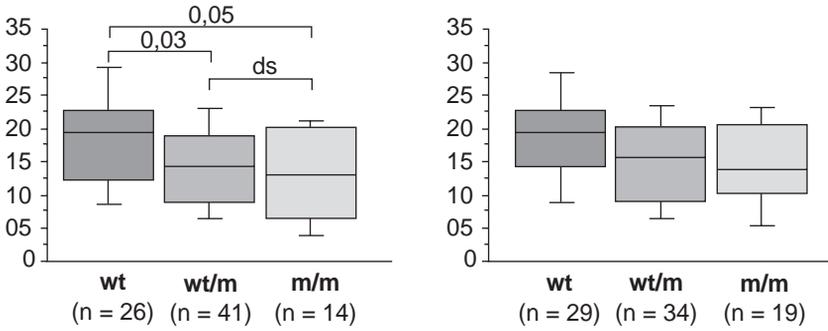
ANALYSE PAR HAPLOTYPE D'UN TRANSPORTEUR COMMUN : *MULTIDRUG RESISTANCE-1* (*MDR1*) (fig. 2)

Les protéines de transport jouent un rôle important dans la régulation de l'absorption, de la distribution et de l'excrétion de nombreux traitements. La P-glycoprotéine (P-gp) est un membre de la famille des transporteurs membranaires adénosine triphosphate (ATP)-binding cassette dont le gène est appelé *ABCB1* ou *MDR1*. Une des fonctions principales de la P-gp est de permettre un efflux actif, ATP-dépendant, de substrats. Le fait que la P-gp est exprimée dans des tissus normaux suggère que cette molécule a un rôle dans l'excrétion des xénobiotiques et des métabolites. Dans le tube digestif, l'altération de l'expression et/ou de la fonction augmente l'absorption des xénobiotiques [16].

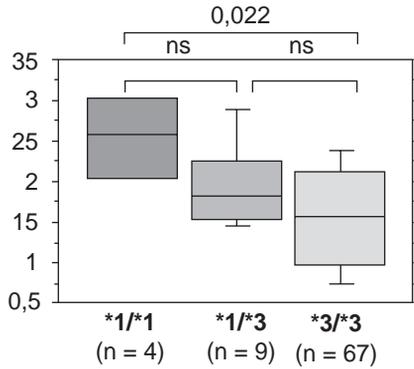
La cyclosporine et le tacrolimus sont des substrats de la P-gp. Une étude chez des receveurs de transplantation hépatique traités par le tacrolimus a montré que l'expression d'ARNm intestinal du gène *MDR-1* est inversement corrélée à la concentration résiduelle ajustée à la dose [17]. Dans cette étude, les patients qui exprimaient de façon importante *MDR1* avaient besoin de doses plus élevées de tacrolimus pour atteindre des concentrations résiduelles adéquates.

Des variations significatives interindividuelles d'expression et de fonction de la P-gp peuvent être secondaires à des facteurs génétiques. Divers SNP ont été identifiés dans le gène *MDR1* depuis ces trois dernières années [18]. Un SNP, localisé dans l'exon 26 (exon 26 3435C>T), a été associé à des variations de l'expression intestinale et de la fonction de la P-gp. Cependant, ce SNP est un polymorphisme silencieux qui n'entraîne pas de modifications de la séquence d'acide aminé. Il a été proposé qu'il soit en déséquilibre de liaison avec d'autres polymorphismes fonctionnels du gène *MDR1*. Un coségrégation de l'exon 26 3435T avec l'allèle T du SNP G2677T de l'exon 21 (exon 21 2677G>T), qui entraîne une modification de l'acide aminé A893S, et de l'allèle T avec le SNP T1236C de l'exon 12 (exon 12 1236C>T) a été rapportée. Tous ces résultats montrent qu'il faut réaliser une analyse en haplotype du gène *MDR-1* pour identifier les liens entre les variations pharmacocinétiques et chaque haplotype. Cette approche permet de prendre en compte la combinaison de SNP présent pour un allèle [19] et pourrait être plus prédictive des modifications de réponse pour les traitements qu'une analyse fondée uniquement sur les SNP pris séparément.

G2677T,A ($p = 0,05$, Kruskal-Wallis test) **C3435T** ($p = 0,08$, Kruskal-Wallis test)



CYP3A5 ($p = 0,013$, Kruskal-Wallis test)



Dose quotidienne à un mois (mg/kg/j)

FIG. 2. — Influence des génotypes de *MDR-1* (G2677T,A ; C3435T) et *CYP3A5*1* sur les paramètres pharmacologiques de receveurs de transplant rénal un mois après l'introduction du tacrolimus. Les graphiques montrent la distribution de la dose quotidienne de tacrolimus (mg/kg), séparée selon le génotype (modifié de [20] et [13], avec permission).

Dans une population de 80 receveurs d'une transplantation rénale, nous avons montré que les doses de tacrolimus nécessaires étaient plus faibles chez les patients qui avaient un ou deux allèles mutés dans les SNP des exons 12, 21 et 26, avec un effet de « dose de gène » [20]. La relation la plus importante était notée pour le SNP 2677G>T,A de l'exon 21. Les besoins de dose de tacrolimus étaient plus élevés de 40 p. 100, le rapport concentration/dose était plus faible de 36 p. 100, pour les porteurs de l'allèle sauvage à l'état homozygote, suggérant que pour une dose donnée, les concentrations sanguines de tacrolimus sont plus faibles chez les patients avec un génotype sauvage. Goto et coll. n'ont pas retrouvé d'association entre 10 SNP du gène *MDR1* et le rapport concentration/dose du tacrolimus durant les premiers jours suivant une transplantation hépatique [19] et MacPhee et coll. n'ont rapporté qu'une association faible entre le SNP 3435C>T de l'exon 26 et les

besoins en dose de tacrolimus [14]. Nous avons donc analysé nos résultats selon les deux haplotypes les plus fréquents. Nous avons montré qu'il existe une augmentation de 61 p. 100 des besoins en dose de tacrolimus chez les patients homozygotes pour les allèles sauvages des SNP, les exons 12, 21 et 26.

En ce qui concerne la CsA, les résultats sont plus contrastés. Une étude récente n'a pas montré d'association entre les caractéristiques pharmacocinétiques de la CsA et les polymorphismes de *MDR1* [11]. D'un autre côté, Yates et coll. [21] ont mis en évidence une association entre la biodisponibilité orale de la CsA et le polymorphisme du SNP 3435C>T de l'exon 26 dans une population de 10 patients comportant 6 Noirs américains et 4 patients d'origine caucasienne. De façon surprenante, chez les porteurs de l'allèle 3435T du gène *MDR1*, la clairance orale de la CsA était plus élevée, et l'aire sous la courbe de 0 à 12 heures (ASC_{0-12}) plus basse, que chez les individus avec un génotype sauvage. Il est possible que des facteurs confondants, en particulier ethniques, puissent être responsables de distributions variables du polymorphisme *MDR1* entre les individus. Dans une étude portant sur 14 receveurs d'une transplantation cardiaque [22], il a été rapporté qu'il n'existait pas d'association entre les SNP des exons 12, 21 et 26 de *MDR1* et les caractéristiques pharmacocinétiques de la CsA ou les doses de CsA. Une analyse en haplotype incluant ces trois SNP, a montré une tendance non significative pour une exposition plus importante à la CsA chez les porteurs de l'haplotype T-T-T (associé à une expression et/ou une fonction déficientes de la P-gp) en comparaison avec les porteurs de l'haplotype C-G-C (haplotype sauvage). Pour notre part, nous avons étudié les effets des polymorphismes de quatre SNP du gène de *MDR1* sur de multiples paramètres pharmacocinétiques chez 106 transplantés rénaux en situation stable traités par CsA et d'origine caucasienne. Nous avons trouvé une association entre la concentration maximale (C_{max}) ajustée à la dose et l' ASC_{0-4h} ajustée à la dose chez les patients porteurs du génotype sauvage pour le SNP de l'exon 12 de *MDR1*. Cependant, cette association n'était que faible et l'analyse en haplotype n'a retrouvé qu'une tendance non significative pour une exposition plus importante à la CsA et à une meilleure absorption intestinale en cas d'haplotype muté. De ce fait, il est probable que la détermination des SNP de *MDR1* n'aura qu'un intérêt limité en pratique clinique. Lorsque l'on compare ces résultats à ceux observés avec le tacrolimus, le rôle modéré de la variabilité d'origine génétique peut s'expliquer par le fait que la CsA est un inhibiteur puissant de la fonction de la P-gp. Cette inhibition pharmacologique pourrait expliquer un impact limité des variations génétiques pour la CsA [23]. En revanche, pour le tacrolimus, les doses nécessaires pour inhiber la P-gp sont bien supérieures à celles utilisées en clinique humaine pour la prévention des rejets aigus. Il est donc possible dans ce cas d'observer une variabilité d'origine génétique cliniquement détectable.

APPROCHE MULTIGÉNIQUE : RÔLES RELATIFS DES POLYMORPHISMES DES CYTOCHROMES P4503A ET DE MDR-1

Puisque la CsA et le tacrolimus sont tous les deux des substrats des enzymes CYP3A5 et de la P-gp, il est possible qu'une analyse combinée des polymorphismes de ces deux gènes améliore la prédiction de la réponse individuelle à ces

traitements. Il existe d'ailleurs une relation entre ces deux enzymes. La P-gp peut limiter le métabolisme lié au CYP3A *in vivo* [24]. Nous avons aussi retrouvé que chez les Caucasiens, les porteurs d'un allèle *CYP3A5**3 étaient souvent porteurs de l'allèle 3435T pour le gène *MDR1*. Il a été proposé que 80 p. 100 de la variabilité interindividuelle de la biodisponibilité orale de la CsA fût secondaire à des différences de l'activité des CYP3A hépatiques et de la P-gp intestinale. Dans une étude portant sur 25 patients transplantés rénaux en situation stable traités par la formulation Sandimmun® de la CsA, les CYP3A4 hépatiques et le contenu des entérocytes en P-gp représentaient respectivement environ 56 p. 100 et 17 p. 100 de la variabilité de la clairance orale apparente de la CsA [25].

Pour le tacrolimus, l'étude des conséquences de la variabilité de ces deux enzymes a été réalisée. Le génotype du pseudo-gène *CYP3A1* (A/G-44) est associé de façon forte à la concentration sanguine obtenue pour une dose donnée et une association plus faible était observée avec le génotype C3435T de *MDR1* [14]. Dans cette étude, les auteurs ont utilisé l'association des génotypes AATT, qui représente respectivement le pseudo-gène *CYP3A1* et le génotype *MDR-1*, comme génotype de référence pour le comparer aux autres. En effet, ce génotype est considéré comme celui donnant le plus faible niveau d'expression et/ou de fonction de CYP3A5 et de Pgp, associé de ce fait à la biodisponibilité orale la plus élevée de tacrolimus. Les génotypes AGCC, AGCT, AGTT, GGCC, GGCT, et GGTT étaient significativement différents du génotype AATT. L'existence d'un allèle G en position - 44 dans le locus de *CYP3A1* était associée à une diminution moyenne des concentrations moyennes de tacrolimus obtenues pour une dose donnée de 1,85 fois pour le génotype AG et de 2,25 fois pour le génotype GG. L'existence d'un génotype CC de *MDR-1* entraînait également une diminution moyenne des concentrations sanguines de tacrolimus d'un facteur 1,44. Cette approche élégante doit être confirmée et approfondie dans des études plus larges étudiant un plus grand nombre de SNP.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La pharmacogénomique a un énorme potentiel pour utiliser des méthodes de diagnostic moléculaire puissantes qui deviendront des instruments de routine. Cette détermination a pour but de permettre aux cliniciens de sélectionner les traitements et les doses de médicament pour un patient donné. Contrairement aux tests phénotypiques dont les résultats peuvent varier avec des facteurs environnementaux tels que l'âge, les interactions médicamenteuses ou l'alimentation, le génotype d'un patient ne nécessite d'être déterminé qu'à une seule reprise pour un gène donné, puisqu'il ne change pas à l'exception de rares mutations somatiques. Dans le domaine de la transplantation d'organe par exemple, le génotypage peut être réalisé durant l'évaluation prégreffe avec des résultats disponibles lors de la transplantation elle-même. Il existe cependant encore des questions cruciales auxquelles il faut répondre avant que cette stratégie ne soit utilisée en pratique clinique.

La première question repose sur le fait que le composant héréditaire de la réponse au traitement est souvent polygénique. Les approches pour élucider les déterminants polygéniques de cette réponse pourront inclure des recherches sur l'ensemble du génome ou des stratégies de gène candidat fondées sur les connais-

sances actuelles des mécanismes d'action et des voies métaboliques des traitements utilisés. Cette dernière stratégie présente l'avantage de concentrer les efforts et les ressources sur un nombre de gènes plus limité, plus facilement gérable. Les traitements immunosuppresseurs sont des bons candidats pour cette approche puisque leurs mécanismes ont été disséqués de façon extensive et que leur métabolisme est relativement bien connu en raison du risque représenté par les interactions médicamenteuses. Dans une autre approche, des cartes des régions du génome avec une haute densité de SNP pourraient permettre que ces SNP soient utilisés comme des marqueurs de réponse des traitements même si la cible exacte du traitement reste inconnu. Cela pourrait permettre de dresser un « profil » de réponse thérapeutique associé aux contributions de plusieurs gènes pour le phénotype « réponse au traitement ». L'approche par détermination de transcriptome ou de protéome pourrait être utilisée.

En ce qui concerne le transcriptome, l'utilisation de puce à ADN (*micro-array*) permet par un test unique d'identifier et de quantifier la production d'ARN messager de multiples gènes. Il est ainsi possible de réaliser une cartographie de la réponse moléculaire soit pour un état particulier, activation lymphocytaire ou tolérance, ou pour une molécule particulière. Cela a été validé par exemple grâce à la signature moléculaire d'un traitement par la CsA ou le tacrolimus qui est semblable à celle observée chez des levures présentant une inactivation de l'activité calcineurine [26]. On peut aussi approcher la signature d'une réponse spécifique, par exemple, induction d'une activation ou au contraire induction d'une réponse de type « tolérance ». Ces réponses ont été définies *in vitro* pour des lymphocytes B [27]. La protéomique quant à elle repose sur la mise en évidence de modifications fines du profil des protéines présentes dans les cellules d'un individu. Elle repose dans un premier temps sur la séparation des protéines selon leur poids moléculaire et leur point isoélectrique sur un gel bidimensionnel. La comparaison de ces gels selon le phénotype ou le traitement utilisé permet d'identifier les protéines modifiées lors de cette réponse. La caractérisation de ces protéines permet, alors, de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans ces réponses. Dans le domaine de la transplantation d'organe, cela a été réalisé en comparant les cartes protéomiques de lymphocytes T activés en absence ou en présence de CsA [28]. La caractérisation de ces signatures transcriptionnelles ou post-transcriptionnelles chez un patient traité pourrait donc permettre de préciser l'efficacité de son traitement à un temps donné.

Un autre défi important pour définir les traits pharmacogénétiques est la nécessité de réunir des informations concernant des patients parfaitement caractérisés, traités de façon identique et systématiquement évalués pour permettre une quantification objective de la réponse à un traitement, c'est-à-dire leur phénotype. Cela est réaliste pour les traitements immunosuppresseurs puisque les patients sont souvent traités selon des protocoles précis, puisque les réponses d'efficacité (épisode de rejet aigu) ou les données de tolérance sont bien définies, et puisque le suivi pharmacogénétique est la règle pour beaucoup des traitements utilisés. Il faut donc que de l'ADN génomique soit obtenu de tous les patients avec un consentement approprié pour permettre la réalisation d'études pharmacogénétiques. En raison de l'hétérogénéité importante entre les populations, les résultats devront être validés dans les différents groupes ethniques. Finalement, des études cliniques devront montrer de façon prospective que la détermination du génotype permet une meilleure utilisation des traitements immunosuppresseurs en améliorant leur efficacité et/ou leur tolérance. Ces études devront également comporter une évaluation

pharmaco-économique. Enfin, l'utilisation de la pharmacogénétique peut être utile non seulement pour l'efficacité mais aussi pour la tolérance des traitements, l'identification d'un caractère génotypique ou phénotypique héréditaire permettant l'identification d'une population à risque de présenter des effets indésirables d'un traitement donné. C'est le cas pour l'AZA et la TPMT. Une association a aussi été rapportée entre la survenue d'une neurotoxicité du tacrolimus et des polymorphismes du gène *MDRI* [29].

Une autre approche de l'utilisation de la pharmacogénétique est d'étudier les conséquences des polymorphismes des cibles des traitements. Cette approche a été déjà décrite pour d'autres traitements que les traitements immunosuppresseurs, incluant par exemple des polymorphismes du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (EC) et les effets néphroprotecteurs obtenus avec les inhibiteurs de l'EC, ou la progression de l'athérosclérose coronarienne et l'utilisation de la fluvastatine [30]. Pour les immunosuppresseurs, il n'existe pas d'exemple démontré. Cependant, cela pourrait être le cas de la mutation $\Delta 52$ du CCR5, récepteur de chémokines. Il a été récemment rapporté que la présence de cette mutation est associée à une amélioration de la survie des greffons à long terme [31]. Des molécules susceptibles de bloquer ce récepteur pourraient donc être utiles après transplantation. Mais, l'utilisation de telles molécules chez des patients déjà porteurs de cette mutation pourrait n'avoir que peu ou pas d'efficacité et donc ne serait pas indiquée pour cette population de patients.

Finalement, les avancées technologiques en biologie moléculaire telles que l'utilisation combinée des SNP et de la technologie des puces à ADN, associées à des biostatistiques adéquates devraient permettre le dépistage et l'analyse de milliers de SNP en utilisant un seul test. L'utilisation de ces techniques automatisées pourrait sur ce même test déterminer des données concernant non seulement la pharmacogénomique mais aussi l'immunogénétique (par exemple pour le gène de CCR5, du TGF- β , de cytokines, etc.), ou l'identification de gènes impliqués dans le développement de certaines complications spécifiques (par exemple le polymorphisme des glutathion-S-transférases [32] ou du promoteur de l'IL-10 [33] et les cancers cutanés). Le but final de toutes ces approches pourrait être la détermination dès les examens prétransplantation du génotype individuel pour tous ces gènes d'intérêt et ainsi un profil spécifique pour chaque receveur. Il s'agira alors d'une première approche de médecine prédictive personnalisée.

BIBLIOGRAPHIE

1. KOEFOED-NIELSEN PB, GESUALDO MB, POULSEN JH et al. Blood tacrolimus levels and calcineurin phosphatase activity early after renal transplantation. *Am J Transplant*, 2002, **2**, 173-178.
2. KALOW W, TANG BK, ENDRENYI L. Hypothesis : comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics*, 1998, **8**, 283-289.
3. ANGLICHEAU D, SANQUER S, LORiot MA et al. Thiopurine methyltransferase activity : new conditions for reversed-phase high-performance liquid chromatographic assay without extraction and genotypic-phenotypic correlation. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2002, **773**, 119-127.
4. WEINSHILBOUM RM, OTTERNESS DM, SZUMLANSKI CL. Methylation pharmacogenetics : catechol O-methyltransferase, thiopurine methyltransferase, and histamine N-methyltransferase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1999, **39**, 19-52.

5. SORIA-ROYER C, LEGENDRE C, MIRCHEVA J et al. Thiopurine-methyl-transferase activity to assess azathioprine myelotoxicity in renal transplant recipients. *Lancet*, 1993, **341**, 1593-1594.
6. CHOCAIR PR, DULEY JA, SIMMONDS HA et al. The importance of thiopurine methyltransferase activity for the use of azathioprine in transplant recipients. *Transplantation*, 1992, **53**, 1051-1056.
7. MIRCHEVA J, LEGENDRE C, SORIA-ROYER C et al. Monitoring of azathioprine-induced immunosuppression with thiopurine methyltransferase activity in kidney transplant recipients. *Transplantation*, 1995, **60**, 639-642.
8. THERVET E, ANGLICHEAU D, TOLEDANO N et al. Long-term results of TMPT activity monitoring in azathioprine-treated renal allograft recipients. *J Am Soc Nephrol*, 2001, **12**, 170-176.
9. SZUMLANSKI C, OTTERNESS D, HER C et al. Thiopurine methyltransferase pharmacogenetics : human gene cloning and characterization of a common polymorphism. *DNA Cell Biol*, 1996, **15**, 17-30.
10. NEBERT DW, RUSSELL DW. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet*, 2002, **360**, 1155-1162.
11. HESSELINK DA, VAN SCHAIK RH, VAN DER HEIDEN IP et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther*, 2003, **74**, 245-254.
12. KUEHL P, ZHANG J, LIN Y et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*, 2001, **27**, 383-391.
13. THERVET E, ANGLICHEAU D, KING B et al. Impact of cytochrome P450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation*, 2003, **76**, 1233-1235.
14. MACPHEE IA, FREDERICKS S, TAI T et al. Tacrolimus pharmacogenetics : polymorphisms associated with expression of cytochrome P4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation*, 2002, **74**, 1486-1489.
15. TURGEON DK, LEICHTMAN AB, BLAKE DS et al. Prediction of interpatient and inpatient variation in OG 37-325 dosing requirements by the erythromycin breath test. A prospective study in renal transplant recipients. *Transplantation*, 1994, **57**, 1736-1741.
16. AMBUDKAR SV, DEY S, HRYCINA CA et al. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1999, **39**, 361-398.
17. HASHIDA T, MASUDA S, UEMOTO S et al. Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacol Ther*, 2001, **69**, 308-316.
18. KIM RB. MDR1 single nucleotide polymorphisms : multiplicity of haplotypes and functional consequences. *Pharmacogenetics*, 2002, **12**, 425-427.
19. GOTO M, MASUDA S, SAITO H et al. C3435T polymorphism in the MDR1 gene affects the enterocyte expression level of CYP3A4 rather than Pgp in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics*, 2002, **12**, 451-457.
20. ANGLICHEAU D, VERSTUYFT C, LAURENT-PUIG P et al. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*, 2003, **14**, 1889-1896.
21. YATES CR, ZHANG W, SONG P et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 polymorphic expression on cyclosporine oral disposition in renal transplant patients. *J Clin Pharmacol*, 2003, **43**, 555-564.
22. CHOWBAY B, CUMARASWAMY S, CHEUNG YB et al. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics*, 2003, **13**, 89-95.
23. HERWEIJER H, SONNEVELD P, BAAS F et al. Expression of *mdr1* and *mdr3* multidrug-resistance genes in human acute and chronic leukemias and association with stimulation of drug accumulation by cyclosporine. *J Natl Cancer Inst*, 1990, **82**, 1133-1140.
24. LAN LB, DALTON JT, SCHUETZ EG. *mdr1* limits CYP3A metabolism in vivo. *Mol Pharmacol*, 2000, **58**, 863-869.
25. LOWN KS, MAYO RR, LEICHTMAN AB et al. Role of intestinal P-glycoprotein (*mdr1*) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther*, 1997, **62**, 248-260.
26. MARTON MJ, DERISI JL, BENNETT HA et al. Drug target validation and identification of secondary drug target effects using DNA microarrays. *Nat Med*, 1998, **4**, 1293-1301.

27. GLYNNE R, AKKARAJU S, HEALY JI et al. How self-tolerance and the immunosuppressive drug FK506 prevent B-cell mitogenesis. *Nature*, 2000, **403**, 672-676.
28. MASCARELL L, FREY JR, MICHEL F et al. Increased protein synthesis after T cell activation in presence of cyclosporin A. *Transplantation*, 2000, **70**, 340-348.
29. YAMAUCHI A, IEIRI I, KATAOKA Y et al. Neurotoxicity induced by tacrolimus after liver transplantation : relation to genetic polymorphisms of the ABCB1 (MDR1) gene. *Transplantation*, 2002, **74**, 571-572.
30. EVANS WE, MCLEOD HL. Pharmacogenomics — drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med*, 2003, **348**, 538-549.
31. FISCHEREDEDER M, LUCKOW B, HOCHER B et al. CC chemokine receptor 5 and renal-transplant survival. *Lancet*, 2001, **357**, 1758-1761.
32. MARSHALL SE, BORDEA C, HALDAR NA et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and skin cancer after renal transplantation. *Kidney Int*, 2000, **58**, 2186-2193.
33. ALAMARTINE E, BERTHOUX P, MARIAT C et al. Interleukin-10 promoter polymorphisms and susceptibility to skin squamous cell carcinoma after renal transplantation. *J Invest Dermatol*, 2003, **120**, 99-103.
34. WEINSHILBOUM R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med*, 2003, **348**, 529-537.