



LE TACROLIMUS EST UN SUBSTRAT DE LA P-GLYCOPROTEINE, MAIS PAS DE MRP2 OU CNT3

Ouest Transplant – 15/11/2019

Gwendal Coste

Laboratoire de pharmacologie biologique, CHU de Rennes
CIC INSERM 1414

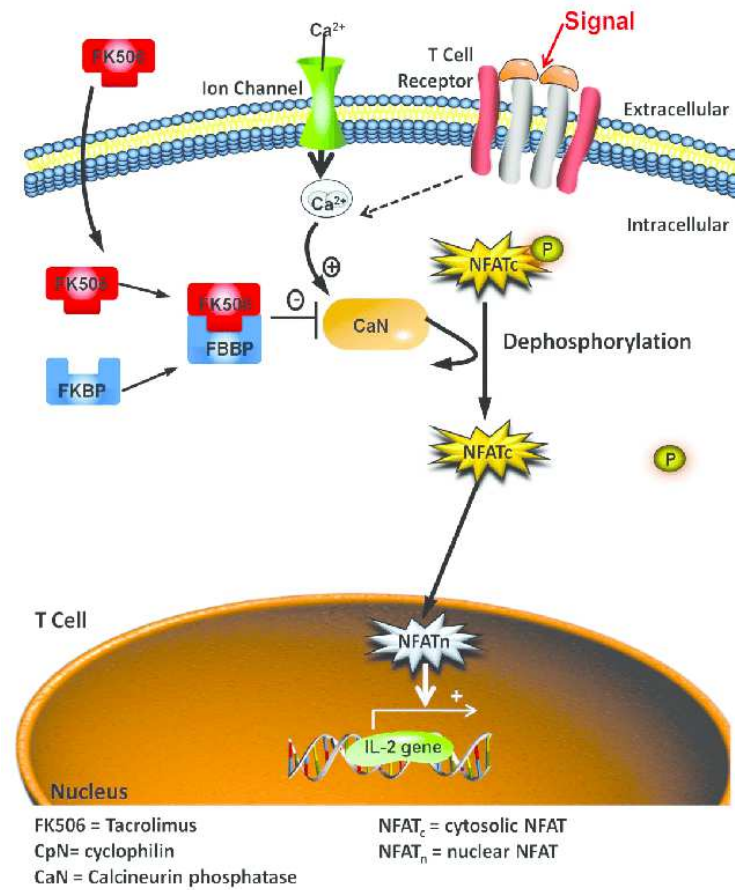
Univ Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé,
environnement et travail) - UMR_S 1085, F-35000 Rennes, France

Rationnel

- Transplantation = meilleur traitement en cas de défaillance terminale cœur, foie, reins
- Incompatibilité HLA + lésions I/R -> rejet
- En prévention : traitement IS
 - Mais incidence du rejet importante (jusqu'à 30 % la première année)
 - Evolue peu
 - Impact à long terme

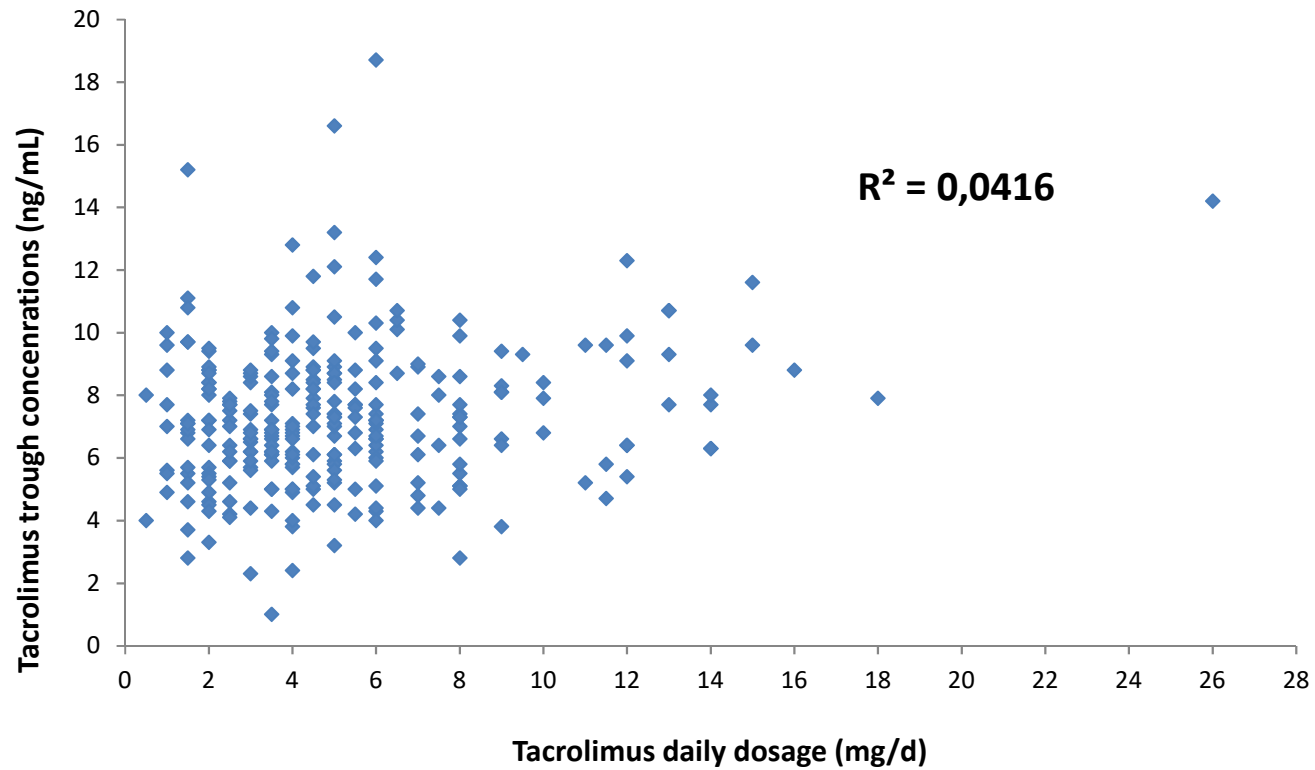
Boudjema *et al.*, Am J Transplant 2011

Kuo *et al.*, Liver Transplant 2016



https://www.researchgate.net/profile/Hilary_Cassidy2/publication/301645225/figure/fig1/AS:355120102559744@1461678638185/Mechanism-of-action-of-tacrolimus-FK506-In-the-cytoplasm-tacrolimus-FK506-binds-to.png

Relation dose-concentration

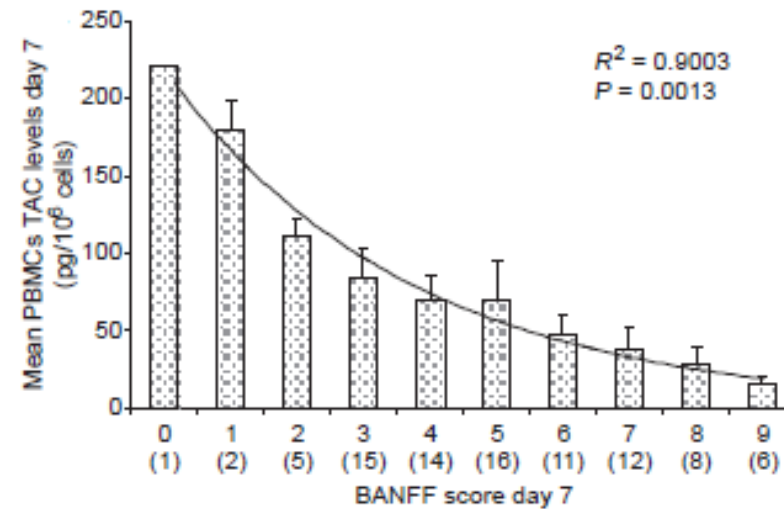
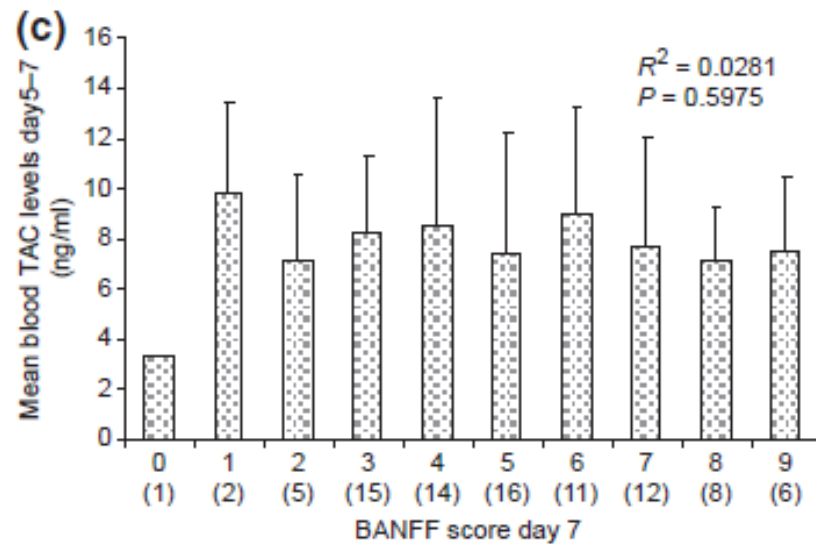


Données internes laboratoire de pharmacologie, CHU de Rennes
Transplantation rénale, patients à plus de trois mois POD, SS

Tacrolimus

- Mauvaise relation dose-concentration
 - > STP intensif des C_0
- Ne suffit pas pour avoir 100 % d'efficacité et 0 % d'effets indésirables
 - > Concentrations intracellulaires ?

Concentrations intra-cellulaires



Capron *et al.*, Transplant Int 2012
Transplantation hépatique

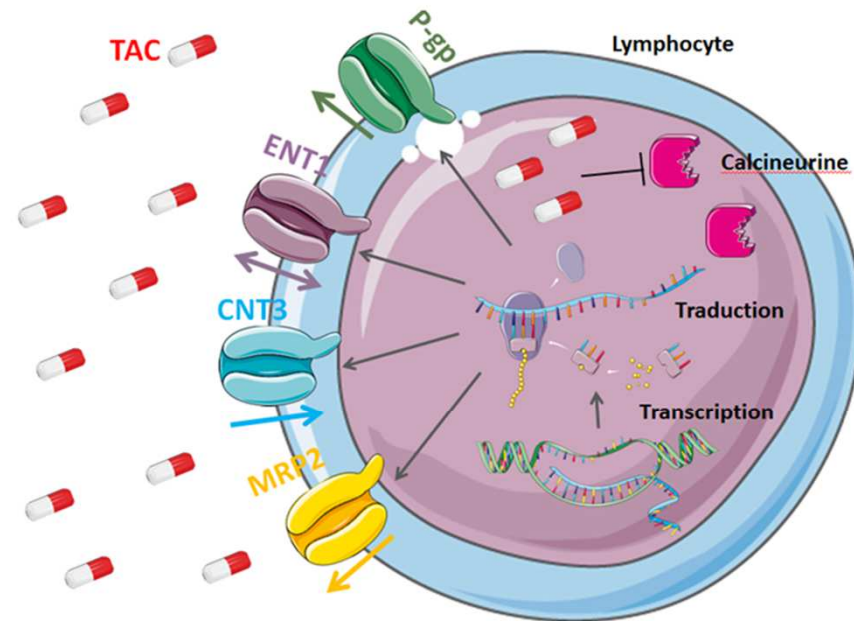
Tacrolimus

- PK influencée par la génétique
 - CYP3A4, 3A5
 - Et transporteurs !
- Exprimés par les lymphocytes (compartiment d'effet) : P-gp, MRP2, CNT3, (ENT1)

Hypothèse

- La mauvaise relation entre concentrations résiduelles et concentrations intra-cellulaires (PBMC) s'explique principalement par l'implication de transporteurs membranaires

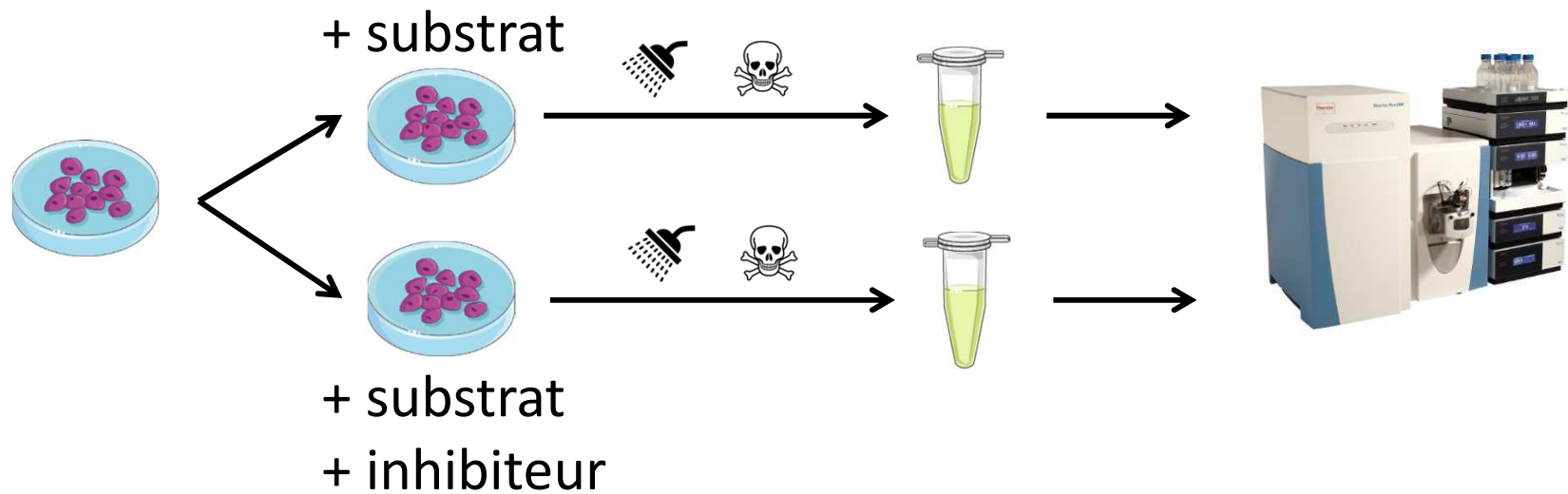
Schéma de l'hypothèse de travail



Concentration sanguine ↔ Expression des transporteurs ↔ Concentration intra-cellulaire ↔ Effet immunosuppresseur

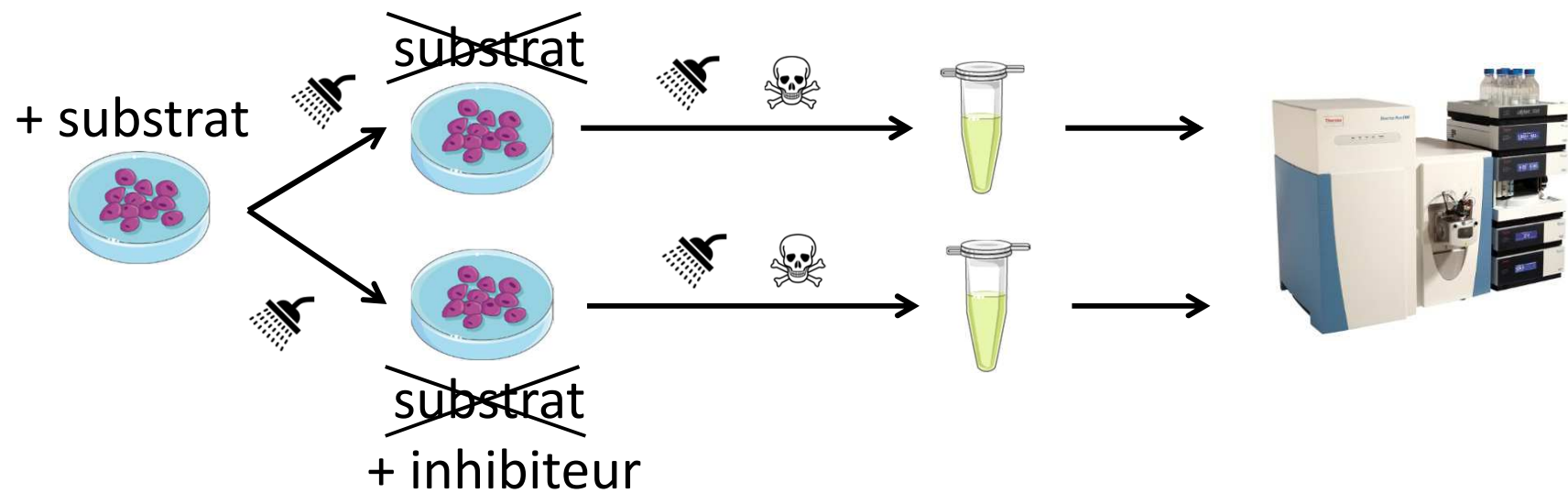
Matériels et méthodes

- Accumulation



Matériels et méthodes

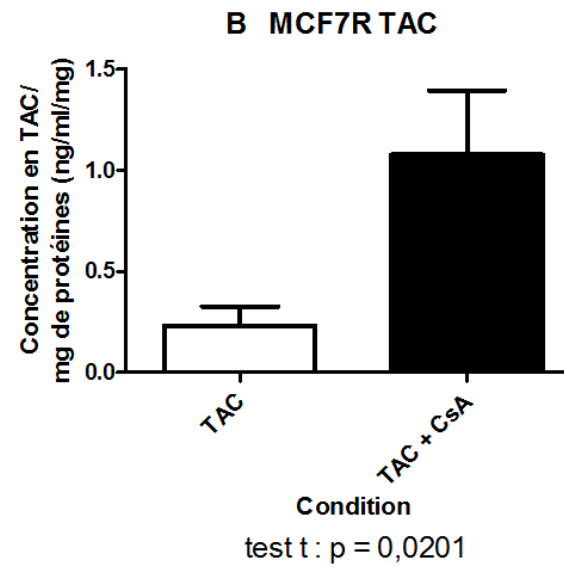
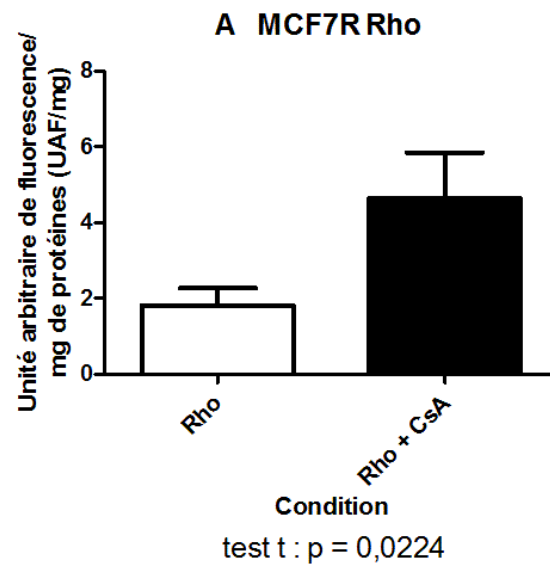
- Rétention



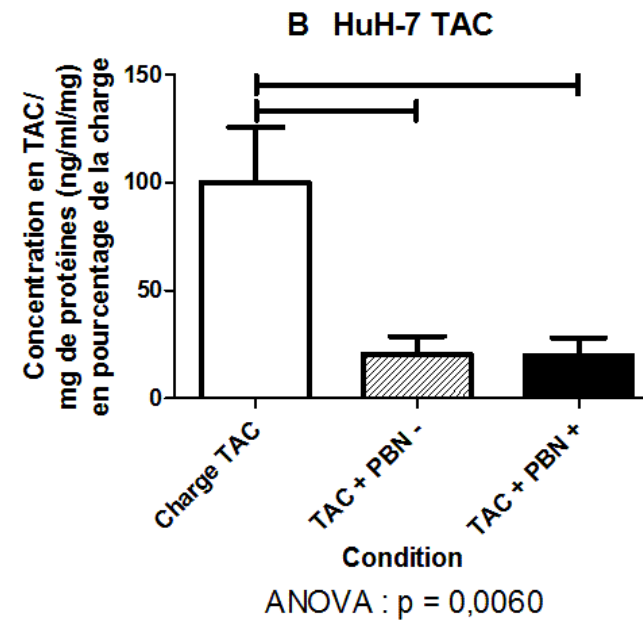
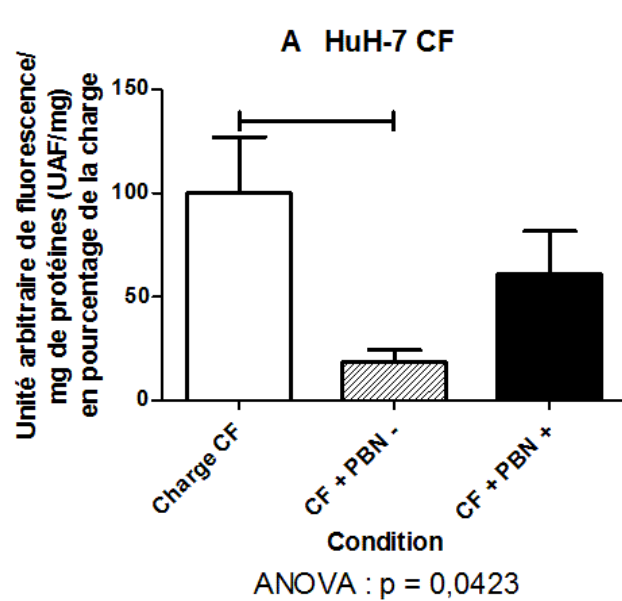
Matériels et méthodes

| Transporteur étudié | P-gp | MRP2 | CNT3 | ENTs |
|-------------------------|----------------|---------------------|---------------------|-------|
| Lignée cellulaire | MCF7R | Huh-7 | BeWo Macrophages | |
| Design experimental | Accumulation | Rétention | Accumulation | |
| Substrat de référence | Rhodamine 123 | Carboxyfluorescéine | Uridine tritiée | |
| Inhibiteur de référence | Ciclosporine A | Probénécide | Milieu sans Na | NBMPR |
| | | | Inosine (+ CNT2) | |
| | | | Thymidine (+ CNT1) | |

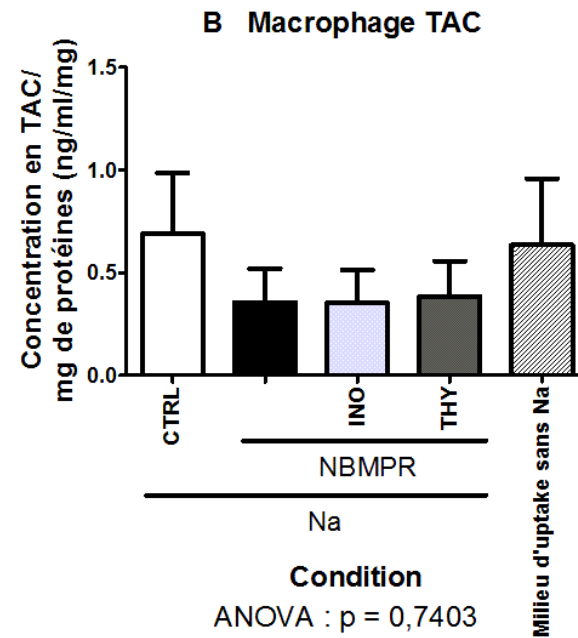
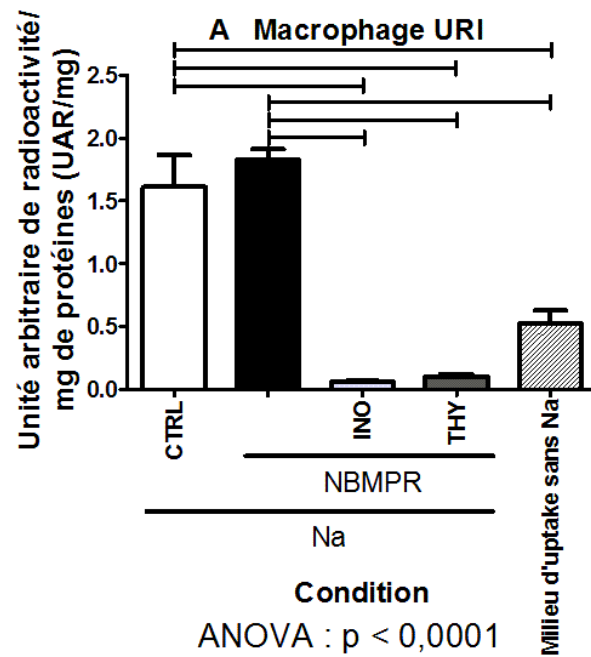
Résultats P-gp



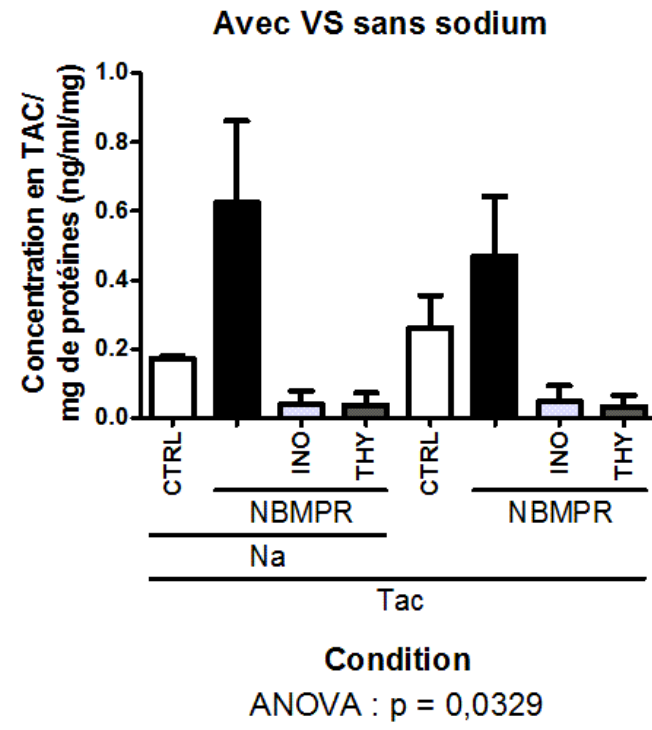
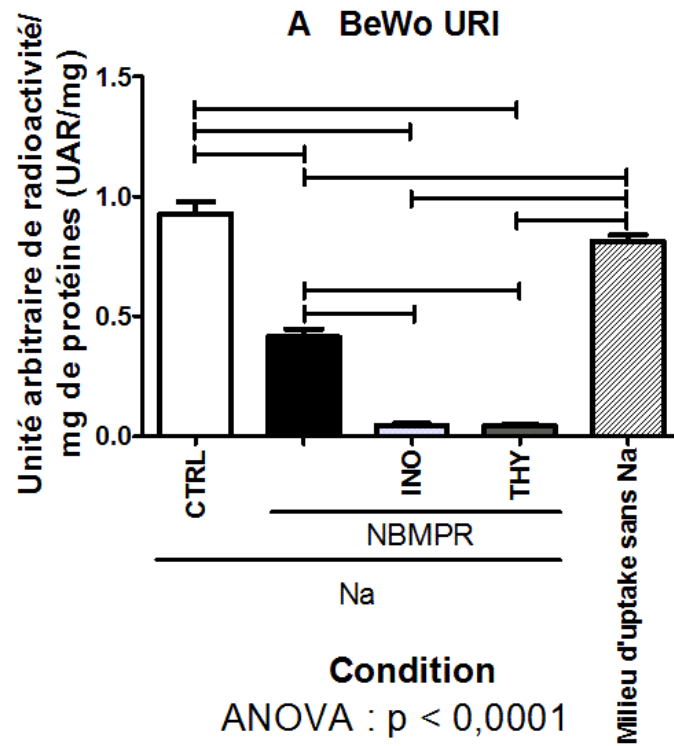
Résultats MRP2



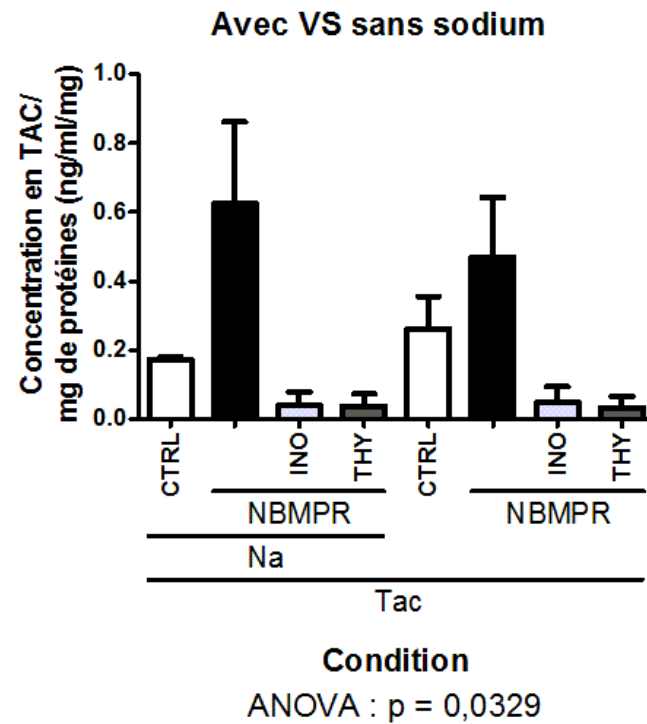
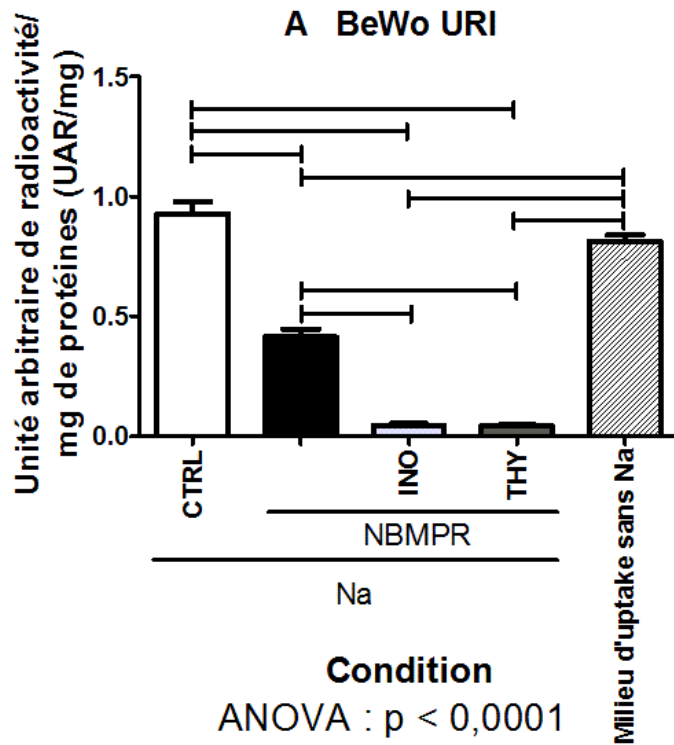
Résultats CNT3 & ENTs



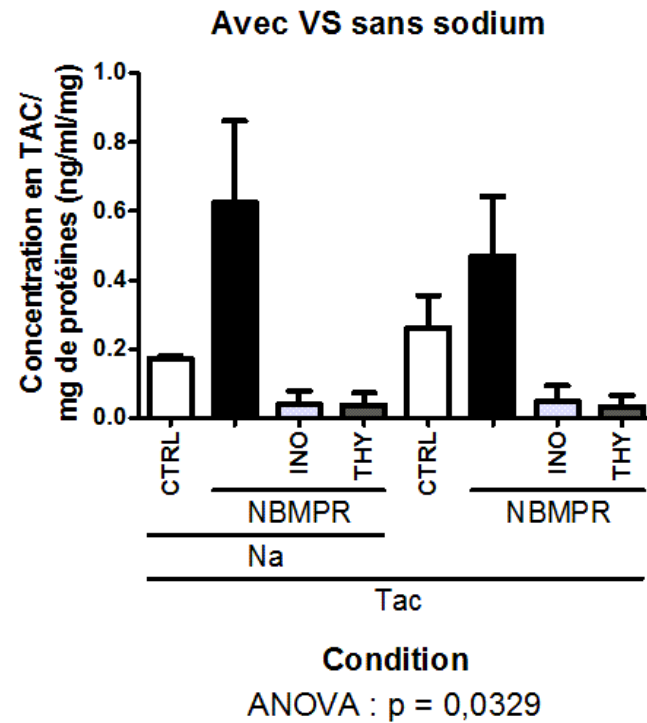
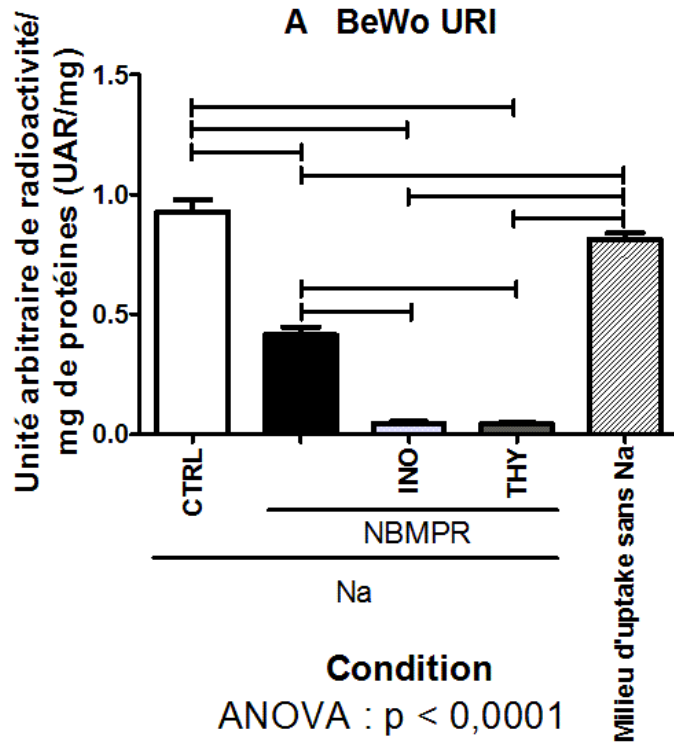
Résultats CNT3 & ENTs






Résultats 3 & ENTs



Résultats **C^X3** & ENTs



Discussion

- Etude mécanistique originale *in vitro*
- P-gp 
- MRP2, CNT3 
- ENTs  Équilibratifs... interprétation complexe
- Etude fonctionnelle (ni génotype ni évaluation de l'expression)

Discussion

- Problème de sélectivité des inhibiteurs

Published in final edited form as:

Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 2017 January 02; 36(1): 7–30. doi:
10.1080/15257770.2016.1210805.

Equilibrative Nucleoside Transporters – A Review

Rebba C. Boswell-Casteel[†] and Franklin A. Hays^{†,*,*}

| Substrate ^a | Human (K _m (mM) ^b) [±] |
|------------------------|--|
| Inosine | hENT1 (0.029 – 0.17), hENT2 (0.05 – 0.18), hENT3 |
| Thymidine | hENT1 (0.30), hENT2 (0.71), hENT3 |

Pour la suite

- Confirmer ENT1 et ENT2 en lignées ko
- Etude clinique
 - Niveaux ARNm des transporteurs (RT-PCRq)
 - Niveau expression membranaire protéines (FC)
 - Mise en regard des concentrations intra-PBMC
- Ambition : Définition d'une cible résiduelle sanguine personnalisée en fonction de l'expression des transporteurs -> Approche indirecte de la concentration intra-cellulaire

Remerciements

- Auteurs : Marc Le Vée, Camille Tron, Marie-Clémence Verdier, Olivier Fardel, Florian Lemaitre
- Techniciens et biologistes
- F&F

Merci de votre attention