

**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche**

**Université Salah Bounider Constantine " 3 "**

**Faculté de médecine Belkacem Bensmain**

**CHU de Constantine**

**Laboratoire de biochimie**

## **Cours de génétique de 2<sup>ème</sup> année médecine**

### **Pharmacogénétique et thérapie génique**

**Elaboré par le Dr Sifi Karima**

## **Les objectifs pédagogiques du cours**

- Définir la pharmacogénétique
- Décrire le métabolisme des médicaments et des xénobiotiques
- Décrire les conséquences du métabolisme d'un médicament
- Décrire le typage pharmacologique
- Citer les méthodes phénotypiques
- Décrire les méthodes génotypiques
- Décrire un modèle pour expliquer l'utilisation de la pharmacogénétique : Exemple le polymorphisme de la TPMT ou thiopurine S méthyl transférase.
- Définir et donner le principe de la thérapie génique
- Citer les différents types de thérapie génique
- Donner les différentes étapes du transfert des gènes thérapeutiques

## **Plan du cours**

### **I-Pharmacogénétique**

I-1-Introduction

I-2-Définition

I-3-Métabolisme des médicaments et des xénobiotiques

I-4-Le typage pharmacologique

I-4-1-Les méthodes phénotypiques

I-4-2-Méthodes génotypiques

I-5-Un modèle pour expliquer l'utilisation de la pharmacogénétique : exemple le polymorphisme de la TPMT ou thiopurine S méthyl transférase

### **II-Thérapie génique**

II-1-Définition et principe de la thérapie génique

II-2-Différents types de thérapie génique

II-3-Transfert des gènes thérapeutiques

Conclusion

Références bibliographiques

# Pharmacogénétique et thérapie génique

## I-Pharmacogénétique

### I-1-Introduction

La réponse aux médicaments est souvent variable d'un individu à l'autre, tant sur le plan pharmacologique (efficacité) que sur le plan toxicologique (effets indésirables), ce qui rend parfois leur utilisation difficile. Les polymorphismes génétiques des enzymes intervenant dans le métabolisme des médicaments expliquent une partie des accidents médicamenteux.

### I-2-Définition

La pharmacogénétique étudie les mécanismes d'origine génétique qui interviennent dans la variabilité interindividuelle du métabolisme du médicament et des xénobiotiques.

### I-3-Métabolisme des médicaments et des xénobiotiques

Les xénobiotiques sont des substances provenant de l'environnement, mais qui subissent une biotransformation dans l'organisme humain. Cette biotransformation est sous la dépendance de nombreux facteurs :

**Physiopathologiques** : âge, grossesse, sévérité de la maladie, pathologies associées...

**-Environnementaux** : alimentation, co-administration de médicaments, tabagisme...

**-Génétiques** : variations génétiques du métabolisme et du transport des médicaments, des cibles pharmacologiques.

Cette biotransformation pouvant être à l'origine de différents effets :

-Thérapeutiques, toxiques, tératologiques ou encore cancérigènes.

Les xénobiotiques sont des molécules de faible poids moléculaire étrangères à l'organisme, il s'agit par exemple de médicaments, des polluants de l'eau ou de l'atmosphère, des additifs alimentaires, mais également certains constituants des aliments.

Les xénobiotiques pénètrent facilement dans la cellule s'ils sont hydrophobes, mais ils peuvent également être expulsés grâce des pompes.

Le métabolisme des médicaments et des xénobiotiques fait intervenir deux grands groupes d'enzymes.

- **Réactions de phase I ou enzymes de fonctionnalisation** : Ce sont souvent des **oxydations**, des **réductions** ou des **hydrolyses** ;
- **Réactions de phase II** : Ce sont des réactions de **conjugaison** qui, normalement, **donnent des composés inactifs pouvant être par la suite éliminés**.

Les principales voies d'élimination des médicaments sont : Les reins, les poumons, le système biliaire.

**Les conséquences du métabolisme d'un médicament :**

Un médicament peut être une drogue ou une prodrogue :

- **Dans le cas ou le médicament est une drogue**, celui-ci est métabolisé in vivo grâce à des enzymes de biotransformation et le métabolite inactif est éliminé.

Chez un sujet déficitaire en enzymes de biotransformation, le médicament est métabolisé lentement et la drogue ou médicament s'accumule et risque de donner des accidents toxiques.

- **Si le médicament est une prodrogue**, et en cas de déficit génétique de biotransformation de ce médicament, son effet thérapeutique est diminué voire nul.

**Ces différentes réponses vont être à l'origine soit d'un échec thérapeutique ou d'une toxicité.**

#### **I-4-Le typage pharmacologique :**

L'activité de ces enzymes est variable d'un individu à l'autre et est transmise de façon mendélienne.

Deux approches méthodologiques sont utilisées pour déterminer la capacité métabolique d'un individu vis-à-vis d'une enzyme donnée : le phénotypage et le génotypage.

#### **I-4-1-Les méthodes phénotypiques :**

Reposent soit sur une mesure de l'activité enzymatique, soit sur l'administration d'un substrat-test (un médicament), suivie d'une mesure des quantités de substrats résiduelles ou de leurs métabolites à partir d'un échantillon biologique, urinaire ou sanguin. Le rapport métabolique entre la quantité de substance retrouvée sous forme inchangée et celle d'un (ou de plusieurs) métabolite(s) est un reflet de l'activité enzymatique étudiée.

Les méthodes de phénotypage présentent certains inconvénients qui limitent leur utilisation :

- Absence d'un substrat-test présentant toutes les qualités requises, spécificité, innocuité. Présente des limites.
- Voie d'administration
- Forme galénique
- Nature de la barrière (peau, digestive, hémato encéphalique)
- Propriétés physicochimiques de la molécule
- Facteurs physiologiques (pH)
- Métabolisation pré-systémique, Effet premier passage (transformation enzymatique avant l'arrivée dans le sang).
- Difficulté de distinguer les hétérozygotes ;

#### **I-4-2-Méthodes génotypiques :**

En pratique, le génotypage est plus fréquemment utilisé.

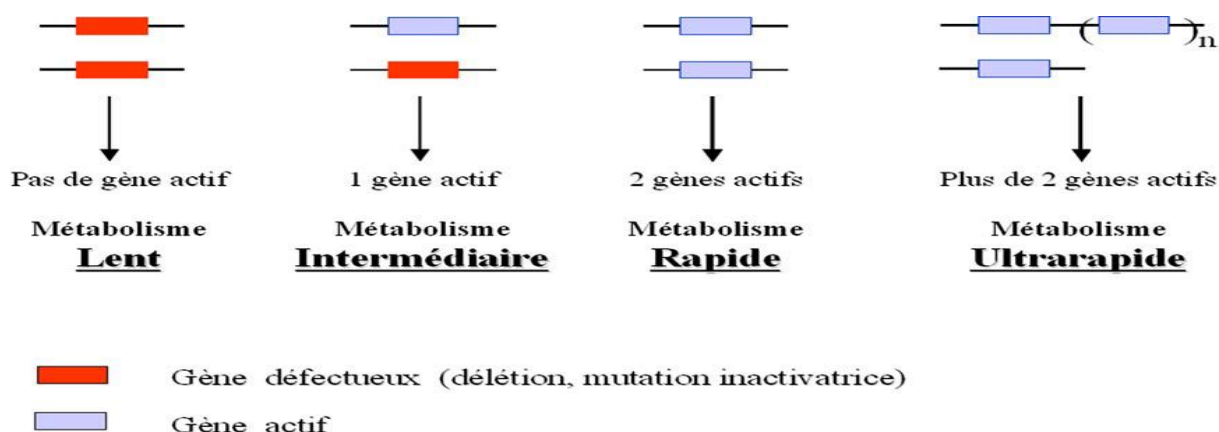
- Méthode non invasive
- Permet de détecter directement la mutation qui peut - être une mutation ponctuelle une délétion une insertion ou un réarrangement génique.
- A l'abri des interférences.

Dans une maladie génétique, la mutation s'exprime en fonction de son mode de transmission et produit un phénotype anormal.

En pharmacogénétique l'expression de la mutation est conditionnelle, à l'état de base, le phénotype est normal et un phénotype anormal n'apparaît qu'en présence d'un agent extérieur xénobiotique ou médicament exemple : le déficit en G6PD.

Grace à ces examens de phénotypages 3 types d'individus ont été Individualisés :

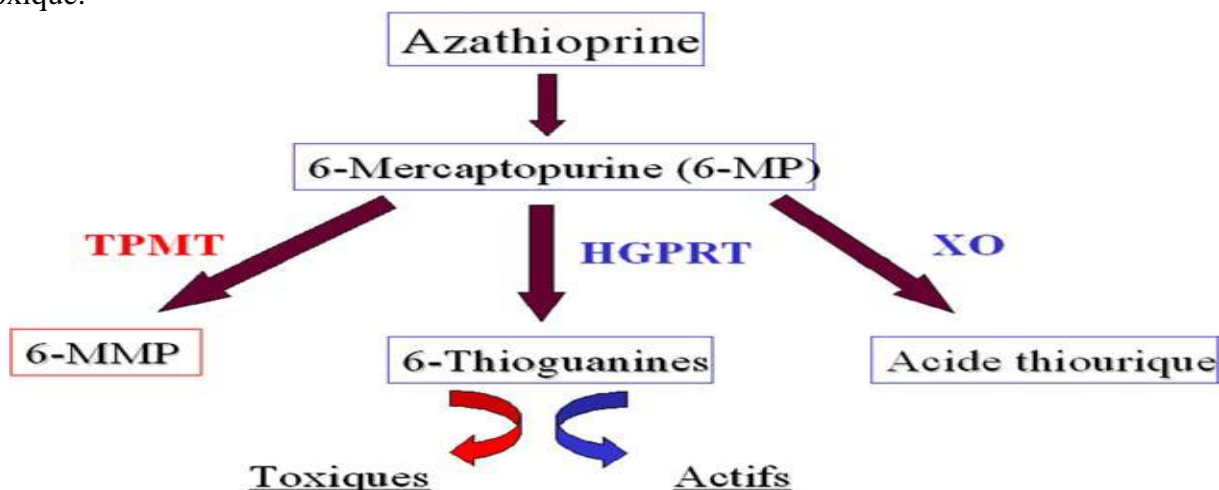
- Les métaboliseurs lents
- Les métaboliseurs rapides
- Les métaboliseurs semi rapides



### I-5-Un modèle pour expliquer l'utilisation de la Pharmacogénétique Exemple le polymorphisme de la TPMT ou thiopurine S méthyl transférase

Les thiopurines sont des analogues de l'hypoxanthine qui inhibent la synthèse de l'ADN et de l'ARN. L'azathioprine est la thiopurine la plus utilisée dans les greffes de moelle et au cours des maladies auto-immunes est transformée dans l'organisme en 6-mercaptopurine.

La 6 MP est un métabolite très particulier qui suit 2 principales voies, elle est métabolisée en 6TGN ou 6 thioguanine qui est le produit actif (effet immunosuppresseur) mais toxique en fonction de sa concentration, d'autre part en un métabolite méthylé ,la 6 MMP (6 methyl mercaptopurine) inactif mais toxique.



Par une 3<sup>ème</sup> voie en xanthine oxydase inactive. L'activité de la TPMT est génétiquement déterminée. On comprend alors qu'un enfant qui a une activité TPMT nulle va avoir besoin de doses faibles de médicament, une posologie normale pouvant avoir de graves conséquences par accumulation de 6TGN toxique myélo-suppresseur aplasie médullaire.

Les patients ayant une activité TPMT élevée produisent des taux bas de 6TG, il faut des doses élevées de 6MP pour obtenir la concentration de 6TGN compatible avec un effet anti leucémique d'où risque de complication infectieuse.

A l'extrême, un enfant avec une activité TPMT nulle peut présenter une aplasie durable avec un seul comprimé de 6MP.

Ainsi, l'activité de la TPMT peut avoir une incidence sur le pronostic de la maladie et la tolérance au traitement. Le dosage et le génotypage de la TPMT est maintenant réalisé de plus en plus avant la mise en œuvre de ce traitement.

La pharmacogénétique telle qu'elle s'est développée jusqu'à ce jour concerne les médicaments présentant un index thérapeutique étroit (i.e. les anticancéreux, les anticoagulants oraux), ou pour lesquels l'efficacité thérapeutique est difficile à évaluer rapidement (les immunosuppresseurs ou les psychotropes), ou encore ceux pour lesquels le médecin dispose de plusieurs alternatives thérapeutiques avec des profils de tolérance variable (anticancéreux).

## **I-6-Conclusion**

La connaissance du profil génétique du patient permet un ajustement individuel du médicament et ou de sa posologie. Les médicaments seront utilisés de façon plus efficace et avec un moindre risque pour le patient.

## **II-Thérapie génique**

### **II-1-Définition et principe de la thérapie génique**

La thérapie génique est une méthode visant à traiter une maladie en modifiant son information génétique.

Le principe de la thérapie génique est de remplacer, à l'intérieur des cellules malades, un gène muté défectueux responsable de la maladie par un gène fonctionnant normalement dans le but de produire des protéines thérapeutiques nécessaires pour corriger la maladie visée. Le ou les gènes responsables ont été identifiés préalablement.

### **II-2-Différents types de thérapie génique**

- **Thérapie génique somatique** : des gènes sont introduits exclusivement dans des cellules somatiques.
- **Thérapie génique germinale** : Elle consiste à appliquer la thérapie génique à un embryon au stade précoce ou aux cellules germinales d'un adulte. Le gène introduit serait alors transmis à toutes les cellules du futur individu modifiant son patrimoine génétique.

### **II-3-Transfert des gènes thérapeutiques**

-L'introduction d'un gène médicament à l'intérieur de la cellule cible du patient requiert un vecteur.

-Dont le rôle est d'intégrer le gène d'intérêt et de le transférer dans un nombre suffisant de cellules cibles, pour arriver au niveau du noyau de la cellule, et permettre l'expression du gène et la production de protéines sur une période suffisante pour obtenir un effet thérapeutique.

Les vecteurs les plus utilisés sont des vecteurs viraux, AAV, lentivirus etc.. ;

Bien sur le virus utilisé est modifié et atténué afin de transférer le matériel génétique souhaité dans les cellules du patient sans entraîner chez celui-ci des réactions immunitaires non désirées.

La difficulté est que le virus risque de s'attaquer à une grande variété de cellules cibles.

### Mode d'administration du vecteur

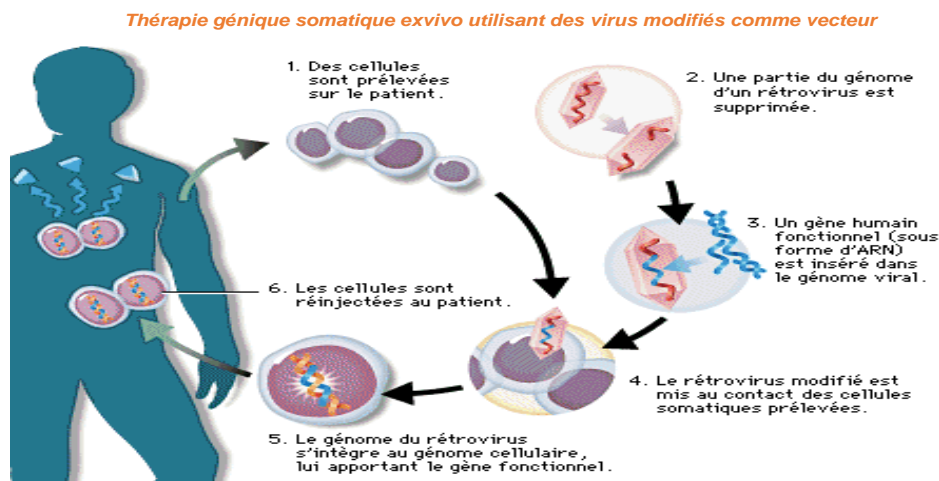
Le transfert de gènes dans les cellules du patient peut être opéré soit :

→ *in vivo* (à l'intérieur de l'organisme) par l'administration directe au patient de la combinaison vecteur gène thérapeutique.

Exemple: Affections musculaires comme la myopathie, ou respiratoires comme la mucoviscidose.

→ *Ex vivo* (en dehors de l'organisme) en prélevant les cellules cibles sur le patient, en les cultivant dans des conditions de laboratoire appropriées, en les traitant avec la combinaison vecteur gène thérapeutique et enfin en les réimplantant dans le corps du patient.

→ *In situ* consiste à placer directement au sein du tissu cible le vecteur de transfert. Cette technique est expérimentée, notamment, dans les cas de mucoviscidose (transfert de vecteurs dans la trachée et les bronches), de cancer (injection dans la tumeur d'un vecteur portant le gène d'une toxine, par exemple).



### Un essai concret : « les bébés bulles »

→ En 1993, le **Pr Alain Fischer** met au point un traitement par thérapie génique pour les enfants atteints d'un déficit immunodéficient. Ce grave déficit immunitaire héréditaire obligeait les bébés atteints à vivre dans une "bulle" stérile pour éviter les microbes, d'où l'expression de « bébés-bulles ».

- Sept ans plus tard, l'équipe du Pr Fischer annonce le succès du traitement : deux très jeunes enfants atteints d'un déficit immunitaire sévère rare et traités par thérapie génique sont considérés guéris et vivent à domicile sans aucun traitement.
- Le gène malade inactif a été remplacé avec succès, dans les propres cellules de
- Moelle osseuse de l'enfant malade, par une copie normale du gène.
- Ce "gène médicament" a été véhiculé par un rétrovirus humain inoffensif. C'est le premier essai de thérapie génique concluant.
- **Mais** en octobre 2002, le Pr. Fischer annonce que l'un des dix enfants traités par thérapie génique a un excès de lymphocytes T (globules blancs) dans le sang qui s'apparente à une leucémie, puis un second trois mois plus tard.

### **Conclusion**

La thérapie génique est aujourd'hui d'actualité car elle constitue une approche thérapeutique complètement nouvelle. Des développements considérables seront néanmoins nécessaires avant que l'on sache si une proportion significative des millions de malades atteints de maladies génétiques pourra bénéficier de tels traitements.

### **Références bibliographiques**

-Marie-Anne Loriot, Philippe Beaune .La pharmacogénétique : le lien entre gène et réponse aux médicaments .. M/S n° 6-7, vol. 20, juin-juillet 2004.

-Place de la pharmacogénomique dans les stratégies de recherche et de développement des médicaments : enjeux scientifiques, industriels et éthiques. Muriel Bouquier le 27 février 2003.

-Martin Krahn et Nicolas Lévy .Perspectives thérapeutiques pour les maladies génétiques .Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale.

- Nathalie Lannoy, Cédric Hermans .Thérapie génique en 2017 : état des lieux et perspectives. Louvain med 2017; 136 (1): 1-8 .

-