

COLLOQUE 2017

MÉDECINE DE PRÉCISION ET THÉRAPEUTIQUES CIBLÉES :
RÉALITÉS ET PERSPECTIVES

**Intégration des caractéristiques génétiques et cinétiques
individuelles pour l'optimisation pharmacologique des médicaments**

Pierre Marquet, Limoges

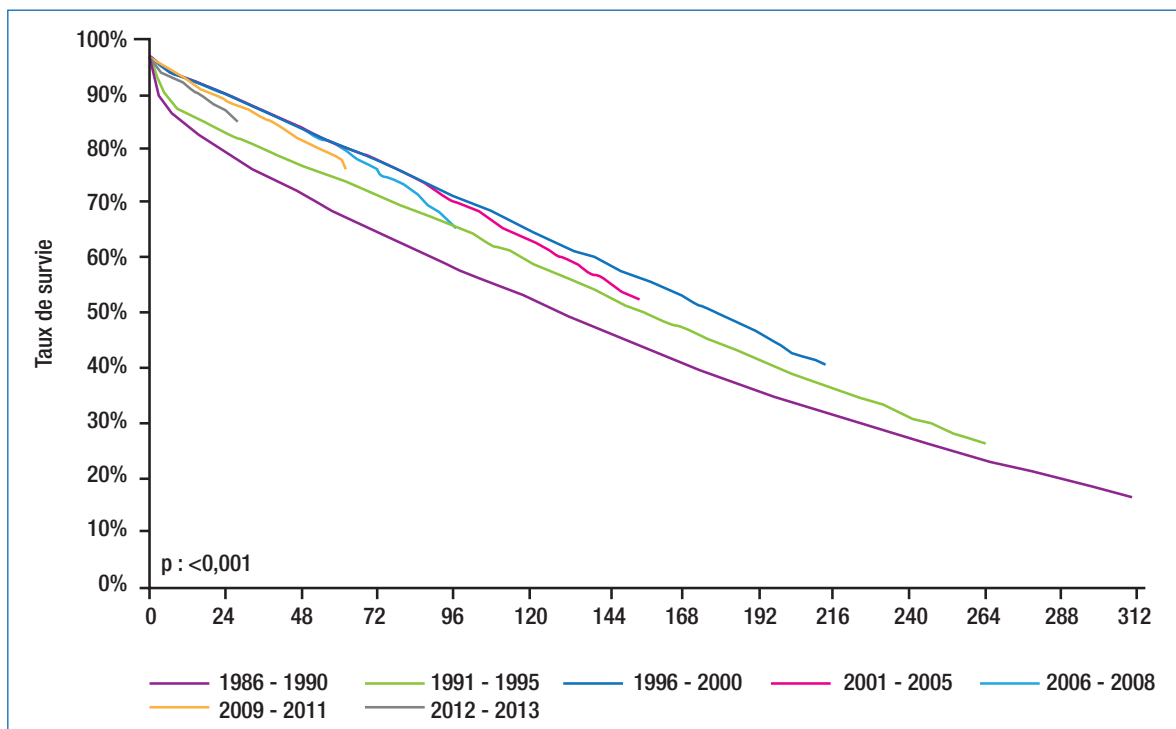
Les notes renvoient aux pages des références correspondantes.

De longue date, les traitements immunosuppresseurs en transplantation ont constitué un champ d'application privilégié pour le développement de la médecine personnalisée, ou de précision, en raison de la grande variabilité de survie des greffons et des patients, de la faible marge thérapeutique de la plupart des immunosuppresseurs, de leurs interactions pharmacocinétiques et de la toxicité à long terme de la plupart d'entre eux.

Personnaliser les traitements en transplantation d'organe est un long processus qui nécessite d'identifier les facteurs influençant la réponse et la tolérance au traitement immunosuppresseur, de mettre au point des outils ou des stratégies d'individualisation thérapeutique, de les valider cliniquement, puis de les transférer efficacement à la prise en charge usuelle des patients. Il est souhaitable de mesurer ensuite l'impact de ces interventions sur la survie des greffons et des patients, leur qualité de vie, voire les dépenses de santé.

OPTIMISATION THÉRAPEUTIQUE : L'EXEMPLE DE LA TRANSPLANTATION D'ORGANE

Figure 1. Survie du greffon rénal selon la période de greffe (Rapport annuel Agence de Biomédecine, 2014)



Le Rapport annuel 2014 de l'Agence de Biomédecine a comparé les évolutions des survies des greffons rénaux selon la période de transplantation, entre 1986-1990, 1991-1995... jusqu'à 2012-2013. La figure 1 montre que la survie des greffons s'est progressivement améliorée jusqu'à la cohorte 1996-2000, puis a montré un fléchissement de plus en plus précoce. La raison de ce retournement est consécutive à l'élargissement des critères d'acceptabilité des greffons (greffons « marginaux ») et des receveurs (receveurs « marginaux », comme des donneurs décédés à cœur arrêté). Alors que le profil des patients a beaucoup changé, tous les immunosuppresseurs utilisés ont été développés et ont obtenu leur AMM sur les cohortes datant, au mieux, des années 1990-1995. Le problème qui se pose aujourd'hui est donc d'améliorer la survie des greffons avec les médicaments dont nous disposons.

STRATÉGIE DE RECHERCHE TRANSLATIONNELLE POUR L'OPTIMISATION THÉRAPEUTIQUE EN TRANSPLANTATION D'ORGANE

La transplantation d'organe se caractérise par une grande variabilité de la réponse thérapeutique avec de bons résultats chez certains patients et une réponse non satisfaisante chez d'autres. La recherche translationnelle est nécessaire dans une telle situation : c'est par des allers et retours du patient au laboratoire qu'une réponse pourra être apportée aux questions soulevées par cette variabilité. Il importe en premier lieu d'en comprendre la raison et donc d'identifier les facteurs, pharmacocinétiques et pharmacogénomiques notamment, qui influencent la réponse et la tolérance individuelle aux immunosuppresseurs et à leurs associations. Dans un second temps, il restera à élaborer des outils de médecine de précision qui permettront de prendre en compte ces facteurs pour tenter de prescrire à un patient donné le traitement qui lui conviendra le mieux à la dose appropriée. Ces outils devront ensuite sortir du laboratoire pour être validés cliniquement et être transférés aux services de transplantation pour que les patients puissent en bénéficier. Enfin, il sera temps de mesurer l'impact de l'introduction de ces outils en termes de survie du patient et du greffon, de qualité de vie des patients et d'économie de santé.

PHARMACOGÉNÉTIQUE DES IMMUNOSUPPRESSEURS

Les enzymes du métabolisme du sirolimus, du mycophénolate mofétil, du tacrolimus et de la ciclosporine expliquent une petite partie de la variabilité interindividuelle des concentrations sanguines pour une même dose de ces agents.

Le cytochrome P450 3A5

Le cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) est une enzyme présente au niveau de la paroi intestinale et du foie qui métabolise la ciclosporine, le tacrolimus, le sirolimus et l'évérolimus. Il présente la particularité de n'être exprimé que par 10 à 20 % de la population européenne blanche alors qu'il l'est par 80 % de la population noire subsaharienne. Cette différence est liée à un polymorphisme mononucléotidique dans l'intron 3 du CYP3A5 qui crée une enzyme non fonctionnelle CYP3A5*3^[1]. La métabolisation des immunosuppresseurs concernés impose de posséder au moins une protéine native CYP3A5*1. Il faut souligner que l'expression du CYP3A5 entraîne un doublement de l'activité CYP3A, un groupe responsable de 80 % de la métabolisation des médicaments.

Tacrolimus et CYP3A5

Le tacrolimus est un substrat majeur du CYP3A5 et des études observationnelles ont bien confirmé que les patients transplantés qui l'expriment ont besoin de doses plus élevées pour atteindre une concentration minimale thérapeutique^[2]. Les sujets exprimant un allèle actif CYP3A5*1 nécessitent une dose de tacrolimus une fois et demie plus élevée, et ceux exprimant les deux allèles actifs, ont besoin d'une dose près de trois fois plus élevée^[3].

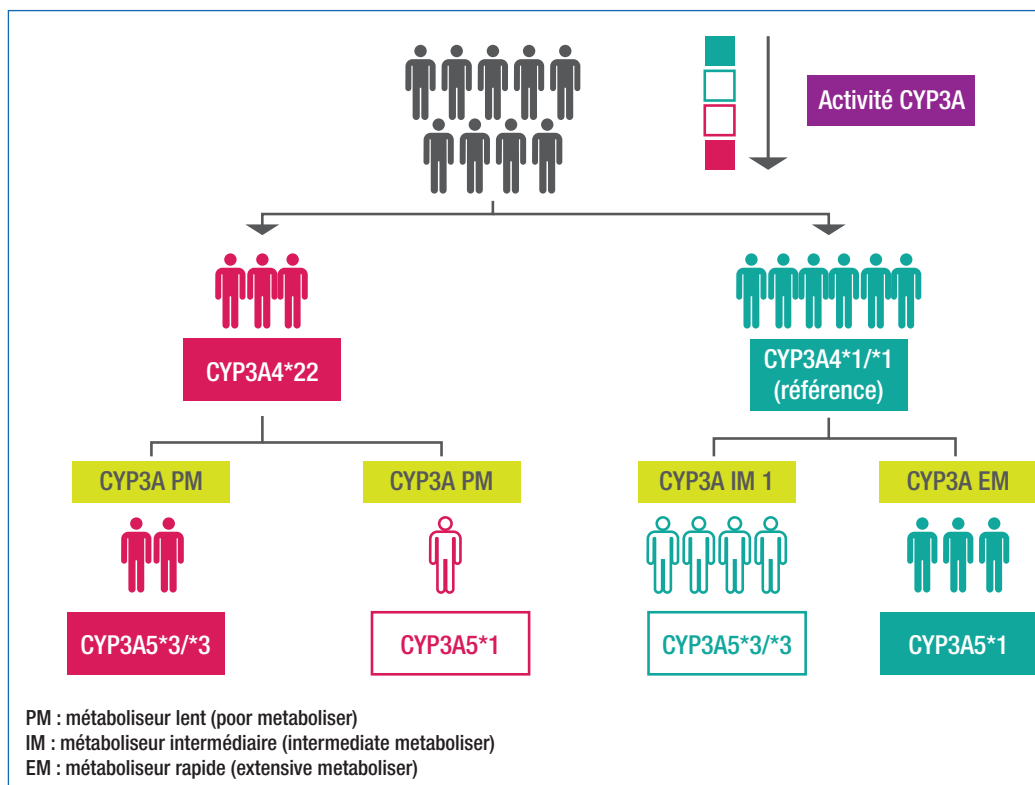
Un groupe français mené par le Professeur Thervet a effectué un essai clinique qui faisait appel à un génotypage pré-transplantation^[4]. Les patients receveurs de greffe du rein ont été randomisés pour recevoir soit le tacrolimus à une dose adaptée au génotype CYP3A5, soit le schéma quotidien standard. Le critère de jugement principal était le pourcentage de patients se situant dans la zone thérapeutique après l'administration de 10 doses de tacrolimus. Dans le groupe recevant la dose adaptée, une proportion significativement plus élevée de patients présentait des concentrations se situant dans les valeurs cibles. Sans surprise, les patients du groupe-contrôle expressers du CYP3A5 étaient sous-dosés avec la dose standard. Les patients qui exprimaient un allèle inactif se situaient plutôt dans le bas de la zone thérapeutique et ceux qui en exprimaient deux étaient au-dessus. Le délai d'atteinte de la zone cible était plus court dans le bras « dose adaptée au génotype CYP3A5 » et le nombre d'adaptations de dose nécessaire était significativement abaissé, ce qui peut se traduire par un bénéfice en termes de coûts avec moins de contrôles de concentration sanguine nécessaires (génotypage CYP3A5 : 78€ ; dosage sanguin : 32€).

Cependant, aucun bénéfice en termes de survie des patients et des greffons n'a été objectivé à 3 mois. Une étude de réplication hollandaise a abouti aux mêmes résultats.

Phénotypes CYP3A selon les génotypes CYP3A5*3 et CYP3A4*22

Il existe deux CYP3A, le CYP3A5 et le CYP3A4. Une mutation non fonctionnelle sur le CYP3A4, CYP3A4*22 a été récemment décrite. Il faut donc combiner les génotypes de CYP3A4 et CYP3A5 pour identifier le groupe phénotypique des patients. Un patient pourra ainsi être non-expresser double CYP3A4*22 et CYP3A5*3/*3 (au plan phénotypique, il sera métaboliseur lent), être expresser double CYP3A4*1/*1 et CYP3A5*1 (il sera métaboliseur rapide) ou appartenir aux deux groupes CYP3A4*22 et CYP3A5*1 ou CYP3A4*1/*1 et CYP3A5*3/*3 (il sera métaboliseur intermédiaire) (cf. Figure 2)^[5].

Figure 2. Phénotypes CYP3A en fonction des génotypes CYP3A5*3 et CYP3A4*22^[6]



L'existence de ces groupes phénotypiques qui n'avait pas été prise en compte dans l'étude de Thervet pourrait expliquer l'absence de bénéfice clinique observée. A ce jour, le génotypage de CYP3A5 n'est plus très utilisé pour ajuster la première dose, mais il le reste pour explorer les patients présentant une pharmacocinétique inhabituelle, des expositions trop fortes ou trop faibles ou des interactions médicamenteuses inattendues.

PHARMACOCINÉTIQUE DES IMMUNOSUPPRESSEURS, SUIVI THÉRAPEUTIQUE OPTIMISÉ ET TRANSFERT CLINIQUE

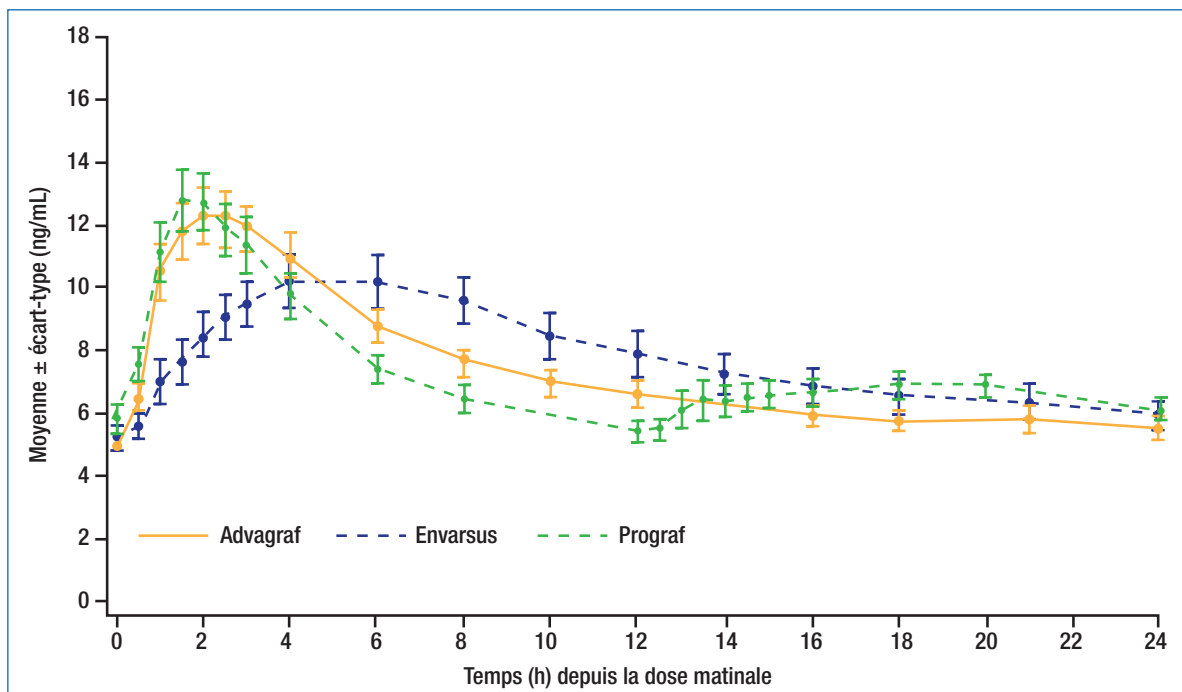
Notre équipe a procédé à des dosages des concentrations sanguines des immunosuppresseurs à l'aide des méthodes de référence, puis a élaboré des modèles pharmacocinétiques innovants, mené des essais cliniques de preuve et réalisé leur transfert clinique.

Suivi pharmacocinétique du tacrolimus

Le tacrolimus est l'immunosuppresseur le plus prescrit en transplantation. La figure 3 montre les profils pharmacocinétiques de ses trois principales formulations (cf. Fig. 3)^[7]. Prograf® est une forme à libération immédiate alors qu'Advagraf® et Envarsus® sont des formes à libération prolongée.

La mesure des concentrations résiduelles est actuellement l'approche la plus couramment employée pour déterminer l'index d'exposition et décider d'éventuelles adaptations posologiques. Ces courbes (cf. Fig. 3) montrent, qu'en réalité, la mesure des concentrations résiduelles ne révèle rien des profils pharmacocinétiques très différents de ces trois formes et qu'il serait bien préférable de mesurer la totalité du profil. C'est ce qui a été énoncé par la conférence de consensus européenne de 2012^[8] qui recommandait que l'aire sous la courbe de la concentration (AUC) inter-dose, concentration moyenne des immunosuppresseurs, soit employée pour déterminer l'index d'exposition.

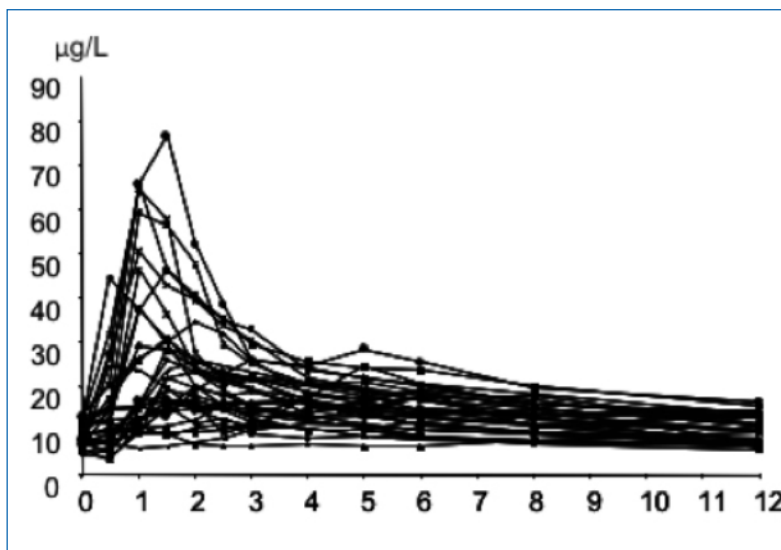
Figure 3. Profil pharmacocinétique normalisé sur Prograf® (Conversion de dose: Envarsus® -30%, Advagraf® + 8%)^[7]



Modélisation pharmacocinétique de Prograf®

La figure 4 montre la grande diversité des profils pharmacocinétiques individuels de Prograf® avec des rebonds après le pic d'absorption initial^[9] qui nous ont conduit à élaborer un modèle pharmacocinétique complexe avec une absorption en deux temps.

Figure 4. Diversité des profils pharmacocinétiques individuels avec rebonds fréquents^[9]



Comment, dans ces conditions, déterminer l'index d'exposition et décider d'éventuelles adaptations posologiques ? Il n'est pas possible, en routine, d'effectuer 12 prélèvements sanguins pour mesurer l'aire sous la courbe. Nous avons donc fait appel à une technique statistique combinée à la pharmacocinétique, appelée estimation Bayésienne, et nous avons ainsi pu mettre au point des modèles permettant d'estimer les courbes pharmacocinétiques des immunosuppresseurs avec seulement trois points, soit des prélèvements pré-dose et à une et trois heures après la dose^[9-11].

Ces estimateurs Bayésiens sont capables d'estimer correctement des courbes aussi différentes que les courbes pharmacocinétiques de Prograf® chez des patients greffés pulmonaires atteints ou non de mucoviscidose (cf. Fig. 5) et chez des patients greffés rénaux avec ou sans gastroparésie, c'est-à-dire avec atonie de la vidange gastrique (cf. Fig. 6).

Figure 5. Estimation Bayésienne de l'AUC 0-12h de Prograf® chez deux patients transplantés pulmonaires dont un atteint de mucoviscidose^[9-11]

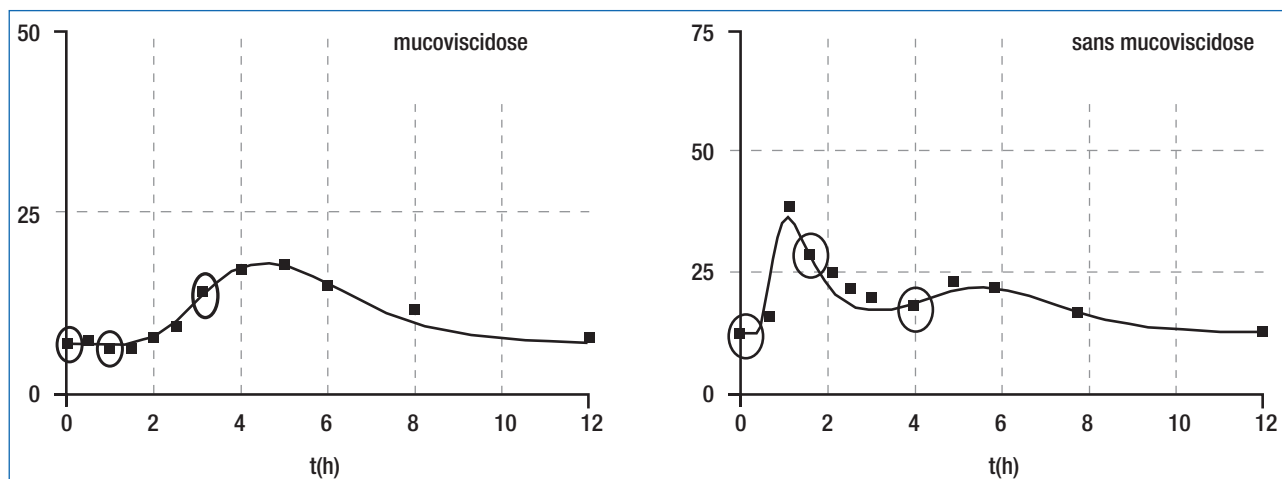
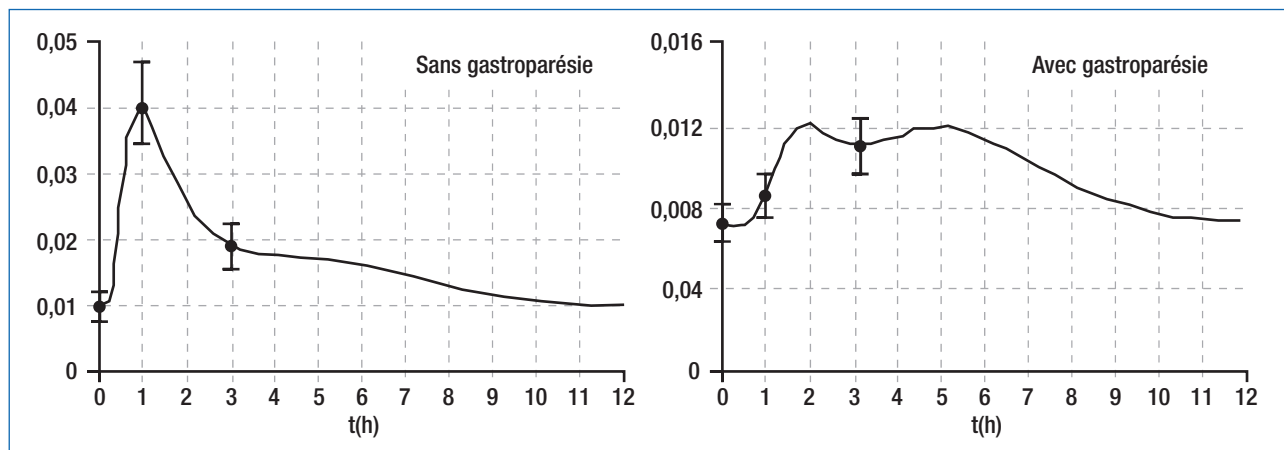


Figure 6. Estimation Bayésienne de l'AUC 0-12h de Prograf® chez deux patients transplantés rénaux dont un atteint de gastroparésie

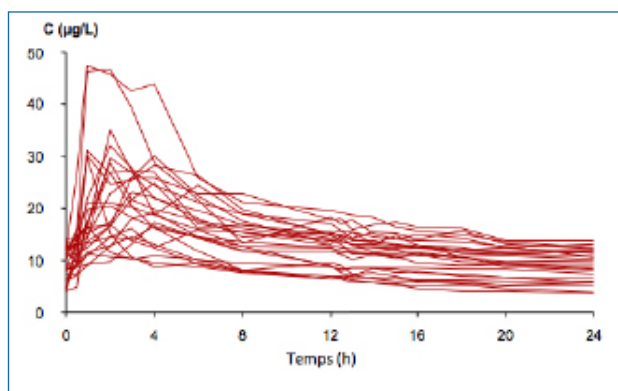


Dans ces différentes situations, nous voyons là encore que la mesure de la concentration résiduelle ne donne qu'un reflet extrêmement approximatif de l'exposition à l'immunosuppresseur, alors que la mesure de la concentration moyenne par l'AUC en donne une image clairement plus précise.

Modélisation pharmacocinétique et estimation Bayésienne d'Advagraf®

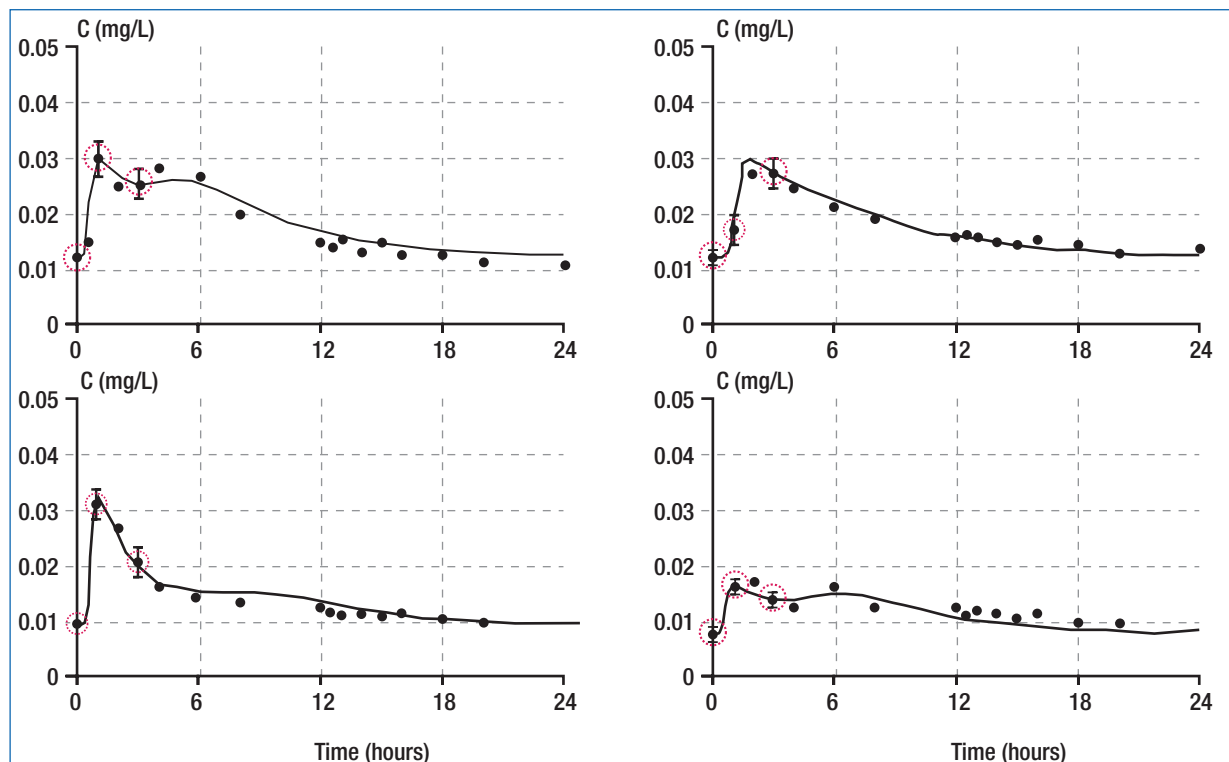
La forme retard du tacrolimus, Advagraf®, se caractérise, comme Prograf®, par une très grande variabilité pharmacocinétique interindividuelle (cf. Fig. 7) [12, 13].

Figure 7. Profils pharmacocinétiques d'Advagraf® [12, 13]



Avec les mêmes estimateurs Bayésiens, comme avec Prograf®, nous avons pu modéliser correctement les profils pharmacocinétiques d'Advagraf® à partir de seulement trois points correspondant à des prélèvements avant la dose et à une et trois heures après la dose (cf. Fig. 8).

Figure 8. Estimation Bayésienne de l'AUC 0-24h d'Advagraf® : exemples de profils différents^[12]



Modélisation pharmacocinétique et estimation Bayésienne d'Envarsus®

Envarsus® est une forme de tacrolimus à libération plus prolongée que Advagraf® avec une biodisponibilité améliorée. Comme avec les autres formulations, nous avons élaboré un modèle pharmacocinétique et défini une stratégie de prélèvement à T0, T8h et T12h. Les courbes pharmacocinétiques étant beaucoup plus plates qu'avec les autres formes, il est nécessaire de réaliser des prélèvements tardifs ^[14].

Faisabilité des stratégies de prélèvements en nombre limité

La stratégie de prélèvement à T0, T1h et T3h peut être appliquée sans aucun problème en consultation ou en hospitalisation de jour. En revanche, la stratégie de prélèvement d'Envarsus® à T0, T8h et T12h n'est praticable qu'en hospitalisation conventionnelle.

Les dosages sur « Dried Blood Spots » ou DBS apportent toutefois une solution pratique à ce problème : le patient effectue au domicile un prélèvement sanguin au bout du doigt et le dépose sur un papier-filtre, l'insère dans une enveloppe T et nous l'envoie pour extraction et mesure des concentrations de l'immunosuppresseur. Un essai clinique de validation de cette approche est actuellement en cours.

Faisabilité du calcul de l'AUC 0-12h ou AUC 0-24h

Nous avons développé un site internet sécurisé, accessible uniquement aux professionnels de santé, qui réalise ces calculs d'aire sous la courbe avec des stratégies de prélèvements limités. Il recueille actuellement des demandes venues d'à peu près 140 centres de transplantation dont 70 en France, les autres sont répartis sur tous les continents. Notre système, impliquant la validation des résultats par des pharmacologues experts, est en mesure de proposer des adaptations posologiques pour tous les médicaments immunosuppresseurs, dans tous les types de greffe et dans certaines maladies auto-immunes avec plus de 200 estimateurs Bayésiens développés en une vingtaine d'années.

La plateforme propose les horaires de prélèvement théoriques, mais les estimateurs Bayésiens sont très tolérants vis-à-vis des écarts d'horaires dès lors que ceux-ci sont précisés. Ainsi, si les prélèvements préconisés sont à T0, 1 heure et 3 heures, mais que les infirmières ne peuvent les effectuer qu'à T0, 45 minutes et 4 heures, il suffit que ces modifications nous soient précisées. Avec 12 ans d'existence, le site a célébré sa 100 000ème demande au mois de septembre 2017.

CONCLUSION

Quelques polymorphismes génétiques des enzymes de métabolisme des immunosuppresseurs expliquent une partie de leur variabilité pharmacocinétique et pharmacodynamique.

La variabilité pharmacocinétique est prise en compte par le suivi des concentrations sanguines, en particulier par méthode pharmacocinétique, et par l'ajustement individuel des posologies. Le génotypage des polymorphismes pertinents (CYP3A5*3 et CYP3A4*22) n'a pas montré de bénéfice supplémentaire dans la population « générale » des patients greffés, que ce soit en préemptif pour l'ajustement de la dose initiale ou pour l'ajustement ultérieur de la posologie (en particulier, il n'améliore pas l'estimation Bayésienne de l'AUC). Il est utile en revanche pour expliquer et comprendre des cas particuliers, par exemple de clairance d'élimination très faible ou d'interactions médicamenteuses d'intensité inattendue.

L'importance de la variabilité pharmacodynamique (et de sa composante pharmacogénétique) est encore mal estimée.

BIBLIOGRAPHIE (les références soulignées renvoient aux abstracts correspondants sur PubMed)

1. Relling MV, Dervieux T. Pharmacogenetics and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2001;1:99-108.
2. Haufroid V, Mourad M, Van Kerckhove V, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics* 2004;14:147-54.
3. 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;76:1233-5.
4. Thervet E, Lorient MA, Barbier S, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clin Pharmacol Ther* 2010;87:721-6.
5. Elens L, van Gelder T, Hesselink DA, Haufroid V, van Schaik RH. CYP3A4*22: promising newly identified CYP3A4 variant allele for personalizing pharmacotherapy. *Pharmacogenomics* 2013;14:47-62.
6. Andreu F, Colom H, Elens L, et al. A new CYP3A5*3 and CYP3A4*22 cluster influencing tacrolimus target concentrations: a population approach. *Clin Pharmacokinet* 2017;56:963-75
7. Tremblay S, Nigro V, Weinberg J, Woodle ES, Alloway RR. A steady-state head-to-head pharmacokinetic comparison of all FK-506 (Tacrolimus) formulations (ASTCOFF): an open-label, prospective, randomized, two-arm, three-period crossover study. *Am J Transplant* 2017;17:432-42.
8. Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European Consensus Conference. *Ther Drug Monit* 2009;31:139-52.
9. Saint-Marcoux F, Knoop C, Debord J, et al. Pharmacokinetic study of tacrolimus in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis lung transplant patients and design of Bayesian estimators using limited sampling strategies. *Clin Pharmacokinet* 2005;44:1317-28.
10. Monchaud C, de Winter BC, Knoop C, et al. Population pharmacokinetic modelling and design of a Bayesian estimator for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in lung transplantation. *Clin Pharmacokinet* 2012;51:175-86.
11. Woillard JB, de Winter BC, Kamar N, Marquet P, Rostaing L, Rousseau A. Population pharmacokinetic model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations--twice daily Prograf and once daily Advagraf. *Br J Clin Pharmacol* 2011;71:391-402.
12. Saint-Marcoux F, Debord J, Undre N, Rousseau A, Marquet P. Pharmacokinetic modelling and development of Bayesian estimators in kidney transplant patients receiving the tacrolimus once-daily formulation. *Ther Drug Monit* 2010;32:129-35.
13. Benkali K, Rostaing L, Premaud A, et al. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of tacrolimus exposure in renal transplant recipients on a new once-daily formulation. *Clin Pharmacokinet* 2010;49:683-92.
14. Woillard JB, Debord J, Monchaud C, Saint-Marcoux F, Marquet P. Population pharmacokinetics and bayesian estimators for refined dose adjustment of a new tacrolimus formulation in kidney and liver transplant patients. *Clin Pharmacokinet* 2017;56:1491-1498.