

UE11 –Parcours Pharmacologie Physiologie- Cours n°2 13/02/2019 Laurent Chouchana Laurent.chouchana@aphp.fr	RT: Ahmad Rebaï Emile Sultra RL: Yanis Rahou
--	--

Pharmacogénétique des transporteurs

I. Transporteurs phase III : Généralités

- A. Introduction
- B. Présentation générale des TM
- C. Caractéristiques générales des TM
- D. Expression et régulation des TM
- E. Classification des TM

II. Les super-familles de transporteurs

- A. **La super-famille ABC : transporteur d'efflux**
 - i. ABCB1/P-gp
 - ii. ABCG2/BCRP
- B. **La super-famille SLC : transporteur d'influx**

Abréviations :

TM= transporteurs membranaires

BD = Biodisponibilité

BHE = barrière hémato-encéphalique

I. Transporteurs phase III : Généralités

A. Introduction

Après avoir étudié les enzymes du métabolisme des phases I et II, on s'intéresse à la manière dont les xénobiotiques sont transportés. En effet, toute barrière entre le sang et les organes met en jeu des transporteurs regroupés dans la phase III permettant l'expulsion du médicament en dehors de l'organisme. Ces transporteurs doivent être exprimés notamment au niveau des organes qui sont en contact direct avec les xénobiotiques : rein, cerveau, foie, intestin pour les plus importants.

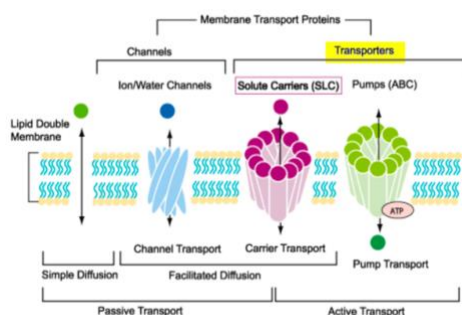
La problématique du passage membranaire est due à la structure de la membrane plasmique. Cette membrane étant organisée en bicouche phospholipidique, elle est donc une barrière physique au passage des composés hydrophiles, mais permet toutefois le passage des composés lipophiles, et ce par dissolution dans la membrane, suivant le gradient de concentration. La membrane plasmique est donc une interface entre deux milieux nécessitant la mise en jeu de transporteurs membranaires.

B. Présentation générale des TM

Les transporteurs sont essentiels au passage des membranes pour les ions, petites molécules, et macromolécules (peu lipophiles ex : protéines)

Au niveau du génome humain, le ¼ des gènes (27%) codent pour des protéines membranaires, et 15% rien que pour les transporteurs SLC (voir II)

Définition : Un transporteur membranaire est une protéine membranaire intégrale assurant le passage de xénobiotiques à travers une membrane cellulaire (plasmique ou intracellulaire).



C. Caractéristiques générales des TM

Les transporteurs ont des caractéristiques les différenciant des canaux ioniques : **un seul côté est ouvert** (extérieur ou intérieur), existence d'une **interaction physique** directe entre xénobiotique et transporteur (type liaisons H), présence d'un **Drug binding site** (site de liaison du xénobiotique) caractérisant le transporteur, et enfin nécessité d'apport d'**énergie** (directement par hydrolyse de l'ATP ou de manière II-aire).

Les transporteurs ont une structure en 3 parties : un domaine extracellulaire, transmembranaire et intracellulaire.

L'apport d'énergie permet un changement de conformation qui fait basculer le xénobiotique de l'autre côté de la membrane. Le site de liaison de l'ATP est intracellulaire.

Un transporteur prend généralement en charge plusieurs substrats : endogènes (métabolites) ou exogène (xénobiotiques). C'est la **faible spécificité** vis-à-vis du substrat.

D'autre part un substrat est souvent pris en charge par plusieurs transporteurs. C'est la **redondance** des TM.

Par ailleurs les TM obéissent à une cinétique michaelienne, et leurs paramètres de transport peuvent donc être définis en conséquence (V_{max} , K_m).

D. Expression et régulation des TM

L'activité des transporteurs est modulée par un grand nombre de composés inhibiteurs (compétitifs ou non en fonction de la liaison de l'inhibiteur au Drug binding site ou pas), voire par stimulation de l'activité des TM. On note une **spécificité médiocre** des inhibiteurs traduisant le fait qu'un inhibiteur peut inhiber plusieurs transporteurs.

Les conséquences de l'inhibition sont les mêmes que pour les enzymes vues au précédent cours : Interaction médicamenteuse, médicament/aliments et toxicité.

L'expression des TM est tissu-spécifique. Ils sont exprimés au niveau de tous les tissus, notamment ceux impliqués dans la pharmacocinétique des médicaments (foie, rein, BHE).

Certaines cellules présentent une expression large des TM, comme les cellules souches (exprimant en grande quantité les pompes ABC) ou les cellules cancéreuses (résistance MDR=P-gP).

L'expression des TM est différentielle dans les cellules polarisées. Leur expression dépend du sens de leur transport : s'ils permettent l'entrée dans la cellule (influx) ou d'en sortir (efflux).

La régulation transcriptionnelle et traductionnelle de l'expression des transporteurs se fait soit par les xénobiotiques (agonistes comme PXR ou CAR) ou de manière physiopathologique (inflammation, hormones, facteurs de croissance, grossesse et maladie).

Il existe également une régulation post-traductionnelle qui se fait par l'ajout de groupements : glycosylation, phosphorylation. (Soit en extracellulaire soit en intracellulaire)

En termes de polymorphismes génétiques et de régulation, les TM sont exactement comme les enzymes du métabolisme. On va donc avoir des **modifications d'activité** des transporteurs (induction/inhibition).

E. Classification des TM

Il existe 2 familles majeurs de transporteurs : les SLC (Solute Carrier) et les ABC (ATP-Binding Cassette).

Les transporteurs SLC prennent en charge les molécules par transport passif facilité, ou par transport actif II-aire (symport ou antiport). Ces transporteurs ne consomment donc pas directement de l'ATP.

Les transports ABC en revanche sont type transport actif I-aire. L'énergie est directement apportée par l'ATP.

Les transporteurs ont toujours un sens important. **Les SLC** sont des transporteurs d'**influx** : ils font entrer les molécules dans la cellule, tandis que **les ABC** sont des transporteurs d'**efflux** : ils font sortir la molécule de la cellule.

En pharmacocinétique il y a environ une quarantaine de transporteurs d'intérêt.

II. Les super familles de transporteurs

A. Super famille ABC : transporteurs d'efflux

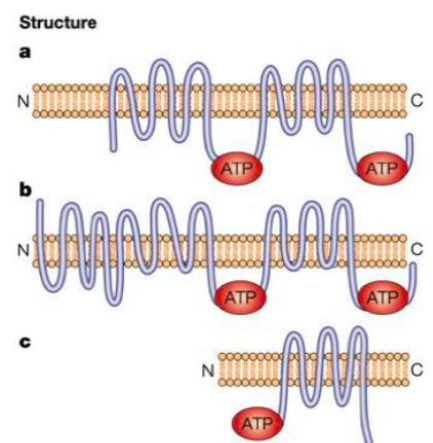
Les transporteurs de la famille ABC sont des transporteurs **d'efflux** qui se divisent en 3 familles caractérisées en fonction de leur structure moléculaire.

Ces trois familles sont les :

- **ABC_C** composés de **3** domaines transmembranaires
- **ABC_B** composés de **2** domaines transmembranaires
- **ABC_G** composés d'**un seul** domaine transmembranaire

Les transporteurs ABC sont de plus composés d'un ou deux sites intracellulaires de liaison à l'**ATP**.

Il existe 3 transporteurs ABC principaux de médicaments : **ABCB1**, **MRP2** (ABCC2) et **BCRP** (ABCG2)



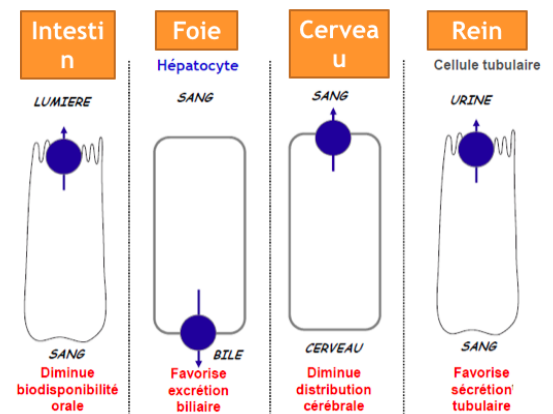
i. ABCB1 :

Encore appelé **MDR1** (Multi Drug Resistant car découvert chez des cellules cancéreuses) ou **P-gp** pour P-glycoprotéine, ABCB1 est une protéine d'efflux composé de 2 domaines transmembranaires, d'un site de liaison à l'ATP et d'une zone extracellulaire qui peut être glycosylée et ainsi modifier l'affinité des substrats sur le transporteur. La fixation du substrat sur le site intracellulaire entraîne la fixation de l'ATP et ainsi l'ouverture du pore qui permet à la molécule de sortir de la cellule.

Ces transporteurs peuvent être surexprimés lors d'un cancer entraînant ainsi une résistance au traitement anti-cancéreux par élimination du principe actif hors de la cellule.

On retrouve le P-gp sur l'ensemble des barrières :

- Au niveau des entérocytes de l'intestin le TM est situé au pôle apical de la cellule et va renvoyer les molécules vers la lumière intestinale diminuant donc la BD orale du médicament
- Au niveau du foie le TM il est situé au pôle basal et va éliminer la molécule de l'hépatocyte favorisant ainsi l'élimination biliaire
- Au niveau du rein il est situé au pôle apical et favorise la sécrétion tubulaire en éliminant la molécule dans l'urine



Le P-gp a un effet **protecteur sur l'organisme** par une diminution de la concentration plasmatique en médicament due à son élimination vers le milieu extracellulaire sauf au niveau du cerveau où la molécule est renvoyée dans la circulation sanguine afin de diminuer la distribution du médicament dans le cerveau et de le protéger.

L'inactivation du P-gp induira donc une **augmentation de la BD orale** du médicament administré et une diminution de la clairance biliaire et ainsi une augmentation de son effet.

Le gène codant pour le P-gp peut présenter des polymorphismes génétiques dont la SNP C3435T (fréquence allélique de 45%) induisant une diminution de l'expression du TM et donc une augmentation de la BD orale du médicament. Les homozygotes sains auront donc une élimination plus importante des médicaments utilisant ce transporteur que les hétérozygotes ou homozygotes mutés.

ii. ABCG2/BCRP :

Comme ABCB1/P-gp, ABCG2 est une protéine d'efflux présente au niveau de l'intestin, du foie, du rein et du cerveau. Elle possède un rôle synergique avec le P-gp au niveau de la BHE pour la protection du cerveau. Les transporteurs étant redondants entre eux et complémentaires quand l'un ne marche pas bien le médicament passe par une autre voie.

B. Super famille SLC : transporteurs d'influx

Les TM SLC (Solute Carriers) sont des transporteurs **d'influx** extrêmement nombreux dans l'organisme qui permettent la diffusion passive facilitée ou le transport actif secondaire de l'ensemble des molécules **hydrophiles** de l'organisme (ions, glucose, AA, neurotransmetteur) ainsi que de certains médicaments. Il en existe 3 principaux impliqués dans le transport des xénobiotiques : les OAT, OATP et les OTC.

Au niveau de **l'hépatocyte** les transporteurs comme l'OATP1B1 et l'OATP1B3 permettent l'entrée des médicaments dans la cellule. Cependant lors de l'inhibition de ces transporteurs, par la **ciclosporine** (inhibiteur de OATP1B1 et du P-gp) un médicament utilisant OATP1B1 et le P-gp (ex : Cerivastatin) ne pourra plus rentrer ou quasiment plus dans la cellule, du fait de l'inhibition d'OATP1B1, et s'il y rentre : ne pourra plus en sortir, du fait de l'inhibition du P-gp. Les patients traités par cerivastatin et ciclosporine (contre-indiqué) peuvent présenter des surdosages en cerivastatin et ainsi des effets indésirables dus aux statines comme la rhabdomyolyse.

De plus, les patients présentant des dysfonctionnements d'un de ces transporteurs auront donc une concentration plasmatique de médicament plus élevée pour la même dose, la molécule ne pouvant pas entrer dans l'hépatocyte, elle sera moins éliminée.

Au niveau **rénal** le transporteur OAT1 est par exemple responsable du transport du tamiflu et de sa sécrétion au niveau tubulaire. En présence de probénécide (PBN), inhibiteur d'OAT1, il y aura interaction entre le transporteur et le PBN empêchant le tamiflu d'entrer dans la cellule, induisant ainsi une augmentation de l'AUC de tamiflu.

Conclusion : Les transporteurs membranaires présentent deux grandes familles : ABC (efflux) et SLC (influx) qui ont un mécanisme très semblable aux enzymes du métabolisme. Pouvant également présenter des polymorphismes génétiques influant sur l'absorption des médicaments, des médicaments et une posologie adaptée peut être mise en place selon le génotype et les caractéristiques clinico-biologiques de chaque patient pour une thérapeutique personnalisée.

Fiche récapitulative : Pharmacogénétique des transporteurs

-Les transporteurs sont exprimés au niveau des organes et sont en contact avec les xénobiotiques.

-Le **passage membranaire** met en jeu la membrane plasmique qui est une **bicouche lipidique**, cette membrane laisse passer les composés lipophiles et bloque les composés hydrophiles qui ont besoin de transporteurs pour sortir.

-On a donc une utilisation de transporteurs membranaires qui peuvent être **d'influx** (entrée) ou **d'efflux** (sortie).

-Au niveau génomique ces transporteurs sont très présents, en effet **¼ des gènes** codent pour des **protéines membranaires** et **15% uniquement** pour les **transporteurs SLC**

-**DEFINITION D'UN TRANSPORTEUR MEMBRANAIRE** : Protéine assurant le passage de xénobiotiques à travers une membrane cellulaire

-**Caractéristiques des TM** : **1 seul** côté ouvert, interaction physique **directe** entre transporteur xénobiotique et transporteur, présence d'un **site de liaison** au transporteur (Drug binding site), besoin énergétique (ATP).

-Les transporteur comportent **3 domaines** (transmembranaire, extra et intracellulaire).

-La **régulation et l'expression des TM** :

- Modulation par inhibiteurs
- Spécificité basse des inhibiteurs
- Expression des transporteurs est tissu spécifique et dépend de la polarité de la cellule
- Régulation transcriptionnelle et traductionnelle
- Régulation post-traductionnelles par ajout de groupement glycosylé ou phosphorylé
- Polymorphisme génétique qui permet des modifications d'activité des transporteurs

-**Classification des TM** : **2 familles** les **ABC** et les **SLC**

.ABC : • Transporteurs d'efflux

- Divisé en 3 familles (ABCC, ABCB, ABCG)
- Comporte des sites de liaison à l'ATP
- 3 principaux transporteurs : ABCB1, ABCC2 et ABCG2

- ABCB1 ou p-gp : protéine d'efflux, surexprimés dans des cas de cancer avec un résistance au traitement, effet protecteur sur l'organisme et permet une augmentation de la biodisponibilité orale du médicament.

-ABCG2 ou BCRP : protéine d'efflux, rôle synergique avec le p-gp dans la protection du cerveau.

- SLC : •Transport passif facilité ou actif secondaire

- Transporteurs d'influx

- Grande diversité

- 3 principaux transporteurs : OAT, OATP et OTC

- Transporteurs OATP1B1 et OATP1B3 au niveau de l'hépatocyte permettent entrée du médicament