

Transfert d'information : récepteurs-méthode d'étude :

Les récepteurs permettent **transfert d'informations** entre cellules

On distingue 4 grandes classes de récepteurs :

- **récepteurs canaux**
- **récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à une protéine G**
- **récepteurs à sous-unités possédant chacun un domaine TM**
- **récepteurs ligand-dépendant régulateur transcriptionnel**

Un récepteur est forcément une **protéine**.

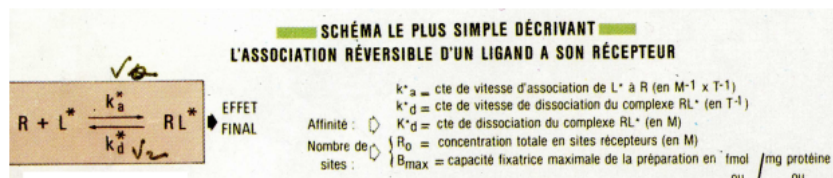
Pour qu'un ligand se fixe sur un récepteur, il doit être distant de moins de 100 nm et la durée de la liaison ligand-récepteurs est de l'ordre d'une milliseconde = phénomène extrêmement rapide
Déplacement d'un récepteur membranaire pour faire le tour de la cellule = en 10 secondes à 1 min30.
Demi de vie d'un récepteur membranaire est courte = 5h

En cas d'interaction récepteur/ligand, même avec des doses élevées de ligand, ce même récepteur ne peut pas se recréer à côté non occupé en moins de 10 heures (cf demi-vie).

La seule chose envisageable au niveau de la synthèse serait celles de nouvelles molécules de récepteurs qui seraient occupées ou non par le ligand en fonction de sa concentration résiduelle.

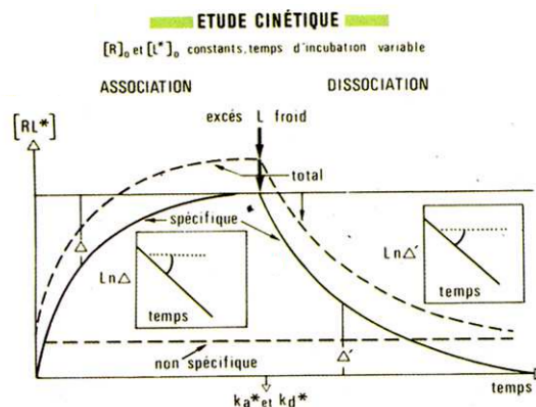
On marque le ligand pour étudier l'association récepteur/ligand.

Vitesse d'**association** définie par une constante k_a et vitesse de **dissociation** k_d .



Plusieurs étapes : d'abord **fixation = fraction binding**, puis **étape de réaction/effet de la cellule = transduction**. Enfin, l'effet peut être **physiologique ou pharmacologique**.

L'étude de ces récepteurs commence par une étude cinétique.



Graphe concentration du complexe ligand/récepteur en fonction du temps.

Marquage radioactif.

D'abord **phase d'association** mesurée par k_a . Puis **plateau**, si on ajoute excès de ligand froid : dissociation du ligand chaud. On obtient alors une courbe de **dissociation** mesurée par k_d .

Le ligand marqué se fixe sur le récepteur = **réponse spécifique**. Mais il peut aussi se fixer sur autre chose que le récepteur = **réponse non spécifique**.

Dans la phase de dissociation, la quantité encore présente est ce qui est fixé sur autre chose que le récepteur = non spécifique.

Grâce à cette étude, on connaît le temps au bout duquel on a un équilibre = **liaison à équilibre**.

On étudie alors concentration du complexe récepteur/ligand en fonction de la concentration du ligand. Cela permet de définir le K_d .

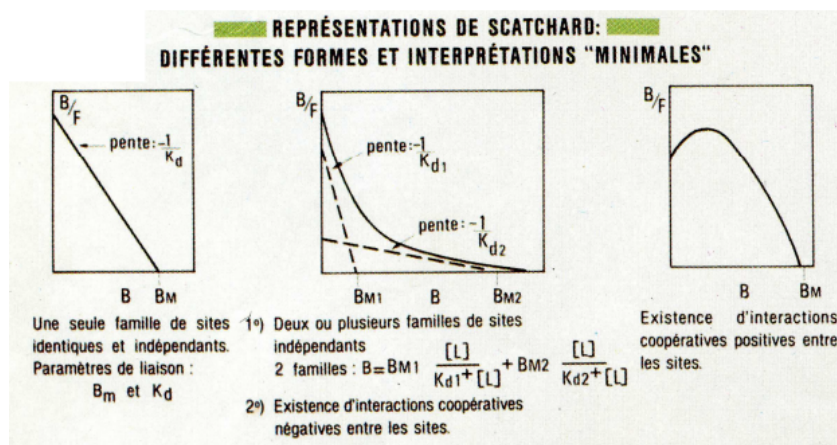
On effectue une **technique de saturation** qui permet de déterminer le plateau.

On peut faire ensuite une **technique de compétition** avec des agonistes ou des antagonistes. Cela permet de caractériser le produit.

Propriétés générales d'une liaison spécifique :

Elle doit être **rapide**, **saturable**, **réversible** et **spécifique**. Le récepteur doit être **peu abondant**.

Représentation de Scatchard :



$B_{\max}$ = quantité maximale que le récepteur peut fixer. La pente donne $-1/K_d$.

Si une seule droite = **une seule famille de sites identiques et indépendants**.

Si courbe avec 2 pentes = soit on a **deux familles de sites indépendants** ou alors il existe des interactions coopératives : **allostérie négatives entre les sites**.

Si courbe en cloche = existence d'interactions **coopératives positives** entre les sites.

On peut étudier la réponse en fonction de la concentration du ligand présent sur le récepteur. Cela permet de trouver la concentration effectrice qui permet 50 % d'effet.

Activation du système pour obtenir réponse : le produit ajouté = ligand est un agoniste

Si pas d'activation : le ligand est un antagoniste.

Pour quantifier cet agoniste, on définit des **EC₅₀** et on s'intéresse à l'efficacité.

Quand l'agoniste ne donne pas une réponse totale = **agoniste partielle**. Il s'agit d'une expression relative puisque c'est l'agoniste le plus puissant qui définit le **full agoniste**.

En fonction de l'occupation, la réponse est plus importante pour un full agoniste que pour un agoniste partiel.

Un **antagoniste compétitif**, veut dire qu'il y a une compétition entre le ligand naturel et l'inhibiteur. A savoir que l'un peut déplacer l'autre et inversement.

Antagoniste compétitif fait **varier l'affinité (K_m) mais pas V_{max}** . Plus on augmente dose de l'antagoniste, plus on déplace la courbe vers la droite.

En ce qui concerne l'**antagonisme non compétitif**, le ligand naturel se trouve sur le récepteur, l'inhibiteur le déplace et il ne peut plus y avoir de déplacement de l'inhibiteur par le ligand naturel : il fait **varier V_{max} mais pas l'affinité**.

Un **antagoniste incompétitif** fait **varier V_{max} et l'affinité**. Il s'agit d'un phénomène où la fixation de l'antagoniste entraîne une modification du récepteur.

En ce qui concerne le **mécanisme allostérique, différents sites de fixations** sur le récepteur.

Allostérie négative fait diminuer réponse. **Allostérie positive** permet potentialisation et favorise la fixation du ligand.

Découverte d'une dernière catégorie du ligand :

Antagoniste se fixe sur récepteur activé ou non.

Agoniste se fixe uniquement sur récepteur activé.

Des produits privilégient la fixation sur des récepteurs au repos = **agoniste inverse**. Il diminue la réponse de départ. Récepteur au repos a une activité intrinsèque. Tous les récepteurs ont une activité intrinsèque.

Agoniste inverse va **diminuer la réponse intrinsèque** à l'état basal. Ce qu'on considèrerait comme l'état de repos n'est pas véritablement un état de repos : il a une activité intrinsèque.

Méthodes d'étude :

Radioactivité

Lumières polarisées = modification de l'épaisseur par la fixation du ligand va changer l'isotropie : on va mesurer cette différence pour analyse.

On peut aussi effectuer un marque avec des anticorps avec des réactions d'**immunofluorescence**.

Il y a également la **méthode des points lumineux** : marquage de vésicules...

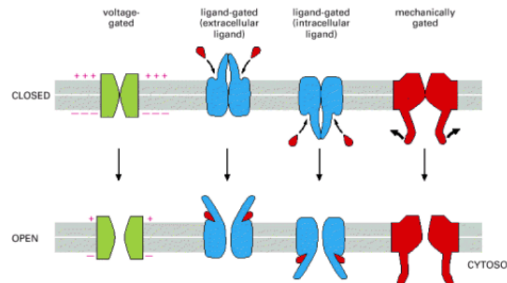
Il y a l'**hybridation in situ** permettant la quantification des récepteurs : quantité d'ARN correspondant aux récepteurs.

On peut aussi utiliser l'**électrophysiologie** dans les récepteurs canaux : on mesure les courants électriques qui traversent ces membranes.

Récepteurs membranaires : canal ionique (protéine G) :

Plusieurs sous unités avec plusieurs domaines transmembranaires.

Plusieurs types de canaux :



- canal **voltage dépendant**
- canal dont l'ouverture est modulée par fixation **ligand extracellulaire**
- canal dont l'ouverture est modulée par fixation **ligand intracellulaire**
- canal dont l'ouverture est modulée par **traction physique** (cytosquelette)

Exemple : récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine

5 sous unités avec 4 domaines. Domaines M2 : domaines de fixation des ligands, agonistes ou antagonistes. C'est un canal sodique permettant de régler l'osmolarité interne de la cellule. L'ion sodium se déshydrate pour passer dans le canal puis se réhydrate.

Mesure de la taille des récepteurs par microscopie de force atomique.

Des récepteurs qui changent d'ions existent (ne fonctionne pas en mode ouvert/fermé) = la taille du pore va varier avec des canaux cardiaques $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

Activités kinases associées aux récepteurs (iNos)

Ils ne sont **actifs que sous forme de dimères**.

La majorité est sous forme de monomère, la **fixation du ligand entraîne la dimérisation**.

Récepteur à insuline :

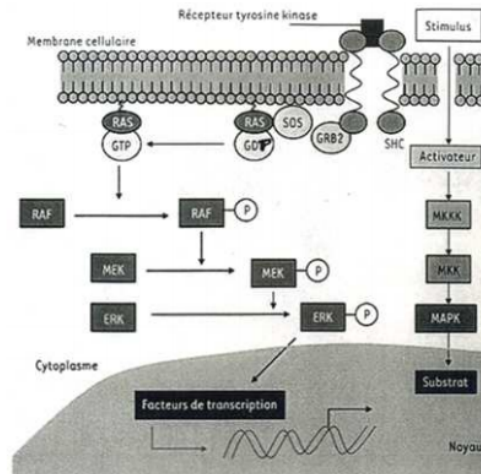
Ils sont déjà sous forme de dimères. **Fixation de l'insuline** sur ses récepteurs : **les tyrosines sont phosphorylés**. Cela entraîne une internalisation importante du glucose dans la cellule. C'est donc la **phosphorylation des tyrosines** qui entraîne la **stimulation de l'internalisation du glucose**.

Récepteur aux facteurs de croissances :

Les récepteurs aux facteurs de croissance se dimérise quand le ligand se fixe. La partie intracellulaire va changer de forme. C'est la phosphorylation des tyrosines qui permet fixation de particules de transferts entraînant changement de forme intracellulaire.

Agoniste inverse permet d'arrêter division cellulaire.

Voie de signalisation des MAP-kinases :



La protéine G active RAS intracellulaire ancré dans la membrane entraînant cascade de phosphorylations avec les voies **RAS-RAF-MEK-ERK**. Cela joue sur des **facteurs de transcriptions** qui vont moduler l'activité transcriptionnelle.

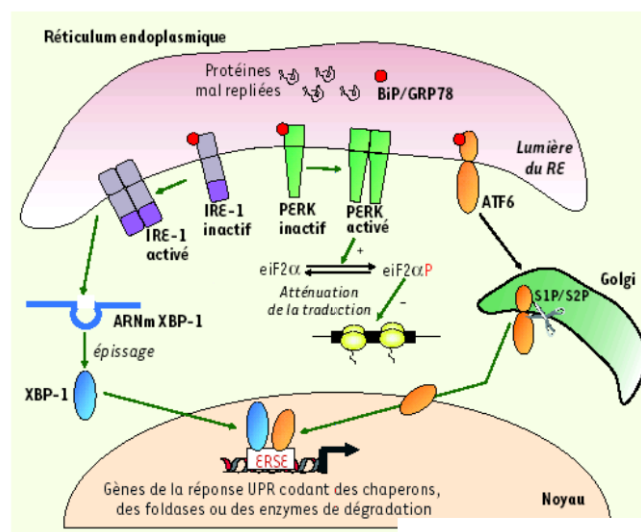
RAS ancré ou non en fonction du nombre d'AG : 2 AG = ancré, si clivage = libération.

P3 kinase va phosphoryler le transporteur de glucose qui devient inactif au sein de la cellule.

RAS = mitotique, P3 kinase = métabolique.

Pour passer RAS GDP à RAS GTP, besoin de cofacteurs : si ils sont mutés entraîne des pathologies.

Réponse UPR :



Lorsque **fixation chaperonnes** : les récepteurs deviennent **inactifs**. C'est la **non fixation des protéines chaperonnes** qui va **activer le récepteur**. Les chaperonnes assurent le bon repliement des protéines. Si **mauvais repliement**, récepteurs vont se dimériser ce qui va avoir pour conséquence de **diminuer la synthèse de protéines** par atténuation de la traduction. Production de protéines chaperonnes grâce à IRE-1 et ATF6.

Récepteurs membranaires à production de seconds messagers intracellulaires :

Plus lent mais amplification plus importante. Ce sont des protéines **couplés au protéine G**, récepteurs qui possèdent **7 domaines transmembranaires**.

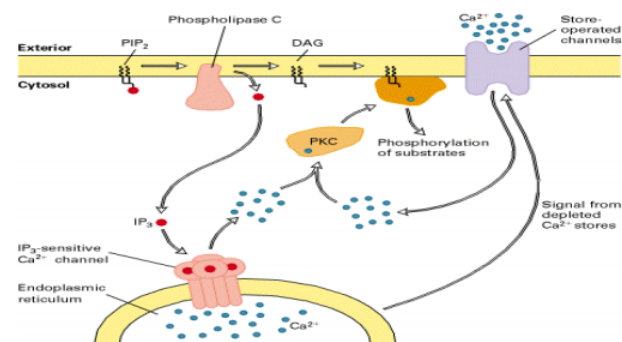
Il s'agit de la famille où il y a le plus grand nombre de récepteurs dont certains ne sont pas encore connus.

N terminal extracellulaire, COOH intracellulaire.

La mutation d'1 AA peut entraîner des pathologies endocriniennes graves = cécité...

Protéine G = protéine capable de fixer le GTP (pas forcément de l'hydrolyser)

Couplage aux protéines G = couplage d'activation



Fixation agoniste sur le récepteur : il est activé et va entrer en contact avec la sous unité α = changement de forme. Le **GDP est libéré** et le **GTP se fixe**. Cette **fixation entraîne la dissociation α GTP et $\beta\gamma$** . La **protéine G active alors des effecteurs** par α GTP et possiblement par $\beta\gamma$.

Ces activations peuvent être des stimulations ou des inhibitions.

Ce système revient à l'équilibre car sous-unité **α capable d'hydrolyser GTP**. Redeviens GDP ce qui modifie la forme α et s'**associe avec $\beta\gamma$** .

Sous-unité α peut ne plus être ancré à la membrane : il faut greffer un AG pour l'ancrer.

Toxine bactérienne de la coqueluche bloque le système sous forme inactivé : bloque en GDP.

Toxine du choléra bloque protéine G sous forme activé : bloque en α GTP. Cela abouti à un récepteur désensibilisé car phosphorylé : augmentation de doses pour avoir le même effet.

G_s avec **α_s active adénylate cyclase**.

G_i avec **α_i inhibe l'adénylate cyclase**

G_q avec **α_q active phospholipase C β**

G_{12} avec **α_{12} active échangeur d'ions et la phospholipase A2**.

Sous unités peuvent stimuler/inhiber sur différents effecteurs : RAS, kinases, lipases...

Il y a donc possibilité très grande de régulation du système.

Adénylate cyclase :

Un récepteur fixe **adrénaline**. **Protéine G avec α GTP se fixe sur l'adénylate cyclase** entraînant **formation AMPc** : active **PK_a** entraînant **cascade de phosphorylations**. Le **glycogène** est alors transformé en **glucose-phosphate** qui par **glycolyse** donnera de l'**ATP** pour permettre la **contraction musculaire**.

Effet de l'adrénaline sur les hépatocytes :

Production AMPc qui va activer PK_a = phosphorylation. **Amplification de la libération du glucose** pour glycolyse.

Cette PK_a va aboutir à la **phosphorylation de CREB** qui se fixe sur l'élément de réponse à l'AMPc (le CRE) : produit un **facteur MITF** qui induit de façon secondaire la **tyrosinase** permettant la production de mélanine et d'autres pigments.

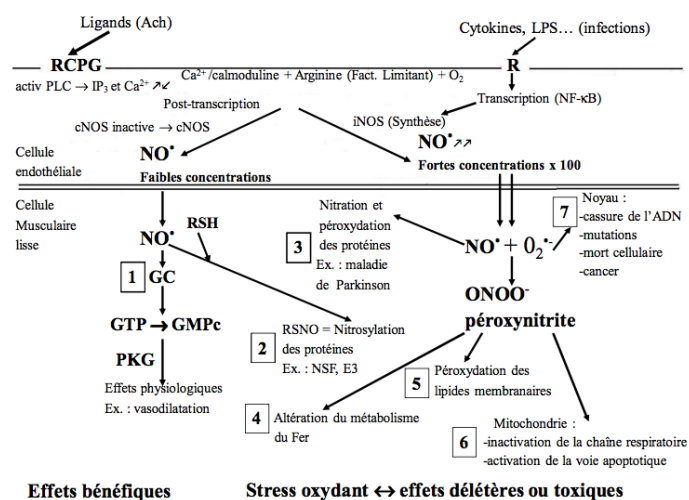
Phospholipase C :

La phospholipase C permet la **production de DAG par clivage de PIP₂** (constituant de la membrane cellulaire), qui va activer de **PK_c** qui va **phosphoryler des protéines**.

PIP₂ : soit transformé en **DAG** pour activer PK_c, soit dégradé en inositol **IP₃** puis fixation sur un récepteur au niveau du RE = récepteur à canal ionique calcique : **sortie des ions Ca²⁺**. Cela active la **PK_c permettant phosphorylation des protéines**.

En résumé, on a dans l'ordre : signal externe sur un récepteur, transduction, amplification, précurseur phosphorylé, seconds messagers, effecteurs interne, réponse cellulaire.

NOS (NO synthases) :



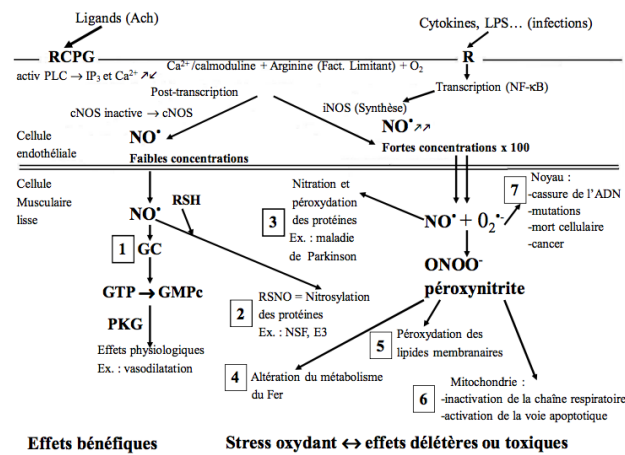
NO formé à partir de l'arginine. Cette formation est sous la dépendance des flavines, de l'hème... grâce à la **NO synthase**. Elle ne fonctionne qu'à l'**état dimérique** : ce qui tient le dimère, c'est la **calmoduline**.

Production de NO radicalaire : extrêmement réactif.

NO est un gaz qui possède des récepteurs dans nos vaisseaux, cellules endothéliales.

Les vaisseaux sont capables de se contracter : le problème pas de récepteurs acétylcholine sur les cellules musculaires lisses pour permettre cette contraction. On a alors une transmission de l'**information endothéliale vers muscle lisse grâce au NO** produit par la cellule endothéliale. NO va **stimuler la guanylate cyclase** pour **produire du GMPc** induisant relaxation des muscles lisses.

Dérivés nitrés jouent sur la guanylate cyclase pour permettre vasodilatation (viagra).



2 NO synthase : **nNos** et **eNos**. Il existe aussi **iNOS** = **version pathologique** de cette transduction : induite lors de choc septique.

Peroxyde nitrite, formé à partir du NO et O_2 radicalaire, extrêmement toxique pour la cellule.

Si **augmentation de peroxyde nitrite** = **attaque mitochondrie**.

Si **surproduction de NO** = **attaque du noyau et mutation d'ADN** : le tissu se nécrose.

On parle de **stress oxydant**.

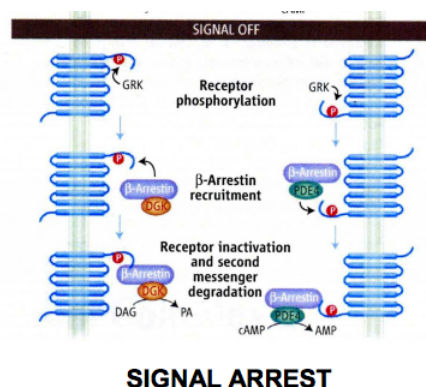
NO a des effets **neuroprotecteurs** mais si grosse production = **neurotoxique**.

Cytokines entraîne translocation de NF-Kb : régulation transcriptionnelle de iNOS (n'existe pas à l'état physiologique).

Le **nombre de mitochondries** dans une cellule est régulée par NO.

Maladie de Parkinson dû à des désherbants comme le roténone : production de peroxyde nitrique qui peut détruire neurone dopaminergique.

Désensibilisation des récepteurs :



Certaines protéines kinases peuvent **phosphorylés** pour induire l'**arrêt de la transduction**.

Signal s'arrête grâce à la phosphorylation du récepteur puis **arrestin** va être recruté pour **détruire les seconds messagers**.

Recrutement des arrestin = **endocytose des récepteurs** : **régulation de la transduction** et **destruction par le protéasome**.

Agoniste lors de sa fixation entraîne phosphorylation des récepteurs par des kinases. Puis il y a recrutement d'arrestin provoquant une **désensibilisation** ou une **internalisation**. Mais il peut aussi y avoir un **changement de type de signalisation**.

Selon le type de molécule, on va pouvoir jouer sur le type de signalisation voulue.

Désensibilisation des récepteurs via arrestin provoque stimulation **micro ARN** régulant traduction des protéines.

Récepteurs nucléaires :

On distingue :

- récepteur endocrine avec **haute affinité**
- récepteur avec **basse affinité**
- récepteur avec **ligand inconnu**

Ligand des récepteurs nucléaires dérivent du **cholestérol**.

Ligand (lipophile) est présent dans le **cytosol associé à sa chaperonne**, fixation sur récepteur entraîne la **dissociation chaperonne** et **dimérisation**. Le couple ligand/récepteur passe dans le noyau par les **pores nucléaires**. Ce système se fixe seul ou avec d'autres régulateurs sur l'ADN pour avoir un **effet transcriptionnel**.

Récepteurs nucléaires constitué de 5 unités ABCDE résultant de l'épissage d'exons.

Différents domaines : **activation**, **fixation ADN**, **région charnière**, **liaison ligand** et **inconnu**.

Doigt en zinc stabilise formation.

Dimérisation au niveau des domaines -C terminaux par des interactions faibles leucine = **leucine zipper**.

Fixation sur l'ADN des récepteurs aux hormones thyroïdiennes : amplification de la transcription.

Si ajout d'une hormone thyroïdienne = diminution de la transcription.

Si récepteur thyroïdienne/récepteur nucléaire = grande amplification de la transcription. Si fixation hormone = diminution.

Si récepteur thyroïdienne/2 récepteurs nucléaires = amplification de la transcription insensible à l'hormone.

Compétition entre un certain nombre de récepteurs nucléaires.

PPAR : récepteur commandant l'activation des peroxisomes. Ils peuvent s'associer à certain récepteur nucléaire de la vitamine A. Ils ont pour ligand des molécules de synthèses, des AG et certains dérivés de prostaglandines.

Ces récepteurs peuvent être phosphorylés dans le cytosol et sont alors dephosphorylés dans le noyau par des phosphatases.

Elles vont avoir un rôle de régulation dans le cycle cellulaire.

Selon les couplages, on peut fixer des ligands différents avec des facteurs de croissance et des cofacteurs : régulation physiologique différente.

Interaction entre les cellules et les médicaments :

Interaction au niveau des cellules qui assurent **absorption**, avec les protéines présentes dans le sang et les cellules sanguines (distribution).

Interaction avec les **cellules cibles** : rentrent dans la cellule et agissent avec des constituants cellulaires : ADN pour les anticancéreux, protéines comme kinases...

Interaction avec les cellules qui vont entraîner sa **biotransformation** qui est la plupart du temps une inactivation. Conduit à la production de métabolite éliminé par le rein/foie...

Le médicament utilise des structures préexistantes comme des **transporteurs** normalement destinés à transporter des substances endogènes. Problème de compétition.

Les barrières cellulaires et leur modèle d'étude :

La membrane plasmique et son franchissement :

La cellule est limitée par une **barrière de perméabilité : la membrane**. Elle devient inefficace à la mort de la cellule = test d'exclusion par le bleu de trypan qui colore les cellules mortes car plus de système d'efflux dû à l'absence de production d'ATP.

Le passage des molécules à travers les membranes dépend de leur **coefficient de partage** entre l'huile et l'eau. **Plus elles sont liposolubles plus elles passent à travers la membrane.**

En effet, la membrane est constituée de **phospholipides, d'AG et de cholestérol**.

La cellule est constituée de polymères en interaction assurant les processus vitaux, enfermés dans des limites membranaires composées de molécules amphiphiles.

La membrane est donc : une **double couche lipidique** et une **mosaïque fluide avec protéines transmembranaires**

Conditions du passage des composés à travers la membrane :

2 paramètres importants du passage sont l'**hydrophobicité** et la **taille des molécules**.

Passage des molécules à travers la membrane :

Diffusion passive = traversée de la membrane plasmique selon le **gradient de concentration sans dépense d'énergie**. Lent et non saturable.

Pas possible pour les molécules chargées ou polaires.

Diffusion facilitée par une protéine de transport = transporteur spécifique qui vont transporter un seul type de molécule mais aussi transporteur avec très faibles spécificités : beaucoup de molécules différentes.

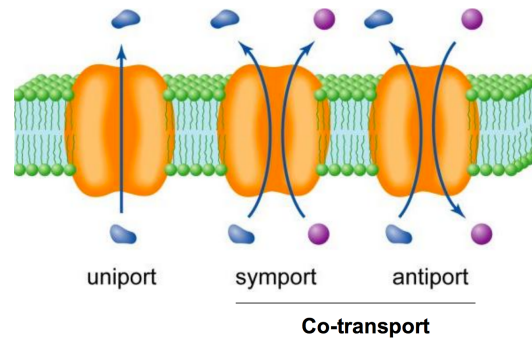
Ils vont permettre à des **molécules organiques chargées** (métabolites, médicaments) de franchir la membrane.

Se fait selon le **gradient de concentration sans dépense d'énergie**. Moins rapide que la diffusion passive : 10^2 à 10^4 molécules/sec.

Transport actif : ± spécifique. Il se fait **contre le gradient de concentration d'où dépense d'énergie** (ATP). Transport **mono-directionnel**, saturable.

Il est moins rapide que la diffusion passive : 10^2 à 10^4 molécules/sec.

Co-transport et sens du transport facilité ou actif :



Uniport = 1 élément

Au moins 2 éléments :

- **symport** : 2 molécules rentrent
- **antiport** = échangeur : 1 molécule entre, 1 molécule sort.

Exemple : transport du glucose au niveau de la cellule intestinale

Glucose alimentaire va rentrer dans l'entérocyte par diffusion facilitée de type symport : glucose et Na^+ , suit le gradient de concentration.

Glucose pris en charge par un transporteur spécifique qui ne transporte que du glucose : diffusion facilitée pour rejoindre la circulation.

Le sodium est expulsé par une pompe antiport Na^+/K^+ : transport actif contre le gradient.

Superfamille et familles de transporteurs :

15% des gènes humains codent 4500 protéines de transport.

Transporteurs bi-directionnelles de molécules endogènes (métabolisme cellulaire). Certains de ces transporteurs vont être aussi empruntés par des xénobiotiques (dont les médicaments).

Seul un très petit nombre de transporteurs semble n'être dédié qu'au passage transmembranaire de xénobiotiques dans le sens de l'élimination = **défense de la cellule pour expulser substance étrangère**.

4 principaux exemples de barrières cellulaires et leur modèle d'étude :

La porte d'entrée digestive :

L'intestin grêle est le **site le plus important pour l'absorption** du médicament administré par voie orale dans le tractus gastro-intestinal.

Il permet de poursuivre la digestion des aliments et absorbe les nutriments. **Renouvellement quasi permanent**. Irrigation sanguine importante.

Epithélium intestinal est une barrière = présence de plusieurs jonctions :

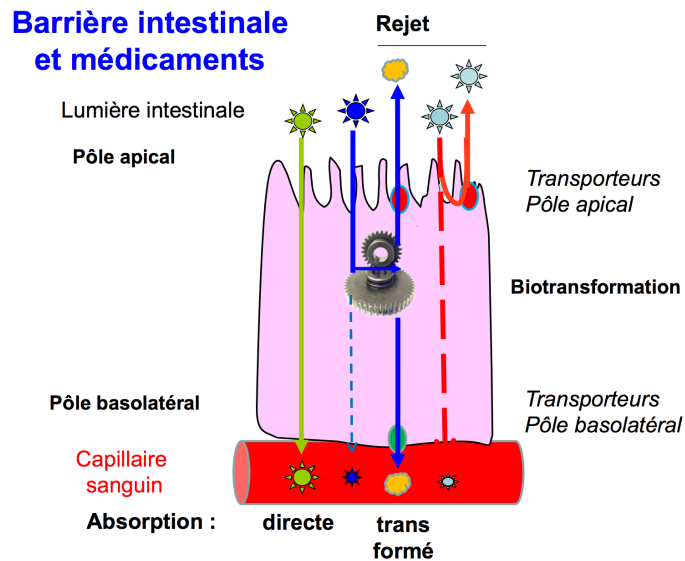
- **jonctions étanches** ou séries ou zonula occludens capables de limiter la perméabilité de l'épithélium (claudine/occludine).
- **jonctions d'ancrage**, zonula adheras ou desmosomes qui permettent l'attachement mécanique des cellules entre elles
- **jonctions communicantes** ou de types gap qui permettent le passage de signaux chimiques ou électriques entre les cellules.

Les **entérocytes sont des cellules polarisées** : leurs membranes ne sont pas équivalentes.

On peut distinguer 2 pôles opposés : **apical côté intestinal et basolatéral côté circulation sanguine**.

Présence de transporteurs dans ces 2 pôles.

L'entérocyte possède des **enzymes de biotransformation** qui ont pour rôle de transformer les substances étrangères qui traversent la barrière.



Les médicaments peuvent subir plusieurs destinées :

- **absorption directe** sans biotransformation.
- **absorption suite à une biotransformation** entraîne formation de **métabolites** qui sont soit expulsés dans la lumière intestinale soit dans la circulation sanguine.
- **rejet** : médicaments pris en charge par des **protéines d'efflux**. Il n'y a qu'une petite quantité qui gagne la circulation sanguine.

La **polarité cellulaire** est importante puisqu'elle permet la **spécialisation des membranes** des pôles basolatéraux et apicaux par un équipement différent en transporteurs.

- **pôle apical** = **protéine d'efflux P-gp**.
- **pôle basolatéral** = **MRP1**, transporteurs actifs : **pompes d'efflux** permettant sortie de la cellule.

Ces protéines viennent du Golgi puis passe par le pôle basolatéral : MRP1 est placé, positionnement de la P-gp au pôle apical par transcytose.

Modèle cellulaire intestinal : **cellules Caco-2**. On utilise des lignées cancéreuses immortalisées : **lignée cellulaire d'un cancer colorectal**.

En culture, modèle d'entérocytes = jonctions serrées, microvillosités, enzymes et transporteurs caractéristiques, peptidases, estérases, P-glycoprotéine, transporteurs d'acides aminés etc

Modèle in-vitro de prédiction de l'absorption des médicaments par voie orale.

Principe de la culture de cellules polarisées fonctionnelles :

Les cellules ne se polarisent pas spontanément. On utilise un système d'**insert à 2 compartiments** : Pour étudier l'absorption d'un médicament, compartiment supérieur avec entérocytes et inférieur pour créer un équilibre moléculaire. On étudie alors l'absorption. Etanchéité de la mono-couche cellulaire testée en vérifiant l'absence du passage dans la chambre inférieure d'un colorant fluorescent non transportable.

Exemple : flux de digoxine à travers les cellules Caco-2 :

On utilise de la digoxine radioactive et on la met en quantité égale.

On mesure la radioactivité après 24h = elle est devenue très faible dans le compartiment inférieur et élevée dans le compartiment supérieur.

La digoxine a été expulsée dans le compartiment supérieur = rejet. La barrière intestinale s'oppose donc à l'entrée de digoxine. En utilisant des inhibiteurs des différents transporteurs, on arrive à trouver le transporteur impliqué dans l'efflux de la molécule : P-gp.

Intérêts du modèle de barrière intestinale :

- permet le criblage et la sélection de molécules traversant la barrière intestinale.
- comparaison de différentes formulations galéniques
- détermination des paramètres cinétiques d'absorption
- étude des mécanismes d'absorption

Le foie :

Tous les capillaires sanguins irriguant l'intestin se déversent dans des veinules qui se rejoignent dans la veine porte-hépatique.

Le foie **reçoit les nutriments et les médicaments absorbés au niveau intestinal** et joue un rôle primordial dans leur transformation.

Le foie assure plusieurs fonctions : **synthèse** (facteurs de la coagulation, albumine...), **stockage** (en particulier le glucose), **biotransformation** (substances endogènes et xénobiotiques).

Le **lobule hépatique** constitue l'unité anatomique du parenchyme hépatique.

Hépatocytes :

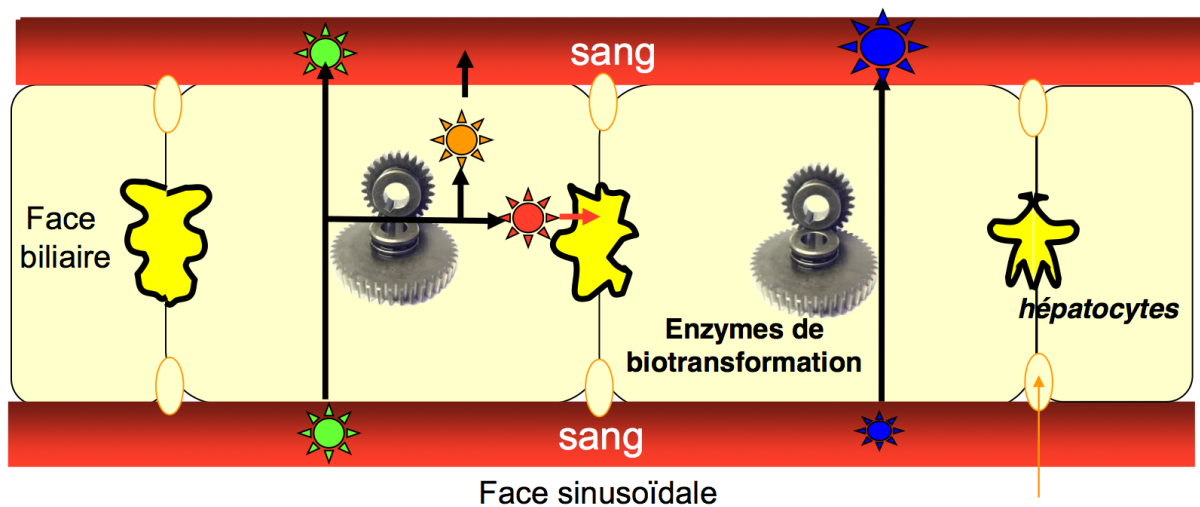
Cellules polyédriques disposées en **travées** séparées les unes des autres par les capillaires sinusoides. Les hépatocytes sont des **cellules épithéliales** particulières non organisées, contrairement aux autres cellules épithéliales, selon une polarité apicale et basolatérale. L'hépatocyte présente **2 faces sinusoidales** et **2 faces biliaires**.

L'hépatocyte a une **double polarité**.

Faces **sinusoidales en contact avec le sang portal**. **Zone d'échanges intenses** où l'hépatocyte puise les éléments nécessaires à ses activités de synthèse (lipides, protéides et glucides) et de transformation (xénobiotiques, hormones...) et y déverse les produits de ces activités métaboliques.

Faces **biliales délimitent le canalicule biliaire**, espace sans paroi propre défini par le repli des membranes de 2 hépatocytes adjacents. Les **constituants biliales** sécrétés par exocytose cheminent dans ce système caniculaire puis sont collectés dans le canal biliaire de l'espace porte.

Hépatocytes et médicament :



- **passage direct**
- **passage avec biotransformation** puis élimination dans la bile ou passage dans la circulation sanguine
- certains médicaments vont profiter des enzymes de biotransformations pour s'activer = **prodrogue**.

Modifications covalentes par voie enzymatique :

- **inactivation/solubilisation** puis élimination dans la bile et fèces
- biotransformation et passage dans le sang de métabolites inactifs
- biotransformation et métabolites plus actifs

Modèle cellulaire hépatique : les cellules Hep-G2.

Obtenu lignée cellulaire issu d'un hépatocarcinome.

Permet étude :

- toxicité hépatique = comparaison d'analogues chimiques, mécanismes de toxicité...
- biotransformations : identification des systèmes enzymatiques
- interactions médicamenteuses : évaluer les interactions vis-à-vis des systèmes de biotransformations et de transport des substances endogènes et des autres médicaments.

Problème : Cellules ne sont pas en travées.

Le cerveau :

Le cerveau a besoin :

- d'énergie
- d'assurer son homéostasie : réactions électrochimiques et biochimiques sensibles, se déroulant dans un milieu interne qui doit être largement débarrassé de toutes perturbations
- d'éliminer les produits du métabolisme
- de se protéger des agressions le plus possible

Les vaisseaux sanguins cérébraux présentent des différences structurelles et fonctionnelles : la **barrière hémato-encéphalique (BHE)**. Elle permet d'**isoler le cerveau de l'espace extracellulaire environnant et de contrôler les échanges**.

Barrière hémato-encéphalique :

Il s'agit d'une barrière cellulaire complexe entre le sang et le SNC.

Trois types de cellules constituent la BHE : les **cellules endothéliales** (paroi des vaisseaux), les **péricytes** et les **astrocytes**.

4ème acteur : les neurones avec des prolongements = unité neuro-vasculaire.

Les cellules endothéliales : reliées entre elles par des **jonctions serrées** (barrière fermée) et qui tapissent les capillaires du côté du flux sanguin, sont les composants essentiels de cette barrière.

Les péricytes : ce sont des petites cellules ovales, 20% de la surface externe des capillaires, solidement adhérentes aux cellules endothéliales.

Ils ont plusieurs rôles : **moteur** permis par leur contenu en actine, et qui module la section du capillaire en fonction des besoins (vasodilatation); rôle **macrophage** contre les agressions venant de la circulation sanguine et rôle **régulateur** des divisions et des différenciations cellulaires.

Les astrocytes : ce sont des cellules gliales en étoiles, plus grandes que les péricytes. Ils couvrent les capillaires du cerveau à 99% (pieds jointifs sur la membrane basale des capillaires).

Leurs fonctions principales sont :

- rôle de **barrière** avec modulation rapide de la perméabilité des cellules endothéliales
- fonction **trophique** des neurones (survie, plasticité)
- **homéostasie métabolique**
- **fonction immunologique**

Trafic moléculaire de part et d'autre de la BHE :

BHE équipée en **transporteurs** qui vont transporter des substances endogènes comme le glucose et des médicaments psychotropes : cocaïne rentre dans le cerveau en traversant passivement les cellules endothéliales + transporteur.

Mécanisme de **transcytose** : traversé par des substances dans des vésicules de transport.

Ce système se fait grâce à des récepteurs pour les substances endogènes comme **insuline ou transferrine**.

Médicament recouvert de molécules se fixant sur récepteurs = permet passage médicament dans le cerveau.

Médicament du SNC = psychotrope ou substance psychoactive.

Efflux par transporteur spécifiques

Modèle cellulaire de BHE :

Permet de répondre aux questions =

- passage d'une molécule du sang vers le cerveau
- toxicité d'un composé sur la perméabilité de la BHE
- toxicité sur les types cellulaires présents

Culture primaire de cellules endothéliales à partir de microvaisseaux isolés d'origine animales ou humaines (biopsies) ? : obtention difficile/différence inter-espèces +++, évolution de l'expression des gènes en fonction du temps.

Les quantités de transporteurs ne sont pas les mêmes en fonction des espèces.

Lignée immortalisée de cellules endothéliales humaines (hCMEC/D3).

Intérêt =

- cellules immortalisées (maintien possible de 15 j. en culture)
- étude de régulation d'expression
- étude de passage de médicament

Inconvénient =

- expression des gènes sensibles aux conditions de culture
- ne reproduit pas l'ensemble de la structure

Élimination des substances endogènes et des médicaments :

Les produits du métabolisme cellulaire ou les principes actifs sont éliminés sous forme **inchangée** ou sous forme de **métabolites**.

Les médicaments peuvent être excrétés par plusieurs voies :

- les **urines** via les reins
- dans les **fèces** via le tractus gastro-intestinal (bile et intestin)
- dans l'**air exhalé** via les poumons
- dans le **lait maternel**
- par la **sueur**

Les principales voies d'élimination sont l'**excrétion rénale** et l'**excrétion biliaire et fécale**.

Les organes excréteurs éliminent les **composés polaires et hydrosolubles** plus efficacement que des substances ayant une solubilité lipidique élevée.

Le rein :

Régulation de l'équilibre hydroélectrolytique. Filtre et élimine les déchets du métabolisme cellulaire et synthétise aussi de nombreuses hormones intervenant dans les fonctions métaboliques comme l'EPO.

Unité fonctionnelle rénale = **néphron** avec 1 million de néphrons par rein

Néphron association glomérule et tubule

Glomérule : unité de filtration donnant l'urine primitive.

Tubule : unité de transfert bidirectionnel donnant l'urine définitive.

Excrétion rénale : la filtration glomérulaire =

Au niveau du rein, le **glomérule filtre les petites molécules** (médicaments et leurs métabolites). La porosité du glomérule ne permet pas le passage des cellules sanguines ni celles des grosses molécules.

La barrière de filtration glomérulaire :

- **endothélium fenestré des capillaires** = barrière pour les **éléments cellulaires du sang**
- **lame basale sécrétée par les cellules endothéliales et par les podocytes** = barrière permettant la rétention de **grosses protéines**
- **fentes de filtration formées par les podocytes** = permet la rétention de **petites protéines**

Les cellules tubulaires rénales sont organisées de manière concentrique. Ces cellules sont **polarisées**.

Sécrétion et réabsorption tubulaire : au niveau des tubules, des systèmes de transport sont responsables de la sécrétion tubulaire et/ou de la réabsorption de substances endogènes et de xénobiotiques selon leur charge. Les **systèmes transporteurs sont relativement non sélectifs**.

Modèle cellulaire rénal :

Permet l'étude de :

- passage d'une molécule à travers la cellule tubulaire rénale
- toxicité rénale d'un composé

Cellules MDCK en culture polarisée.

Les transporteurs membranaires :

Les transporteurs de substances endogènes et de médicaments :

Ils assurent la **régulation physiologique** des entrées/sorties des cellules d'une grande variété de substances endogènes.

Les médicaments vont emprunter certains de ces transporteurs, il existe alors plusieurs situations :

- médicament peut empêcher transport substance endogène
- substance endogène peut empêcher transport médicament
- compétition possible entre 2 médicaments

Cette **utilisation partagée** peut être à l'origine d'**interférences dans le transport** des substances endogènes ou dans celles des médicaments.

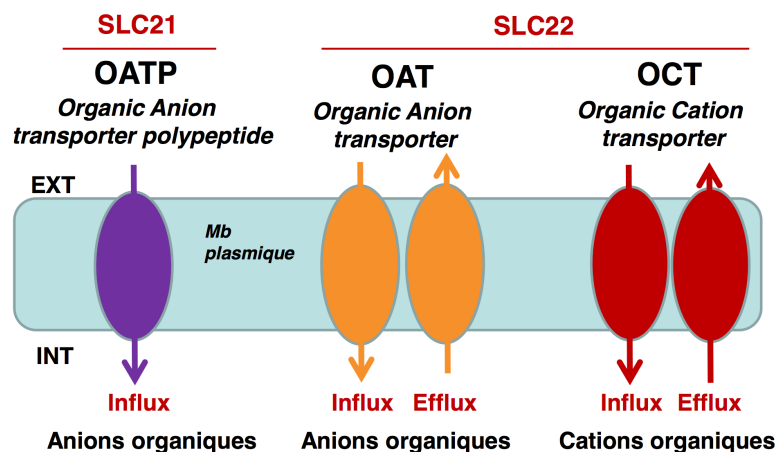
Superfamille et familles de transporteurs :

15% des gènes humains codent 4500 protéines de transport.

Les médicaments peuvent emprunter des transporteurs relevant de deux superfamilles

- **superfamille des SLC** = 30 transporteurs empruntés par les médicaments
- **superfamille des ABC** = 9 transporteurs empruntés par les médicaments.

La superfamille des SLC :



Des transporteurs de type SLC assurent physiologiquement le transport de substances endogènes, notamment des molécules organiques chargées ou non chargées, ions et gaz (ammoniac).

Mode de transport :

- **diffusion facilitée** (dans le sens du gradient)
- **transport couplé** (contre le gradient par couplage avec un second substrat suivant son propre gradient)
- modalités : **transport unique (uniport)** ou **co-transport (symport, antiport)**.

Plus de 300 protéines avec 51 familles.

Nomenclature :

SLC1A1 est l'isoforme n°1 de la sous famille A de la famille SLC 1.

Familles SLC21 et SLC22 :

Transporteurs impliqués dans le transport des médicaments. Ce sont des échangeurs **indépendants de l'ATP, non spécifiques**. **Localisation ubiquitaire** : intestin, foie, BHE, placenta et rein.

SLC21 : **OATP** Organic Anion transporter polypeptide = ne fonctionne que dans le sens de l'**influx**.

12 OATP à **12 domaines TM**.

Exemple : foie : OATP1B1, 1B3 et 2B1 : porte d'entrée de substances endogènes (hormones thyroïdiennes, stéroïdes (ES)...) pouvant être utilisées par des médicaments.
Echangeur de type antiport au niveau du pôle basolatéral de l'hépatocyte.
Exemple de médicaments substrats : antibiotiques, anti-HIV, hypocholestérolémiant...

OATP1B1 et entrée des statines dans le foie :

Les statines sont des médicaments hypocholestérolémiants.

Elles inhibent de façon réversible et compétitive l'HMG CoA reductase.

Effets secondaires liés à une variabilité génétique de OATP1B1 (Val174Ala, 15% chez caucasiens) = **cérivastatine** : entraîne un moins bon fonctionnement du transporteur. La quantité de médicaments s'accumule en dehors du foie = **rhabdomyolyse** (atteinte nécrotique musculaire). Provoque destruction muscle strié squelettique.

Fibrate : inhibition du transporteur provoquant avec association des statines une toxicité musculaire.

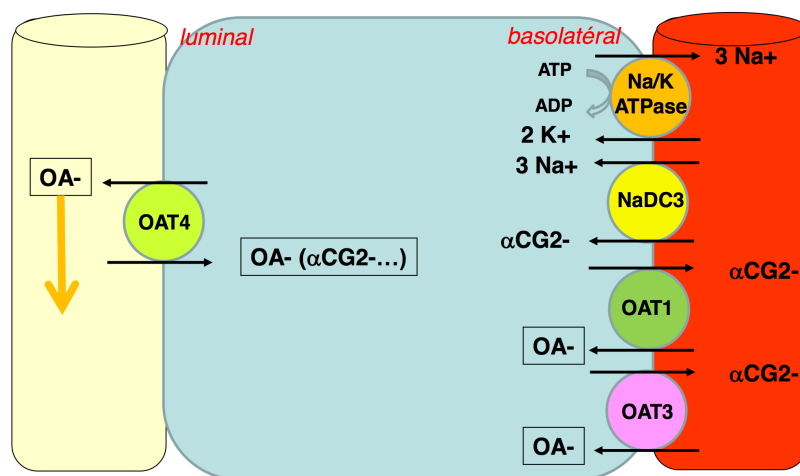
SLC22 : **OAT** = transport d'anions et **OCT** = de cations. **Influx et efflux**.

Transporteurs à **12 domaines TM**.

5 OAT :

Présent au niveau cerveau, oeil, placenta et **surtout au niveau du rein** (tubulaire et membrane apicale).

Exemple au niveau rénal :



Transport par les **OAT1 et 3, échangeurs d'anions (OA⁻)** entre la cellule tubulaire rénale et le sang.
Couplage de 3 transporteurs :

- une Na⁺/K⁺ ATPase membranaire pour maintenir le potentiel de la membrane
- un transporteur Na⁺/αcétoglutarate de type symport pour maintenir le gradient αCG2⁻
- un transporteur OA⁻/αcétoglutarate de type antiport (échangeur)

Élimination d'un composé endogène : l'acide urique

Il s'agit du produit final de catabolisme des purines. **URAT1** permet le transport de l'acide urique.

L'élimination rénale de l'acide urique passe par une **succession de réabsorptions et sécrétions suite à une filtration**. Elle est due au risque de cristallisation de l'acide urique dans le tubule rénal à cause de sa faible solubilité.

Pas d'uricase hépatique : l'acide urique n'est plus dégradé en allantoiné soluble.

URAT1 échange urate contre de l'acétylglutarate pour réabsorption de l'urate pour diminuer la concentration d'urate dans le tubule rénal.

Plusieurs pathologies sont associées au transporteur URAT1 :

- **mutation de URAT1** : hypouricémie rénale héréditaire, récessive, rare en Europe, Asie +++ (lithiase tubulaire rénale par défaut de réabsorption)
- **goutte** : médicaments uricosuriques : inhibiteurs de URAT1 : blocage réabsorption = augmentation élimination urinaire, diurèse alcaline.
- **hyperuricémies médicamenteuses** : aspirine faible dose active URAT1 (augmentation acide urique dans le sang par augmentation de la réabsorption).

1 même transporteur, plusieurs substrats : une source d'**interactions médicamenteuses** : tous les anti-inflammatoires sauf aspirine, source d'interaction médicamenteuse avec le MTX.

Des interactions qui « arrangent » : exemple du **probenecide** dans le dopage.

Il s'agit d'un **inhibiteur de plusieurs transporteurs de la famille des OAT**.

Il est uricosurique (réduction réabsorption) et adjuvant de la pénicillothérapie (réduction élimination).

Il agit comme **inhibiteur de l'excrétion tubulaire des stéroïdes anabolisants** utilisés à des fins dopantes = **agent masquant**.

Transporteurs de cations organiques (OCT) :

Topologie membranaire :

Transport à 12 domaines TM, influx et efflux.

3 OCT chez l'homme : **OCT1, 2 et 3.**

Expression ubiquitaire mais **OCT1 plus abondant au niveau du foie** et **OCT2 plus abondant au niveau du rein.**

Régule les concentrations de neurotransmetteurs dans le cerveau comme l'acétylcholine.

Dans le rein : au niveau **luminal = OCT1**. au niveau **basolatéral = OCT2 et OCT3.**

Cation d'origine endogène destiné à être excrété. Prise en charge par d'autres transporteurs au niveau luminal comme MATE1 qui fait rentrer protons dans la cellule (équilibre acido-basique)

Beaucoup d'autres transporteurs présents pour assurer l'homéostasie de la cellule.

Transporteurs et néphrotoxicité :

Capacité de transport dans la cellule rénale supérieure à la capacité d'élimination : toxicité par accumulation du médicament.

Céphalosporine (antibiotique) : rentre grâce au 3 types d'OAT, mais sort que grâce à 1 OAT.

Cisplatine (antimitotique) : rentré par OCT2 mais pas de transporteurs pour sortir. Effet bénéfique d'un inhibiteur d'OCT2 ?

Les transporteurs ABC (ATP Binding Cassette) :

500 membres connus chez les procaryotes et les eucaryotes.

Une 50aine d'ABC chez l'Homme dont 9 sont impliqués dans le transport des médicaments.

Exemple : P-gp = ABCB1

Ils transportent une **grande variété de composés** très divers sur le plan structural à travers les membranes cellulaires : substances endogènes (polypeptides, sucres, lipides, ions, vitamines) et xénobiotiques.

Familles	ABC1	MDR	MRP	ALD	OABP	GCN20	BCRP
Sous-familles	ABCA	ABCB Ex: ABCB1 = P-gp	ABCC Ex: ABCC7 = CFTR	ABCD	ABCE	ABCF	ABCG
Membres	12	11	12	4	1	3	5

Vaste ensemble de **transporteurs d'efflux.**

Rôle : transport unidirectionnel de part et d'autre de la membrane plasmique de diverses substances **contre le gradient de concentration**, en utilisant l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP.

CFTR (canal chlorures, défaut = mucoviscidose, il n'est pas impliqué dans le transport de médicaments) et **P-gp** (xénobiotiques).

Ces transporteurs sont localisés au niveau du pôle apical et basolatéral.

Découverte de la P-gp :

Résistance croisée entre de nombreux médicaments anticancéreux sans structure commune.

On s'est aperçu que cette **résistance est liée à un efflux augmenté** de ces médicaments par les cellules.

Surexpression dans les cellules cancéreuses d'un glycoprotéine membranaire nommé **glycoprotéine P.**

La glycoprotéine P est codée par le **gène MDR1.**

P-gp exprimé dans les cellules barrières

- **pôle apical des entérocytes = absorption réduite**
- **pôle biliaire hépatocyte = élimination biliaire**
- **pôle luminal et abluminal des cellules endothéliales de BHE = protection du SNC**
- **pôle apical des cellules tubulaires rénales = élimination urinaire**

Structure générale de la P-gp :

12 domaines TM qui forment un monomère. Dans la partie cytoplasmique, 2 domaines de fixation de l'ATP.

Les substrats de la P-gp :

Pas de spécificité des molécules transportées : très large reconnaissance de substrats

Des centaines de composés reconnus.

La plupart des substrats transportés sont **hydrophobes** et diffuse à travers la membrane plasmique. Substrat endogènes : ??? (phospholipides ???), peut-être uniquement défense contre xénobiotiques.

Quelques médicaments substrats de la P-gp :

Très grande diversité : anti-cancéreux, cardiaque, anti-dépresseurs...

Tenir compte dans les études pré-cliniques si médicament substrat ou non de la P-gp.

Deux « portails d'entrée » dans P-gp :

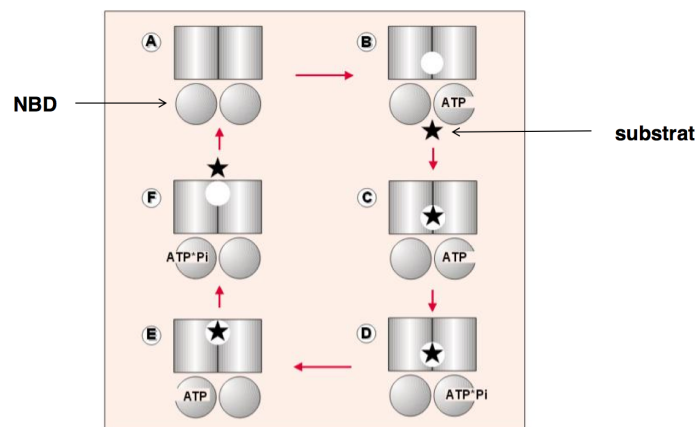
Ils sont situés au niveau du **feuillet interne** de la membrane plasmique.

Modèle de transport de la P-gp :

Diffusion passive du substrat en traversant la membrane plasmique mais lorsqu'ils arrivent dans le feuillet interne, captés par P-gp et entré dans le transporteur pour l'efflux.

Multiples possibilités d'interactions : surtout AA hydrophobes et aromatiques.

P-gp = « vacuum cleaner »



Fixation de l'ATP sur son récepteur : **changement conformationnel** de la P-gp. Substrat peut **rentrer à l'intérieur transporteur**. ATP hydrolysé. Une seconde ATP se fixe : **changement de conformation pour faire progresser le substrat** vers la surface. ATP hydrolysé = énergie va permettre **ouverture de la P-gp et libération du substrat** dans le milieu extra-cellulaire.

Le phénotype multidrug résistant (MDR) :

Il s'agit de la **capacité de résistance aux agents anticancéreux** que présentent certaines tumeurs. Initiale ou secondaire à l'exposition des cellules cancéreuses sensibles à un agent anticancéreux.

Provoque l'apparition d'une **multirésistance aux agents chimiothérapeutiques** : une exposition à une seule molécule anticancéreuse suffit pour induire une résistance contre toute une classe de molécules, voire des molécules de structure différente.

La **P-gp** est la première protéine à avoir été reconnue responsable de ce phénomène.

Le **phénotype MDR** est dû à une **surexpression de P-gp** à la surface des cellules cancéreuses. Responsable de 50 % des échecs thérapeutiques.

Sous la pression de sélection du médicament anti-cancéreux, il y a **sélection et expansion des cellules sur-exprimant P-gp** donc résistante aux chimiothérapies = phénotype MDR.

Acquisition du phénotype MDR :

Régulations génétiques et épigénétiques :

- **induites par le médicament** = transcription augmentée de MDR1 (gène de la P-gp) après fixation du médicament inducteur sur des récepteurs nucléaires (CAR, PXR).
- **induites par le processus tumoral** = instabilité génomique de la tumeur = amplification du gène MDR1. Changement épigénétiques : déméthylation du promoteur, changement de profil des miRNA qui réprimaient MDR1.

Echanges membranaires intercellulaires : transfert de P-gp d'une cellule à une autre par différents moyens :

- **transfert via des exosomes** (communication entre cellules) **ou des microparticules** émises par les cellules résistantes qui fusionnent avec les cellules sensibles
- **transfert intercellulaire de P-gp via des nanotubes membranaires** (cytonemes ou filopodes)

Contourner le phénotype MDR :

Doxorubicine = antimétabolite par inhibition des topoisomérases : bloque la réplication ADN contre leucémies et lymphomes.

Phénotype MDR : efflux de la doxorubicine : la concentration intracellulaire est insuffisante pour obtenir l'effet antimétabolite.

Pour contourner, faciliter l'entrée du médicament et faire en sorte que le médicament échappe à la vigilance de la P-gp.

Stratégie : **masquer le médicament par des nanoparticules**. Internalisation du médicament par voie de l'endocytose.

La **doxorubicine n'est libérée que dans le cytoplasme** qu'après dégradation des nanoparticules dans les lysosomes.

Cette libération a lieu à proximité immédiate du noyau, site d'action de l'anticancéreux.

La doxorubicine se retrouve donc finalement **masquée au regard de la P-gp**.

Inverser le phénotype MDR :

Enjeu important en thérapie anti-cancéreuse :

- modification covalente du domaine de fixation de l'ATP
- encombrement stérique du site de fixation du substrat
- inhibiteurs compétitifs ou non compétitifs de l'ATPase
- diminution d'expression de la P-gp (siRNA)
- inhibition du transport + diminution de l'expression de la P-gp

Approches pas assez spécifiques de P-gp ou insuffisantes pour inverser le phénotype MDR.

Autres pompes d'afflux responsables du phénotype MDR :

- **MRP** : multidrug resistance-associated protein = transport de substances endogènes biotransformées (sulfo ou glucuroconjugués), hormones stéroïdes = famille des MRP
- **BCRP** : breast cancer resistance protein. Ubiquitaire, Transport de vitamines dans le lait
Efflux de xénobiotiques du placenta = famille de la BCRP.

Topologie différente des transporteurs ABC :

Au niveau **BHE**, différences d'expression notable : **majorité de BCRP?**

LRP (Lung resistance protein) et phénotype MDR :

Protéine cytoplasmique qui n'est **pas une pompe d'efflux**. (K poumon, ovaire, leucémies)

Elle est constitutive d'une structure macromoléculaire = « **vaults** ». Particule ribonucléoprotéiques essentiellement cytoplasmique. Transport sur microtubules.

Constitué de multiples de copies de **LRP, polymérase, télomérase et ARN non traduit**.

Rôle physiologique non connu.

Rôle de traqueur de médicaments = capture des xénobiotiques et épuration du cytoplasme.

Puis donne aux ABC transporteurs pour les faire sortir de la cellule.

Interactions médicamenteuses par inhibition de la P-gp :

Colchicine : traitement de la goutte

Action anti-inflammatoire par blocage de la polymérisation par des microtubules des polynucléaires.

Toxicité cellulaire par accumulation dans les cellules en cas de blocage de la P-gp des cellules barrières avec par exemple les *macrolides* inhibant la P-gp.

Mesure de la fonction de la P-gp :

Utilisation de **fluorescence sur calcéine** = substrat de la P-gp.

Modèle cellulaire d'étude des substrats de la P-gp :

Lignée cellulaire **MDR1-MDCK** obtenue après transfection des cellules MDCK (Madin Darby canine kidney, cellules épithéliales de rein de chien) avec le gène MDR1 qui code la P-gp.

Lignée utilisée pour déterminer les substrats et les inhibiteurs de la P-gp.

Identifier le transporteur d'efflux principal :

Lignées de cellules **CaCo2** inactivées pour un transporteur d'efflux spécifique.

Permet d'identifier de prévoir le ou les transporteurs d'efflux responsable d'une mauvaise absorption intestinale du médicament.

Le transport et le recyclage des acides biliaires :

Transporteurs des acides biliaires, pathologie et interférences médicamenteuses :

Les sels biliaires sont issus du catabolisme hépatique du cholestérol (structure stéroïdienne) et sont amphiphiles.

Ils permettent au niveau intestinal la fragmentation des gros globules de lipides alimentaires en microgouttelettes. Cette émulsion facilite alors la digestion des lipides par la lipase pancréatique.

On distingue 4 acides biliaires : **cholique, chénodesoxycholique, désoxycholique et lithocholique**.

L'acide colique et chénodesoxycholique sont des acides biliaires **primaires** : les seuls synthétisés par le foie.

L'acide désoxycholique et lithocholique sont **secondaires** dérivent des primaires dans la flore intestinale.

Cycle entéro-hépatique des acides biliaires :

Majorité des acides biliaires sécrétés par le foie sont **réabsorbés et recyclés au niveau de**

l'hépatocyte car leurs synthèses nécessitent beaucoup d'énergie et toxicité vis à vis des membranes cellulaires.

Ce cycle met en jeu plusieurs transporteurs :

- ISBT = pôle luminal entérocyte
- MRP3 = pôle basolatéral entérocyte
- NTCP = pôle sinusoidal hépatocyte
- **BSEP** = pôle biliaire hépatocyte

Cholestase intrahépatique familiale progressive de type 2 :

Maladie rare, génétique récessive par **mutation du gène ABCB11 = BSEP bloqué**.

Provoque arrêt ou diminution de la sécrétion de la bile. **Accumulation des sels biliaires** dans l'hépatocyte et reflux vers la circulation = toxicité cellulaire par solubilisation des lipides membranaires. Période néonatale : signes de cholestases (selles décolorées et urines foncées) + ictères récurrent ou permanent, hépatomégalie et prurit sévère. Insuffisance hépatique et/ou progression vers un K hépatocellulaire dès la première année.

Evolution = fibrose et insuffisance hépatique terminale avant l'âge adulte.

Test in-vitro de l'activité de la BSEP :

Test sur vésicules membranaires inversées : transport ou pas de médicaments par BSEP

Cholestase médicamenteuse :

Blocage de la BSEP par des médicaments entraînant une toxicité hépatique

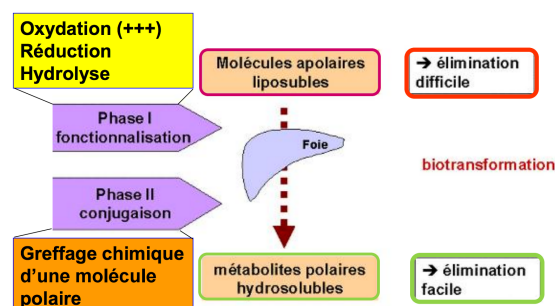
Les biotransformations :

Modifications chimiques souvent multiples subies par les substances endogènes et les xénobiotiques.

- étapes de **biosynthèse ou de catabolisme** de molécules endogènes
- étape de **transformation des xénobiotiques pour les rendre solubles** et favoriser leur élimination rénale ou biliaire.
- **inactivent le médicament** le plus souvent (mécanisme de **détoxification**) ou parfois le rendent **plus actif (recherché) ou toxique (effet adverse)**.

Effectuées principalement par **voie enzymatique** mais voie chimique possible (hydrolyse)

Les sites de biotransformation sont l'intestin et le foie +++ (rein, poumon).



On distingue deux étapes de biotransformation :

- **phase I** = réactions de **fonctionnalisation** : **oxydation +++, réduction et hydrolyse**.
- **phase II** = réactions de **conjugaison** : **greffage chimique d'une molécule polaire**

Permet de passer de **molécules apolaires liposolubles (élimination difficile)** à des **métabolites polaires hydrosolubles (élimination facile)**.

Exemple : phase I

oxydation = biotransformation par déméthylation de la codéine en morphine. Catalysé par les cytochromes P450.

hydrolyse = hydrolyse d'un ester dans la procaine

réduction = réduction de la double liaison N=N de la sulfamidochrysoïdine

La famille des cytochromes P450 :

Universellement présente chez les procaryotes et chez les eucaryotes = animaux+végétaux.

Plus de 2500 cytochromes P450 connus.

Ce sont des **métallo-enzymes** qui fonctionnent avec du fer. L'Homme est doté d'une 60aine de gènes codant les cytochromes. **Grande diversité d'enzymes** adaptées à la variété des substrats à transformer.

Gardien des cellules vis à vis des xénobiotiques pour permettre leur neutralisation.

Les **CYP450** sont dans les **cellules barrières (intestin, foie +++).**

P450 découverts dans les préparations de microsomes (=réticulum endoblastique sous forme de vésicules) hépatiques après centrifugation.

Nomenclature :

CYP3A4 = CYP famille 3 sous-famille A enzyme 4

Cytochromes P450 réalisent des **réactions d'oxydation** dans le **métabolisme lipidique** comme le cholestérol, stéroïdes... et dans le **métabolisme des xénobiotiques** avec la **famille CYP1, 2 et 3**. Les CYP450 assurent 75% du métabolisme des médicaments.

Les barrières digestives sont équipées de CYP450.

Enzymes de phase I et phase II dans le foie. **Effet de premier passage hépatique** = métabolisation des médicaments qui passe par le foie après absorption intestinale.

CYP3A est la CYP450 majoritaire au niveau du **foie** et celle qui métabolise le plus de xénobiotiques. On retrouve au niveau de la BHE en majorité CYP1B1 et CYP2U1.

Médicaments métabolisés par les CYP450 :

De nombreux médicaments sont concernés par les CYP450.

Paracétamol : production d'un **métabolite très hépatotoxique**.

Structure des cytochromes P450 : hémoprotéines.

Contiennent 1 **hème** = groupement prosthétique : **site actif de l'enzyme**.

Apoprotéine = site de fixation du substrat.

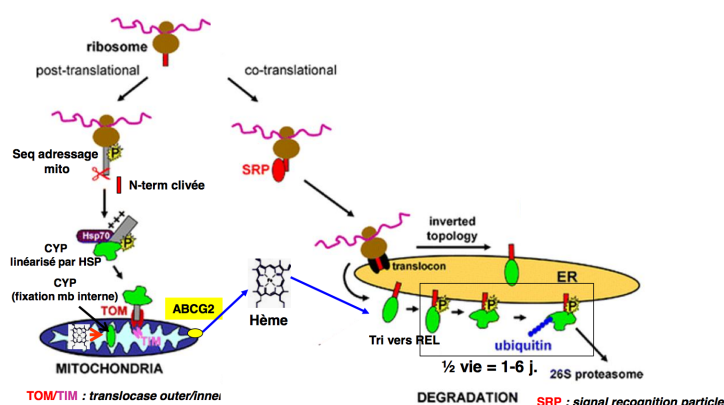
Hème :

Constitué de la **protoporphyrine IX** : noyau tétrapyrrolique centré sur un atome de fer ferrique en liaison avec le soufre d'une cystéine de l'apoprotéine.

Localisation subcellulaire des CYP450 :

CYP450 sont localisés au niveau de la membrane interne mitochondriale et au niveau de la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique lisse.

Adressage, localisation et dégradation des CYP450 :



Séquence adressage mitochondriale reconnue par des **protéines chaperonnes**. Maintient de la protéine linéaire. Entre dans la **mitochondrie** au niveau des systèmes de transports **TOM et TIM**. Conformation définitive du cytochrome est acquise.

SRP (Signal Recognition Particle) se fixe et va permettre translocation de la protéine dans le réticulum. Positionnement du cytochrome à l'extérieur du réticulum avec séquence N-ter transmembranaire.

Dégradation par protéasome.

Hème utilise un transporteur de type ABCG2.

Adressage double : mitochondrie ou REL :

Adressage mitochondrial régulé par **protéase cytoplasmique** ou par la **protéine kinase** = **empêche fixation SRP**.

Topologie des cytochromes P450 :

Entrée du substrat dans le CYP450 = 6 accès possibles d'entrée des substrats selon leur taille et leur nature chimique : **grande versatilité des cytochromes**.

Cycle catalytique des CYP450 (hydroxylation):

1. Fixation du substrat R-H à proximité du site catalytique
2. Transfert d'un électron grâce à CPR
3. Fixation d'une molécule O₂ pour former un complexe dioxygéné ferreux
4. Transfert d'un second électron grâce à CPR = formation d'un complexe hydroxyperoxyferrique
5. Rupture de la liaison oxygène-oxygène avec production d'une molécule d'eau + intermédiaire réactif Fer-Oxo.
6. Transfert de l'atome d'oxygène au substrat R-H
7. Dissociation et libération du produit

Le NADPH CYP450 réductase (CPR) :

Donneur universel d'électrons pour les oxydases

2 groupements prosthétiques : **FMN et FAD**.

Le double donneur d'électron NADPH₂ alimente la CPR au niveau du FAD. Les électrons sont transférés séquentiellement via FMN au CYP450.

2 conformations dont une expose le FMN vers le CYP450.

Sortie du produit oxydé du cytochrome CYP3A4 :

Utilisation de différents « **portillons** » fermés par des phénylalanines (F) selon la molécule transférée.

L'induction enzymatiques des CYP450 :

La découverte de l'induction des CYP450 par le **phénobarbital** chez le rat. Il s'agit d'une **activité augmentée de certains CYP450**.

Conséquence de l'induction enzymatique :

Phénomène de tolérance = nécessité d'augmenter les doses.

Organisme augmente sa capacité à le biotransformer: augmentation de dose = augmentation effet inductif... Puis à un moment donné, on arrive aux doses toxiques = obligation d'arrêter le traitement.

Les 5 classes d'inducteurs : (ne pas apprendre)

Inducteurs	CYPs induits
Molécules aromatiques polycycliques (polluants)	CYP1A1, 1A2, 1B1
Type Phénobarbital	CYP2B, 2C, 3A
Type Rifampicine, Dexaméthasone	CYP3A, 2C, 2B
Ethanol, Isoniazide	CYP2E1
Type Clofibrate	CYP4A

Médicaments/xénobiotiques regroupe en classes selon les CYP450 dont ils induisent l'expression.

Base moléculaire de l'induction enzymatique :

Il s'agit d'un **mécanisme de défense** de la cellule vis-à-vis des xénobiotiques. Permet de conserver les CYP450 et les transporteurs.

Il se déroule en plusieurs étapes :

- **fixation du médicament sur son récepteur** = drug-response element
- **passage dans le noyau du complexe** = transmission d'information
- réaction dans le noyau après **fixation sur l'ADN** = **transcription et synthèse des cytochromes et des transporteurs inductibles**

On a alors une induction enzymatique.

Les récepteurs nucléaires xénobiotiques :

- **PXR** = pregnane X receptor. Il est **nucléaire**. Retrouvé dans les cellules barrières : foie, intestin grêle, colon et glande mammaire. Active la synthèse +++ du CYP3A4. Ligands naturels (« endobiotiques ») : stéroïdes, acides biliaires. Activé par de **nombreux médicaments** ligands : phénobarbital, rifampicine et molécule exogène comme l'hyperforine (origine végétale).
- **Car** = constitutive androstane receptor. Il est **cytoplasmique**. Retrouvé principalement dans le foie. Active la synthèse de CYP2B6, 2C9, 2C19. Activé par les phénobarbital...
- **Ahr** = Aryl hydrocarbon receptor. Il est cytoplasmique. Retrouvé dans les glandes mammaires, le foie, le SNC, cardiovasc et l'utérus. Active la synthèse des CYP1A1 et 1B1. Activé par des polluants comme dioxine ou fumées de cigarettes.

Structure des récepteurs nucléaires :

- Domaine de **fixation du ligand**
- Domaine de **fixation de l'ADN**

Au milieu, région charnière avec signal NLS

Modèle de la poche de fixation des ligands de CAR et PXR :

Possibilité d'accueil large = capable de fixer des molécules de structure différentes

Domaine de fixation à l'ADN (DBD) :

Motifs en « **doigts de zinc** » (x2). Structuration de la protéine par le Zn qui établit des liaisons de coordination avec des cystéines.

Activation des récepteurs CAR et PXR :

CAR dans le cytoplasme. Il est coiffé par une **protéine chaperonne** qui masque son signal de localisation nucléaire au repos. Lorsque **médicament se fixe sur CAR**, **protéine change de forme et rentre dans le noyau**. **PXR** est nucléaire.

Des CYP ciblés selon différents paramètres :

Conformation du récepteur différente selon le ligand.

Dicte l'association en homo ou hétérodimère.

Conditionne la reconnaissance de la séquence cible différente selon les gènes CYP.

Interaction médicamenteuse :

Médicament A se fixe sur PXR qui va induire CYP. Ce dernier va neutraliser le médicament A.

Problème : ne touche pas que le médicament A. **Peut aussi toucher d'autres médicaments.**

Les inducteurs dont on ne se méfie pas assez :

Le **millepertuis** = hypericine et hyperforine inducteurs du CYP3A5 via PXR : **abaissement des concentrations plasmatiques des médicaments** comme contraceptifs oraux, inhibiteurs de protéases (anti-VIH) et cyclosporine (rejet greffe).

Inhibiteurs des CYP450 dans l'alimentation :

Naringine (flavonoïde) dans le jus de pamplemousse est inhibiteur des CYP450.

Mécanisme de l'inhibition des CYP450 :

- Inhibition **compétitive réversible** : **fixation réversible sur le site actif de l'enzyme** comme le jus de pamplemousse (3A4)
- Inhibition **irréversible substrat transformé en métabolite qui inhibe le CYP** : inhibiteur suicide + ++.

Il est donc important de connaître les molécules subissant une biotransformation hépatique et possédant un index thérapeutique étroit afin d'établir des prescription sûres.

Réactions de phase II :

Liaison covalente par voie enzymatique d'une petite molécule polaire endogène sur le groupe réactif créé aboutissant à un **composé soluble = réaction de conjugaison**. Peut aussi se réaliser directement sur la molécule native.

Ajout de :

- **acide glucuronique = glucuronoconjugaison.**
- **sulfotransférase**
- **acétylase**
- **glutathion**

La glucoronoconjugaison :

Forme de conjugaison la plus courante et la plus importante. Substrats endogènes (bilirubine) ou xénobiotiques pour élimination biliaire et urinaire

Enzyme = **UGT** et le coenzyme **UDPGA**.

Substrats = alcool aliphatiques ou aromatiques, acides carboxyliques, composés soufrés, amines

Les UGT :

Les UGT (18 isoformes) se divisent en deux familles :

- **UGT 1** = les isoenzymes de cette famille proviennent du même gène
- **UGT 2** = chaque protéine a un gène différent

Les UGT sont aussi des **enzymes inductibles**.

Exemple : glucuronidation de la morphine

Morphine se lie sur des récepteurs opiacés μ dans le cerveau. **M6G** métabolite majoritaire qui est actif. On retrouve ces métabolites dans les urines. M6G peut renforcer effet antalgique (passe la BHE).

Catabolisme de l'hémoglobine :

Hémoglobine détruite et hème métabolisé en biliverdine puis **bilirubine** : ce dernier est très toxique.

Glucuronide de bilirubine dans le foie passe par la bile grâce à MRT : déverser dans la vésicule biliaire puis intestin et élimination dans les selles.

La maladie de Crigler-Najjar :

Maladie rare autosomique récessive. Due à une **mutation du gène UGT1A** = code toutes les isoformes d'UGT : **pas de glucoronoconjugaison de la bilirubine dans le foie**.

Provoque accumulation de bilirubine non conjuguée dans la circulation. Action neurologique sur les neurones et provoqué à la naissance un ictère nucléaire. Lésion irréversible sur les noyaux gris.

Nécessité de faire une exsanguino-transfusion = purification du sang.

- type I (activité enzymatique nulle) : greffe hépatique
- type II (activité enzymatique faible) : traitement par des phénobarbital long cours pour l'induction enzymatique recherchée

Topologie des UGT :

Enzymes du **reticulum endoplasmique** : site actif dans la lumière = domaine de liaison du substrat + domaine de liaison du coenzyme UDPGA.

Les sulfotransférases :

Transfert d'un groupement sulfonate à partir d'un **donneur = le PAPS**, sur une fonction hydroxyde.

PAPS synthase : ATP + sulfate pour former APS par l'**activité ATP sulfurylase** puis phosphorylation d'APS en PAPS par l'**activité PAPS kinase**.

Dans le Golgi :

Substrats : glycoprotéines (Tyr,Ser,Thr), protéoglycannes, glycosaminoglycannes (sucres) = modification post-traductionnelles.

Activation des fonctions biologiques et hydratation des macromolécules de la MEC.

Dans le cytoplasme :

Grande diversité des sulfotransférases, expression ubiquitaire.

Substrats = nombreux composés endogènes (petites molécules)

Une catégorie particulières d'enzymes = les **phénolsulfotransférases**. Substrat = neurotransmetteurs monoaminergique (dopamine et NA), xénobiotiques, médicaments

Solubilité augmentée pour une **élimination rénale favorisée** de la molécule sulfatée.

Bioactivation possible de carcinogènes.

Les N-acétyltransférases (NAT) :

Foie, intestin, leucocytes

Enzymes cytoplasmiques qui **transfèrent acétylCoA**. Substrats = amine aromatique, amine hétérocyclique ou hydrazine.

Mécanisme de type Bi-Bi Ping-Pong. Pas de complexe ternaire.

Biotransformation des amines aromatiques de l'alimentation et de l'environnement :

Cuisson génère molécules qu'il faut éliminer.

Haute température = condensation de phénylalanine et créatine pour former **PhIP**.

Phase I = métabolite hydroxylé

Phase II = **sulfonation et acétylation pour former sulfoxyloxy-PhIP et acetoxy-PhIP = carcinogène** (inducteur cancer).

ABP, AF : composants fumée de cigarette

PhIP, IQ, MeIQx : produits de cuisson à haute température ou de fumage

O-acétylation après hydroxylation par les CYP450 = composés électrophiles formant des **adduits** d'ADN.

Les adduits au niveau de l'ADN :

Les molécules réactives électrophiles (déficientes en électron) se lient avec des sites nucléophiles (=riches en électrons) de l'ADN pour former des **liaisons covalentes ou adduits avec les bases azotées**.

Provoque **erreur de réplication = introduction de mutation** et **cassures = instabilité génomique** : grand potentiel **oncogénique**.

Touche notamment cancers colo-rectaux, prostate et vessie.

Focus sur le paracétamol :

Antalgique et antipyrétique (pallier 1)

Indications larges, utilisation courante (1g/prise - 3g/jour)

Multiplicité des spécialités et des formes associées

Facilité d'accès

Apparente « innocuité » pour le grand public.

Ingestion massive : hépatite mortelle si pas de greffe

France : 2000/an intoxications médicamenteuses volontaires = **1ère place des médicaments suicidogènes**.

Métabolisme du paracétamol :

Peut être pris directement par phase II par UGT = glucoronide ou PST = sulfate : élimination dans les urines.

Phase I : **CYP2E1 le transforme en NAPQI = métabolique hépatotoxique** en cas de surdosage.

Il peut en effet effectuer des liaisons covalentes aux protéines et lipides = nécrose hépatique centrolobulaire. **Alcool = inducteur de CYP2E1**

Principe de l'antidote du paracétamol :

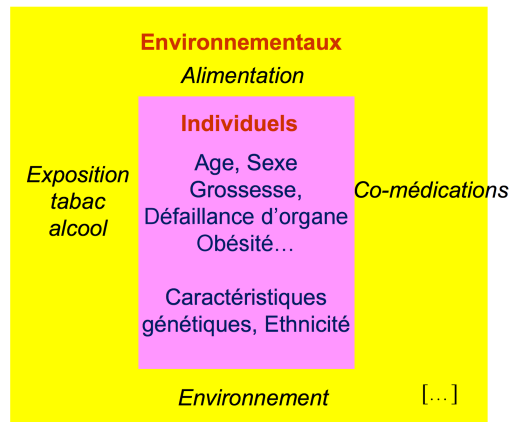
N-acétylcystéine = le but est de **forcer la formation de glutathion**. **Conjugaison de la NAPQI avec le glutathion facilite l'élimination**.

Dualité de la biotransformation hépatique :

Affecte médicaments pour donner métabolites atoxiques inactifs éliminables; métabolites toxiques, réactifs.

Génétique et médicament :

Réponses individuelles variables aux médicaments. Inefficacité : en moyenne 50% ou effets indésirables : 20 % consultations dans les urgences, 4ème cause de mortalité.



De nombreux facteurs affectent la réponse au médicament :

- **Individuels** = âge : personnes âgées ont besoin de moins de morphine que sujet jeune, sexe, grossesse, défaillance d'organe : insuffisance rénale ou hépatique, obésité : tissu adipeux réservoir de médicaments puis relargage progressif, caractéristiques génétiques, ethnicité.
- **Environnementaux** = alimentation, exposition tabac/alcool : induction enzymatique, environnement : polluants, co-médications : interaction médicamenteuse.

La reconnaissance qu'une partie de cette variabilité de réponse est d'origine génétique a créé le champ de la **pharmacogénétique** = étude du **rôle de l'hérédité dans la réponse individuelle aux médicaments**. Il s'agit d'une **vision monogénique**.

Pharmacogénomique = extension de l'étude à l'**ensemble du génome** pour prendre en compte les variations des gènes du transport, du métabolisme et des cibles du médicament.

Le but est d'identifier par des marqueurs génétiques :

- les **sujets non-répondeurs à un médicament**
- les **sujets à risque de survenue d'un événement indésirable** pour un médicament donné

Afin de prévoir la posologie la plus adaptée à chaque individu pour un médicament donné = **médecine personnalisée**.

Le but de la pharmacogénétique est aussi de déterminer le type de métaboliseurs avec 2 extrêmes :

- métaboliseur **ultra-rapide = risque d'inefficacité thérapeutique**
- métaboliseur **lent = risque d'accumulation toxique**

Une observation pionnière = la sensibilité différente au phénylthiocarbamide

Première étude montrant l'origine génétique de la variabilité inter-individuelle de l'effet d'un composé chimique.

Dans les familles où aucun des parents ressentait l'amertume produite, tous les enfants étaient aussi insensibles. Cette réponse évoque l'effet d'un gène récessif.

Exemple :

L'**isoniazide** est une prodrogue qui, pour être efficace, nécessite d'être activée par la catalase peroxydase (enzyme) de *Mycobacterium tuberculosis*.

Variation inter-individuelle du métabolisme de l'isoniazide :

Concentrations sanguines varient en fonction de la personne pour la même dose. On distingue ainsi : les **métaboliseurs rapides, intermédiaires et lents**.

Transmission du trait « métabolisme lent de l'INH » :

Allèle dominant = métaboliseur rapide

Allèle récessif = métaboliseur lent

Ce procédé passe par une enzyme qui pourrait jouer dans l'**acétylation**.

Relation acétylation isoniazide/activité enzymatique :

Différences métabolisme isoniazide sont liées aux **différentes activités de l'acétyltransférase**.

Prélèvement extrait hépatique, mesure activité acétylase, Western Blot.

Métaboliseur rapide = pic d'activité enzymatique + bande WB épaisse.

Mécanisme moléculaire du phénotype acétyleur lent :

Etude du **polymorphisme du gène NAT-2**.

Haplotype hétérozygote M1 : peu de différence, M2 = plus grande différence

Homozygote : grande réduction activité NAT-2 et quasiment pas de protéines visibles.

90% des acétyleurs lents porteur à l'état homozygote M1 ou M2. Ces polymorphismes sont responsables d'une **instabilité de l'enzyme et/ou d'une diminution d'expression**. Entraîne **ralentissement de la biotransformation de l'INH**.

Détermination du phénotype acétyleur lent/rapide :

Test à la caféine et dosage des métabolites urinaires

Répartition acétyleurs lents différents en fonction de l'**ethnicité**.

Inactivateurs rapides de l'INH peuvent répondre moins bien au traitement. Métaboliseurs lents sont plus exposés aux effets secondaires/toxiques de l'INH.

Conséquences du phénotype d'acétylation :

Peu de conséquences sur l'efficacité des traitements mais **métaboliseurs lents plutôt concernés = accumulation du médicament provoquant effets indésirables** (neurotoxicité, N et V, hypersensibilité...)

Régime alimentaire et fréquence des acétyleurs rapides (NAT2) :

Fréquences acétyleurs rapides différentes entre éleveurs/agriculteurs/chasseurs et cueilleurs (plus élevés chasseurs).

Sorte de sélection naturelle : **les plus résistants sont les acétyleurs rapides**.

NAT2 et activation des carcinogènes de l'environnement :

Homme acétyleur lent = risques accrus de K de la vessie

Chez le rat, formation d'adduits plus importante dans la prostate et la vessie chez les acétyleurs lents exposés au DMABP car l'exposition des cellules épithéliales au métabolite acétylé cancérigène y est prolongée.

Acétyleur lent augmente le temps d'exposition des tissus aux carcinogènes d'où plus de K.

Comment prédire l'action d'un médicament sur des bases génétiques ?

Les concepts de pharmacogénétique et pharmacogénomique :

Pharmacogénétique = 1 seul gène ou nombre limité de gènes sur effet d'un médicaments : quelques variations génétiques d'effet important. Application clinique.

Pharmacogénomique = cascade biologique complexe ou le génome global. Variations génétiques multiples d'effet limité isolées. Recherche.

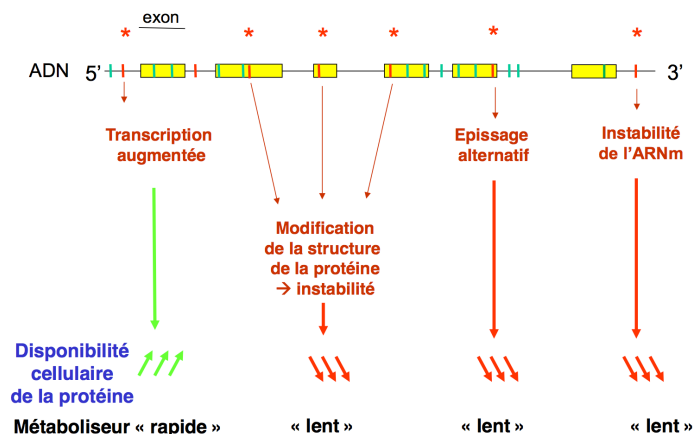
La pharmacogénétique étudie les gènes codant :

- Les **transporteurs** contrôlant l'absorption, la diffusion et l'élimination rénale et biliaire des médicaments.
- Les **enzymes du métabolisme** des médicaments.
= relèvent de la **pharmacocinétique** du M (devenir dans l'organisme)
- Les **cibles de médicaments** (récepteurs)
= relèvent de la **pharmacodynamie** du M (action)

Séquençage du génome humain :

Mise en évidence de dizaines de millions de polymorphismes.

Incidence éventuelle des SNPs (ex gène CYP) :



- **Transcription augmentée** : augmentation disponibilité cellulaire de la protéine : **métaboliseur rapide**
- **Modification de la structure de la protéine** = instabilité : baisse de la disponibilité : **métaboliseur lent**
- **Epissage alternatif** : baisse disponibilité : **métaboliseur lent**
- **Instabilité de l'ARNm** : baisse disponibilité : **métaboliseur lent**

En plus des SNPs, il existe des duplications ou des délétions.

Génotypage :

Identification du génotype pour un polymorphisme précis :

Exemple de « puce à ADN » ciblée = identification des allèles, modificateurs de l'activité des CYP principaux dans le métabolisme des médicaments.

Avantage : facile et caractéristiques permanentes

Inconvénients : coût, caractéristiques théoriques = on peut avoir génotype métaboliseur lent mais phénotype métaboliseur rapide en présence d'un inducteur.

Phénotypage :

Réponse du patient en lui administrant une substance test.

On étudie le métabolisme d'une molécule ou plusieurs molécules test pour en déduire le profil « lent », « intermédiaire » ou « rapide ».

Molécule idéale = spécifique, atoxique et facilement dosable. Mise au point de cocktails phénotypiques permettant l'évaluation simultanée de plusieurs CYP.

Cocktail phénotypique permet de mesurer l'activité réelle en intégrant l'état physiologique/pathologique du patient. Mais mise en œuvre complexe.

Applications :

Douleur :

rôle de **CYP2D6**

Dû copie du gène :

- si beaucoup de copies = ultra rapide
- si une copie = rapide
- si pas de copies = lent

Danger de la codéine chez les CYP2D6 « rapides » :

Biotransformé à 10% en morphine par le CYP2D6. Chez les **métaboliseurs rapides**, les **concentrations plasmatiques de morphine vont être très importante et acquises très rapidement**. Responsable d'effets toxiques = dépression respiratoire due à la morphine.

Touche principalement :

- nouveau-nés allaités par mère CYP2D6 métaboliseur rapide = décès.
- enfants métaboliseurs rapides
- patients insuffisant rénaux ou sous médicaments inhibiteur de CYP3A4 : métabolites non éliminés

Ces problèmes de métabolisme rapide ont entraîné l'arrêt de l'utilisation pour les enfants de moins de 12 ans. Utilisation en priorité paracétamol ou AINS.

Polymorphisme du récepteur μ des opioïdes :

Variation entraîne suppression d'un site de N-glycosylation. Les individus homozygotes ont une expression moindre du récepteur donc effet antalgique minoré.

Le SNP A118G du gène OPRM1 influence la dose efficace de morphine.

Selon les 3 types de génotype au codon 118, quantité de morphine différente.

En pratique, pas d'application en clinique : morphine donnée en fonction du besoin.

Cardiovasculaire :

Clopidogrel = anti-agrégant plaquettaire. Traite le syndrome coronarien aigu = artère coronaire bouché par plaque d'athérome.

D'abord, prévention de la thrombose par vasodilatation avec la pose de stent. Ce dispositif entraîne risque accru formation thrombose par agrégation plaquettaire.

On donne ainsi anti-agrégant plaquettaire : clopidogrel se fixe sur récepteurs ATP sur plaquette pour éviter sa aggrégation.

Variabilité de la réponse au clopidogrel :

Agrégation $\pm$ forte.

Malgré traitement, certains patients ont toujours une forte agrégation = hypo-répondeur.

Métabolisme du clopidogrel :

L'activité du CYP2C19 conditionne la formation du métabolite actif antiagrégant plaquettaire.

Activité CYP2C19 réduite = activité thérapeutique réduite.

Patient porteur d'une **anomalie au niveau d'un site épissage = création d'un site d'épissage : pas de CYP2C19.**