



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Saida Dr MOULAY TAHAR
Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de **Biologie**

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Par :

- BENNACER Abdelkrim
- KHORSI Taher

Thème

**Étude pharmacogénétique de l'impact du polymorphisme ABCB1
3435 C>T du gène *ABCB1* sur la pharmacocinétique de
Cyclosporine A dans le traitement des greffes rénaux de la
population de l'Ouest Algérien.**

Devant le jury composé de :

	Grade	Université
Président : Ammam Abdelkader	Maitre des conférences classe A	Université SAIDA
Examineur : Boukaben Fouzia Kheira	Maitre des conférences classe B	Université SAIDA
Encadreur (rapporteur) : Berber Naima	Maitre des conférences classe B	Université SAIDA
Co-encadreur : Boughrara wafaa	Maitre des conférences classe B	ESSBO

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciement

Nous tenons d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Avant de commencer la présentation de ce travail, nous profitons de l'occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'études.

Nous adressons nos vifs remerciements au **Dr.Ammame Abdelkader** ; Maître de conférences classe A à l'université de SAIDA Dr.MOULAY TAHAR ; qui a eu la bonté d'accepter d'être présidente de ce jury. Assurée de l'intérêt que vous portez à ce travail, je reste convaincue que votre présence m'assurera de la valorisation et de la teneur de notre projet. Veuillez accepter mon éternel respect et ma sincère gratitude.

Nos remerciements **Boukaben Fouzia Kheira** ; Maître de conférences classe B à l'université de SAIDA Dr.MOULAY TAHAR; pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail et de l'enrichir de ses éminentes compétences scientifiques dont son enseignement et sa passion resteront des exemples pour nous. Veuillez accepter ce travail, en gage de notre grand respect et notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements les plus respectueux vont au **Dr.Abderkane Meriem** chef de service de cytogénétique biologie moléculaire et à l'hôpital EHU d'Oran ; de nous avoir accueilli dans son laboratoire pour réaliser les techniques de biologie moléculaire dont on a été privé durant tout notre cursus universitaire et qui nous a permis de se sentir comme de vrais généticiens en nous donnant sa confiance à manipuler les outils de biologie moléculaire et de la génétique.

Nous remercions tous particulièrement notre encadreur **Berber Naima** Maître de conférences classe B. Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation. Nous lui sommes reconnaissants pour sa patience, ses encouragements, sa sympathie et sa disponibilité à tout moment. Ses conseils, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques ont été très précieux pour mener à bien ce travail, Enfin, nous avons été extrêmement sensible à ses qualités humaines, à sa

rigueur, à son professionnalisme et à son ouverture d'esprit. On est infiniment heureux et honorée d'avoir fait notre thèse sous sa direction. Aucune expression de gratitude ne sera suffisante pour vous exprimer notre respect et notre reconnaissance.

Nos remerciements s'étend également à notre Co-encadreur **Dr.Bouhrata Wafa** maître de conférences classe B..vos remarques ainsi que vos conseils avisés nous ont permis d'améliorer la qualité de ce mémoire, nous garderons dans nos cœurs, votre compréhension.

Une grande reconnaissance et remerciement sont destinés à Dr.**Ammour Amina** pour le temps consacré et les informations et connaissances qu'elle nous a transmis tout cela à mener à une bonne manipulation et par conséquent de bons résultats

Nos remerciements vont également aux patients qui ont accepté de participer à cette étude.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseignés et qui par leurs compétences nous ont soutenus dans la poursuite de nos études

N'oublions pas de remercier nos très chers parents, frères et sœurs, nos collègues et amis pour leur contribution, leur soutien, leurs encouragements et leur patience

Dédicace

Mes plus profonds remerciements vont à mes parents. Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenu, encouragé et aidé. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir, qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts pour leur amour inestimable, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

A mes frères et sœurs qui m'ont toujours poussé et encouragé et pour leur soutien et aide présente chaque fois où j'en ai besoin, tout cela m'a poussé vers le haut et m'a permis de ne jamais dévier de mon objectif final

A mes neveux pour leur amour qu'ils leur portent pour moi et qui me donne le sourire quand je suis fatiguée.

A mes très chers amis qui m'ont encouragé tout au long de la thèse.

A toute ma famille qui m'ont toujours soutenu et encouragés.

Je remercie mon binôme pour m'avoir fait partager sa joie de vivre et surtout sa folie et m'avoir ainsi soutenu dans mes efforts, et qui a toujours su comment me motiver, Je suis honoré de travailler avec toi.

A tous ce qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Résumé

A l'heure actuelle, la greffe rénale est possible grâce à les progrès des traitements immunosuppresseurs dont la prévention du rejet. Parmi les médicaments immunosuppresseurs, la cyclosporine a été utilisée au début des années 80 pour augmenter la durée de survie des greffons. La fonction rénale à long terme peut être influencée entre autres par la pharmacocinétique et pharmacodynamique des anticalcineurines grâce à des réponses différentes chez certaines populations traitées par la cyclosporine. Ceci peut être dû à une variabilité intergénétique liée à l'activité des enzymes de biotransformation comme le cytochrome P450 et aussi la P-glycoprotéine. En effet, plusieurs analyses biologiques ont été faites pour étudier l'impact des polymorphismes des gènes impliqués dans le métabolisme et le transport de la cyclosporine A afin de distinguer entre les bons et les mauvais répondants aux traitements.

Notre étude a permis de déterminer l'influence du polymorphisme C3435T du gène ABCB1 sur la réponse au traitement par la cyclosporine A selon cinq paramètres dont la concentration de la cyclosporine, urée, créatinine, acide urique et l'albumine chez les patients qui ont subi une greffe rénale et ont été suivis par la cyclosporine A tous d'origine de l'Ouest Algérien.

Nous avons réalisé une étude sur 15 patients ayant bénéficié d'un traitement par cyclosporine A pendant une année après transplantation rénale. L'exploration des différents génotypes du polymorphisme a été réalisée par la technique d'amplification en chaîne par polymérase - polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PCR-RFLP).

L'analyse de plusieurs résultats a montré un effet inconstant du polymorphisme C3435T, dans certaines populations et/ou à certaines périodes post-greffe, le tout aboutissant à une conclusion controversée quant à l'influence des polymorphismes de ce gène sur la pharmacocinétique de la cyclosporine.

En conclusion, il serait très important d'une part, d'augmenter le nombre des patients à étudier afin de confirmer cette hypothèse. D'autre part d'explorer d'autres polymorphismes situés sur le gène ABCB1 et aussi situés sur d'autres gènes impliqués dans le transport de la cyclosporine A, pour une caractérisation génétique plus précise sur la transplantation et ses complications dans la population de l'Ouest Algérien.

Mots clé : Transplantation rénale, ABCB1, C3435T, Cyclosporine, PCR, Population Algérienne.

Abstract

At present, kidney transplantation is possible thanks to advances in immunosuppressive treatments including the prevention of rejection. Among immunosuppressive drugs, cyclosporin was used in the early 1980s to increase the survival time of grafts. Long-term kidney function may be influenced by the pharmacokinetic and pharmacodynamics of anticalcinurines through different responses in certain population treated with cyclosporin. This may be due to intergenic variability related to the activity of biotransformation enzymes such as cytochrome P450 and also P-glycoprotein. Indeed, several biological analyses are done to study the impact of polymorphisms of genes involved in the metabolism and transport of cyclosporin A in order to distinguish between good and bad response to treatments.

Our study determined the influence of the ABCB1 gene C3435T polymorphism on the response to treatment with cyclosporin A according to five parameters including the concentration of cyclosporin, urea, creatinine, uric acid and albumin in patients who underwent a kidney transplant and were followed by cyclosporin A all originating in Western Algeria. Statistical analyses showed that there was no statistically different significant in the distribution of allelic and genotypic frequencies of patients and the five parameters studied.

We conducted a study on 15 patients who received cyclosporin A treatment one year after kidney transplantation. The exploration of the different genotypes of polymorphism was carried out by the polymerase chain amplification technique - polymorphism of the length of the restriction fragments (PCR-RFLP).

Analysis of several results showed an inconsistent effect of C3435T polymorphism in some populations and/or at certain post-graft periods, leading to a controversial conclusion as to the influence of this gene's polymorphisms on cyclosporin pharmacokinetics.

In conclusion, it would be very important, on the one hand, to increase the number of patients to be studied in order to confirm this hypothesis. On the other hand to explore other polymorphisms located on the ABCB1 gene and also located on other genes involved in the transport of cyclosporin A, for a more precise genetic characterization on transplantation and its complications in the population of Western Algeria

Key words: Renal transplantation, ABCB1, C3435T, Cyclosporin, PCR, Algerian population.

الملخص

إلى حد الساعة، يمكن إجراء عمليات زرع الكلى بفضل التقدم في العلاجات المثبطة للمناعة بما في ذلك منع الرفض. يعد السيكلوسبورين من بين الأدوية المثبطة للمناعة استخدم في أوائل الثمانينيات من أجل رفع وقت بقاء الطعوم. ربما قد تتأثر وظيفة الكلى على المدى الطويل بحرائك الدوائية والديناميكية الدوائية لمثبطات المناعة بسبب اختلاف الاستجابات عند بعض سكان التي تم علاجها بالسيكلوسبورين. وقد يرجع ذلك إلى تباين بين الجينات المرتبط بنشاط إنزيمات التحول الأحيائي مثل السيتوكروم ب وأيضاً الغليكوروتين ب. في الواقع أجريت العديد من التحاليل البيولوجية من أجل دراسة تأثير تعدد الترددات الأليلية المشاركة في عملية ايض ونقل السيكلوسبورين أ من أجل التمييز بين المستجيبين الجيدين والسيئين للعلاج.

سمحت لنا دراستنا بتحديد تأثير تعدد اشكال النكليوتدية C3435T للجين ABCB1 على استجابة العلاج بالسيكلوسبورين وفقاً لخمسة معلومات بما في ذلك تركيز السيكلوسبورين، اليوريا. الكرياتينين وحامض اليوريك والألومين عند المرضى الذين خضعوا لزرع كلى وعالجوا بالسيكلوسبورين كلهم من أصل غربي جزائري.

أجرينا دراسة على 15 مريض تلقوا العلاج بالسيكلوسبورين أ لمدة سنة واحدة بعد زرع الكلى. تم تحديد النمط الجيني باستخدام تقنية تضخيم سلسلة البلمرة -تقييد تعدد الأشكال النكليوتدية لطول الأشكال

أظهر تحليل العديد من النتائج تأثيراً غير متناسق للتعدد الأشكال النكليوتدية C3435T في بعض السكان و/أو في فترات معينة بعد الزرع غير المشروع ، مما أدى إلى استنتاج مثير للجدل حول تأثير تعدد الأشكال النكليوتدية لهذا الجين على دراسة مصير الليكلوسبورين في الجسم..

في الختام، سيكون من المهم جداً زيادة عدد الذين سيتم دراستهم لتأكيد هذه النظرية واستكشاف تعدد الأشكال الأخرى الموجودة على الجين ABCB1 وأيضاً على الجينات الأخرى المشاركة في أيض السيكلوسبورين (Cs A) من أجل توصيف جيني أكثر دقة حول زرع الكلى ومضاعفاته على سكان غرب الجزائر

الكلمات الرئيسية : زرع الكلى ، أب س ب 1، س3534ت ، تقنية تضخيم سلسلة البلمرة -تقييد تعدد الأشكال لطول الأشكال، سيكلوسبورين و سكان الجزائرية

Table des Matières

Liste des figures	1
Liste des tableaux.....	3
Liste des abréviations.....	4
Introduction	5
<i>Revue Bibliographique</i>	7
I. Généralités sur les greffes rénaux Et les anticalcineurines. :	8
I.1. Transplantation d'organe :	8
I.1.1 Définition de la transplantation rénale	9
I.2. Epidémiologie de la greffe rénale	9
I.3. Prise en charge de la greffe rénale	10
I.3.1. Inhibiteurs de la calcineurine	11
I.3.1.1. La cyclosporine	12
I.3.1.2. Le tacrolimus	13
I.3.2. Les Inhibiteurs de la synthèse d'acides nucléique pour bases purique et pyrimidique ...	14
I.3.2.1. L'azathioprine	14
I.3.2.2. Anti métabolites	14
I.3.2.3. Le cyclophosphamide :	15
I.3.2.4. La Sulfasalazine	15
I.3.2.5. Sels d'or	15
I.3.2.6. Mycophénolate	17
I.3.2.7. Léflunomide	18
I.3.2.8. Les corticoïdes	19
I.3.3. Les alternatives	19
I.3.3.1. Les inhibiteurs de la mTOR	19
II. Pharmacologie de la cyclosporine	21
II.1. La cyclosporine A	21
II.2. Pharmacologie de la cyclosporine A	23
II.2.1. Mécanisme d'action de cyclosporine A	23
II.3. Pharmacodynamique du la cyclosporine	24
II.4. Pharmacocinétique de La cyclosporine A	24
II.4.1. Absorption	24
II.4.2. Distribution	24
II.4.3. Métabolisme	25
II.4.4. Élimination	25
III	27

Pharmacogénétique.....	27
De la cyclosporine	27
III.1. Les différents gènes impliqués dans la Pharmacogénétique de la cyclosporine.....	27
III.1.1. Adénosine Triphosphate–Binding Cassette B1 (<i>ABCB1</i>).....	27
III.1.3. Adenosine Triphosphate–Binding Cassette B 2 (<i>ABCC2</i>).....	28
III.1.2. Le cytochrome p450 3A4 (<i>CYP3A4</i>) et le cytochrome p450 3A5 (<i>CYP3A5</i>).....	28
III.2. Les Transporteurs ABC	29
III.2.1 Famille ABCA	30
III.2.2 Famille ABCC4	30
III.2.3 Famille ABCG2.....	31
III.2.4. Famille ABCB1	31
III.2.4.1. La structure du gène ABCB1	32
III.2.4.2. La protéine de ABCB1 (P-Glycoprotéine) :.....	33
III.2.4.3. Rôles	34
III.2.4.4. Localisation	35
III.2.4.5. Les polymorphismes rs1045642 (3435T > C, Ile1145Ile).....	36
III.2.4.6. Impact du Polymorphisme ABCB1 rs1045642 (3435T > C, Ile1145Ile) sur la réponse au traitement Cyclosporine A :	38
<i>Problématique et objectifs</i>	41
<i>Population d'étude</i>	44
I. Matériels	45
I.1. Population d'étude.....	45
I.2. Recueil des données	45
II Méthode.....	46
II.1. Analyse biochimique	46
II.1. 1. Techniques immunologiques	46
II.1. 2. Dosage des paramètres biochimiques ;	48
II.1.2.1. Dosage de L'Urée.....	48
II.1.2.2. Dosage de la Créatinine	49
II.1.2.3. Dosage de l'acide urique.....	49
II.1.2.4. Dosage de l'albumine	50
II.1.3. Stratification selon la Variabilité de réponse pharmacocinétique ;	50
II.2. Génotypage ;.....	51
II.2.1. Extraction de l'ADN ;.....	52
II.2.2. Quantification et analyse de la pureté de l'ADN :	53
II.3. Amplification du polymorphisme C3435T (exon26) ;.....	53

II.3.1. Généralité sur les réactions de polymérisation en chaîne ;	53
II.3. 2. Protocole de l'amplification du polymorphisme C3435T ;	54
II.3.3. Analyse des fragments obtenus par électrophorèse ;	55
II.3.4. Protocole de détermination du polymorphisme C3435T ; (teste d'amplification)	56
<i>II.4. Identification des géotypes du polymorphisme C3435T ;</i>	57
II.4.1. Principe de la PCR- RFLP (Réaction de polymérisation en chaîne –polymorphisme de longueur des fragments de restriction)	57
II.4.2. Protocole de la PCR-RFLP ;	58
II.4.3. Détermination des différents haplotypes par électrophorèse ;	58
<i>Résultats et discussion</i>	60
I. Résultats	61
I.1. Résultat du dosage d'un ADN purifié par la spectrophotométrie ;	61
I.2. Résultat du test d'amplification des sujets :	61
I.3. Résultats du test de digestion par l'enzyme de restriction MboI :	62
I.4. Fréquence du polymorphisme C3435T dans la population de l'Ouest Algérien ;	62
<i>II. Discussion.</i>	63
<i>Conclusion et perspectives</i>	68
<i>Référence Bibliographiques</i>	74

Liste des figures

Figure 1 : Schéma d'une transplantation rénale(Trasplante renal Alcer Gipuzkoa.2015).....	9
Figure 2 : Schéma qui représente les voies de :Cyclosporine et Tacrolimus (Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000).....	12
Figure 3 : Mécanisme d'action du cyclosporine.....	13
Figure 4 : Mécanisme d'action du tacrolimus (TAC) (Prytula et van Gelder 2019).....	14
Figure 5 : Schéma qui représente les voies De : l'azathioprine, les Antimétabolites, Le cyclophosphamide, le Sulfasalazine, les Sels d'or (Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000).	16
Figure 6 : Schéma représente la voie De Mycophénolate (Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto et al. 2000).	17
Figure 7 : Schéma représente la voie De léflunomide (Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto et al. 2000).	18
Figure 8 : schema qui represente la vois des inhibiteurs de la mTOR.....	20
Figure 9 : Trichoderma polysporum ou Tolypocladium inflatum gams(Tolypocladium Inflatum-Alchetron, The Free Social Encyclopedia.2016).....	21
Figure 10 : Formule de Cyclosporine et ses majeure metabolites (Dai et al. 2004).....	22
Figure 11 : Voie de la calcineurine au sein du lymphocyte T (Pouché L et al.,2016).....	23
Figure 12 : Disposition du cyclosporine (Kahan et al. 1989).....	26
Figure 13 : Schéma général de la prise en charge de Cyclosporine (Bag, Jyala, and Bag.2015)	29
Figure 14 : Structure transmembranaire de trois pompes d'efflux ATP-dépendantes (ABCB1, ABCC1 et ABCG2). IC : milieu intracellulaire ; NBD : nucleotide binding domain (Vautier et al. 2006)	32
Figure 15 : La Structure du gene ABCB1 et sa localisation sur le chromosomes 7 (Zahari et al. 2017)	32
Figure 16 : Structure 3D de la protéine ABCB1 (Kim et Chen 2018).....	33
Figure 17 : Schéma représente le rôle de la protéine ABCB1 dans le transport des médicament	34
Figure 18 : Localisation des transporteurs ATP-binding cassette transporter B1 (ABCB1; Pgp).....	36
Figure 19 : La Proteine ABCB1 et la structure du gene montrant les polymorphismes étudié (Zahari et al. 2017).	38
Figure 20 : Principe de la technique immunologique EMIT.....	47
Figure 21 : principe de PCR et visualisation d'ADN par électrophorèse	54
Figure 22 : Une installation d'électrophorèse sur plaque.....	56
Figure 23 : Profil électrophorétique attendu, suit à une digestion par MboI.....	59

Figure 24 : Résultat du test d'amplification de l'exon26 du gène ABCB1 chez 4 patients	61
Figure 25 : Résultats du test de digestion du gèneABCB1 par l'enzyme de restriction MboI.	62
Figure 26 : Distribution fréquences alléliques et génotypiques de l'exon 26 chez 15 patient.	63
Figure 27 : Les profils de concentrations sanguines de la CsA en fonction du temps (D'après Min and Ellingrod. 2002).....	65
Figure 28 : Effet du génotype MDR1 C3435T sur la clairance Orale de la cyclosporine (Yates et al. 2003).	66
Figure 29 : comparaison entre les génotypes C3435T du gène ABCB1 selon le ratio C0 / D chez les receveurs de transplantation rénale (Y. Zhang et al.2013).....	67

Liste des tableaux

Tableau 1 : les seuils normaux des cinq paramètres inclus dans l'étude.	51
Tableau 2 : Programme d'amplification du polymorphisme C3435T dans PCR.	55
Tableau 3 : le polymorphisme étudié ainsi que l'amorce, enzyme de restriction et la taille des produits de digestion correspondant	57
Tableau 4 : Protocole de la digestion du polymorphisme C3435T du gène ABCB1	58
Tableau 5 : La quantité d'acides nucléiques et la pureté des échantillons	61
Tableau 6 : la comparaison des paramètres pharmacocinétiques selon les différents Génotypes C3435T (Von Ahsen et al. 2001).....	65
Tableau 7 : Paramètres pharmacocinétiques de la cyclosporine et génotypes CYP3A5 et MDR1 C3435T (Yates et al. 2003).	66

Liste des abréviations

ADN:Acide Désoxyribonucléique
ARN:Acide Ribonucléique
ARNm:Acide Ribonucléique Messenger
ABCA: ATP-binding cassette transporter A
ABCC4: ATP-binding cassette sub-family C member 4
ABCG2: ATP Binding Cassette Subfamily G Member 2
ABCB1: Adenosine Triphosphate–Binding Cassette B1
BET: Bromure d'Éthidium
CsA: Cyclosporine A
CPA:Cellule Présentatrice de l'Antigène
CHUO: Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran
CYP1A1:Cytochrome p 450 1A1
CYP3A4: Cytochromep450 3A4
DVA : Donneur Vivant Apparenté
ER: Enzyme de Restriction
HAP:Hydrocarbure Aromatique Polyclique
INF γ :Interféron Gamma
IRCT:Insuffisance Rénale Chronique Terminale
IL2:Interleukine 2
LT : Lymphocytes T
MDR : Multi Drug résistance
MPA:Acide Mycophenolique
NBD : nucleotide binding domain
NF-AT:Nuclear Factor of Activated T cell
Pgp:Protéine d'afflux P-Glycoprotéine
PCR- RFLP : Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism
TR :Transplantation Rénale
TBE : Tris Borate EDTA
TFN1: Facteur Nécrose Tumoral
TM : Transmembranaires
20-HETE:20-Hydroxyeicosatetraenoic acid
%:Pourcentage

Introduction

Du siècle dernier l'incidence de L'insuffisance rénale chronique terminale est diminuée, grâce à L'évolution de la transplantation rénale et la maîtrise de cette issu médicale suit aux progrès des traitements immunosuppresseurs (**Maryvonne, H 2011**). C'est une technique de suppléance, qui permet d'améliorer la qualité de vie des patients et probablement leurs survies par rapport à l'hémodialyse qui n'est qu'une option éphémère (**Éric T et al .2006**). Elle représente la meilleure solution pour remplacer la fonction Rénale défaillante par l'évaluation pré-transplantation visant à préciser l'état immunologique, infectieux, cardiovasculaire et chirurgical du patient et à prendre en compte les caractéristiques du greffon d'un donneur différent avec son propre information génétique afin d'éviter le risque Immunologique du rejet ou la fonction et la survie du greffon à long terme est maintenue. (**Éric T et al .2006**). De plus des facteurs environnementaux tels que l'âge, les interactions médicamenteuses ou l'alimentation et le poids, la variabilité interindividuelle de la réponse au traitement immunosuppressive, qui peut être modulée par des variations génétiques intervient pour 20 à 95 % de la variation de la biodisponibilité et des effets d'un traitement (**Éric T et al .2006**).

Comme tous les médicaments la ciclosporine fait intervenir un métabolisme hépatique par le cytochrome P450 et un transport par la P-glycoprotéine qui est un transporteur d'efflux exprimé dans tout l'organisme au sein de "barrières" où elle a un rôle de protection et d'excrétion. Elle joue un rôle important dans l'absorption intestinale de nombreux médicaments, car elle limite leur biodisponibilité (**E. Ayme-Dietrich, C. Verstuyft.2011**). Dont le gène est appelé ABCB1 ou MDR1, Ces gènes MDR se trouvent sur le chromosome 7 chez l'homme et ne sont séparés que par 330 kb et s'étend sur plus de 100 kb, alors que l'ARNm ne mesure que 4,5 kb (4 669 pb). Le gène ABCB1 est composé de 29 exons et 28 introns, dont l'un dépasse 40 kb (**F. Ceppa et al.2007**).

C'est pour cela Plusieurs études ciblent le rôle du polymorphisme génétique ABCB1 du receveur dans la transplantions d'un organe telle que SNP G2677T de l'exon 21, exon 26 3435T, SNP T1236C de l'exon 12(**Éric T et al .2006**). Nous s'intéresse d'étudié impact de polymorphisme 3435 sur la pharmacocinétique de Cyclosporine A dans le traitement des greffes rénaux de la population de l'Ouest Algérien.

*Revue
Bibliographique*

I.

Généralités sur les greffes rénaux Et les anticalcineurines.

I.1. Transplantation d'organe :

La transplantation d'organe est souvent la seule opération pour la survie d'un patient souffrant d'une défaillance de l'un des organes vitaux comme dans le cas d'une insuffisance rénale chronique qui est traduite par la diminution progressive et irréversible de la capacité de filtration du rein (*Charles A. JANWAY et al. 2003*), dans ce cas le patient est dans l'obligation de suivre une dialyse qui peut être très fatigante et longue (environ 4h la séance 3 fois par semaine) en attendant d'une transplantation qui est définie en médecine comme une opération chirurgicale consistant à remplacer un organe malade par un organe sain, appelé « greffon » ou « transplant » et provenant d'un donneur qui ne montre aucune contre-indication de transplantation (l'âge physiologique, cancer, les pathologies cardio-vasculaires, Troubles psychiatriques aigus) d'autres critères médicaux doivent être pris en considération comme : groupe sanguin ABO, compatibilité HLA, temps d'ischémie froide le plus court possible (*GERD-RUDIGER BURMESTER et al. 2000*)

Toutefois on connaît plusieurs types de transplantation d'un organe (*GERD-RUDIGER BURMESTER et al. 2000*) :

- Autologue, c'est à dire au sein d'un même organisme (par exemple la peau)
- Syngémique; entre jumeaux monozygotes
- Allogénique, entre individus génétiquement différents
- Xénogénique entre organismes d'espèces différentes (par exemple singe-homme).

I.1.1 Définition de la transplantation rénale

La transplantation est réalisée sous anesthésie générale et dure 2 à 3 heures. Le greffon est placé dans l'abdomen au niveau de la fosse iliaque sous la peau (*Helen CHAPEL et al 2004*). Après avoir anastomosé (relié) la veine iliaque externe et l'artère rénale du greffon au vaisseaux du receveur, l'uretère du greffon (tuyau qui amène l'urine du rein à la vessie) est implanté directement dans la vessie (*Helen CHAPEL et al 2004*).

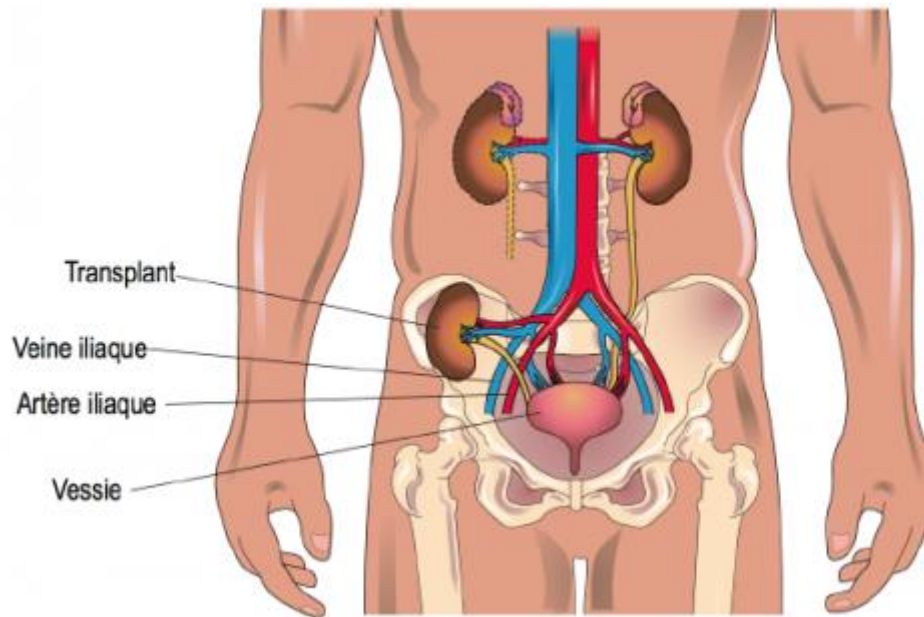


Figure 1 : Schéma d'une transplantation rénale (*Trasplante renal / Alcer Gipuzkoa.2015*)

I.2. Epidémiologie de la greffe rénale

L'activité médicale de la transplantation rénale (TR) est née dans les années 50, Dans les décennies qui suivirent, la mise en place de programmes de greffe a permis de l'ériger comme traitement reconnu des patients souffrant d'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT) (*Hiesse C. Greffe de reins: un problème de santé publique. 2007*). La première greffe rénale en Algérie a été réalisée le 14 juin 1986 au Centre Hospitalo-universitaire Mustapha(CHU) à partir d'un donneur vivant apparenté (DVA)(*Cheurfa and Tlilane.2015*). De 1986 à juillet 2005, il a été réalisé en Algérie un total de 234 transplantations rénales(*Cheurfa and Tlilane.2015*). Ainsi, le nombre de greffes rénales réalisées en Algérie n'a cessé de progresser de 2005 à 2011 pour atteindre 6615, soit une réalisation annuelle moyenne de plus de 110 greffes(*Cheurfa and Tlilane.2015*).

I.3. Prise en charge de la greffe rénale

Après l'opération des complications peuvent survenir dont la réaction de rejet est la plus dangereuse, elle se manifeste par trois types de rejet :

Le rejet hyper aigu survient dans les heures qui suivent la transplantation il est médié par les anticorps préformés reconnaissent l'endothélium du greffon et activent le système du complément conduisant à des lésions endothéliales et agrégation des plaquettes, des granulocytes et des monocytes ainsi qu'à une coagulation intravasculaire due à la libération de médiateurs. L'idéal serait d'effectuer le test avec l'endothélium du donneur (*Charles A. JANWAY et al. 2003*).

Puis il y a le rejet aigu cellulaire dû à la reconnaissance par les lymphocytes T du receveur des antigènes allo géniques du donneur qui à leur tour recrute via des cytokines d'autres lymphocytes T et cellules B, des macrophages et des granulocytes, ces derniers envahissent le greffon pour en anéantir la fonction (*Charles A. JANWAY et al. 2003*).

En dernier Le rejet chronique qui correspond à une dégradation progressive de la fonction du greffon associée à la survenue d'une fibrose, d'une vasculopathie du transplant. Les mécanismes moléculaires de ce rejet chronique, qui limite la durée de vie des organes transplantés, sont mal connus. Il s'agit probablement d'une réponse immunitaire chronique, à bas bruit, initiée par une présentation indirecte des alloantigènes, et dirigée contre les structures vasculaires, et particulièrement endothéliales, du greffon. Les processus de réparation des dommages liés à cette agression font appel à la synthèse de facteurs de croissance, comme le TGF- β , qui induisent la fibrose et le rétrécissement progressif de la paroi des vaisseaux (*Charles A. JANWAY et al. 2003*).

A cause du rejet un traitement avec des immunosuppresseurs post-transplantatoire est indispensable à la prévention et le traitement d'un rejet aigu qui repose sur ces deux modalités d'utilisation (*Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto, 2000*):

- Traitement d'induction Il permet d'instaurer une immunosuppression forte au cours des premiers jours de la transplantation où le risque de rejet est le plus élevé. Les molécules utilisées sont les anticorps anti-lymphocytaires polyclonaux (Thyroglobuline®) ou un antagoniste des récepteurs de l'interleukine 2, qui est basiliximab (Simulect®).

- Traitement d'entretien L'objectif est de prévenir sur le long terme la survenue d'un épisode de rejet aigu avec la plus faible iatrogénie possible. Le schéma de référence actuel associe : un

inhibiteur de la calcineurine (tacrolimus ou ciclosporine), un antiprolifératif (mycophénolate), et des corticoïdes (*Oberbauer et al. 2020*).

Des schémas alternatifs sont parfois initiés pour limiter les effets secondaires des corticoïdes (arrêt secondaire ou protocole sans corticoïdes) ou pour limiter la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine (inhibiteurs de m-TOR).

I.3.1. Inhibiteurs de la calcineurine

Parmi les médicaments immunosuppresseurs actuellement utilisés en greffe rénale, les inhibiteurs de la calcineurine (IC), initialement représentés par la ciclosporine (NeoralSandimmun®) et plus récemment par le tacrolimus (Prograf® et sa nouvelle forme « once a day » Advagraf®), occupent une place de première importance (*Prytula et van Gelder 2019*). Ces médicaments, bien que très efficaces, présentent des effets secondaires non négligeables (néphrotoxicité, complications infectieuses, diabète, neurotoxicité) et sont caractérisés par un index thérapeutique relativement étroit, ce qui nécessite de contrôler régulièrement leur concentration sanguine (monitoring thérapeutique) (*Tedesco et Haragsim 2012*). L'effet immunosuppresseur de la ciclosporine repose sur une inhibition de la production de cytokines, particulièrement de l'IL-2 au stade précoce de l'activation des cellules T (*Forsythe et Paterson 2014*) de même L'antibiotique de type macrolide, tacrolimus (FK506), est également utilisé comme immunosuppresseur. Le mécanisme actif ressemble à celui de la ciclosporine A (*Chen et Prasad 2018*). Tous comme les deux premiers La rapamycine également se lie également à un récepteur cytoplasmique et inhibe des processus dépendant de l'IL-2, Il s'agit d'un macrolide, Elle intervient dans la voie d'activation des cellules T à un niveau plus tardif que la ciclosporine et le tacrolimus et a donc un effet synergique avec ces derniers (*G. BAUMANN et al. 1992*).

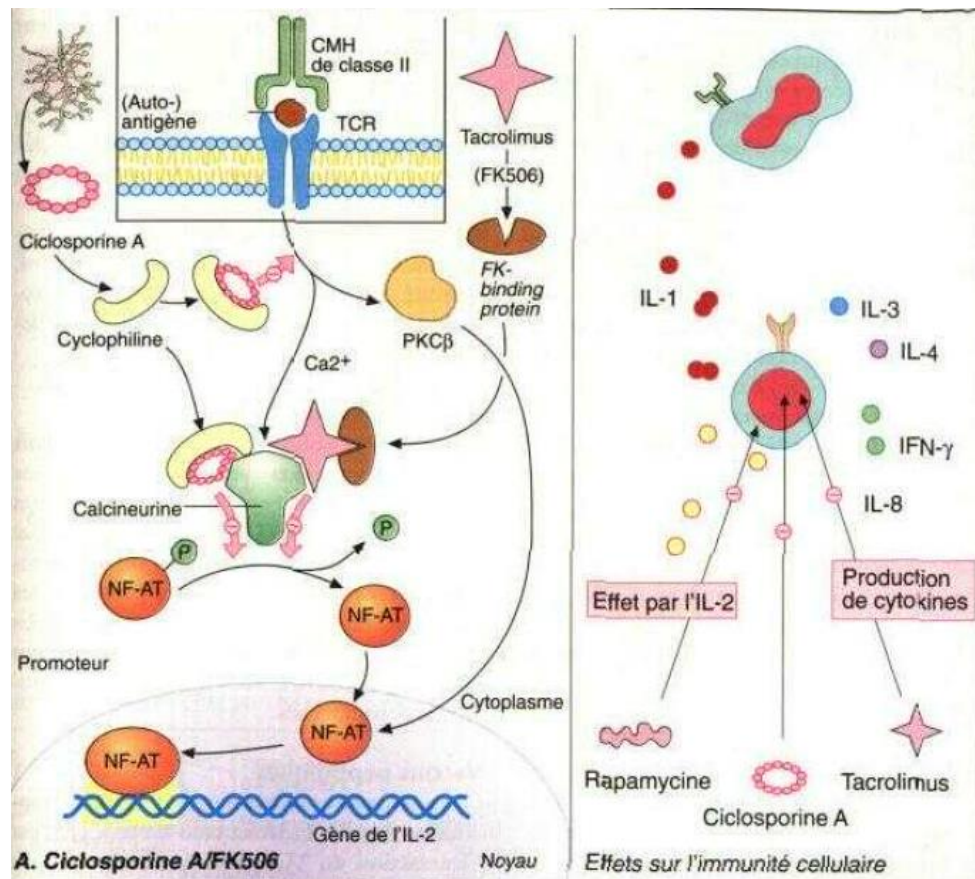


Figure 2 : Schéma qui représente les voies de :Cyclosporine et Tacrolimus (Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000).

1.3.1.1. La cyclosporine

Le mécanisme moléculaire de la cyclosporine a été récemment révélé : la drogue se lie au récepteur cytoplasmique cyclophiline, une isomérase de la proline. Le complexe formé par la cyclosporine et la cyclophiline inhibe la calcineurine, une phosphatase responsable de l'activation du facteur de transcription NF-AT (nuclear factor of activated Tcells). En absence de déphosphorylation, le transfert du NF-AT actif dans le noyau et, par ce biais, la transcription du gène de l'IL-2 sont inhibés (*Matsuda et Koyasu 2000*). La cyclosporine A intervient également dans la voie de transduction des signaux du TCR. Elle inhibe la protéine kinase Cp (PKCp) et ainsi l'induction de la composante nucléaire du NF-AT. La cyclosporine A a un effet inhibiteur faible sur la production d'autres cytokines (IL-1 dans les macrophages, IL-3, IL-4, IL-8, IFN-γ). Elle affecte donc principalement l'immunité cellulaire. En revanche la transcription de cytokines « régulatrices », telles que l'interleukine-10 et le TGF-β, n'est pas diminuée. Comme le TGF-β est un puissant inhibiteur de la prolifération lymphocytaire induite par l'interleukine-2, une augmentation d'expression de TGF-β, telle que celle observée

sous l'action de la ciclosporine dans les lymphocytes activés, pourrait contribuer à expliquer l'action immunosuppressive de la ciclosporine. Elle pourrait aussi rendre compte de certains de ses effets secondaires néfastes (prolifération fibroblastique et lésions de fibrose).

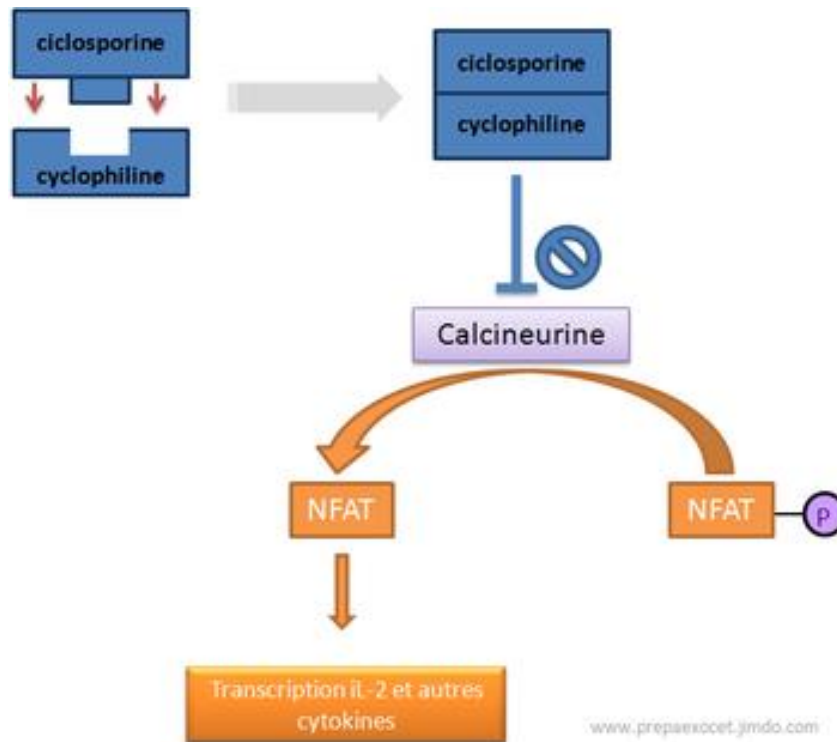


Figure 3 : Mécanisme d'action du cylosporine

I.3.1.2. Le tacrolimus

Le tacrolimus ou FK506 (Prograf®) est un macrolide cyclique métabolisé par CYP3A, (*Liu et al. 2019*) il est isolé d'un micro-organisme tellurique : *Streptomycestsukuboensis*. Bien qu'il ait une structure très différente de la ciclosporine et qu'il se fixe sur un autre récepteur intracellulaire, le FKBP-12, son mécanisme d'action est assez similaire. Il inhibe la synthèse de cytokines par son action anticalcineurinique. La différence avec la ciclosporine pourrait être la moindre induction de TGF- β aux doses thérapeutiques utilisées (*Tomohiro KANEO et al. 2017*)

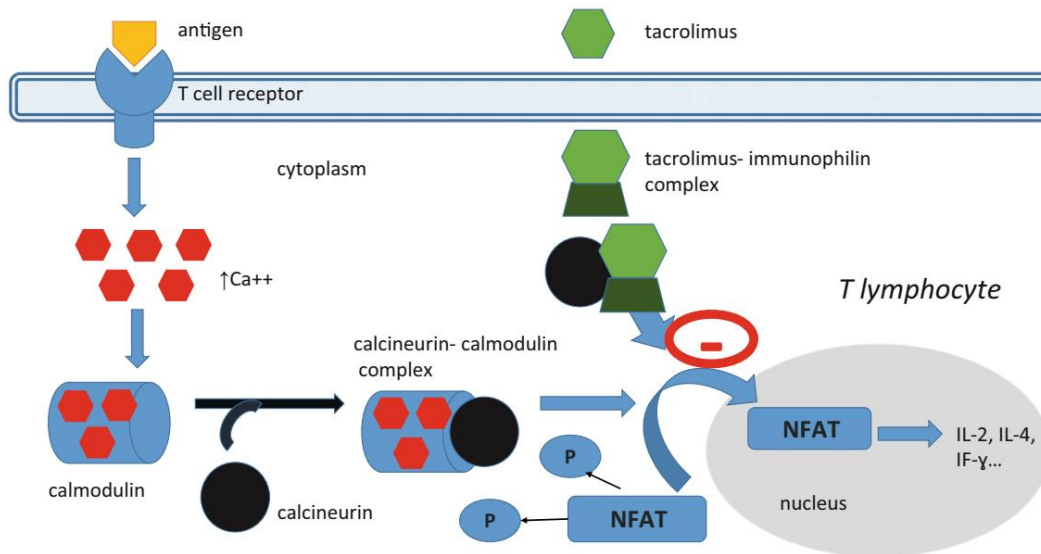


Figure 4 : Mécanisme d'action du tacrolimus (TAC) (*Prytuła et van Gelder 2019*)

I.3.2. Les Inhibiteurs de la synthèse d'acides nucléiques pour bases purique et pyrimidique

I.3.2.1. L'azathioprine

L'azathioprine (Imurel®) est un imidazole de synthèse, transformé après administration en 6-mercaptopurine (6-MP) puis en 6-thioinosine mono phosphate (6-thio-MP). , un analogue structural de l'adénine qui bloque la synthèse des bases puriques comme produit final faux non fonctionnel (rétrocontrôle [ou feedback] négatif).il peut être aussi incorporé dans les acides nucléiques et produire des cassures chromosomiques L'azathioprine inhibe la prolifération des lymphocytes T activés plus que des B activés en induisant une déplétion en adénosine plutôt qu'en guanosine (**Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000**).

I.3.2.2. Anti métabolites

Le méthotrexate (MTX) intervient dans le métabolisme de l'acide folique. Il se lie à l'enzyme déshydrofolate réductase, inhibe ainsi la réduction intracellulaire de l'acide folique en acide tétrahydrofolique (ou folinique) et bloque la voie C1 de la biosynthèse de la thymidine et des bases puriques. La diminution de la synthèse de l'ADN et de l'ARN conduit à la mort cellulaire, particulièrement des cellules B (**Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000**).

I.3.2.3. Le cyclophosphamide :

Le cyclophosphamide c'est un médicament anticancéreux, est l'un des immunosuppresseurs les plus efficaces. Le médicament est converti en sa forme active 4-hydroxy-cyclophosphamide dans le foie et devient alors un agent alkylant qui inactive ainsi diverses structures cellulaires. L'alkylation de bases dans l'ADN ou l'ARN mène à un cross-linking de bases opposées et à la mort cellulaire. L'inhibition fonctionnelle de la prolifération concerne de la même manière les cellules B et T (*Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000*).

I.3.2.4. La Sulfasalazine

La sulfasalazine fait partie des sulfamides difficilement absorbés et occupe une place importante dans le traitement de la rectocolite hémorragique et de la maladie de Crohn. Une partie de la drogue est convertie par les bactéries intestinales en métabolites actifs, la sulfapyridine et l'acide 5-aminosalicylique (5-AAS). Ces métabolites inhibent la réaction inflammatoire de la paroi intestinale. La sulfapyridine est aussi absorbée et responsable d'une partie des effets secondaires (vertiges, nausées, fièvre au sulfamide, arthralgies). Les métabolites sont acétylés et éliminés par l'urine. Chez les individus présentant une acétylation lente, les effets secondaires sont particulièrement importants (*Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000*).

I.3.2.5. Sels d'or

Les sels d'or sont utilisés comme traitement de base de la polyarthrite rhumatoïde, le mécanisme actif est inconnu. Une modulation immunitaire est discutée, résultant de la modification des peptides présentés par les molécules du CMH. Les drogues semblent aussi inhiber la libération de médiateurs et d'enzymes par les macrophages (*Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000*).

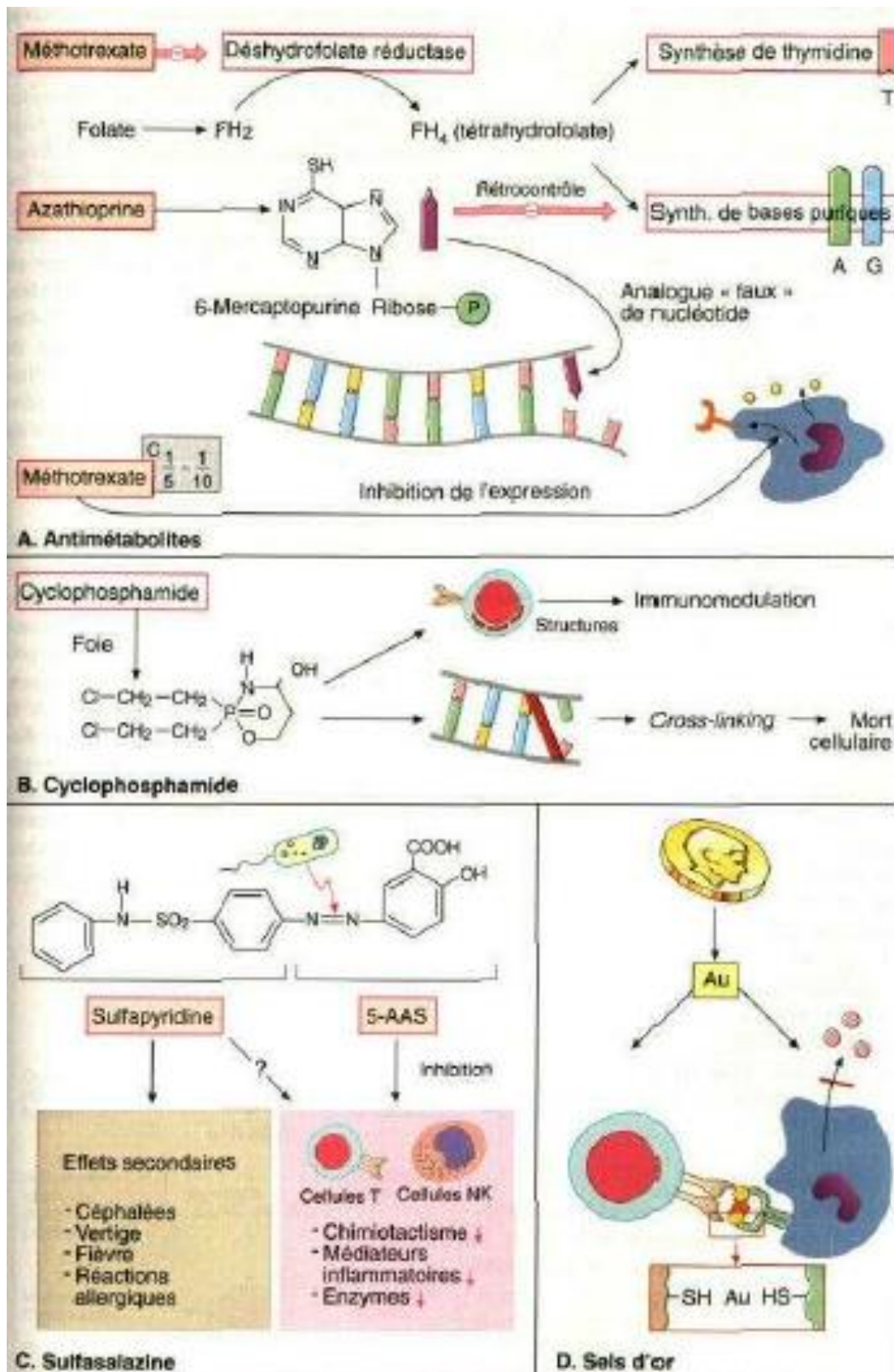


Figure 5 : Schéma qui représente les voies de : l'azathioprine, les Antimétabolites, Le cyclophosphamide, le Sulfasalazine, les Sels d'or (*Gerd-Rüdiger Burmester et Antonio Pezzutto, 2000*).

I.3.2.6. Mycophénolate

Le *mycophénolate* est un nouvel immunosuppresseur utilisé dans le traitement des rejets dégriffé et qui est également évalué pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et du psoriasis. Le précurseur de la drogue administrée, le mycophénolate mofétil, est injecté par voie IV et rapidement converti en métabolite actif mycophénolate qui est un inhibiteur réversible de l'inosine mono phosphate déshydrogénase(DH-IMP) et, par ce biais, de la biosynthèse des bases puriques. Les lymphocytes étant particulièrement dépendants de la synthèse de novo de ces bases, la concentration des bases guanine diminue fortement. Les effets sur les lymphocytes font intervenir plusieurs mécanismes: le déficit en dGTP réduit la synthèse d'ADN et d'ARN. On observe également un déficit en guanosine-5'-diphosphate fucose, nécessaire à la glycosylation de protéines telles que les molécules d'adhésion. Le défaut de GTP-cyclo hydrolase 1 induit un défaut de tétrahydrobioptérine qui restreint les réactions redox cellulaires et particulièrement **la production** du NO (Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000).

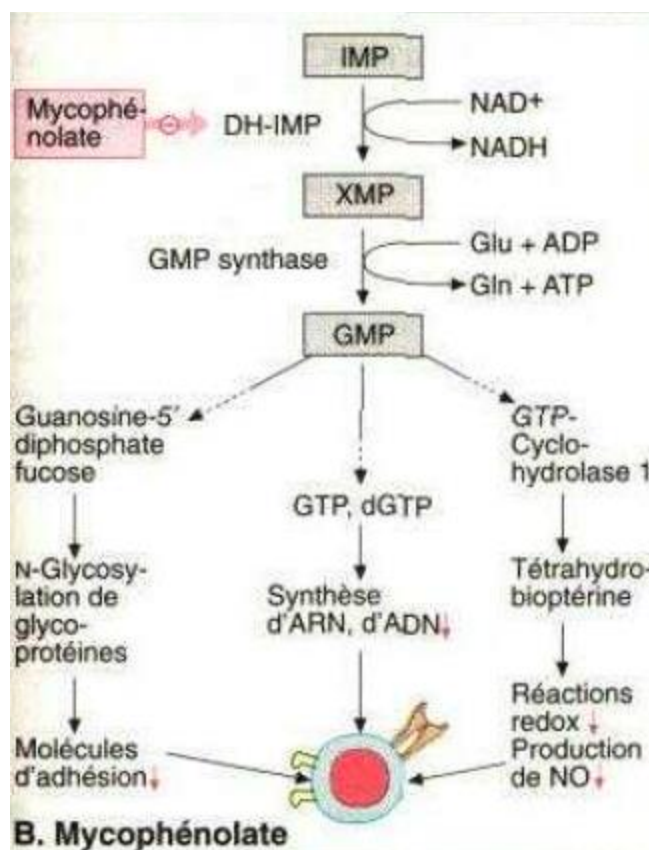


Figure 6 : Schéma représente la voie De Mycophénolate (Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto et al. 2000).

I.3.2.7. Léflunomide

Le *léflunomide*, autre nouvel immunosuppresseur sélectif des lymphocytes, a un mécanisme d'action similaire au mycophénolate. Il inhibe l'enzyme dihydro-orotate déshydrogénase (DHO-DH) et intervient ainsi dans la phase précoce de la biosynthèse des bases pyrimidiques. La prolifération des cellules B est inhibée de la même manière. Les lymphocytes au repos disposent d'une réserve limitée en bases pyrimidiques. Une faible production de ces bases due à l'inhibition de la DHO-DH diminue donc fortement la synthèse d'ADN et d'ARN. La production des molécules d'adhésion est également réduite (*Gerd-Rüdiger Burmester et Antonio Pezzutto et al. 2000*).

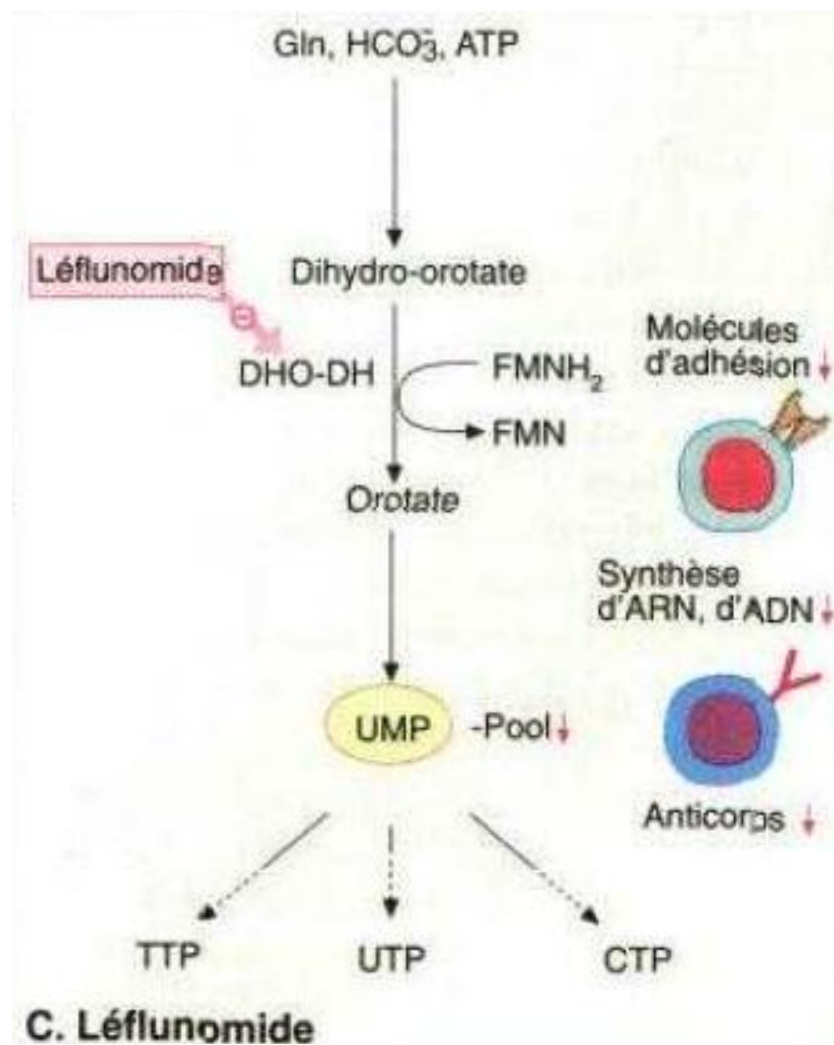


Figure 7 : Schéma représente la voie de léflunomide (*Gerd-Rüdiger Burmester et Antonio Pezzutto et al. 2000*).

I.3.2.8. Les corticoïdes

Les corticoïdes ont des effets anti-inflammatoires bien connus en agissant prioritairement sur l'immunité cellulaire. L'utilisation des corticoïdes en transplantation rénale Les glucocorticoïdes sont des médicaments à la fois anti-inflammatoires et immunosuppresseurs, agissant sur de multiples cibles moléculaires (*Skalli S et al., 2013*). Leurs activités immunosuppressives s'exercent sur les cellules dendritiques (présentation de l'antigène) et les lymphocytes T (inhibition de l'expression de gènes de différentes cytokines). Les corticoïdes qui inhibent la synthèse de cytokines en particulier en inhibant la fixation nucléaire des facteurs de transcription AP-1 et NF-κB, Les corticoïdes sont lipophiles et peuvent traverser la membrane cellulaire pour s'associer à des récepteurs intracellulaires (*Gerd-Riidiger Burmester et Antonio Pezzutto,2000*). Les complexes corticoïdes-récepteurs activés migrent dans le noyau et se fixent sur des séquences régulatrices de la transcription de gènes, soit pour l'inhiber (jun kinases), soit pour les activer (lipocortine, I-κB). Les complexes stéroïdes-récepteurs peuvent aussi s'associer à certains facteurs de transcription (AP-1) et les inhiber, les conséquences en sont la diminution de synthèse de médiateurs lipidiques (prostaglandines, leucotriènes), de cytokines (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, IL-13, TNFα, GM-CSF) et de chimiokines (Rantes, MIP1a, CSF, etc.), et l'inhibition de l'adhérence et de l'extravasation leucocytaire (*Denis STORIA, 2004*). Les corticoïdes peuvent aussi induire la synthèse de PAI-1 et de TGFβ. A forte dose, le Solumedrol entraîne une apoptose des lymphocytes T, préférentiellement des lymphocytes T CD4+ (*Skalli S et al., 2013*)

I.3.3. Les alternatives

I.3.3.1. Les inhibiteurs de la mTOR

Les deux inhibiteurs de mTOR approuvés pour la transplantation d'organe sont sirolimus (SRL) appelé également rapamycine, et everolimus un dérivé du premiers c'est-à-dire la rapamycine (EVL), Ils se lient intra cellulièrement à la protéine de liaison FK506 (FKBP12) mais contrairement au tacrolimus, ils n'inhibent pas l'activité de la calcineurine (*Wang et al. 2019*). Au contraire, le complexe est un inhibiteur très spécifique de la cible mammifère du complexe de rapamycine 1 (mTORC1) qui a un effet direct sur la voie de signalisation cellulaire requise pour la progression du cycle cellulaire. Ceci inhibe plus tard la

signalisation d'IL-2 aux cellules de T, empêchant de ce fait la prolifération de cellules T, le sirolimus est métabolisé par le système cytochrome P450 et nécessite une surveillance thérapeutique des médicaments (*Leggeri et al. 2020*)

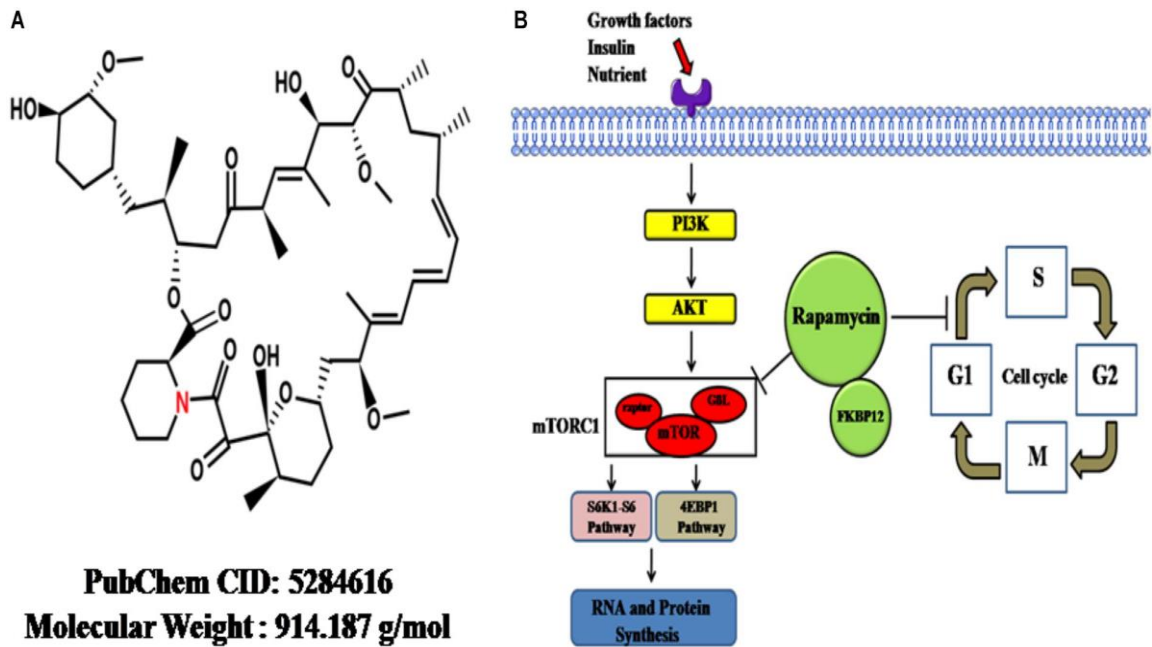


Figure 8 : schema qui represente la vois des inhibiteurs de la *mTOR*

II.

Pharmacologie

De la cyclosporine

Les inhibiteurs de la calcenurine sont les médicaments majeurs utilisé dans le traitement immunosuppresseurs du patient transplanté, La cyclosporine (cyclosporine A) et le tacrolimus (tacrolimus FK506) inhibent sélectivement la calcineurine, altérant ainsi la transcription de l'interleukine (IL) -2 et de plusieurs autres cytokines dans les lymphocytes (*Marquet, Djebli, et Picard, s. d.*) T. Les inhibiteurs de la calcineurine sont les piliers de l'immunosuppression en transplantation d'organes solides depuis plus de trois décennies (*Prasad et al. 2020*).

II.1. La cyclosporine A

La cyclosporine est un endécapeptide cyclique, lipophile avec poids moléculaire de 1202 Daltons et $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ comme formule chimique, cette dernière est extraite de *Tolypocladium inflatum* Gams qui est un champignon ascomycète (*Dustin Tedesco and Lukas Haragsim. 2011*)

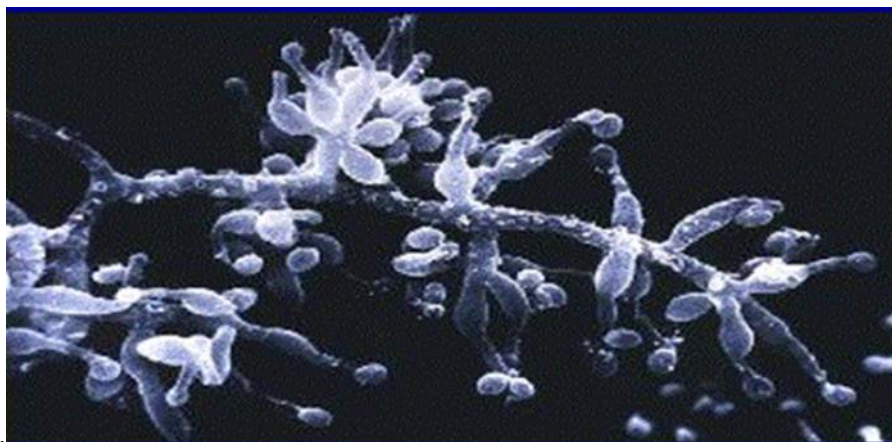


Figure 9 : *Trichoderma polysporum* ou *Tolypocladium inflatum* gams (*Tolypocladium Inflatum- Alchetron, The Free Social Encyclopedia.2016*)

Elle possède une activité immunosuppressive grâce à son site active immunosuppressive hydrophobique constituer de trois acide aminé présent dans sa structure de cette dernière ; dans la position 1 et 2 et 3, et également celle de 11 (*Barry D et al. 2015*)

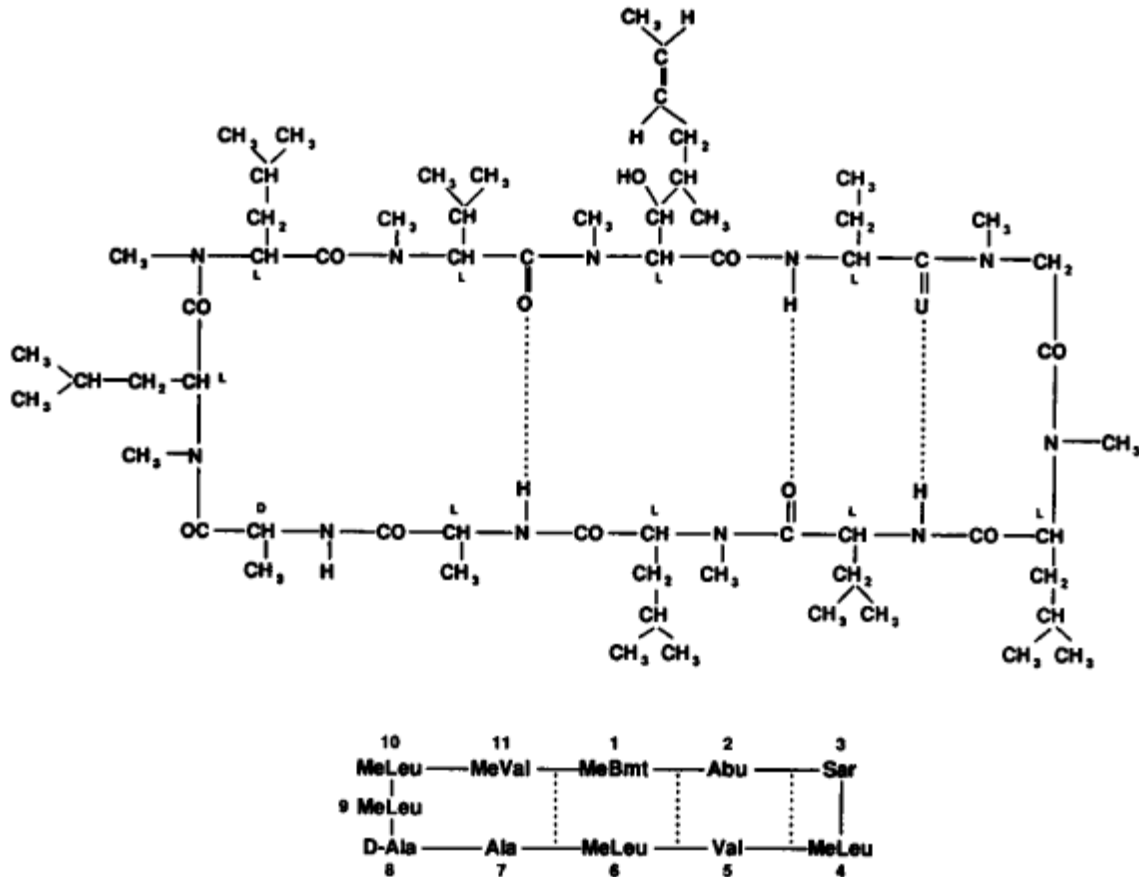


Figure 10 : Formule de Cyclosporine et ses majeure metabolites (*Dai et al. 2004*)

La cyclosporine possède une action néfaste par ces indésirables qui peut nuire à l'organisme dont le principale est la néphrotoxicité qui se manifeste par une augmentation de la créatininémie et de l'urémie cela déclenche une insuffisance rénale avec ses deux types aigue et chronique, elle peut être à l'origine d'une nephrotoxicité, a cette toxicité s'ajoute d'autre type de pathologie tels qu'une hyperlipidémie et un diabète post-transplantation Ces effets indésirables dose-dépendante nécessitent donc un suivi clinique et biologique afin d'adapter la posologie du médicament pour garder une efficacité et une tolérance acceptables (*Tedesco et Haragsim 2012*) .

II.2. Pharmacologie de la cyclosporine A

II.2.1. Mécanisme d'action de cyclosporine A

La Calcineurine est une protéine serine thréonine phosphatase dépendent du calcium/calmoduline celle si active un facteur de transcription, par son action en tant qu'agent de déphosphorylation (*Russell et al. 1992*). Ainsi un facteur nucléaire des cellules T activées, NFATc une fois activé, est ensuite transporté dans le noyau, où il régule à la hausse l'expression de l'interleukine 2 (IL-2), qui, à son tour, stimule la croissance et la différenciation de la réponse des cellules T. On va ainsi mettre en évidence un complexe entre CN et NFAT, comme cela est rapporté en détail dans l'article en référence. L'Inhibition de la calcineurine par cyclosporine ce produit par son attachement sur l'immunophilin la cyclophiline (*Tedesco et Haragsim 2012*). Cette étape empêche la déphosphorylation de NFAT et son ultérieure translocation du cytoplasme vers le noyau dans un processus médier par IL-2, L'Inhibition as ce niveau-là arrête l'activation des promoteurs de lymphocyte T et réprime la réponse immunitaire (*Matsuda et Koyasu 2000*).

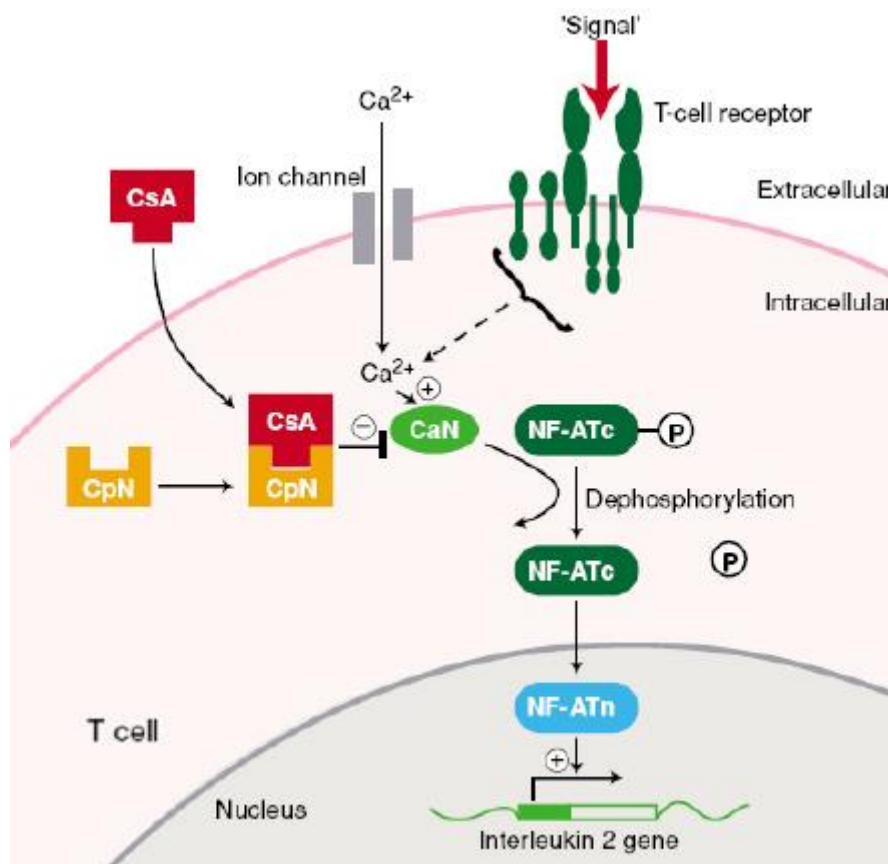


Figure 11 : Voie de la calcineurine au sein du lymphocyte T (*Pouché L et al.,2016*).

II.3. Pharmacodynamique du la cyclosporine

La cyclosporine est un substrat de p-glycoprotéine qui après absorption oral conduit à une diminution de concentration de cette molécule par extraction de cette dernière vers le compartiment de lumière digestive pour atteindre la circulation sanguine ou en la trouve Dans le plasma a 90% lié aux protéines, principalement aux lipoprotéines, mais aussi à l'albumine et les globulines (*Zhang et al. 2013a*). Dans le sang, la cyclosporine est largement distribuée dans les érythrocytes. Il existe des différences de biodisponibilité de la cyclosporine en grande partie en raison de la variabilité interindividuelle importante de l'absorption intestinale, un processus qui est en outre influencé par l'ingestion de nourriture, le diabète, l'estomac problèmes de motilité et diarrhée entre autres, et c'est au niveau du foie qu'agit l'iso forme 3A du cytochrome P450 pour métabolisé la cyclosporine en plusieurs métabolites qui sont éliminé en premier lieu dans la bile et par une moindre quantité dans les urines (*Akhlaghi et al. 2012*)

II.4. Pharmacocinétique de La cyclosporine A

II.4.1. Absorption

Il existe une différence interindividuelle dans la biodisponibilité de la cyclosporine est le taux maximal de sa concentration, ces changements sont issu des altérations d'absorption qui peut être lente ou incomplète, ces altérations ont pour origine l'intervention des P-glycoprotéine Qui pas efflux du compartiment intracellulaire vers le compartiment extracellulaire limite l'absorption de la cyclosporine, La P-glycoprotéine est codé par le gène MDR1 MultiDrugResistance (ABCB1) (*Crettol et al. 2008*)

II.4.2. Distribution

La cyclosporine est distribuée dans la circulation soit associée avec les lipoprotéines dont les (HDL) avec un pourcentage de 34% et les (LDL) avec 34 % et avec les VLDL avec 10 %il peut également être retrouvé dans une forme libre mais avec de faible concentrations, le volume de sa distribution est situé entre 4-8 L/kg de poids. Au niveau sanguin, nous la retrouvons à 41-58% dans les érythrocytes, 4-9% dans les lymphocytes, 4-12% dans les granulocytes et 33-47% dans le plasma, Dans cette dernière fraction, elle est liée à 90-98% aux protéines, principalement aux lipoprotéines). La séquestration importante à

l'intérieur des érythrocytes serait due à leur contenu abondant en immunophilines (*Khan et al. 2006*)

II.4.3. Métabolisme

La cyclosporine A est métabolisée à plus de 99% par les iso enzymes de cytochromes P450 hépatique (CYP3A4/5) en plusieurs métabolites, la première étape de sa biotransformation est l'hydroxylation de l'acide aminé 1 dans la position y et n suivit d'une déméthylation de l'acide aminé 4, ou la formation intramoléculaire d'éther tytra-hydrofurane dans l'acide aminé 1 (*Ozbay, Karamperis, et Anker Jorgensen 2007*). La deuxième étape combine entre les réactions de deméthylation et l'hydroxylation, de ces réactions résulte la formation de divers métabolites dans de multiples dont une forme hydroxylée en fait partie, dans cette forme en y retrouve l'AM1 (R1 : CH₂OH, R2 : CH₃, R3 : H) répartis dans 70 % des métabolite de la cyclosporine dans le sang (AUC) et AM9 (R1 : CH₃, R2 : CH₃, R3 : CH₃) avec 21 % et une autre importante forme est les métabolites N-déméthyléAM4n (R1 : CH₃, R2 : H, R3 : H) qui représente 7.5% seulement, on peut y retrouver des métabolites secondaire ou tertiaire l'AM1c, AM19 et AM1c9 (*Kahan et al. 1989*). Certains métabolites sont actifs, le principal est l'AM1 avec une activité immunosuppressive correspondant à 10-20% de celle de la cyclosporine, suivi de l'AM9 et de l'AM4N (*Kelly et al. 1999*) . Il a été rapporté que des concentrations élevées d'AM1 et d'AM19 pouvaient être liées à l'apparition de néphrotoxicité (*Ozbay, Karamperis, et Anker Jorgensen 2007*).

II.4.4. Élimination

La cyclosporine est éliminé principalement après métabolisme dans la bile avec 90% et 6% dans les urines avec une demi-vie de 6,4 à 8.7 Heures, le médicament principal et ces métabolites son éliminé avec un taux similaire. Mais il existe des différences entre les patients le taux de Clarence est de 2 à 32 ml par minute par kilogramme par exemple chez les enfants la Clarence est 40% plus élevés que chez des sujets plus âgés ou encore les patients avec un taux élevé en LDL et Cholestérol ou encore ceux qui souffrent d'une insuffisance hépatique qui se manifeste par une réduction dans l'élimination des métabolites (*Kahan et al. 1989*)

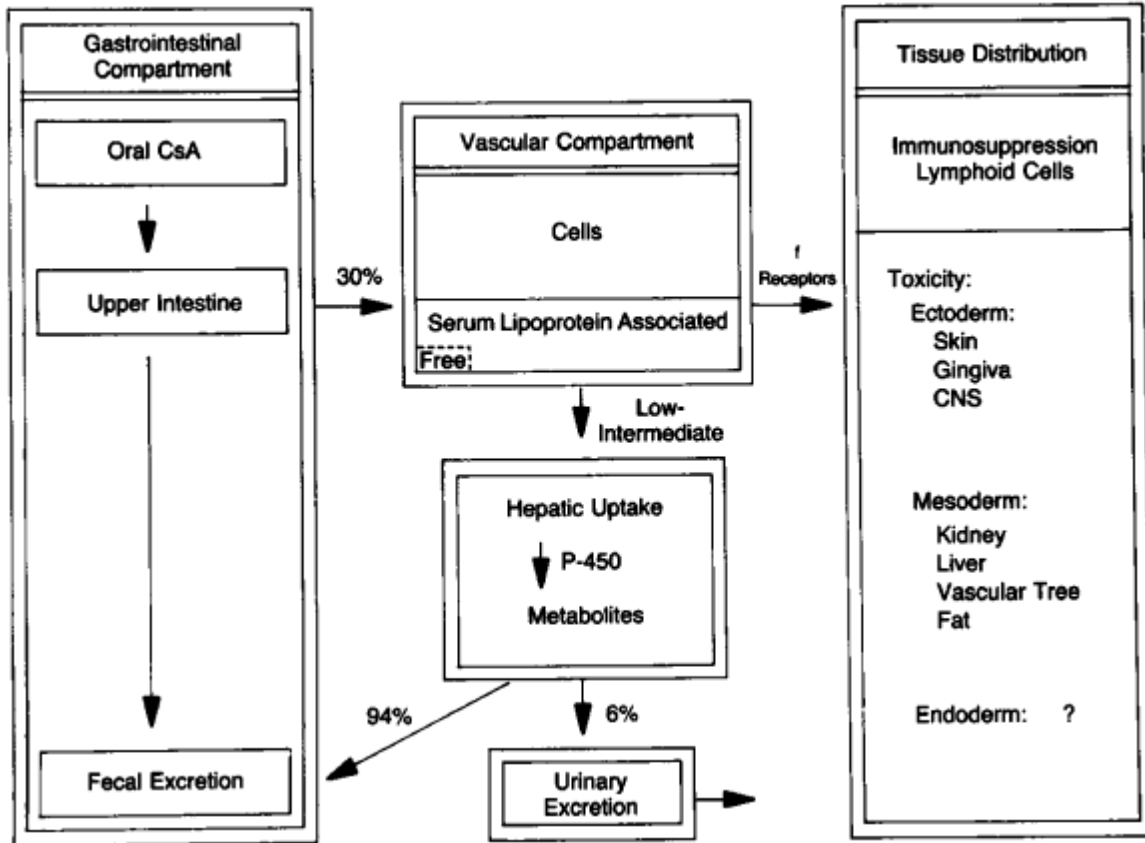


Figure 12 : Disposition du cyclosporine (Kahan et al. 1989)

III.

Pharmacogénétique

De la cyclosporine

Dans la pharmacocinétique de la cyclosporine on observe l'intervention de diverses macromolécules dont le cytochrome p450 et les P-glycoprotéines sont les plus importants et les plus étudiés (*Yates et al. 2003*), dans l'étude de ces derniers on est toujours confronté à des variations génomiques dans leurs séquences et la présence de divers polymorphismes influençant les résultats des études (*Zhang et al. 2013b*)

III.1. Les différents gènes impliqués dans la Pharmacogénétique de la cyclosporine

III.1.1. Adénosine Triphosphate–Binding Cassette B1 (*ABCB1*).

ABCB1 (*MDR1*) est l'une des nombreuses gènes d'adénosines triphosphate (ATP) binding cassette(ABC) ubiquitaires chez les êtres vivants responsable de l'intégrité des cellules, le métabolisme et l'homéostasie (*Hodges et al. 2011*). Les gènes ABC codent le transporteur et protéines du canal Ils ont un rôle majeur dans le transport d'un grand nombre de médicaments utilisés dans de nombreuses maladies et sont impliqués dans leur efficacité et leur toxicité. Pour cette raison, les changements dans le niveau d'expression et de fonctionnalité de ces transporteurs influent sur l'efficacité et la sécurité des médicaments transportés, parmi ces changements on distingue dans le gène de cette pompe d'efflux la protéine P-gp (le gène *ABCB1*) 3 polymorphisme SNP (1236C/T, 2677G/T-A et 3435C/T), et l'haplotype ainsi formé influence la biodisponibilité des anticalcineurines dont la cyclosporine en fait partis (*Brambila-Tapia, s. d.*).

III.1.3. Adenosine Triphosphate–Binding Cassette B 2 (ABCC2)

Le gène adénosine triphosphate–binding cassette B 2 (ABCC2), appartient également à la famille des ATP-binding cassette et elle est exprimée dans le foie et le rein, Tout comme la protéine P-gp, la protéine MRP2, codée par le ABCC2 est protéine d'efflux de plusieurs médicaments et métabolites. Parmi les SNP identifiés, sont celui du promoteur (C-24T), de l'exon 10 (G1249A) et de l'exon 28 (C3972T) qui influence l'activité de la protéine ce qui engendre une variabilité à la réponse (Cao *et al.* 2020).

III.1.2. Le cytochrome p450 3A4 (CYP3A4) et le cytochrome p450 3A5 (CYP3A5)

Le cytochrome p450 est le principal enzyme impliqué dans la biotransformation des diverses substances est notamment celle des immunosuppresseurs et plus précisément de la tacrolimus ou encore la cyclosporine (Stefanović *et al.* 2019), dans ce dernier il existe une sous-famille A aussi connue sous le nom de CYP3A qui appartient à la famille 3 du cytochrome en question, dans cette sous famille en y retrouve le CYP3A4 qui est une hémoprotéine localiser dans le foie et l'intestin (Yau, Loh, et Vathsala 2019). il est impliqué dans l'oxydation des xénobiotique, il est codé par le gène CYP3A4 pour ce même gène on a identifié plus de 19 variantes de gènes (Cacabelos, Cacabelos, et Carril 2019), dans la sous-famille A précédemment cité on trouve le CYP3A5 également impliqué dans le métabolisme de la cyclosporine et qui a son tour son gène est présent dans le locus CYP3A est possède de multiple polymorphisme nucléotidique et plus précisément le single-nucléotide polymorphisme (SNP) Dans le cas du CYP3A5, un allèle particulier (CYP3A5*3, 6986G>A) est associé à un défaut d'épissage de l'ARN qui est responsable de l'apparition d'un codon stop prématuré et de la synthèse d'une protéine tronquée d'activité réduite (Muller *et al.* 2020). Il est par ailleurs Intéressant de signaler que ce polymorphisme est très fréquent dans la population caucasienne où 85% des patients sont porteurs homozygotes (CYP3A5*3/*3) et donc considérés comme métaboliseurs lents pour le CYP3A5 (la présence d'un seul allèle sauvage CYP3A5*1 suffit à la production d'une quantité significative de CYP3A5). La proportion de métaboliseurs lents chute respectivement à 50 et 15% chez les Asiatiques et les Africains (Haufröid *et al.*, s. d.). Ainsi dans une étude, plusieurs semaines après la greffe rénale, les patients exprimant l'iso enzyme CYP3A5 (CYP3A5*1/*1 ou *1/*3) avaient besoin d'une dose journalière de tacrolimus au moins deux fois plus importante que les patients n'exprimant pas cette iso enzyme (CYP3A5*3/*3) pour atteindre des concentrations sanguines de vallée se situant dans l'intervalle thérapeutique (5-15 ng/ml). Cela se traduisait en pratique

par des concentrations de vallée de tacrolimus (ajustées par rapport à la dose reçue) respectivement 3 et 5,8 fois inférieures chez les patients exprimant le CYP3A5 ($CYP3A5^*1/*3$ et $CYP3A5^*1/*1$) par rapport Aux patients n'exprimant pas cette iso forme ($CYP3A5^*3/*3$) (*Haufroid et al., s. d.*). Cette étude démontrait ainsi que le polymorphisme génétique $CYP3A5$ devait être pris en considération d'autant plus qu'il permettait d'expliquer à lui seul, Dans un modèle d'analyse multivariée, environ 45% de la Variabilité interindividuelle observée dans la dose journalière de tacrolimus (*Haufroid et al., s. d.*). Il s'agissait là de la mise en évidence, Pour la première fois, d'un facteur génétique influençant de manière hautement significative la pharmacocinétique du tacrolimus chez les patients transplantés. Le polymorphisme $CYP3A5$ semblait, par contre, avoir un impact moins important sur la pharmacocinétique de la cyclosporine, sans doute à cause d'une métabolisation préférentielle de cette substance par l'iso enzyme CYP3A4 (*Naushad et al. 2019*)

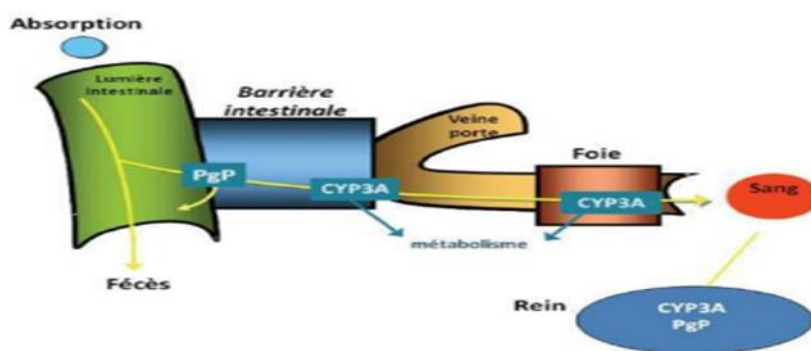


Figure 13 : Schéma général de la prise en charge de Cyclosporine (*Bag, Jyala, and Bag.2015*)

III.2. Les Transporteurs ABC

ATP-binding cassette (ABC) transporteurs sont une famille de protéines ATP-dépendants impliqués dans un grand nombre de processus qui contribuent au transport des molécules endogènes et exogènes et réglementent l'intégrité des cellules, le métabolisme et l'homéostasie (*Zajc Petranovic et al. 2019*). Ils ont un rôle majeur dans le transport d'un grand nombre de médicaments utilisés dans de nombreuses maladies et sont impliqués dans leur efficacité et leur toxicité. Pour cette raison, les changements dans le niveau d'expression et de fonctionnalité de ces transporteurs influent sur l'efficacité et la sécurité des médicaments transportés (*J-P. Marie et al 1990*).

L'étude des transporteurs ABC dans le développement du médicament est également critique. Parmi les transporteurs ABC, les protéines de résistance multidrogues sont connues pour contribuer de manière significative au multidrug-resistant cancer, mais beaucoup d'autres membres ont également démontré leur pertinence dans la réponse de variabilité interindividuelle aux médicaments dans beaucoup d'autres maladies (*Sharom, s. d.*)

Il existe 48 ABC transporteurs chez l'être humain, ces derniers sont classés en 6 sous-Famille (ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE/ABCF et ABCG). Les transporteurs ABC ont quatre domaines : deux sites de fixation des nucléotides appelé nucleotide binding domain (NBD) et deux domaines transmembranaires appelé transmembrane domains (TMDs). Les sites de fixation des nucléotides se lient et hydrolysent l'ATP, en ce temps les TMDs reconnaissent et transportent les substrats (*Vautier et al. 2006*)

III.2.1 Famille ABCA

La famille ABCA contient quelques-uns des plus grands transporteurs qui ont été liés principalement à la traite des lipides. La famille ABCB contient quatre pleins et sept demi-transporteurs, certains d'entre eux situés dans la barrière de sang-cerveau, le foie ou la mitochondrie (*Albrecht et Viturro 2007*). Ils sont impliqués dans le transport de la bile et peptides. Les transporteurs ABCC contiennent 13 molécules complètes, y compris la fibrose kystique transmembranaire régulateur de conductance (CFTR) protéine, également connu sous le nom ABCC7, qui provoque la fibrose kystique; récepteurs de surface cellulaire, tels que les récepteurs sulfonyles (ABCC8, ABCC9) et les protéines de résistance multi-médicaments (MRP). La plupart des protéines ABCC participent au transport final (*López-Fernández 2018a*)

III.2.2 Famille ABCC4

ABCC4 également connu sous le nom de MRP4 est l'un des membres « courts » de la sous-famille C d'ABC (fig. 1B) et transporte une gamme chimiquement diversifiée de molécules endogènes (y compris d'importantes molécules de signalisation) et Xénobiotiques également connu sous le nom de MRP4, transporte de nombreux xénobiotiques et est exprimé dans les organes et cellules pertinentes pour la distribution de médicaments, tels que le foie, les reins et les globules sanguins (*Whitlock et Leslie et al 2020*). Le modèle structurel de ce transporteur et l'effet de certains polymorphismes sur elle a été récemment rapporté. De même, certaines variantes ont montré à différentielle modulant le transport de métabolites

d'arsenic méthylates et anions organiques physiologiques. En ce qui concerne les principales associations cliniques d'ABCC4, le génotype TT pour rs1751034 SNP dans ABCC4 a été associée à l'augmentation de tenofovir rénale et un plus faible diphosphatetenofovir intracellulaire chez les patients atteints du VIH (*López-Fernández et al 2018*).

III.2.3 Famille ABCG2

ABCG2, également connu sous le nom BCRP, MXR ou MCF-7, est un transporteur demi ABC impliqué dans le transport des substances telles que les chimiothérapiques, les antiviraux, les antibiotiques et les flavonoïdes. Plusieurs ABCG2 Variantes d'ADN, telles que Phe489Leu (c.1465T C) et Tyr469Ala ont été montrés pour réduire sa protéine l'effet des médicaments qui interagit avec ABCG2 (*Ieiri 2012*). Cependant, une autre variante, rs2231142 (Gln141Glu), est la plus pertinente pour la pharmacogénétique d'ABCG2. L'allèle de ce SNP est associé à une diminution de la réponse allopurinol chez les patients atteints de goutte (*López-Fernández 2018b*). Les Personnes avec le Génotype GG peut avoir une meilleure réponse lorsqu'il est traité avec allopurinol et peut exiger une dose inférieure par rapport aux patients avec les génotypes GT ou TT. Contrairement aux patients prenant allopurinol, ceux prenant la rosuvastatine et portant l'allèle de T pour rs2231142 SNP dans ABCG2 peut avoir une concentration plus élevée de plasma du médicament et une plus grande réponse déterminée par une réduction plus importantes du cholestérol de lipoprotéides à faible densité en hypercholestéromie et farctus du myocarde (*López-Fernández 2018b*).

III.2.4. Famille ABCB1

MDR1 ou ABCB1 est un transporteur efflux impliqué dans le transport de plusieurs médicaments et de nombreux processus. Il y a une variabilité interindividuelle importante qui peut être expliquée principalement par des variantes génétiques. Trois polymorphismes ont été étudiés, deux SNP synonymes, 1236C T, (rs1128503) dans l'exon 12 et 3435C T (rs1045642) dans l'exon 26; et un SNP non synonyme, 2677G T/A (rs2032582) à l'exon 21 (*Prasad et al.2020*). Ces trois polymorphismes sont en lien déséquilibre et définir, entre autres, le haplotype ABCB1*2. Ce haplotype est lié à une activité accrue dans MDR1. Néanmoins, les données contradictoires de ces polymorphismes font qu'il est difficile de les appliquer dans la pratique clinique (*Prasad et al. 2020*).

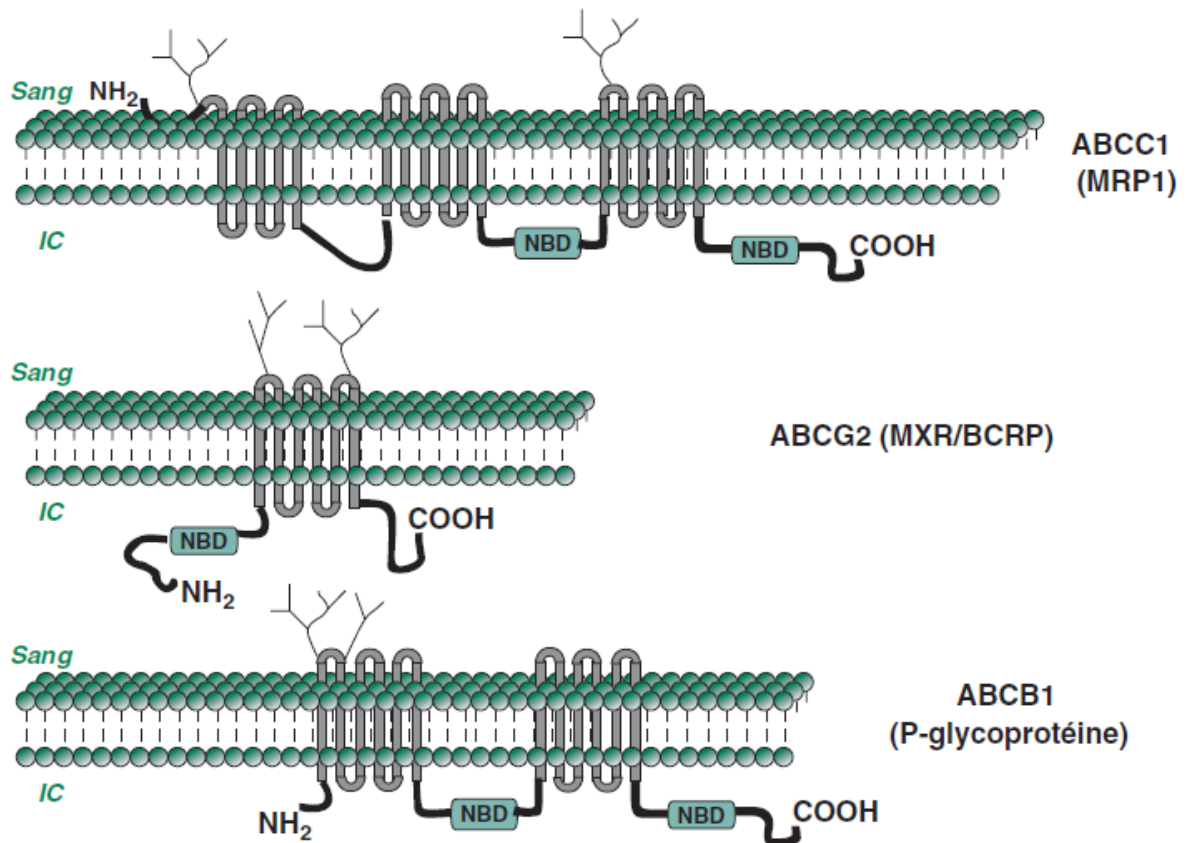


Figure 14 : Structure transmembranaire de trois pompes d’efflux ATP-dépendantes (ABCB1, ABCC1 et ABCG2). IC : milieu intracellulaire ; NBD : nucleotide binding domain (*Vautier et al. 2006*)

III.2.4.1. La structure du gène ABCB1

La P-Glycoprotéine est codée par le gène ABCB1 qui est localisé dans le chromosome 7 dans les régions 7q21.12. Le gène comprend 29 exons dans une région génomique qui couvre 251.3 kb (*Hodges et al. 2011*).

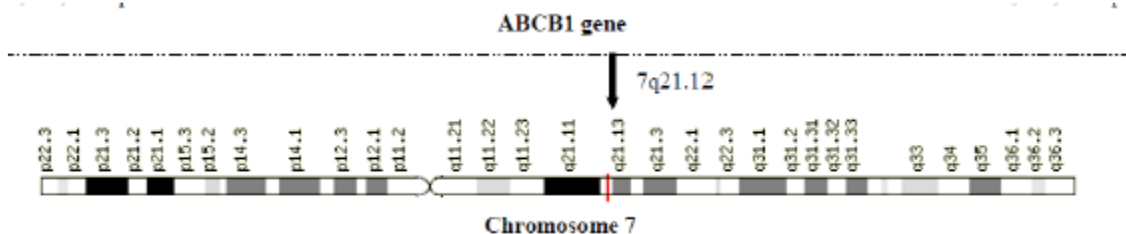


Figure 15 : La Structure du gène ABCB1 et sa localisation sur le chromosome 7 (*Zahari et al. 2017*)

III.2.4.2. La protéine de ABCB1 (P-Glycoprotéine) :

ABCB1 est une protéine transmembranaire N-glycosylée d'une masse moléculaire de 170 kDa et composée de 1 280 acides aminés. Elle est constituée de 2 domaines polypeptidiques possédant chacun six segments transmembranaires (TM). La région hydrophile cytoplasmique est formée d'une boucle intracellulaire comprenant un site de fixation des nucléotides appelé nucléotide binding Domain (NBD), où se fixe préférentiellement l'ATP. Ce site est le lieu de l'hydrolyse de l'ATP fournissant l'énergie nécessaire au fonctionnement du transporteur (*Vautier et al. 2006*).

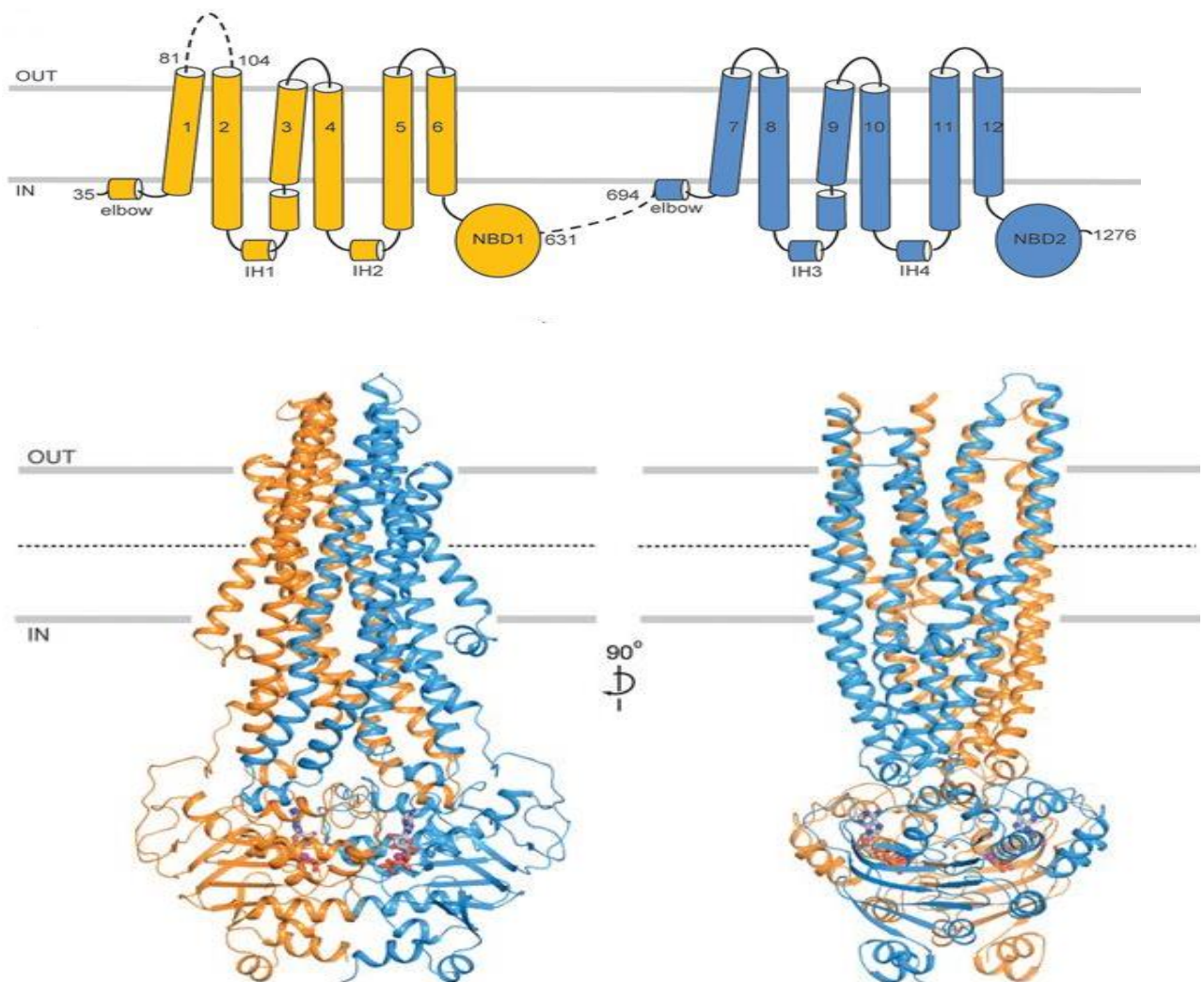


Figure 16 : Structure 3D de la protéine ABCB1 (*Kim et Chen 2018*)

III.2.4.3. Rôles

Étant responsable de l'efflux des substances médicamenteuses hors du cytoplasme et compte tenu de ses localisations, ABCB1 est impliquée dans la pharmacocinétique des médicaments en ce qui concerne l'absorption, la distribution et l'excrétion. Au niveau intestinal, elle limite l'absorption et par conséquent elle module la biodisponibilité orale des médicaments (Turner, Alam, et Bendayan 2020). Cependant, son effet sur la biodisponibilité de certains médicaments peut être masquée par une forte perméabilité intestinale. L'impact de ABCB1 sera plus visible pour des médicaments à marge thérapeutique étroite ou dont l'absorption intestinale est faible. Elle limite également le processus d'élimination au niveau rénal et biliaire. Enfin, elle participe à la protection et la détoxification du système nerveux central en limitant l'entrée des molécules au niveau de la BHE (Turner, Alam, et Bendayan 2020).

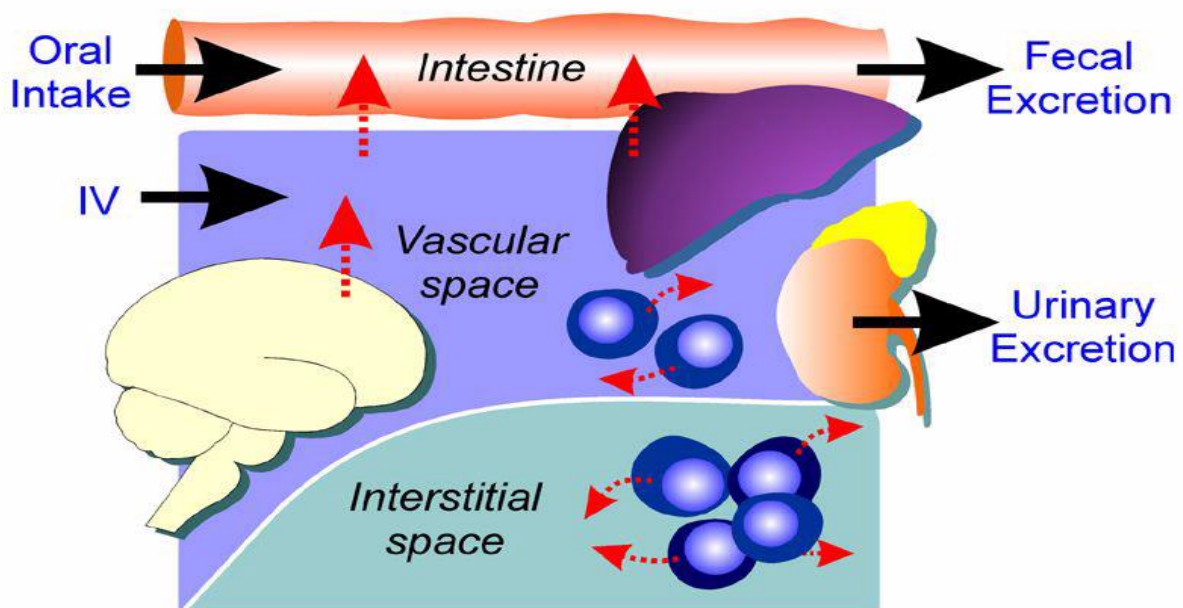


Figure 17 : Schéma représente le rôle de la protéine ABCB1 dans le transport des médicament

L'une des caractéristiques de ABCB1 est sa grande variété de substrats tant du point de vue de leur structure chimique, de leur masse moléculaire que de leur mécanisme d'action pharmacologique. Du fait de leur localisation transmembranaire, les substrats de ABCB1 sont des molécules à caractère hydrophobe, de masse moléculaire variable allant de 250 Da

(cimétidine) à 1 202 Da (ciclosporine). On distingue cinq grandes classes chimiques de molécules transportées par ABCB1 :

- les bases faiblement lipophiles (méthotrexate),
- les cations lipophiles,
- les composés neutres polycycliques (digoxine, ciclosporine A),
- les molécules amphiphiles,
- les peptides hydrophobes (*Vautier et al. 2006*).

III.2.4.4. Localisation

La protéine est exprimée à des niveaux bas dans la plupart des tissus, mais elle se trouve dans des quantités beaucoup plus élevées à la surface apicale des cellules épithéliales doublant le côlon, l'intestin grêle, les conduits pancréatiques, les conduits de bile et le rein tubules proximales, et la glande surrénale. Ainsi, les cellules épithéliales avec des rôles excrétoires en général expriment Pgp (*Marzolini 2004*). Les transporteurs sont également situés dans les cellules endothéliales de la barrière du cerveau de sang, le sang témoigne de la barrière, et la barrière de tissu sanguin de sang, et a récemment été trouvé à jouer un rôle dans la barrière de l'oreille sang-intérieur, où il est exprimé dans les cellules endothéliales capillaires de la cochlée et le vestibule (*Ieiri 2012*).

Ainsi, le rôle de Pgp dans les barrières de sang-cerveau et de tissu sanguin est susceptibles de protéger ces organes contre des composés toxiques qui entrent dans le système circulatoire (*Marzolini 2004*).

Pgp est exprimé à des niveaux élevés à la surface lumineuse des cellules épithéliales secrètes dans l'enceinte endométriome, ainsi que le placenta, où il peut fournir une protection pour le fœtus. La protéine se trouve également à la surface des cellules hématopoïétiques, où sa fonction reste énigmatique (*Wolking, s. d.*).

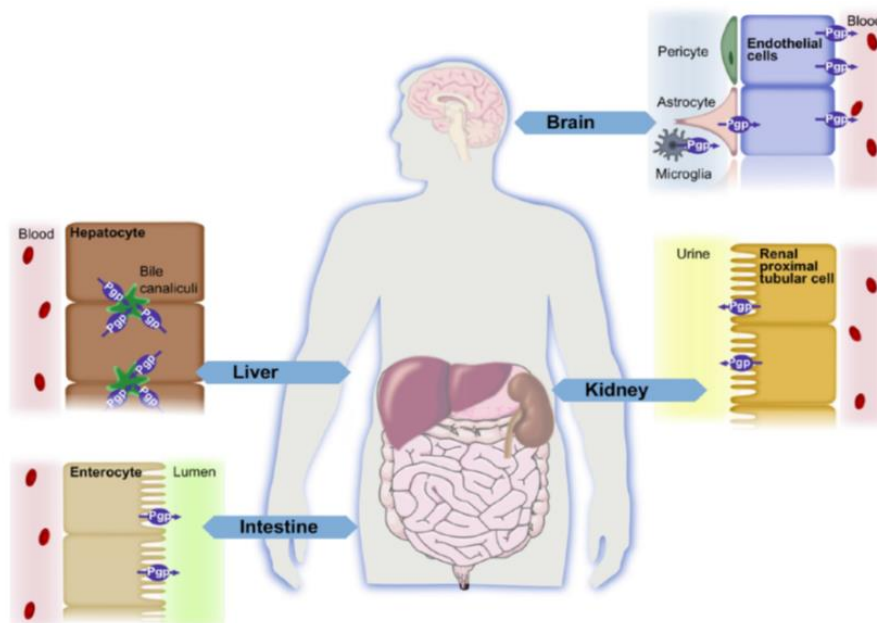


Figure 18 : Localisation des transporteurs ATP-binding cassette transporter B1 (ABCB1; Pgp)

III.2.4.5. Les polymorphismes rs1045642 (3435T > C, Ile1145Ile)

Le polymorphisme c.3435C>T fait partis des polymorphismes les plus étudié à côté de ces deux variant (1236C/T, 2677G/T) jusqu'à présent plus de 50 variantes ont été identifier chez le gène ABCB1 (*Brambila-Tapia, s. d.*), la variant 3435C >T est un polymorphisme silencieux dans l'exon 26 du gène d'intérêt, il implique la transition du nucléotide (C) au nucléotide (T) dans le nucléotide 3435, de ceci ne résulte aucune substitution d'acide aminé qui est à la base une isoleucine mais il y'a un changement dans le codon qui le représente le nouveau acide aminé est représenté par le codon ATC a la place du 1er qui est représenté par ATT dans le résidu 1145 dans le second domaine de liaison d'ATP qui est localisé dans une boucle cytoplasmique, de ce changement nait une altération dans le fonctionnement de P-gp à cause d'une discordance dans son expression et alors le P-gp avec un nombre réduit ne peut plus parvenir à faire son rôle correctement qui est de, les deux autre polymorphisme ABCB1 c.2677G>T/A et ABCB1c.1236C>T peuvent également avoir un effet nocif sur le fonctionnement de la P-gp par un même mécanisme de substitutions de nucléotide, le 1^{er} est situé au niveau de l'exon 21 en position 2677 et il s'agit d'un polymorphisme faux sens qui provoque le changement de (G) par (T) ou par (A) provoquant ainsi 2 de possibilité de changement (GCT alanine, TCT serine, ACT thréonine; Ala893Ser/Thr) On le trouve dans le résidu 893 dans une boucle cytoplasmique de P-gp.. Par contre le second qui est tout comme

Le polymorphisme c.3435C>T un polymorphisme silencieux dans exon 12 de ABCB1. Ce polymorphisme implique la transition de la cytosine (C) thymine (T) au nucléotide 1236, qui n'entraîne pas de changement d'acide aminé (glycine GGC, glycine GGT; Gly412 Gly) à résidu 412 dans une boucle cytoplasmique avant le deuxième domaine transmembranaire de P-gp (*Kimchi-Sarfaty et al. 2007*).

Tous les changements apparus sur la séquencé génomique ou protéiques peuvent être à l'origine de divers pathologie notamment, La maladie d'Alzheimer par une l'accumulation de substance amyloïde (protéines Ab1-40 et Ab1-42) se traduisant par une diminution des capacités de détoxification du cerveau, une atteinte de maladie de parkinson à cause du MPP+1-méthyl-4-phényl-4-propionpipéridine (MPPP) qui est un analogue structural de la mépéridine qui s'accumule dans les neurones dopaminergiques et provoque la mort neuronale, a ces effets nocif en ajoute une altération dans la biodisponibilité de un certain nombre de médicament avec la cyclosporine y compris (*Vautier et al. 2006*)

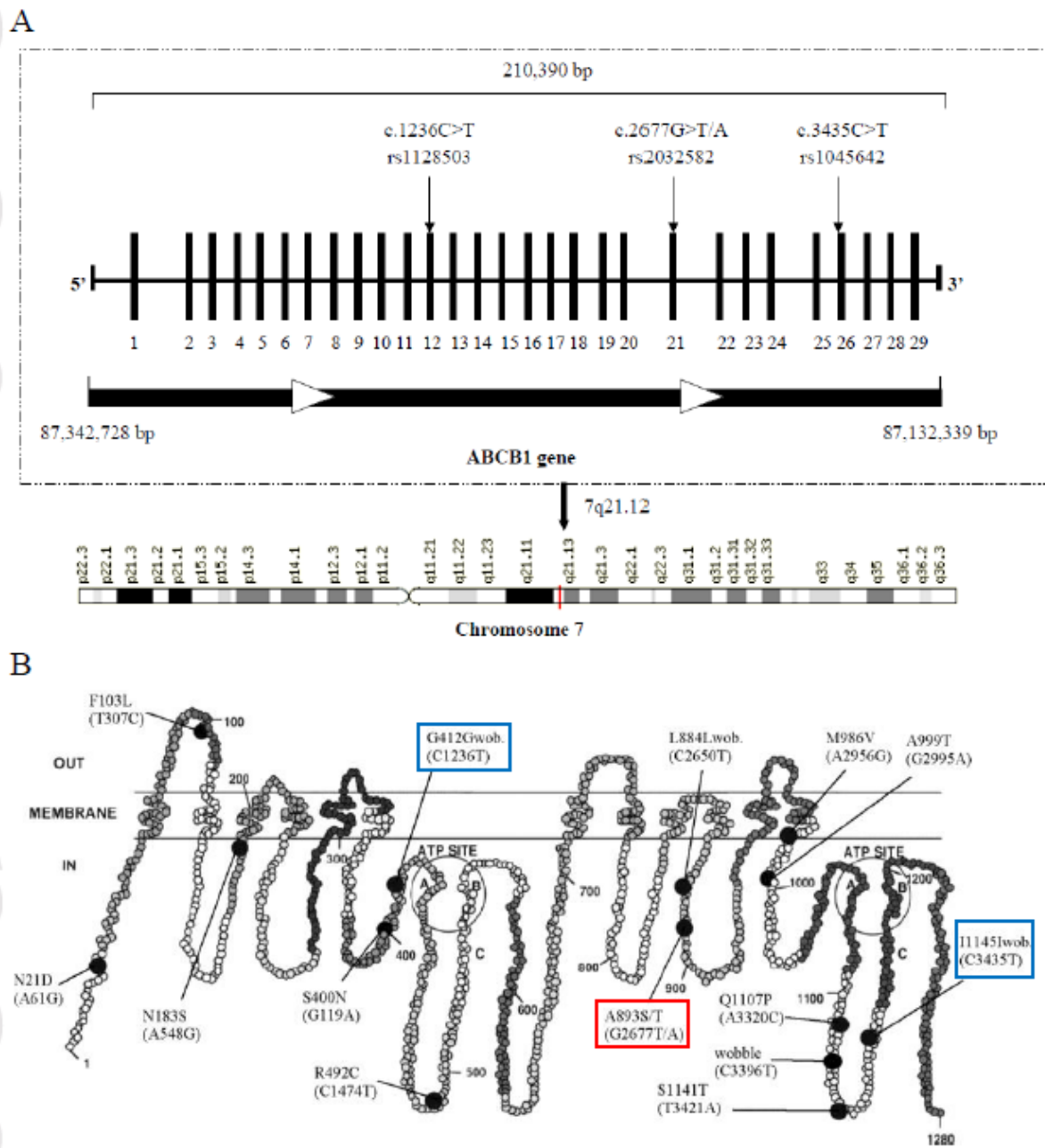


Figure 19 : La Proteine ABCB1 et la structure du gene montrant les polymorphismes étudié (Zahari et al. 2017).

III.2.4.6. Impact du Polymorphisme ABCB1 rs1045642 (3435T > C, Ile1145Ile) sur la réponse au traitement Cyclosporine A :

La cyclosporine est l'un des substrats du transporteur P-gp et il est suggéré que le polymorphisme SNP présent dans le gène ABCB1 à une influence sur la concentration intracellulaire de cette molécule et par conséquent avoir un impact sur son activité immunosuppressive (Crettol et al. 2008), il a été démontré dans des études que le polymorphisme 1236C>T et 2677G>T (A893S) n'avaient aucune influence pas la

concentration intracellulaire de cyclosporine par contre dans les cas des polymorphisme 3435C>T et 1199 G>A il y a une influence sur la concentration intracellulaire de la cyclosporine, ce qui fait que l'activité de glycoprotéine est associé à ces variations qui se manifeste en réduisant ainsi l'accumulation intracellulaire de cyclosporine ou bien sa diminution, le polymorphisme 3435C>T de son côté a conduit à une augmentation de concentration intracellulaire du cyclosporine tandis que le polymorphisme 1199G > A conduit à une diminution intracellulaire de la cyclosporine , dans le cas des personnes porteur du polymorphisme 1199G > A il existe un degré de résistance plus faible à plusieurs substrats cytotoxiques de la P-gp (plus activité de la P-gp) par conséquence ce dernier a conduit à un degré de résistance plus élevé (c'est-à-dire une activité de P-gp plus élevée), tous deux par rapport aux cellules de type sauvage(Wang et al. 2019). Les mécanismes par lesquels le SNP 1199G> A modifié l'activité de la P-gp ne sont pas encore connus, mais la localisation de ce SNP près du premier domaine de liaison ATP et du domaine transmembranaire 6, qui est important dans la liaison du substrat, suggère une influence sur Activité ATPase ou sur la liaison, l'affinité ou le transport du médicament (*Wang et al. 2019*).

En revanche, la concentration intracellulaire de cyclosporine plus élevée est retrouvé chez les porteurs de l'allèle 3435T ainsi que des génotypes 3435CT et TT suggère une diminution de l'activité Pgp associée à cette variante, le SNP synonyme de 3435C> T a été le premier SNP ABCB1 à être associé à une altération de l'expression des protéines, avec l'observation d'une double réduction de l'expression duodénale de la P-gp et d'une augmentation de la concentration plasmatique de la digoxine chez les personnes porteurs de 3435TT. Bien que des résultats contradictoires aient été publiés ultérieurement sur l'impact de ce SNP sur la cinétique de plusieurs substrats de P-gp et sur l'activité et l'expression de P-gp, des études sur l'influence du SNP 3435C> T sur l'activité et l'expression de P-gp sur les lymphocytes sont en accord avec les présents résultats, avec une activité P-gp plus élevée sur les lymphocytes des porteurs 3435CC que sur les transporteurs de 3435TT (*Machado et al. 2003*), dans d'autres études la variante P-gp du 3435T a été associée à une diminution de Stabilité de l'ARNm . Une étude analogue a cependant révélé un niveau semblable d'ARNm et de protéine dans les protéines variantes et celles du type sauvage, mais une conformation modifiée de la protéine variante, affectant ainsi la structure du substrat et les sites d'interaction des inhibiteurs, avec tous ces changement provoqué par ce polymorphisme une pertinence clinique de la mesure de la concentration intracellulaire du cyclosporine par rapport à la concentration sanguine de ce

dernier doit être évaluée de manière prospective chez les transplantés pour optimiser sa prescription et éviter toute forme d'erreurs médicales menaçant la vie des patients (*Turner, Alam, et Bendayan 2020*)

Problématique et objectifs

L'apparition du traitement immunosuppresseur ont permis l'amélioration constante de la survie des reins transplantés et d'atteindre la liste des donneurs et des receveurs potentiels, Grâce à une meilleure prévention des risques du rejet (**Hertig and Rondeau ,2006**). Actuellement, les inhibiteurs des calcineurines (CNI), comprenant le tacrolimus (Prograft®) et la ciclosporine (Néoral®), ces deux médicaments restent la base d'un traitement immunosuppresseur standard. La ciclosporine a, en quelque sorte a révolutionné la greffe d'organe, offrant depuis le début des années 1980, un outil très efficace pour la suppression des réactions immunitaires médiées par les lymphocytes T (**Milicevic et al, .2007**). La ciclosporine est expulsée de son site d'action par le transporteur glycoprotéine P (P-gp), L'expression et l'activité de cette protéine, codée par le gène ABCB1, varie fortement d'un individu à l'autre, en raison de facteurs génétiques (**Ansermot et al, .2008**). Plusieurs variantes génétiques du gène ABCB1 influencent l'expression de la PGP chez l'homme. Le polymorphisme génétique le plus étudié du gène ABCB1 est 3435 C>T, ce dernière influence l'expression du gène ABCB1 dans divers types de cellules (**Bochud et al, .2008**). Par conséquent la biodisponibilité de ce médicament déterminer par L'expression et l'activité de ce transporteur dans l'organisme (**Marsousi et al, .2013**) . Plusieurs travaux de recherche été réalisés afin d'évaluer l'importance relative de ce polymorphisme génétique et leur impact sur la réponse au traitement par la cyclosporine A chez des patients adultes transplantés rénaux dans différents populations (**Kim et al., 2001**). Les résultats préliminaires de cette étude permettront de mettre en évidence les haplotypes impliqués dans la variabilité de la réponse des patient vers la ciclosporine. La population d'étude été composée de quinze patients tous transplantés rénaux sous cyclosporine A comme traitement. Ces patients sont originaires de l'Ouest Algérien. Cette étude aborde des aspects analytiques et pharmacogénétiques du suivi thérapeutique des immunosuppresseurs. Son objectif principal était de déterminer l'influence du polymorphisme C3435T sur la pharmacocinétique de la ciclosporine. Le premier volet de cette étude a consisté d'une part, à faire une recherche bibliographique afin de s'imprégner de la physiopathologie qui démontre l'impact de ce polymorphisme sur la réponse au traitement. D'autre part, à réaliser des amplifications du gène ABCB1 et explorer le polymorphisme C3435T selon la technique PCR-RFLP. Le deuxième volet de cette étude consiste à doser La ciclosporine à l'aide de la technique EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay Technique) pour quantifier cette molécule dans le sang et aussi pour réaliser le dosage des paramètres biochimiques, afin de déduire la fonction rénale. Dans le dernier volet, nous avons étudié la distribution des fréquences allélique et génotypique de ce polymorphisme selon les résultats de dosage de ces cinq paramètres (la concentration de la cyclosporine, l'urée, créatinine, acide

urique et l'albumine), **sur 15 l'échantillon** de patients. Cette étude a apporté une réponse préliminaire quant à l'influence de ce polymorphisme sur la réponse au traitement par Cyclosporine A. L'objectif secondaire a consisté en une comparaison de nos données à celles rapportées dans la littérature.

*Population d'étude
et méthodes*

I. Matériels

I.1. Population d'étude

Notre travail a été réalisé au niveau de l'unité du service de cytogénétique et de biologie moléculaire de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO) sur quinze patients transplantés rénaux et qui ont par la suite été traités par la cyclosporine A pendant une durée de 6 à 12 mois. Tous originaires de l'Ouest Algérien, les patients de cette étude ont été suivis par le service de pharmacologie de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO). Les dossiers des patients sont composés de fiche de renseignements sur laquelle sont mentionnées des informations relatives à chaque patient remplies le jour du prélèvement. Après avoir recueilli ces informations, un seul échantillon de sang a été prélevé (sur tube EDTA) lors des visites de routine, avec un consentement signé par les patients inclus dans l'étude afin de réaliser des analyses génétiques et biochimiques (annexe 04). Seuls les receveurs de transplantation rénale qui avaient reçu une greffe au moins 6 mois avant l'étude et qui avaient été sous immunosuppression sous CsA, étaient éligibles pour la participation. Ces patients ont présenté ou non un saignement depuis l'initiation de traitement. Les femmes enceintes qui ont interrompu le traitement ont été exclues de l'étude. Tous les patients qui prennent, des médicaments connus pour interagir avec la calcineurine inhibiteurs, tels que les inhibiteurs calciques (diltiazem, nifédipine et vérapamil), antiépileptiques (phénytoïne et carbamazépine), les antimycosiques (fluconazole et kétoconazole) et les antibiotiques macrolides (érythromycine et clarithromycine), n'étaient pas éligibles à l'entrée dans l'étude. Ces échantillons de sang ont été prélevés pour déterminer l'efficacité du traitement par des techniques de biochimie analytique et aussi pour la détermination du génotype par des techniques biologiques moléculaires correspondant à chaque échantillon.

I.2. Recueil des données

Tous les patients subissent une évaluation clinique incluant le poids corporel et le dépistage de tous les médicaments concomitants avec une interaction possible entre CYP3A et / ou P-gp. La dose de la cyclosporine ajustée en fonction du poids (mg / kg par jour) a été calculée et leur dose quotidienne (mg) a été enregistrée. Les données démographiques et les données cliniques recueillies dans le dossier médical du patient. Comprend respectivement l'âge, le sexe, la taille, le poids et la durée du traitement par cyclosporine A, la dose de cyclosporine, le nombre de transplantations et les maladies associées.

II Méthode

II.1. Analyse biochimique

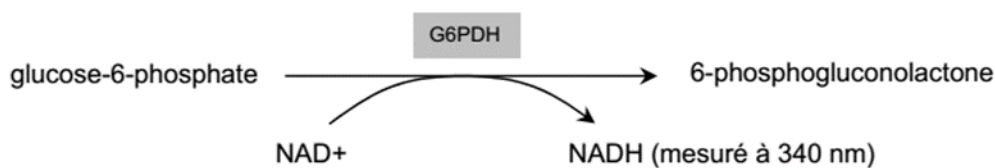
Les dosages sanguins ont été effectués dans le plasma à partir de prélèvements réalisés sur des tubes EDTA (Acide Ethylène Diamine Tetraacétique), afin de déterminer la concentration plasmatique d'un immunosuppresseur chez des patients transplantés rénaux et pour réaliser le dosage des paramètres biochimiques (Urée, créatinine, acide urique et l'albumine). En raison d'une distribution importante et variable dans les érythrocytes, le dosage de la ciclosporine est actuellement effectué à partir du sang complet par des méthodes analytiques (**Ansermot et al, .2008**). Il s'agit principalement des techniques immunologiques, mais également de méthodes séparatives par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à une détection UV ou à une détection par spectrométrie de masse (SM). Les techniques immunologiques sont largement utilisées par les laboratoires cliniques en raison de leur facilité d'emploi et d'un débit d'analyse élevé par rapport aux méthodes séparatives. Ces méthodes ont cependant l'inconvénient de donner des réactions croisées avec certains métabolites pouvant ainsi conduire à des surestimations cliniquement significatives des taux réels en molécule mère. En raison de leur sélectivité pour les molécules mères et leur sensibilité, les techniques séparatives sont actuellement considérées comme les méthodes de choix pour la quantification des immunosuppresseurs (**Gandia et al, .2011**).

II.1. 1. Techniques immunologiques

Le dosage sanguin de la ciclosporine A a été réalisée par des techniques immunologiques, les immuno essais regroupent l'ensemble des méthodes analytiques quantitatives mettant en jeu la réaction immunologique antigène-anticorps. Ces méthodes utilisent un troisième élément, le traceur, qui résulte de l'association de l'antigène ou de l'anticorps avec un marqueur (radioélément, enzyme, luminophore). Différentes techniques sont utilisées pour le dosage des immunosuppresseurs, il s'agit de : CEDIA (Roche Diagnostics-Microgenetics), EMIT (Dade Behring-Cobas), ACMIA (Dade Behring-Dimension), FPIA (Abbott-TDx/AxSYM) ou RIA (DiaSorin IncStar) (**Gandia et al, .2011**). La ciclosporine a été dosée dans le sang total par Enzyme Multiplie Immunoassay Technique (EMIT), Cette technique est fondée sur la compétition entre La ciclosporine à dose et la ciclosporine marquée par une enzyme la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH), pour fixer un anticorps monoclonal anti-ciclosporine. Une fois la ciclosporine marquée est liée à l'anticorps, la G6PDH perd son activité enzymatique de convertir le glucose-6-phosphate en

6-phosphogluconolactone alors que le coenzyme NAD^+ est réduit en NADH , résultant en une modification de l'absorbance à 340 nm, en raison de l'encombrement stérique par contre L'activité enzymatique est conservée lorsque la ciclosporine marquée est libre. Plus la concentration en ciclosporine dans l'échantillon à doser est élevée, plus il y aura de ciclosporine marquée libre (non liée à l'anticorps) et plus l'activité de l'enzyme sera importante. (Charlier and Plomteux, 1996).

A) Réaction enzymatique



B) Réaction immunologique de compétition

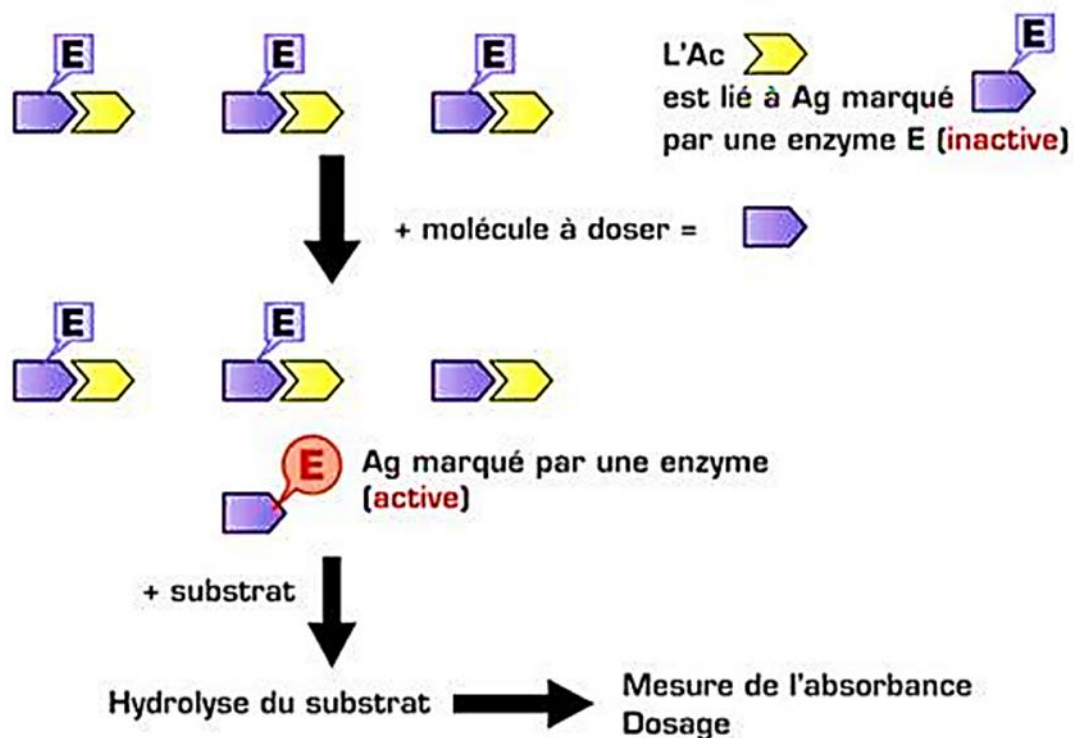


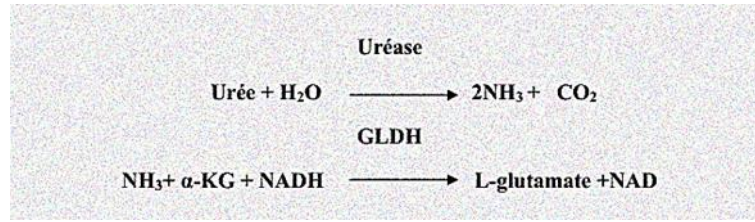
Figure 20: Principe de la technique immunologique EMIT.

II.1. 2. Dosage des paramètres biochimiques ;

Les reins filtrent le sang et produisent l'urine. Lorsqu'ils fonctionnent moins bien, les déchets créés par votre organisme ne sont plus éliminés correctement et des substances telles que l'urée (produit de dégradation des protéines) et la créatinine. si pour cela les taux d'urée et de créatine augmentent dans le sang et diminuent dans l'urine ([LE REIN LA "MACHINE À LAVER"](#)). L'insuffisance rénale chronique (IRC) est définie par la diminution irréversible de la filtration (FG) avec augmentation de la créatininémie et de l'urée sanguine (urémie) par diminution de la clairance de la créatinine, Elle résulte de la non-récupération après une agression rénale aiguë ou bien de l'évolution d'une maladie rénale chronique (MRC) (**V. Bourquin and P.-Y. Martin.2006**). Le dosage de l'urée, créatinine, acide urique et l'albumine se fait pour l'évaluation de la fonction rénale par des Méthodes enzymatiques et colorimétriques. Les paramètres biochimiques ont été dosés directement depuis le plasma sur un automate.

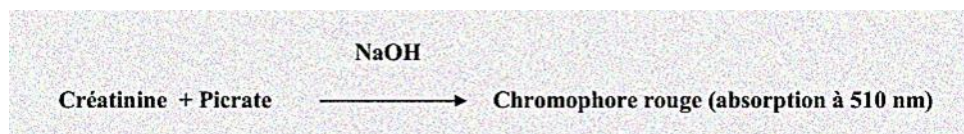
II.1.2.1. Dosage de L'Urée

C'est un composé organique azote terminale de petite masse moléculaire (60Da) provenant du catabolisme des protéines de l'organisme. C'est un mauvais marqueur du débit de filtration glomérulaire car, leur production varie elle-même selon l'apport protéique alimentaire, lyse cellulaire et du débit intratubulaire d'eau. En revanche l'urée reste utilisée pour distinguer une baisse de la perfusion rénale d'une nécrose tubulaire aiguë. La baisse de la fraction d'excrétion de l'urée et son augmentation sanguine plus que la créatininémie oriente vers la nécrose tubulaire aiguë (**Hannedouche and Offner.2011**). La concertation de l'urée mesurée par une méthode cinétique enzymatique. Au cours de la réaction, L'uréase hydrolyse spécifiquement l'urée en ammonium et en dioxyde de carbone. L'ammoniac est catalysé par l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH) pour amener de manière réductrice l' α -cétoglutarate (α -KG) en glutamate, avec une oxydation simultanée de la nicotinamide-adénosine dinucléotide (NADH) en nicotinamide-adénine dinucléotide (NAD). La diminution de l'absorbance dû à la disparition du NADH, mesure pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration de l'urée dans le sérum.



II.1.2.2. Dosage de la Créatinine

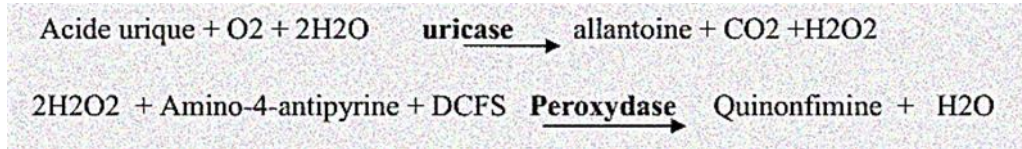
La créatinine (masse moléculaire 113Da) est un produit de la dégradation de la créatine des muscles squelettiques, leur production est stable et dépend essentiellement de sa masse musculaire et de l'apport alimentaire en viande (**Hannedouche and Offner.2011**). Elle est essentiellement éliminée par voie rénale par filtration glomérulaire mais aussi par sécrétion tubulaire. Or, cette sécrétion tubulaire est très variable d'un individu à l'autre. Elle peut être bloquée par la prise de certains médicaments entraînant une augmentation de la créatininémie sans modification du DFG (**D. Tsinalis and I. Binet.2006**). Le dosage sanguin de la créatinine constitue une méthode simple pour estimer la fonction rénale à partir du débit de filtration glomérulaire(DFG) ou bien par sa clairance rénale grâce à des équation (**Combe and Kourilsky,2014**). La concentration de la créatinine déterminée par une par méthodes colorimétriques basées sur la réaction de jaffe. Le principe général de cette méthode consiste à mesurer, à 510 nm, l'intensité de la coloration du complexe rouge orangé formé par la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin. Le taux d'augmentation de l'absorbance à 510 nm due à la formation de ce chromophore est directement proportionnel à la concentration de créatinine dans l'échantillon (**DELA TOUR et al, .2011**).



II.1.2.3. Dosage de l'acide urique

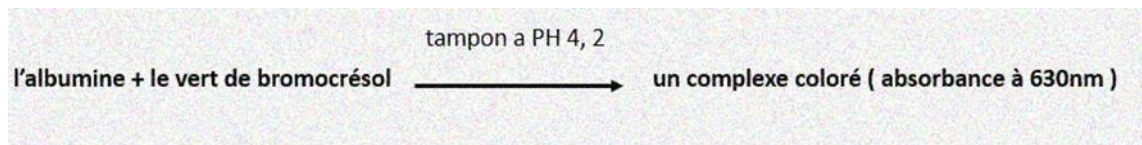
C'est le produit principal du catabolisme des nucléosides puriques (adénosine et guanosine) chez l'homme. L'augmentation d'acide urique dans le sang, peut être rencontre dans le cas de trouble de la fonction rénale, hyperproduction métabolique des purines. Le dosage de l'acide urique est fait par une méthode colorimétrique, la réaction basée sur l'oxydation de l'acide urique par l'urinasse en l'allantoïne et le peroxyde d'oxygène. Le peroxyde d'oxygène entraine dans une réaction avec la 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 3.5

dicloro-2hydroxybenzene sulfonâtes, catalysée par la peroxydase pour donner un produit coloré. L'absorbance de ce complexe de couleur rouge mesure à 520nm, est proportionnelle à la quantité d'acide urique (**H. Izzedine and G. Deray.2011**).



II.1.2.4. Dosage de l'albumine

C'est un constituant normal du plasma, habituellement présent dans l'urine en très petite quantité seulement parce qu'il est trop volumineux pour être filtré. Une baisse du taux d'albumine dans le sang, indique une augmentation de la perméabilité de la membrane de filtration par la suite d'une élévation de la pression artérielle ou d'une lésion des cellules rénales. Le dosage consiste à déterminer la concentration de l'albumine suit à l'absorbance du complexe forme, grâce à leur fixation sur le vert de bromocresol (Colorant) dans un milieu tamponné a PH 4,2. L'absorbance à 630nm est proportionnelle à la concentration en albumine (**J.-L. Beaudoux et al, .2010**).



II.1.3. Stratification selon la Variabilité de réponse pharmacocinétique ;

L'efficacité des thérapies immunosupresseur diminuer en cas de forte expression de ce transporteur et perturbe le succès de la transplantation rénal. La mesure des taux sanguins de ciclosporine après transplantation rénale a permis de distingué entre les répondeur et non répondeur au traitement par l'immunosuppresseur cyclosporine A. le seuil de la concentration de la cyclosporine A compris entre 70 et 90 et Ceux qui n'étaient pas dans cette fourchette ont été considérés comme mauvais répondeurs, soit dans cette fourchette grâce à une surexpression de ce transporteur ou bien inferieure de cette fourchette grâce à une sous expression de ce transporteur . Il est utile de prend en considération les paramètres suivants : Urée, créatinine, acide urique et l'albumine afin d'évaluer la fonction rénale. La

néphrotoxicité des CNI a été mise en évidence chez l'individu porteur les génotypes C3435TT .il a été corrélée à une expression réduite de ce transporteur sur le versant apical de la cellule tubulaire rénale, qui lie à une augmentation de la concentration intracellulaire du médicament. Donc Ce polymorphisme influence la réponse au traitement d'une manière indirecte.

Tableau 1: les seuils normaux des cinq paramètres inclus dans l'étude.

Paramètre	Valeurs Optimale
Concentration du Cyclosporine (ng/ml) (mois \geq12)	70-90
Urée (mmol/l soit g/l)	F : 2.5 et 7 soit 0.15 à 0.42 H : 3 et 7.5 soit 0.18 à 0.45
Créatinine (mg/L)	5-13
Acide urique (mg/L)	F : 25 et 60 H : 35 et 70
Albumine (g/l)	35-45 g/l

II.2. Génotypage ;

La détermination du génotype C3435T de gène ABCB1 se fait par les techniques de la biologie moléculaire à partir d'une quantité et qualité suffisant d'ADN. L'extraction de l'ADN a été réalisée grâce aux nombreuses méthodes classiques, manuelles qui assurent l'isolement de l'ADN par l'utilisation des solutions chimiques de différentes concentrations, ainsi qu'un appareillage spécifique (centrifugeuse, bin mary) qui facilitent l'isolement de l'ADN ou bien par l'automate Maxwell en suivant le protocole recommandé par le fournisseur (voir annexe 1). Ceci permet d'extraire et de purifier l'ADN partir 300 μ l de sang total de manière automatisée pendant 30 à 45 minutes à l'aide des kits d'extraction et de purification, dont le principe est de lyser les cellules du sang et de fixer ADN sur des particules de silice (**Manuel Technique Maxwell $\text{\textcircled{R}}$ 16 Blood DNA Purification System**). L'ADN de chaque échantillon était ensuite dilué avec l'eau pour préparation injectable et conservés en vue d'amplifier le génotype C3435T par PCR (polymerase chain reaction) afin d'estimer les haplotypes du gène ABCB1 pour chaque individu par PCR- RFLP. L'amplification de ce polymorphisme a été réalisée par thermocycleur de type C 100 Touch et Le génotypage de ce polymorphisme génétique a été réalisé en utilisant le Gel Doc XR type BIO-RAD (voir

annexe 1). Par la suite, les patients ont été classifiés en 3 groupes de génotypes : non porteur (des patients homozygotes sauvages CC), hétérozygote (CT), ou porteur homozygote (des patients homozygotes TT).

II.2.1. Extraction de l'ADN ;

L'ADN génomique a été extrait des globules blancs (lymphocytes, macrophages...etc.) Circulants du sang. L'extraction d'ADN était réalisée à partir 4 ou 8 ml d'un échantillon de sang prélevés sur tube EDTA (comprend un anticoagulant) grâce à une méthode classique, La méthode saline de NaCL en suivant le protocole de l'extraction manuelle (voir annexe 2). Pour notre cas, l'extraction de l'ADN à partir du sang demande en premier lieu, l'éclatement des globules rouges se fait par une solution de lavage (TE 10/10 ; solution constitue de Trise et EDTA) a l'aide d'un glasses pendant 30 minute. La deuxième étape permet d'éliminer les débris des hématies par centrifugeuse de type sigma 3-18K régler a 2500 Toure par minute pendent 15 minute a 7c°. En reprendre les étapes précédent jusqu'à le surnagent devient transparent, c'est à dire ont éliminé les maximes des GR puis on récupérer le culot blanc, qui constitué exclusivement de globules blancs (GB) et ont éliminé tout le surnageant. Ensuite la cassure des membranes cellulaires externes des GB provoque par 4000µL d'une solution de lyse, SLP qui contient le SDS comme détergent qui sert à s'associer aux lipides de la membrane et aussi par 50µL de la protéinase K, qui casse les constituant membranaire protéiques des GB. On Mettre les tubes coniques dans un bin mary (Hum aqua 5 human) a 37 ,5C° pendant 24h.dans la dernière étape les protéines sont précipitées par 2000µl de NaCL, après 10 minute de centrifugation à 4000 tr/mn. On récupère le surnagent dans un autre type stérile conique et on ajoute 2 volume d'éthanol, qui vas précipiter l'ADN sous forme de filaments blanchâtres (appelée aussi Méduse). Puis on chasse le filament blanchâtre par pipette de pasteur et on la rincer dans une solution de lavage (30µl d'une solution qui contient 70% d'éthanol et 30%d'eau distillé), Apres on met 100µl d'une solution tampon TE (10/1) dans un tube qui contenant l'ADN. Enfin en mettre ces tubes dans le bin mary pendant 24h. L'ADN extrait est prêt à être conservé à long terme à - 20 °C pour établir une banque D'ADN au niveau du service de cytogénétique et biologie moléculaire de l'établissement hospitalo-universitaire d'Oran (EHUO), soit stocker à court terme à 4°C pour une analyse génétique.

II.2.2. Quantification et analyse de la pureté de l'ADN :

La concentration de l'ADN et l'analyse de la pureté des acides nucléiques obtenue grâce aux Cary 60 UV-Vis, cette spectrophotométrie a mesuré l'absorbance des acides nucléiques dans l'ultraviolet car les pyrimidines et les purines absorbent fortement les UV à 260 nm, par contre les ARN absorbent les UV à 230 nm et les protéines absorbent les UV à 280 nm. Une unité de densité optique à 260 nm correspond à une solution de DNA double brin à 50 µg/ml et correspond à une solution de DNA simple brin ou RNA à 25 µg/ml. La concentration de l'ADN dans notre solution calculée par l'équation suivante ; $C = A_{260} * 50 * 100$, le degré de pureté (P) de cet ADN égale A_{260} / A_{280} (P (pureté) = A_{260} / A_{280}), une solution d'ADN est considérée pure si : $1.7 \leq P \leq 2$. Si la valeur de P est supérieure à cette fourchette notre solution d'ADN est contaminée par les protéines en revanche si cette valeur est inférieure à cette fourchette cette dernière est contaminée par les sels, ARN (**Ghabri et al, 2018**). Pour régler l'appareil on donne logicielle les informations nécessaires pour effectuer cette opération telle que l'absorbance, le facteur élution. D'autre part, la spectrophotométrie est reprogrammée à 0 avec une cuve de témoin, qui contient 1000 µl d'eau distillée à chaque fois après notre échantillon. L'ADN de chaque échantillon était ensuite dilué au centième (1/100) avec l'eau pour équilibrer le pH du milieu, avant de placer ce dernier dans l'appareil.

II.3. Amplification du polymorphisme C3435T (exon26) ;

II.3.1. Généralité sur les réactions de polymérisation en chaîne ;

Amplification du polymorphisme C3435T (exon26) a été effectuée par la réaction de polymérase en chaîne (PCR), c'est une technique d'amplification d'ADN in vitro. Cette méthode de Biologie Moléculaire a été mise au point en 1985 par Kary Mullis, qui obtint pour ces travaux le prix Nobel de Chimie en 1993 (**Kahn and Bursaux, 1993**). Elle utilise les propriétés d'hybridation et de déshybridation (dénaturation) des brins complémentaires d'ADN en fonction de la température, afin d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN à partir d'une faible quantité de séquence spécifique d'ADN (l'amplicon). L'analyse se déroule en 35 cycles de PCR, chaque cycle est constitué de trois étapes : dans la première étape l'ADN est dénaturé à une haute température d'environ 95°C pour obtenir des matrices simple brin, dans l'étape d'hybridation, la température descend à environ 55-60°C.

Elle permet la fixation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée et permettent ensuite à la polymérase de faire son travail, puis l'étape d'élongation se fait à 72°C, grâce à l'action d'une ADN polymérase, qui se fixe aux amorces et assemble les nucléotides présents dans le milieu réactionnel. Le procédé de la PCR reposant, entre autres, sur le mélange des réactifs, cycle de variations de températures via un thermocycleur puis analyse des fragments par électrophorèse (Poitras and Houde ,2002).

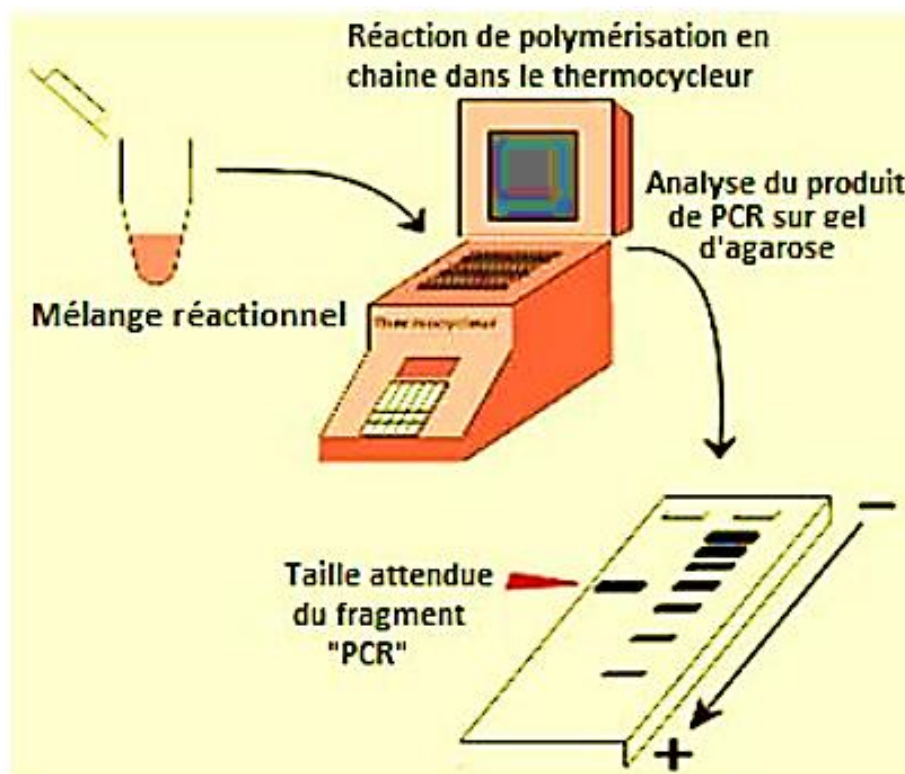


Figure 21: principe de PCR et visualisation d'ADN par électrophorèse

II.3. 2. Protocole de l'amplification du polymorphisme C3435T ;

Nous mettons Les réactifs dans un microtube, en suivant le volume réactionnel de 50 μ l pour chacun échantillon d'ADN, contient 2 μ l d'ADN, 5 μ l de la taq polymérase (provenaient d'une bactérie thermophile, par exemple *Thermus aquaticus*), 3mM de cofacteur Mg⁺², 200 μ M de quatre désoxyribose Nucléosides Triphosphates (dNTPs). Et 40 μ l d'une solution tampon (l'eau distiller), 1 μ l d'amorces sens (forward) 5'-ATGTATGTTGGCCTCCTTTGCT-3' et 1 μ l d'amorces antisens (reverse) 5'-AACAGCCGGGTGGTGTCA-3'. Nous plaçons les microtubes contenant le mélange réactionnel dans un thermocycleur programmable (fig. 7). Cet appareil permet d'exposer les

tubes à des températures choisies et pour des durées déterminées par l'expérimentateur et les cycles de chauffage sont effectués automatiquement. Démarrer le programme PCR qui dure environ 2 heures et 40 minutes. L'ADN cible se double à chaque cycle donc la technique PCR permet d'établir une relation pour calculer le nombre des copies totale d'ADN cible ($N=2^n$). Dans la dernière étape nous conservons l'ADN à température ambiante.

Tableau 2 : Programme d'amplification du polymorphisme C3435T dans PCR.

Min : minute, C° : Celsius

Phase	Température	temps
Phase 1 (1 cycle)	96°C	2 min
Phase 2 (35 cycles)	95°C	30 sec
	56°C	30 sec
	72°C	30 sec
Phase 3 (1 cycle)	72°C	5 min

II.3.3. Analyse des fragments obtenus par électrophorèse ;

L'électrophorèse est une méthode de séparation des molécules chargées électriquement (positive ou négative) par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. La vitesse de migration de fragment d'ADN est en fonction de deux paramètres : sa taille et la concentration de l'agarose du gel (Faible concentration en agarose pour séparer des brins de grandes tailles et forte concentration en agarose pour séparer des brins de petites tailles), mais le voltage et la force ionique du tampon interviennent également (**LABAT et al., 2000**). Les acides nucléiques en solution portent une charge négative à cause de l'ionisation de leurs groupements phosphate, donc ils se migrent vers l'anode (+). Le produit obtenu par PCR a été visualisé par électrophorèse sur gel d'agarose à 2%. Cette dernière agit à la manière d'un tamis moléculaire au travers duquel les molécules d'ADN en mouvement doivent passer ; les molécules de grande taille ont plus de difficulté pour passer à travers les mailles (pores) créés par le réseau des microfibrilles du gel et vont donc migrer plus lentement que les petites molécules (**Caron. F ,1988**).

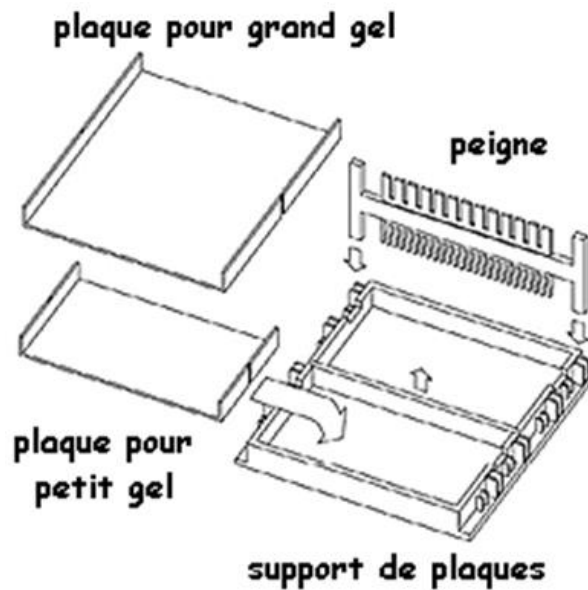


Figure 22: Une installation d'électrophorèse sur plaque

II.3.4. Protocole de détermination du polymorphisme C3435T ; (teste d'amplification)

Notre gel d'agarose a été préparé avec 1 g d'agarose et 50ml de TBE1X (Tris Borate EDTA), puis chauffer (4 minutes) le mélange jusqu'à l'obtention d'une solution homogène par une microonde. On ajoute 3 μ l de bromure d'éthidium (BET) à notre mélange, c'est une molécule fluorophore, extrêmement dangereux (mutagène ou carcinogène) et nécessite de porter des gants pour manipuler les gels lors de la révélation et après. Elle se fixe à l'ADN bicaténaire en s'intercalant entre les bases. Puis on met le gel dans la plaque d'un appareil transparent aux UV(APELEX) et Placer rapidement le portoir de peigne. Laisser le refroidir pendant 10 minutes, et on Retire le portoir du peigne en maintenant la plate-forme. Ensuite on Ajoute 10 ml de tampon charge TBE 1x de manière uniforme, cette dernière permet d'alourdir les échantillons et de marquer le front de migration. Pour remplir tous les puits, on transfère 5 μ l d'un marqueur de taille (100 Pb) dans le premier puits et ainsi la même quantité d'ADN des amplificateurs transférer respectivement dans les autres puits, on dépose le témoin dans la dernière puits. Finalement on place les électrodes sur la boîte de gel et faire migrer les échantillons à 110 volts pendant environ 15 minutes, on récupère la boîte de gel et on visualise les bandes révélées avec le bromure d'éthidium sur un Transilluminateur à UV. La taille des fragments attendus est de 451pb

II.4. Identification des génotypes du polymorphisme C3435T ;

II.4.1. Principe de la PCR- RFLP (Réaction de polymérisation en chaîne –polymorphisme de longueur des fragments de restriction)

C'est une méthode basée sur l'association entre la technique d'amplification (PCR), qui permet d'obtenir un nombre considérable de copies d'une séquence cible d'ADN et la Coupure de l'ADN par une enzyme dite de restriction, Celle-ci permet de déterminer les différents génotypes de chaque variant étudié (sauvage, hétérozygote et homozygote muté) grâce à l'analyse des résultats de la digestion par une séparation électrophorétique des fragments digérés par un enzyme de restriction. Elle est facilitée par la détermination de différentes possibilités de la localisation des sites de restriction de notre enzyme en fonction de la taille des fragments obtenu qui correspondent à un haplotype (**S. BEN ABDERRAZAK, 2004**). L'amplimère de chaque échantillon digéré par l'enzyme de restriction MboI (*Moraxella bovis*), leur site de reconnaissance et de coupure est formé de six paires de base et les fragments de restriction ont des extrémités cohésives. Cette enzyme possède deux sites de restriction aux niveaux de séquence de ce polymorphisme et donne trois fragments de taille ,245Pb ,172pb ,34Pb, tandis que la substitution cytosine de (C) en thymine(T) au niveau du codon 1145 de l'exon 26 du gène ABCB1 abolit le site de restriction générant deux fragment de taille 245pb et 206pb. Ce qui permet la distinction entre les individus homozygotes pour l'allèle sauvage, les homozygotes pour l'allèle variant et les individus hétérozygotes qui possèdent un allèle sauvage et un allèle variant.

Tableau 3 : le polymorphisme étudié ainsi que l'amorce, enzyme de restriction et la taille des produits de digestion correspondant

Gène	SNPs	Amorce F	Amorce R	Taille de l'amplicon	Enzyme	Bactérie	Site de restriction/ nombre de site sur l'amplicon	Taille des produits de digestion en pb	Référence
<i>MDR1</i>	C3435T C→T	GATGTCTT GTGGGAG AGGGA	GCATGTAT GTTGCCT CCTT	451pb	Mbol	<i>Moraxella bovis</i> (ATCC 10900)	5'...GATC...3' 3'...CTAG...5' 2 sites	CC :243+172+36 CT :243+208+172+36 TT :243+208	Sipeky et al, 2011

II.4.2. Protocole de la PCR-RFLP ;

La digestion se fait par l'enzyme MboI dans un volume final de 15µl, selon le programme représenté dans le tableau 08. Cette enzyme de restriction de type II a un site de reconnaissance de 5' *GATC 3' et 3' CTAG* 5'.

Tableau 4 : Protocole de la digestion du polymorphisme C3435T du gène ABCB1

MboI (10/µl)	5 U
Tampon	1 X
Amplimère	5 µl
Eau distillée	8 µl
La digestion se fait dans l'étuve à 37°C over night	

II.4.3. Détermination des différents haplotypes par électrophorèse ;

Après la digestion des amplimères par enzyme de restriction le produit obtenu a été visualisé par électrophorèse sur gel d'agarose à 3 %. Notre gel d'agarose a été préparé avec 3 g d'agarose et 50ml de TBE1X. Un volume de 3 µl de bromure d'ethidium (BET) est ajouté à notre mélange. la migration est réalisée à 120Volts pendant 18minutes, suivi d'une visualisation sous UV. Les profils attendus dans la Figure 19, représente deux allèles mutants (3435TT) ont abouti à deux fragments de taille 245Pb et de 206 Pb, alors que les deux allèles de type sauvage (3435CC) ont abouti à trois fragments de taille ,245Pb ,172pb ,34Pb, et les deux allèles hétérozygotes (3435TC) ont abouti à quatre fragments de taille 245Pb ,206Pb ,172Pb ,34Pb.



Figure 23 : Profil électrophorétique attendu, suit à une digestion par MboI

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Résultat du dosage d'un ADN purifié par la spectrophotométrie ;

Le tableau numéro 7 représentés La quantité d'acides nucléiques et la pureté des échantillons, qui a été évalué par La spectrophotométrie. Cela permet de confirmer que l'ADN est pur et aucune contamination par des protéines a été suivi au cours de l'extraction car la valeur de P varie entre 1,7 et 2. La dilution de ADN se fait on suivant l'équation $C1*V1=C2*V2$, afin de réaliser la PCR.

Tableau 5 : La quantité d'acides nucléiques et la pureté des échantillons

Des acides nucléiques	Le degré de pureté (P) (A260 / A280)	Concentration d'ADN (ng/μl)
Greffe rénaux (1)	1,8	893
Greffe rénaux (2)	1,87	467
Greffe rénaux (3)	1,72	68
Greffe rénaux (4)	1,78	552

I.2. Résultat du test d'amplification des sujets :

Les profils électrophorétiques issus de l'amplification de l'exon 26 du gène ABCB1 concernant les 4 patients ayant subi une greffe rénale et sous cyclosporine A comme traitement, ont tous révélés une bande de 451pb correspondant à l'amplimère attendu (figure20).



Figure 24 : Résultat du test d'amplification de l'exon26 du gène ABCB1 chez 4 patients

I.3. Résultats du test de digestion par l'enzyme de restriction MboI :

L'étude du polymorphisme C3435T a permis d'observer trois profils électrophorétiques, les taille des fragments à séparer sont déterminer à l'aide des marqueurs de taille de 50 Pb et de 100Pb. Les sujets homozygotes sauvages 3435CC présentant deux bande de 245Pb ,172pb, observé chez le patient numéraux 4. Alors Les sujets hétérozygotes 3435CT avec trois bandes électrophorétiques de tailles (245Pb ,206Pb ,172Pb), observé chez le patient numéro 1, les sujets homozygotes 3435TT présentent deux bandes de taille de 245Pb et de206 Pb, observé chez deux patients (numéro 2 et 3). Les sujets homozygotes

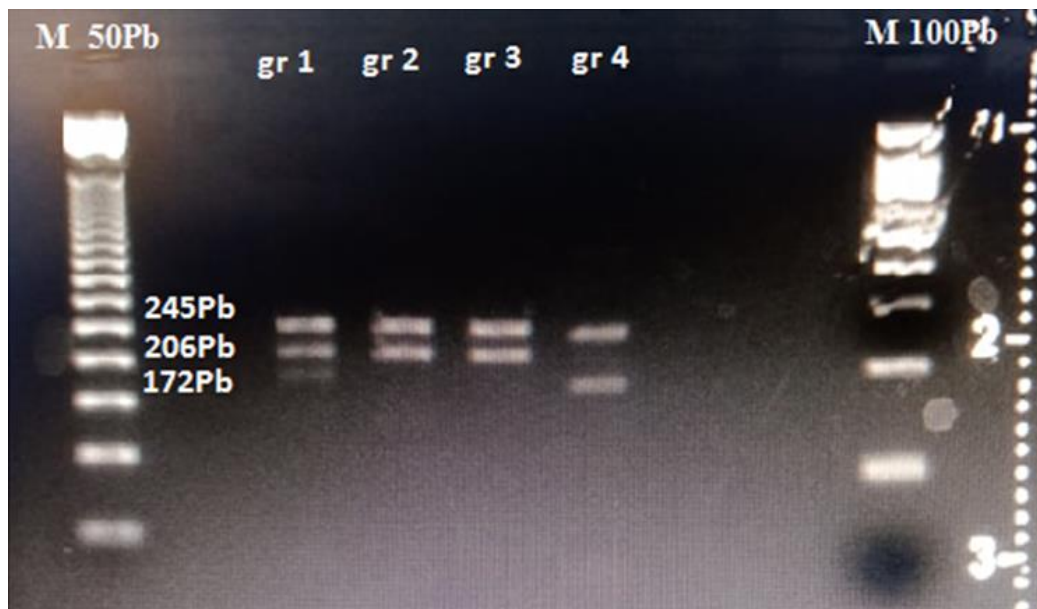


Figure 25 : Résultats du test de digestion du gèneABCB1 par l'enzyme de restriction MboI.

I.4. Fréquence du polymorphisme C3435T dans la population de l'Ouest Algérien ;

Le génotype homozygote pour l'allèle 3435C présent chez 26,66%. Tandis que le génotype homozygote pour l'allèle 3435T est présent chez 226,66% des patient et le génotype hétérozygote 3435CT est présent chez 46,66%.la fréquence du génotype 3435CT plus fréquent chez la population de l'Ouest algérien par rapport au génotype CT et TT (D'après (T.Illmer et al .2002). Certaines études ont montré que la fréquence des individus porteurs d'allèles C est plus élevée chez les africains et les afro-américains (83et 61%) par rapport aux caucasien (26%) et aux japonais (34%) (D'après Schaeffeler et al.2001 ; D'après Ameyaw

et al.2001). D'autres études encore ont montré que la fréquence d'allèles T est plus élevée chez les caucasiens et les japonais par rapport aux afro-américains (Marzolini et al.2004).

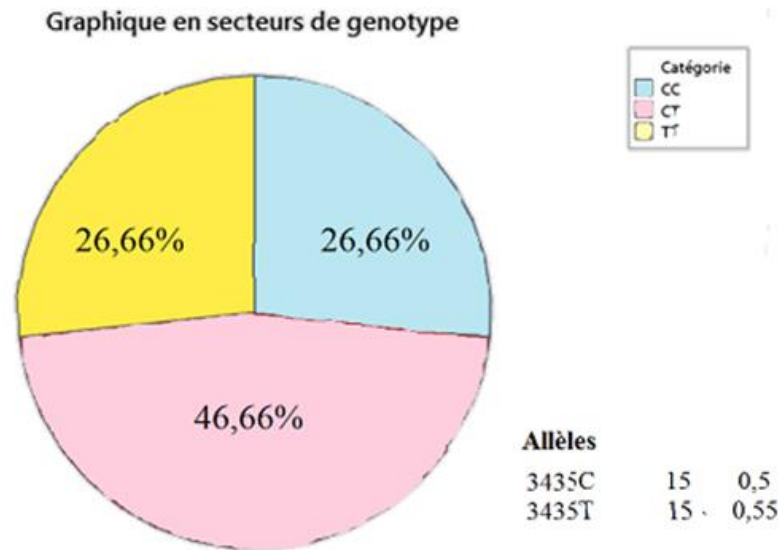


Figure 26 : Distribution fréquences alléliques et génotypiques de l'exon 26 chez 15 patient.

II. Discussion.

L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact du polymorphisme du ABCB1 c. 3435C> T sur la pharmacocinétique de la ciclosporine chez les transplantés rénaux à Oran. De nombreux médicaments immunosuppresseurs, tels que la ciclosporine, le tacrolimus et le sirolimus étant des substrats de la P-glycoprotéine, leur influence sur la pharmacocinétique de ces immunosuppresseurs par des polymorphismes du gène ABCB1 codant pour cette protéine a été largement étudiée (P. Marquet et al.2007). A ce jour, plusieurs études s'intéressent à l'influence du polymorphisme génétique 3435 C> T sur la pharmacocinétique de ces immunosuppresseurs. Concernant la ciclosporine, certaines études n'ont trouvé aucun effet significatif des mutations C3435T, localisées sur les exons 26 du gène, sur sa biodisponibilité chez des volontaires sains et chez des patients transplantés rénaux respectivement (D'après Min and Ellingrod. 2002 : D'après von Ahsen et al. 2001). Les profils de concentrations sanguines de la CsA en fonction du temps sont représentés sur la figure 23. Ces résultats montrent que la mutation du gène C3435T dans l'exon 26 de MDR1 n'affecte pas de manière significative les concentrations de la CsA chez des sujets sains (D'après Min and Ellingrod. 2002). Von Ahsen et al. (9) n'ont montré aucune différence significative

pour les doses de CsA nécessaires pour maintenir des concentrations minimales de CsA similaires chez les patients avec différents génotypes MDR-1 C3435T. Cette étude montre que la mutation du gène C3435T dans l'exon 26 de MDR1 n'affecte pas de manière significative la disposition de la CSA chez des sujets sains. Le tableau 10 a montré, que les doses totales actuelles de CsA et les doses ajustées en fonction du poids étaient similaires, quel que soit le génotype MDR-1. D'autres études encore ont montré un effet significatif des mutations C3435T sur la biodisponibilité de la ciclosporine chez des patients transplantés rénaux (**D'après Yates et al. 2003 : Bonhomme-Faivre et al.2004**). Bonhomme-Faivre et al. (9) a retrouvé chez des patients transplantés hépatiques étudiés un mois après la greffe des valeurs significativement plus élevées de C₀/dose de ciclosporine chez les porteurs homozygotes mutés 3435TT, suggérant une activité plus faible de la P-gp codée par ce variant. Yates et al, ont étudié l'effet de l'expression du polymorphe MDR1 sur les profils de concentration sanguine chez des receveurs de transplantation rénale. Ils ont constaté que le génotype MDR1 C3435T représentait 43% de la variabilité interindividuelle de la clairance orale de la CsA dans la population de l'étude et ont conclu que la Clairance orale de la CsA chez les individus porteurs d'au moins un allèle 3435T (CT et TT) était significativement plus élevée par rapport aux individus homozygotes de type sauvage (CC) figure24. Le ratio C_{max}/dose (µg/L per mg) et AUC_{0-12h}, τ/ dose (µg•h/L per mg), étaient significativement plus faibles chez les sujets ayant au moins un allèle 3435T par rapport aux individus homozygotes de type sauvage (5,6 ± 0,4 vs 9,0 ± 0,5 µg / L par mg de dose, p <0,001 et 25,6 ± 1,9 vs 38,7 ± 2,7 tableau 11. En revanche, chez des patients transplantés rénaux adultes, une étude a trouvé des valeurs de C₀/dose significativement plus élevées chez les porteurs des génotypes homozygotes mutés 3435TT que chez les homozygotes sauvages 3435 CC avec les génotypes CT (**D'après Y. Zhang et al.2013**).

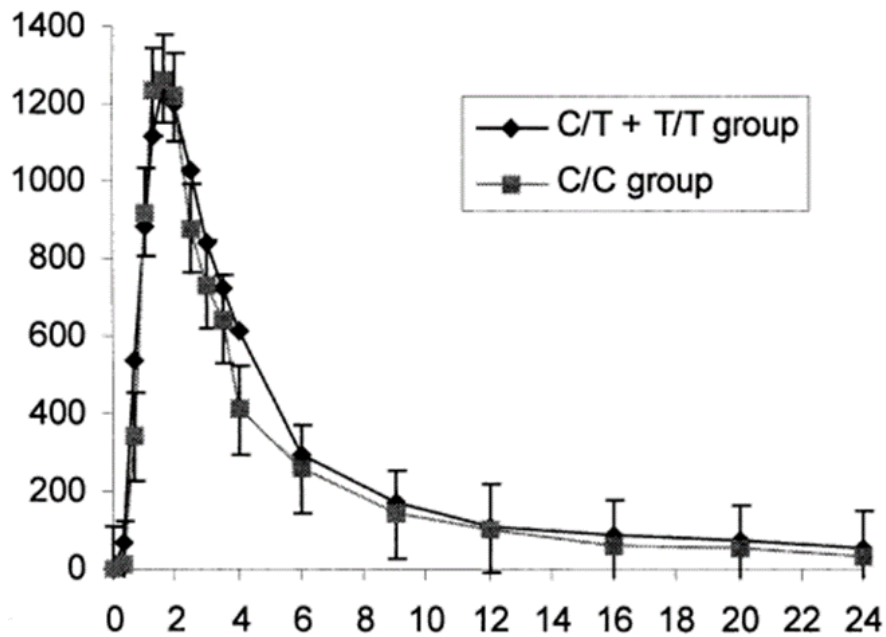


Figure 27 : Les profils de concentrations sanguines de la CsA en fonction du temps (D'après Min and Ellingrod. 2002)

Tableau 6 : la comparaison des paramètres pharmacocinétiques selon les différents Génotypes C3435T (Von Ahsen et al. 2001)

	<i>MDR-1</i>		
	3435 CC	3435 CT	3435 TT
n (% ^b)	31 (25%)	52 (42%)	41 (33%)
CsA dose, mg/day	250 ± 60	246 ± 62	247 ± 82
CsA trough concentration, µg/L	137 ± 23	143 ± 23	140 ± 29
CsA 24-h dose/weight, mg/kg	3.4 ± 0.8	3.6 ± 1.1	3.6 ± 1.2
Dose-adjusted trough concentration, µg/L	85 ± 26	88 ± 30	85 ± 33
Plasma creatinine, mg/L	16 ± 6	19 ± 8	17 ± 9
Time since transplantation, years	7 ± 4	7 ± 4	10 ± 14
Prednisolone dose, mg/day	6.3 ± 2.2	5.7 ± 2.5	6.4 ± 1.8
No. of rejections (% ^c)	13 (42%)	17 (33%)	17 (41%)

^a Data are mean ± SD. No significant differences for between-group comparison by one-way ANOVA.

^b Percentage refers to the total number of cases.

^c Percentage refers to the number of cases in the respective groups.

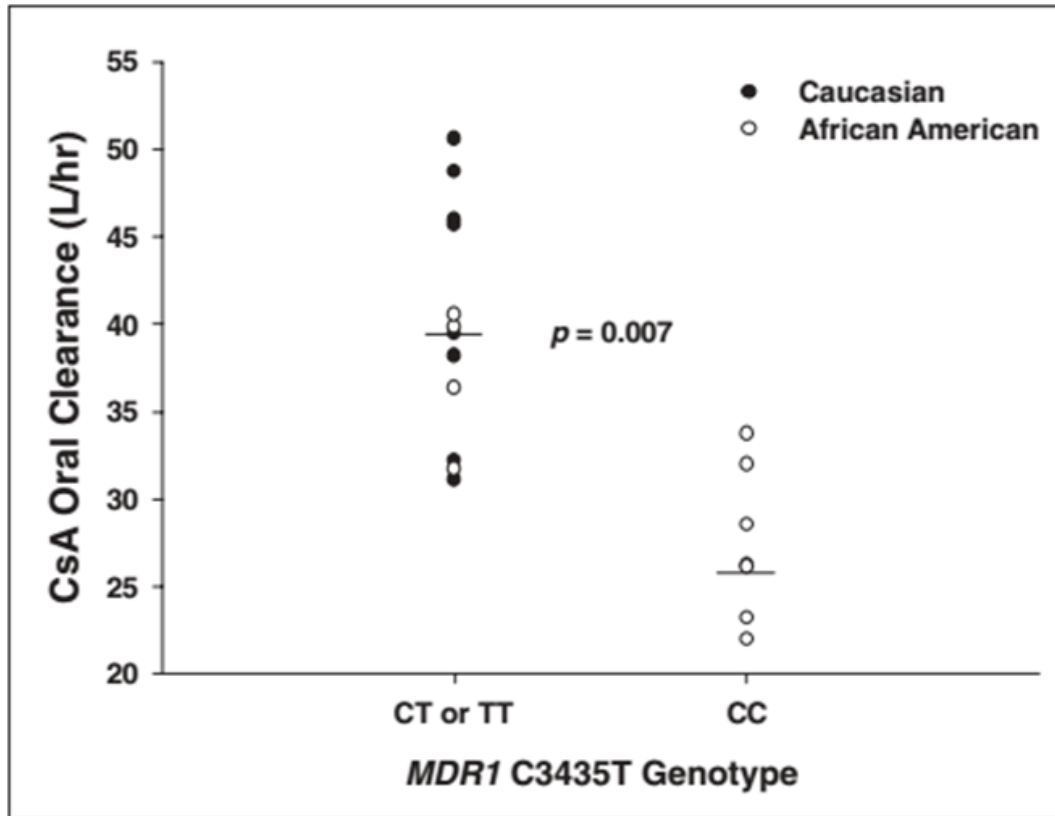


Figure 28 : Effet du génotype MDR1 C3435T sur la clairance Orale de la cyclosporine (Yates et al. 2003).

Tableau 7 : Paramètres pharmacocinétiques de la cyclosporine et génotypes CYP3A5 et MDR1 C3435T (Yates et al. 2003).

ID Number	MDR1 C3435T	CYP3A5	Mean ± SD		
			C_{max}/D ($\mu\text{g/L per mg}$)	$AUC_{ss,\tau}/D$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L per mg}$)	CL/F (L/h)
1	TT	*3/*3	5.68 ± 0.13	31.7 ± 0.78	31.7 ± 0.78
2	CT	*1/*1	5.68 ± 0.20	24.9 ± 0.28	40.2 ± 0.49
3	CC	*1/*1	7.10 ± 1.19	30.5 ± 1.20	32.0 ± 1.27
4	CT	*1/*1	5.84 ± 0.96	29.6 ± 2.90	34.0 ± 3.25
5	CC	*1/*1	9.62 ± 1.24	39.1 ± 5.66	25.6 ± 3.75
6	CT	*3/*3	5.37 ± 0.34	21.9 ± 0.07	45.6 ± 0.21
7	CC	*1/*3	9.52 ± 0.45	38.2 ± 0.14	26.2 ± 0.27
8	TT	*3/*3	5.55 ± 1.63	23.0 ± 4.53	44.4 ± 8.77
9	CT	*3/*3	5.68 ± 0.51	22.9 ± 3.39	44.1 ± 6.51
10 ^a	CC	*1/*1	10.7	45.5	22.0

a. Subject 10 did not participate in period 1 of the study (see Results section).

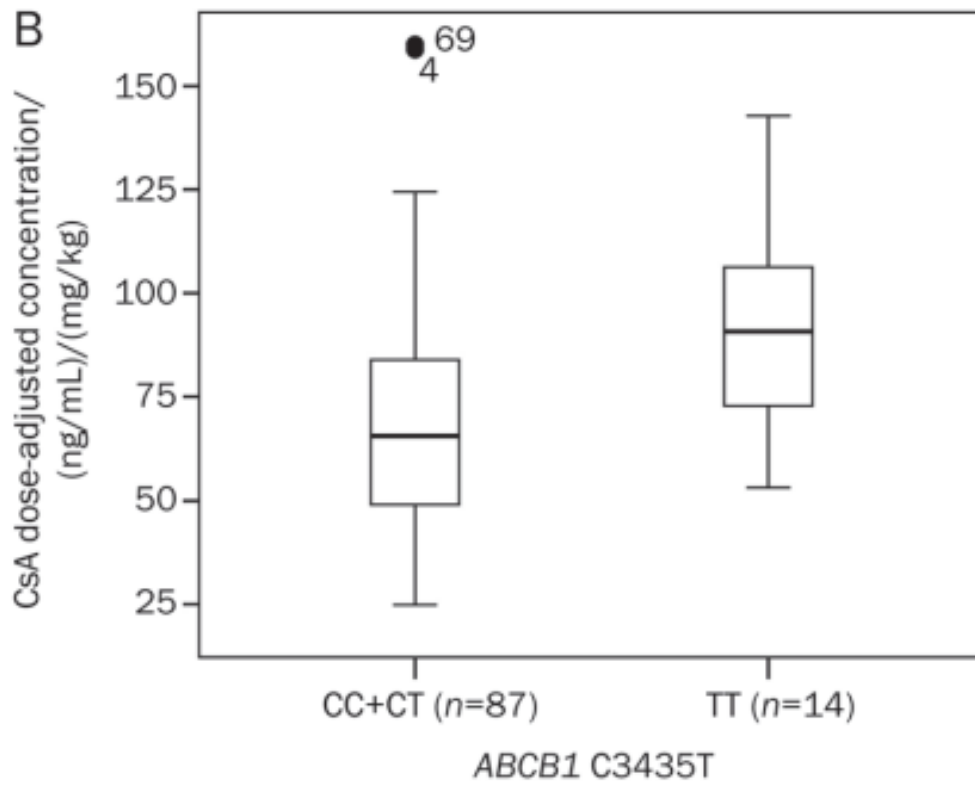


Figure 29 : comparaison entre les génotypes C3435T du gène ABCB1 selon le ratio C0 / D chez les receveurs de transplantation rénale (Y. Zhang et al.2013)

Conclusion et perspectives

La glycoprotéine P est une protéine transmembranaire participant au transport de certains médicaments, principalement au niveau intestinal, rénal, de la barrière placentaire et hémato-encéphalique. Elle est contrôlée par un polymorphisme génétique, provoquant une variabilité interindividuelle de son activité. Ce polymorphisme peut associer en partie avec la réponse au traitement par la ciclosporine chez patient qui ils ont subi une greffe rénale tous d'origine de l'Ouest Algérien, conduisant à une augmentation de la toxicité ou à une diminution d'efficacité d'un traitement. Finalement, Ces résultats montrent un effet inconstant du polymorphisme C3435T dans certaines populations et/ou à certaines périodes post-greffe, le tout aboutissant à une conclusion controversée quant à l'influence des polymorphismes de ce gène sur la pharmacocinétique de la ciclosporine.

Notre étude consiste à déterminer l'influence du polymorphisme C3435T du gène ABCB1 sur la réponse au traitement par la ciclosporine A chez les patients qui ont subi une greffe rénale tous d'origine de l'Ouest Algérien. Nous avons réalisé une étude portant sur 15 patients ayant bénéficié d'un traitement par ciclosporine A pendant une année après la transplantation rénale. L'exploration des différents génotypes du polymorphisme a été réalisée par la technique d'amplification en chaîne par polymérase - polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PCR-RFLP). Le dosage de la ciclosporine a été réalisé par méthode immuno-enzymatique (EMIT) sur analyseur automatique des médicaments et. Les paramètres biochimiques ont été doses directement depuis le plasma sur un automate. Analyse statistique a été réalisée par logiciel statistique minitab version19.

En perspective à ces résultats, il serait important d'élargir la taille de l'échantillon et la durée du traitement, il serait, intéressant aussi d'étudier les autres variantes du gène ABCB1 et leurs implications dans le traitement par ciclosporine A après transplantation rénale, tels que C1236T, G2677T / A, ainsi que la combinaison entre ces différents polymorphismes.

Finalement, cette étude a ouvert une porte vers d'autres études prochaines plus performantes. Elle nous a permis d'atteindre des objectifs fixés, à savoir en premier, une initiation à la recherche scientifique avec l'acquisition d'une méthodologie de travail et de recherche bibliographique rigoureuse et aussi une expérience enrichissante et un savoir-faire relatif concernant les techniques de biologie moléculaire et l'analyse statistique. En second lieu, l'analyse de ces premières données avec celles rapportées par la littérature nous a permis d'avoir une vision plus claire sur l'impact du polymorphisme C3435T du gène ABCB1.

Annexes

Annexe 01 : les équipements utilisés



spectrophotomètre



incubateur



Maxwell® 16 omega



Appareil de lecture des gels en UV



support de plaque et générateur de courant



Thermocycleur

Annexe 02 : Protocol d'extraction d'ADN à partir du sang total par la technique NaCl

- Décongeler 4 ou 8 ml de sang à 37°C.
- Compléter le tube avec du TE10/10 jusqu'à 45ml, agiter doucement et mettre dans la glace pendant 30min. Centrifuger à 2500 tours pendant 15min.
- Eliminer le surnageant, Ajouter 15ml de TE10/10, un retournement du tube suffit pour resuspendre le culot, puis compléter le tube à 45ml de TE10/10.
- Mettre le tube dans la glace pendant 10min et centrifuger à 2500 tours pendant 15min.
- Reprendre cette étape jusqu'à obtention d'un culot blanchâtre (culot de globules blancs).
- Au culot de lymphocytes, ajouter 5 ml de solution de lyse des globules blancs et 50µl de protéinase K à 20mg/ml et homogénéiser le culot.
- Incuber à 37°C toute la nuit dans un bain marie, sous agitation douce.
- Ajouter 2 ml de NaCl, agiter vigoureusement et centrifuger à 4000 tours/min pendant 10 min.
- Récupérer le surnageant dans un autre tube, ajouter 2 volumes d'éthanol absolu froid, laisser précipiter l'ADN par retournement du tube (Formation de la méduse)

-Récupérer la méduse par une pipette pasteur scellée, la rincer une fois à l'éthanol à 70%, la placer soit dans un tube eppendorf et la laisser sécher à l'air libre

-Dissoudre la méduse dans 200-300µl de TE10/1. Pour une totale dissolution, laisser les tubes sur agitation lente à température ambiante pendant au moins 24 heures.

Annexe 03 : les résultats du test de digestion du gène ABCB1

Patient	ABCB1 c. 3435CT
CP 001	CT
CP 002	CT
CP 003	CC
CP 004	CT
CP 005	CC
CP 006	CC
CP 007	TT
CP 008	CT
CP 009	TT
CP 010	CT
CP 011	CT
CP 012	TT
CP 013	TT
CP 014	CC
CP 015	CT

Annexe 04 ; Consentement de prélèvement

Identité du Médecin :

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cytogénétique
EHU-Oran

Service d'oncologie médicale
EHU-Oran

Consentement de prélèvement dans un but d'étude génétique et / ou de conservation dans une banque d'ADN chez une personne MAJEURE

Consentement établi en deux exemplaires dont un a été remis à l'intéressé(e).

Je soussigné(e).....né(e) le :
Demeurant à.....
accepte que soit effectué chez moi un prélèvement sanguin afin de faire réaliser une étude de génétique moléculaire, qui peut aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie : pour moi-même ou des membres de ma famille, selon la proposition du Docteur
Dans certains cas, la connaissance de mon origine géographique est nécessaire pour orienter les études génétiques.

J'en autorise le recueil. Je n'en autorise pas le recueil.
(ayer la mention inutile)

Cette étude sera faite à partir de l'ADN extrait du sang prélevé, qui sera conservé dans la banque d'ADN du Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire de l'USTO. Dans certains cas, cette étude peut s'étendre sur plusieurs années. A tout moment je peux demander que mon ADN me soit restitué ou détruit.

Je déclare avoir été pleinement informé(e) de la nature des études qui seront effectuées et des conséquences éventuelles des résultats qui peuvent m'être donnés.

Ces résultats seront transmis uniquement au Docteur

Je souhaite Je ne souhaite pas
(ayer la mention inutile)

en être informé(e) par lui.
Je consens au recueil, à la saisie et au traitement des données contenues dans mon dossier médical par des personnes tenues au secret professionnel. Les données qui me concernent resteront strictement confidentielles. Je n'en autorise la consultation qu'aux personnes qui collaborent à l'analyse. Je pourrai à tout moment demander que mon dossier soit détruit.
Conformément à la loi Informatique et Libertés, je peux exercer mon droit d'accès aux données qui me concernent par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

L'utilisation éventuelle de mon ADN à des fins de recherche médicale, pour une étude non directement liée à celle à laquelle je consens ce jour, nécessitera un nouveau consentement de ma part.

Fait à le :

Signature du
médecin recueillant
le consentement

Signature de
L'intéressé(e)

- 1 -

FICHE PATIENT

N° du dossier : [] [] [] [] [] [] [] [] [] []
Code : [] [] [] []

Date de prélèvement : [] [] [] / [] [] [] / [] [] [] [] [] []

Identification

N° N° En Sexe

Nom : Nom de jeune fille :

Prénom :

Date & lieu de naissance : [] [] [] / [] [] [] / [] [] [] [] [] [] Age : [] []

Adresse : Ville :

Origine géographique :

N° de téléphone : [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

Renseignements cliniques

Taille (cm) : [] [] [] Poids (Kg) : [] [] [] Masse corporelle (Kg/m²) : [] [] []

Date du diagnostic initial : [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

Es-ce qu'il y a une maladie génétique dans la famille ? : OUI NON

Preciser s'il s'agit d'une forme : Hériditaire Sporadique Non documenté

Tabagisme : Fumeur NON fumeur

➤ Si Oui, Combien de cigarettes par jour ? [] [] et Depuis combien d'années ? [] []

➤ Si Non, Avez-vous déjà fumé ? [] [] Pendant combien d'années ? [] []

- 2 -

Suivi Du Traitement

• Chirurgie : OUI NON

Date de chirurgie : [] [] [] / [] [] [] / [] [] [] [] [] []

Type de chirurgie :

Indication : Palliatif Curatif

• Chimiothérapie : OUI NON

Nombre de cures à ce jour : [] []

Ligne N°	Produit ou nom du protocole	Indication	Dose (mg)	Date	Nombre de cures	Réponse		
						Complète : <input type="checkbox"/>	Partielle : <input type="checkbox"/>	Non évaluée : <input type="checkbox"/>
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : [] [] [] [] [] [] Fin : [] [] [] [] [] [] P RDV* : [] [] [] [] [] []		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>		
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : [] [] [] [] [] [] Fin : [] [] [] [] [] [] P RDV* : [] [] [] [] [] []		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>		
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : [] [] [] [] [] [] Fin : [] [] [] [] [] [] P RDV* : [] [] [] [] [] []		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>		
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : [] [] [] [] [] [] Fin : [] [] [] [] [] [] P RDV* : [] [] [] [] [] []		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>		
		Palliatif : <input type="checkbox"/> Adjuvant : <input type="checkbox"/>		Début : [] [] [] [] [] [] Fin : [] [] [] [] [] [] P RDV* : [] [] [] [] [] []		Complète : <input type="checkbox"/> Partielle : <input type="checkbox"/> Non évaluée : <input type="checkbox"/>		

- 3 -

Palliatif : Début : [] [] [] [] [] []
Adjuvant : Fin : [] [] [] [] [] []
P RDV* : [] [] [] [] [] []

Complète :
Partielle :
Non évaluée :

➤ Toxicité : OUI NON

Effets secondaires	Grade	Ligne N°	Produit	Cure	Modification dose			Type modification	
					OUI	NON	Ann	Diminution	Augmentation
Hématologiques					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Thrombopénie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leucopénie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Graves neurologiques					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarrhée précoce					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarrhée tardive					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nausées					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vomissement					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ulcération dans la bouche					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dermatologiques / Cutanées					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alopecie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eruption					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autres					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Arthralgie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mucite					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neurotoxicité					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dysarthrie ou Parésie					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Autres commentaires

.....
.....
.....

- 4 -

Référence
Bibliographiques



- A. Hertig et E. Rondeau, « Immunomodulation dans la greffe rénale : ce qui a changé en 20 ans », *Réanimation*, vol. 15, no 4, p. 253-258, août 2006, doi: 10.1016/j.reaurg.2006.06.012.
- A. Kahn et E. Bursaux, « Prix Nobel de chimie à Kary B. Mullis et Michael Smith : les grandes avancées technologiques au service de l'étude des gènes », 1993.
- Akhlaghi, Fatemeh, Miroslav Dostalek, Pál Falck, Anisha E Mendonza, Rune Amundsen, Reginald Y Gohh, et Anders Åsberg. 2012. « The Concentration of Cyclosporine Metabolites Is Significantly Lower in Kidney Transplant Recipients With Diabetes Mellitus »: *Therapeutic Drug Monitoring* 34 (1): 38-45. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318241ac71>.
- Albrecht, Christiane, et Enrique Viturro. 2007. « The ABCA Subfamily—Gene and Protein Structures, Functions and Associated Hereditary Diseases ». *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 453 (5): 581-89. <https://doi.org/10.1007/s00424-006-0047-8>.
- Bag, A., N. S. Jyala, et N. Bag. 2015. « Cytochrome P450 1A1 Genetic Polymorphisms as Cancer Biomarkers ». *Indian Journal of Cancer* 52 (4): 479. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.178380>.
- Brambila-Tapia, Aniel Jessica Leticia. s. d. « MDR1 (ABCB1) Polymorphisms: Functional Effects and Clinical Implications », 10.
- Cacabelos, Ramón, Natalia Cacabelos, et Juan C. Carril. 2019. « The Role of Pharmacogenomics in Adverse Drug Reactions ». *Expert Review of Clinical Pharmacology* 12 (5): 407-42. <https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1597706>.
- Cao, Kangna, Guanghui Ren, Chengcan Lu, Yao Wang, Yanan Tan, Jing Zhou, Yongjie Zhang, et al. 2020. « ABCC2 c.-24 C>T Single-Nucleotide Polymorphism Was Associated with the Pharmacokinetic Variability of Deferasirox in Chinese Subjects ». *European Journal of Clinical Pharmacology* 76 (1): 51-59. <https://doi.org/10.1007/s00228-019-02775-1>.
- Cheurfa, Taoues, and Nouara Kaïd Tlilane. 2015. « L'INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE TERMINALE EN ALGERIE: ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES ET ECONOMIQUES. » *Les cahiers du CREAD* 30 (112): 113-35.
- Chen, Lucy, et G V Ramesh Prasad. 2018. « CYP3A5 Polymorphisms in Renal Transplant Recipients: Influence on Tacrolimus Treatment ». *Pharmacogenomics and Personalized Medicine* Volume 11 (mars): 23-33. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S107710>.
- Cheurfa, Taoues, et Nouara Kaïd Tlilane. 2015. « L'INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE TERMINALE EN ALGERIE: ASPECTS EPIDEMIOLOGIQUES ET ECONOMIQUES ». *Les cahiers du CREAD* 30 (112): 113-35.
- Crettol, Séverine, Jean-Pierre Venetz, Massimiliano Fontana, John-David Aubert, Nicolas Ansermot, Marc Fathi, Manuel Pascual, et Chin B. Eap. 2008. « Influence of ABCB1 Genetic Polymorphisms on Cyclosporine Intracellular Concentration in Transplant Recipients ». *Pharmacogenetics and Genomics* 18 (4): 307-15. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3282f7046f>.
- C. Charlier et G. Plomteux, « La place actuelle de l'immunoanalyse en toxicologie clinique », *Immuno-Anal. Biol. Spéc.*, vol. 11, no 4, p. 225-239, 1996.
- C. Combea et O. Kourilskyb, « Chronic kidney disease », *Néphrologie Troubl. Hydroélectrolytiques*, p. 279, 2014.
- C. Sipeky et al., « Genetic variability and haplotype profile of MDR1 (ABCB1) in Roma and Hungarian population samples with a review of the literature », *Drug Metab. Pharmacokinet.*, vol. 26, no 2, p. 206-215, 2011



- Dai, Yang, Kazunori Iwanaga, Yvonne S. Lin, Mary F. Hebert, Connie L. Davis, Weili Huang, Evan D. Kharasch, et Kenneth E. Thummel. 2004. « In Vitro Metabolism of Cyclosporine A by Human Kidney CYP3A5 ». *Biochemical Pharmacology* 68 (9): 1889-1902. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.07.012>.
- D. I. Min et V. L. Ellingrod, « C3435T mutation in exon 26 of the human MDR1 gene and cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects », *Ther. Drug Monit.*, vol. 24, no 3, p. 400–404, 2002.
- D. Tsinalis et I. Binet, « Appréciation de la fonction rénale: créatininémie, urée et filtration glomérulaire », *Forum Méd. Suisse – Swiss Med. Forum*, vol. 6, no 18, mai 2006, doi: 10.4414/fms.2006.05853.
- E. Poitras et A. Houde, « La PCR en temps réel : principes et applications », *Rev. Biol. Biotechnol.*, vol. 2, no 2, p. 2–11, 2002.
- Forsythe, Peter, et Sue Paterson. 2014. « Ciclosporin 10 Years on: Indications and Efficacy ». *Veterinary Record* 174 (Suppl 2): 13-21. <https://doi.org/10.1136/vr.102484>.
- F. Caron, « Electrophorèse de l'ADN en champ pulsé », 1988.
- Haufroid, V, M De Meyer, P Wallemacq, et M Mourad. s. d. « LA PHARMACOGÉNÉTIQUE COMME AIDE PRÉCIEUSE AU MONITORING THÉRAPEUTIQUE : L'EXPÉRIENCE ACQUISE AUX CLINIQUES UNIVERSITAIRES SAINT-LUC AVEC LES MÉDICAMENTS IMMUNOSUPPRESSEURS UTILISÉS EN TRANSPLANTATION RÉNALE », 6.
- Hodges, Laura M., Svetlana M. Markova, Leslie W. Chinn, Jason M. Gow, Deanna L. Kroetz, Teri E. Klein, et Russ B. Altman. 2011. « Very Important Pharmacogene Summary ». *Pharmacogenetics and Genomics* 21 (3): 152-61. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283385a1c>.
- H. Izzedine et G. Deray, « Acide urique et fonction rénale », *Rev. Rhum.*, vol. 78, p. S134-S141, oct. 2011, doi: 10.1016/S1169-8330(11)70026-6.
- Ieiri, Ichiro. 2012. « Functional Significance of Genetic Polymorphisms in P-Glycoprotein (MDR1, ABCB1) and Breast Cancer Resistance Protein (BCRP, ABCG2) ». *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 27 (1): 85-105. <https://doi.org/10.2133/dmpk.DMPK-11-RV-098>.
- J. Ghabri, R. Mabrouk, R. Kefi, A. Banasr, et N. Frih, « Article original / Original article », p. 7, 2018.
- Kahan, Barry D., Paul Keown, Gary A. Levy, et Atholl Johnston. 2002. « Therapeutic Drug Monitoring of Immunosuppressant Drugs in Clinical Practice ». *Clinical Therapeutics* 24 (3): 330-50; discussion 329.
- J.-L. Beaudeau et al., « Données actuelles sur le dosage de l'excrétion urinaire de l'albumine », *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, vol. 68, no 1, p. 9-25, janv. 2010, doi: 10.1684/abc.2010.0402.
- Kelly, P. A., H. Wang, K. L. Napoli, B. D. Kahan, et H. W. Strobel. 1999. « Metabolism of Cyclosporine by Cytochromes P450 3A9 and 3A4 ». *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 24 (4): 321-28. <https://doi.org/10.1007/BF03190040>.
- Kim, Youngjin, et Jue Chen. 2018. « Molecular Structure of Human P-Glycoprotein in the ATP-Bound, Outward-Facing Conformation », 6.
- Kimchi-Sarfaty, Chava, Andrew H Marple, Shiri Shinar, Avraham M Kimchi, David Scavo, M Isabella Roma, In-Wha Kim, et al. 2007. « Ethnicity-Related Polymorphisms and Haplotypes in the Human ABCB1 Gene ». *Pharmacogenomics* 8 (1): 29-39. <https://doi.org/10.2217/14622416.8.1.29>.
- Leggeri, Simone, Navid Sobhani, 1 Breast Cancer Unit, ASST Cremona, Viale Concordia 1, 26100, Cremona, Italy, et 2 Department of Medical, Surgical, & Health Sciences,



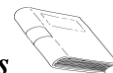
- University of Trieste, Piazza Ospitale 1 34129 Trieste, Italy. 2020. « Single Nucleotide Polymorphisms Rs1045642 C>T Genetic Alteration in ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1 Role in Increasing Everolimus Toxicity in Metastatic Breast Cancer ». *AIMS Molecular Science* 7 (1): 1-11.
<https://doi.org/10.3934/molsci.2020001>.
- Liu, Hongxia, Qinxia Xu, Wenyan Huang, Qi Zhao, Zhihu Jiang, Xinyu Kuang, Zhiling Li, Huajun Sun, et Xiaoyan Qiu. 2019. « CYP3A5 and CYP3A7 Genetic Polymorphisms Affect Tacrolimus Concentration in Pediatric Patients with Nephrotic Range Proteinuria ». *European Journal of Clinical Pharmacology* 75 (11): 1533-40.
<https://doi.org/10.1007/s00228-019-02726-w>.
- López-Fernández, Luis A. 2018a. « ATP-Binding Cassette Transporters in the Clinical Implementation of Pharmacogenetics ». *Journal of Personalized Medicine* 8 (4): 40.
<https://doi.org/10.3390/jpm8040040>.
- L. Labat, M. Deveaux, et J.-P. Dubost, « Applications de l'électrophorèse capillaire en toxicologie clinique et médico-légale », in *Annales de Toxicologie Analytique*, 2000, vol. 12, no 3, p. 179–195.
- . 2018b. « ATP-Binding Cassette Transporters in the Clinical Implementation of Pharmacogenetics ». *Journal of Personalized Medicine* 8 (4): 40.
<https://doi.org/10.3390/jpm8040040>.
- Machado, C.G., R.T. Calado, A.B. Garcia, et R.P. Falcão. 2003. « Age-Related Changes of the Multidrug Resistance P-Glycoprotein Function in Normal Human Peripheral Blood T Lymphocytes ». *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 36 (12): 1653-57. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2003001200006>.
- Marquet, P, N Djebli, et N Picard. s. d. « La pharmacogénétique Du concept à la pratique clinique Pharmacogénétique des médicaments immunosuppresseurs », 8.
- Marzolini, C. 2004. « Polymorphisms in Human MDR1 (P-Glycoprotein): Recent Advances and Clinical Relevance ». *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 75 (1): 13-33.
<https://doi.org/10.1016/j.clpt.2003.09.012>.
- Matsuda, Satoshi, et Shigeo Koyasu. 2000. « Mechanisms of Action of Cyclosporine ». *Immunopharmacology* 47 (2-3): 119-25. [https://doi.org/10.1016/S0162-3109\(00\)00192-2](https://doi.org/10.1016/S0162-3109(00)00192-2).
- Muller, W K, C Dandara, K Manning, D Mhandire, J Ensor, Z Barday, et R Freercks. 2020. « CYP3A5 Polymorphisms and Their Effects on Tacrolimus Exposure in an Ethnically Diverse South African Renal Transplant Population ». *South African Medical Journal* 110 (2): 159. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.2020.v110i2.13969>.
- M. Bochud, C. B. Eap, P. Bovet, et M. Burnier, « La génétique de l'hypertension: rôle des gènes CYP3A5 et ABCB1 dans le contrôle de la tension artérielle », *Kardiovaskuläre Med.*, vol. 11, no 11, p. 353-360, 2008.
- M. Milicevic, J. M. Krzesinski, et J. P. Squifflet, « Actualités sur les agents immunosuppresseurs utilisés en transplantation rénale », *Rev Med Liege*, p. 6.
- M.-M. Ameyaw et al, « MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity », *Pharmacogenetics*, vol. 11, no 3, p. 217-221, avr. 2001, doi: 10.1097/00008571-200104000-00005.
- Naushad, Shaik Mohammad, Addepalli Pavani, Yedluri Rupasree, Tajamul Hussain, Salman A. Alrokayan, et Vijay Kumar Kutala. 2019. « Recipient ABCB1, Donor and Recipient CYP3A5 Genotypes Influence Tacrolimus Pharmacokinetics in Liver Transplant Cases ». *Pharmacological Reports* 71 (3): 385-92.
<https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.01.006>.



- N. Ansermot, M. Fathi, J.-L. Veuthey, J. Desmeules, D. Hochstrasser, et S. Rudaz, « Dosage de la ciclosporine dans les cellules mononucléaires du sang périphérique », *Pipette-Swiss Lab. Med.*, no 6, p. 15–16, 2008.
- N. Marsousi, V. Ancrenaz, Y. Daali, S. Rudaz, C. Samer, et J. Desmeules, « Influence des polymorphismes génétiques sur la variabilité de la réponse aux opioïdes », *Douleur Analgésie*, vol. 26, no 4, p. 203-208, déc. 2013, doi: 10.1007/s11724-013-0358-4.
- N. von Ahsen, M. Richter, C. Grupp, B. Ringe, M. Oellerich, et V. W. Armstrong, « No influence of the MDR-1 C3435T polymorphism or a CYP3A4 promoter polymorphism (CYP3A4-V allele) on dose-adjusted cyclosporin A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients », *Clin. Chem.*, vol. 47, no 6, p. 1048–1052, 2001
- Oberbauer, Rainer, Oriol Bestard, Lucrezia Furian, Umberto Maggiore, Julio Pascual, Lionel Rostaing, et Klemens Budde. 2020. « Optimization of Tacrolimus in Kidney Transplantation: New Pharmacokinetic Perspectives ». *Transplantation Reviews* 34 (2): 100531. <https://doi.org/10.1016/j.trre.2020.100531>.
- Ozbay, Aygen, Nikolaos Karamperis, et Kaj Anker Jorgensen. 2007. « A Review of the Immunosuppressive Activity of Cyclosporine Metabolites: New Insights into an Old Issue ». *Current Clinical Pharmacology* 2 (3): 244-48. <https://doi.org/10.2174/157488407781668758>.
- Pouché, Lucie, Jana Stojanova, Pierre Marquet, et Nicolas Picard. 2016. « New Challenges and Promises in Solid Organ Transplantation Pharmacogenetics: The Genetic Variability of Proteins Involved in the Pharmacodynamics of Immunosuppressive Drugs ». *Pharmacogenomics* 17 (3): 277-96. <https://doi.org/10.2217/pgs.15.169>.
- Prasad, Narayan, Akhilesh Jaiswal, Manas Ranjan Behera, Vikas Agarwal, Ravi Kushwaha, Dharmendra Bhadauria, Anupama Kaul, et Amit Gupta. 2020. « Melding Pharmacogenomic Effect of MDR1 and CYP3A5 Gene Polymorphism on Tacrolimus Dosing in Renal Transplant Recipients in Northern India ». *Kidney International Reports* 5 (1): 28-38. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2019.09.013>.
- Prytuła, Agnieszka, et Teun van Gelder. 2019. « Clinical Aspects of Tacrolimus Use in Paediatric Renal Transplant Recipients ». *Pediatric Nephrology* 34 (1): 31-43. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-3892-8>.
- P. Gandia et al., « Influence des immunosuppresseurs co-administrés au mycophénolate mofétil lors du dosage de l'acide mycophénolique par technique immuno-enzymatique », in *Annales de Toxicologie Analytique*, 2011, vol. 23, no 3, p. 147–153.
- Russell, Graham, Robert Graveley, Janet Seid, Abdul-Karim Al-Humidan, et Henrik Skjodt. 1992. « Mechanisms of Action of Cyclosporine and Effects on Connective Tissues ». *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 21 (6): 16-22. [https://doi.org/10.1016/0049-0172\(92\)90009-3](https://doi.org/10.1016/0049-0172(92)90009-3).
- R. Kim, « Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans », *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 70, no 2, p. 189-199, août 2001, doi: 10.1067/mcp.2001.117412.
- Sharom, Frances J. s. d. « Multidrug Resistance Protein (P-Glycoprotein; MDR1) », 60.
- Stefanović, Nikola, Radmila Veličković-Radovanović, Aleksandra Catić-Djordjević, Ivana Damnjanović, Katarina Dinić, Branka Mitić, Tatjana Jevtović-Stoimenov, Jelena Bašić, Milena Despotović, et Tatjana Cvetković. 2019. « INTERINDIVIDUAL AND INTRAINDIVIDUAL PHARMACOKINETIC VARIABILITY OF TACROLIMUS WITHIN THE FIRST YEAR AFTER RENAL TRANSPLANTATION: EFFECT OF CYP3A5 GENE POLYMORPHISM ». *Acta Medica Medianae*, 9.
- S. B. Abderrazak, « Bases de la technique PCR et methodes apparentees appliquees en parasitologie veterinaire », *Arch Inst Pasteur Tunis*, p. 51–57, 2004.



- Tedesco, Dustin, et Lukas Haragsim. 2012. « Cyclosporine: A Review ». *Journal of Transplantation* 2012: 1-7. <https://doi.org/10.1155/2012/230386>.
- « Tolypocladium Inflatum- Alchetron, The Free Social Encyclopedia ». 2016. Alchetron.Com. 18 janvier 2016. <https://alchetron.com/Tolypocladium-inflatum>.
- « Trasplante renal | Alcer Gipuzkoa ». s. d. Consulté le 13 mars 2018. <http://www.alcergipuzkoa.org/trasplante-renal/>.
- Turner, Adrian P., Camille Alam, et Reina Bendayan. 2020. « Efflux Transporters in Cancer Resistance: Molecular and Functional Characterization of P-Glycoprotein ». In *Drug Efflux Pumps in Cancer Resistance Pathways: From Molecular Recognition and Characterization to Possible Inhibition Strategies in Chemotherapy*, 1-30. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816434-1.00001-2>.
- T.Hannedouche et M. Offner, Insuffisance rénale : diagnostics et suivis biologiques. Paris : Bioforma, 2011.
- T. Illmer et al., « MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients », *Cancer Res.*, vol. 62, no 17, p. 4955–4962, 2002.
- Vautier, S, C Fernandez, A Milane, L Lacomblez, C Davrinche, et R Farinotti. 2006. « ABCB1 (P-glycoprotéine) et barrière hémato-encéphalique : implication dans les maladies neurologiques et leurs traitements » 25: 11.
- V. Bourquin et P.-Y. Martin, « Insuffisance rénale chronique: prise en charge », in *Forum médical suisse*, 2006, vol. 6, no 36, p. 794–803.
- V. Delatour et al., « Développement d'une méthode de référence pour le dosage de la créatinine pour améliorer le diagnostic et le suivi de l'insuffisance rénale », *Rev. Fr. Métrologie*, no 26, oct. 2011, doi: 10.1051/rfm/2011008.
- Wang, Rong, Xuan Sun, Yong-Shu Deng, et Xu-Wen Qiu. 2019. « Effects of MDR1 1236C > T-2677G > T-3435C > T Polymorphisms on the Intracellular Accumulation of Tacrolimus, Cyclosporine A, Sirolimus and Everolimus ». *Xenobiotica* 49 (11): 1373-78. <https://doi.org/10.1080/00498254.2018.1563732>.
- Whitlock, Brayden D., et Elaine M. Leslie. 2020. « Efflux Transporters in Anti-Cancer Drug Resistance: Molecular and Functional Identification and Characterization of Multidrug Resistance Proteins (MRPs/ABCCs) ». In *Drug Efflux Pumps in Cancer Resistance Pathways: From Molecular Recognition and Characterization to Possible Inhibition Strategies in Chemotherapy*, 31-65. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816434-1.00002-4>.
- Wolking, Stefan. s. d. « Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature », 27.
- Yates, Charles R., Wenhui Zhang, Pengfei Song, Shen Li, A. Osama Gaber, Malak Kotb, Marsha R. Honaker, Rita R. Alloway, et Bernd Meibohm. 2003. « The Effect of CYP3A5 and MDR1 Polymorphic Expression on Cyclosporine Oral Disposition in Renal Transplant Patients ». *The Journal of Clinical Pharmacology* 43 (6): 555-64. <https://doi.org/10.1177/0091270003253617>.
- Yau, Wai-Ping, Charlene Wei-Ting Loh, et Anantharaman Vathsala. 2019. « Conversion from Twice-Daily Prograf® to Once-Daily Advagraf® in Multi-Ethnic Asian Adult Renal Transplant Recipients With or Without Concomitant Use of Diltiazem: Impact of CYP3A5 and MDR1 Genetic Polymorphisms on Tacrolimus Exposure ». *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 44 (4): 481-92. <https://doi.org/10.1007/s13318-018-0531-5>.
- Zahari, Zalina, Chee Siong Lee, Muslih Abdulkarim Ibrahim, Nurfadhline Musa, Mohd Azhar Mohd Yasin, Yeong Yeh Lee, Soo Choon Tan, Nasir Mohamad, et Rusli Ismail. 2017. « Relationship Between ABCB1 Polymorphisms and Cold Pain Sensitivity Among



- Healthy Opioid-Naive Malay Males ». *Pain Practice* 17 (7): 930-40.
<https://doi.org/10.1111/papr.12546>.
- Zajc Petranovic, Matea, Zeljka Tomas, Tatjana Skaric-Juric, Nina Smolej Narancic, Branka Janicijevic, Anita Stojanovic Markovic, et Marijana Pericic Salihovic. 2019. « The Variability Of multi-Drug Resistance *ABCB1* Gene in the Roma Population from Croatia ». *Molecular and Experimental Biology in Medicine* 2 (1): 10-18.
<https://doi.org/10.33602/mebm.2.1.2>.
- Zhang, Yu, Jia-li Li, Qian Fu, Xue-ding Wang, Long-shan Liu, Chang-xi Wang, Wen Xie, Zhuo-jia Chen, Wen-ying Shu, et Min Huang. 2013a. « Associations of *ABCB1*, *NFKB1*, *CYP3A*, and *NR1I2* Polymorphisms with Cyclosporine Trough Concentrations in Chinese Renal Transplant Recipients ». *Acta Pharmacologica Sinica* 34 (4): 555-60. <https://doi.org/10.1038/aps.2012.200>.
- . 2013b. « Associations of *ABCB1*, *NFKB1*, *CYP3A*, and *NR1I2* Polymorphisms with Cyclosporine Trough Concentrations in Chinese Renal Transplant Recipients ». *Acta Pharmacologica Sinica* 34 (4): 555-60. <https://doi.org/10.1038/aps.2012.200>.
- . « LE REIN LA “MACHINE À LAVER” DU CORPS ! »
<https://sfrpresse.sfr.fr/article/917db863-f098-4a18-9b4b-83379b5e6e97> (consulté le juill. 28, 2020).