



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

Ouest Transplant – 15/11/2019

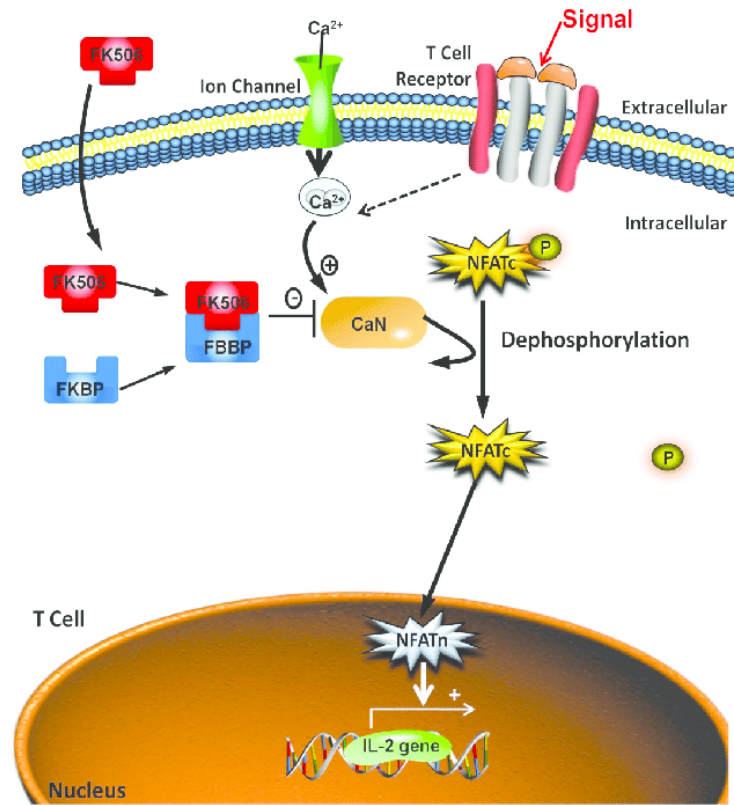
Gwendal Coste

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

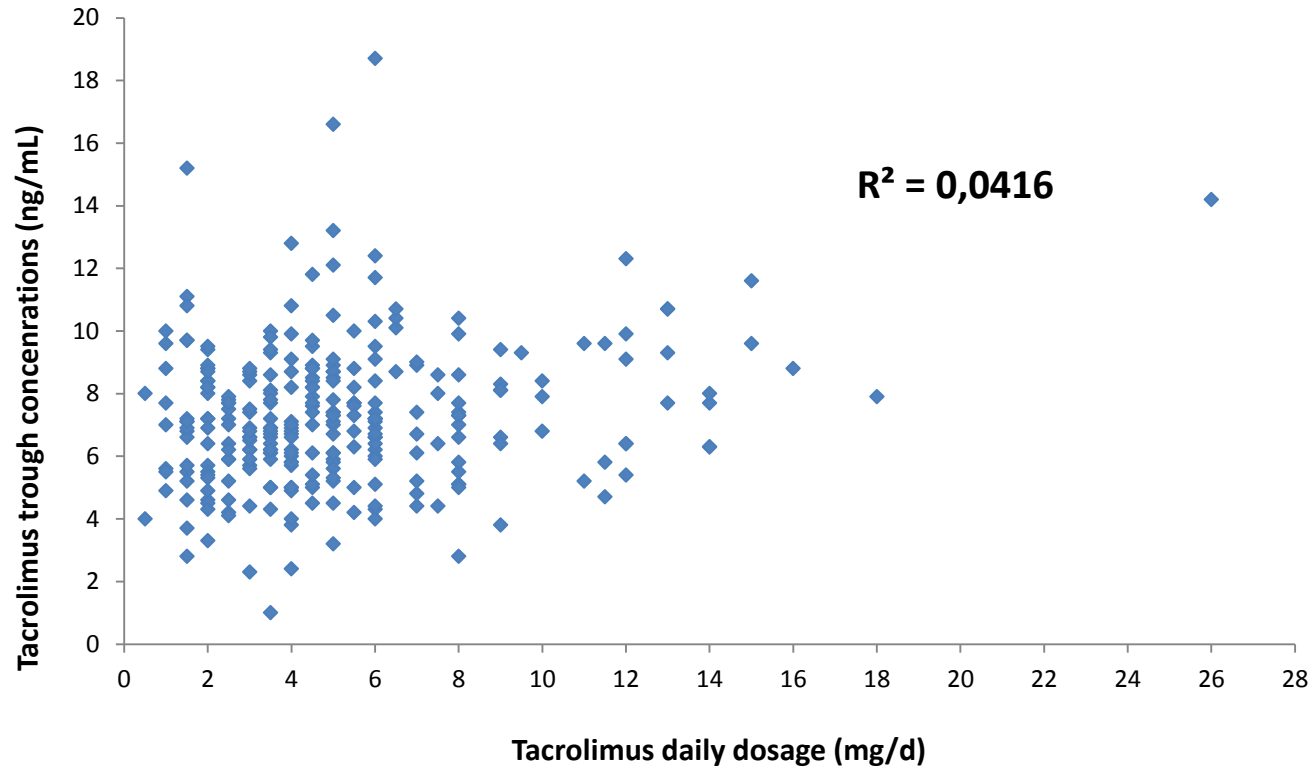


FK506 = Tacrolimus  
 CpN= cyclophilin  
 CaN = Calcineurin phosphatase

NFAT<sub>c</sub> = cytosolic NFAT  
 NFAT<sub>n</sub> = nuclear NFAT

[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](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

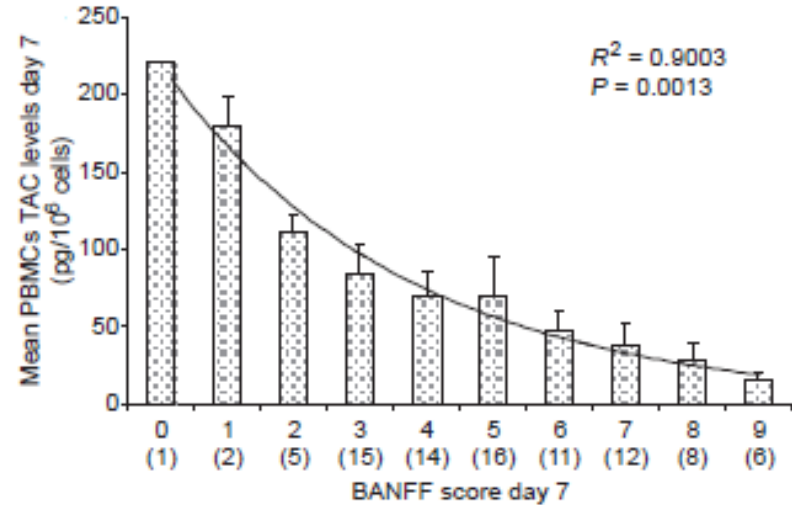
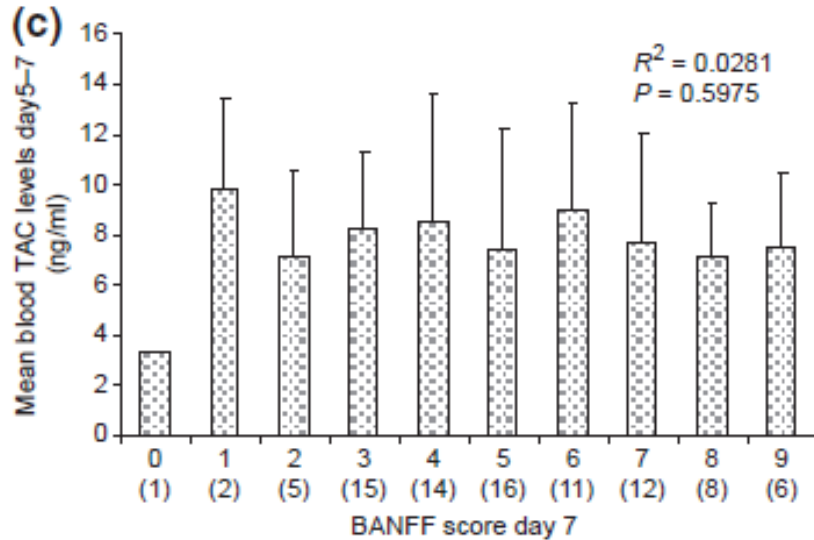


Données internes laboratoire de pharmacologie, CHU de Rennes  
Transplantation rénale, patients à plus de trois mois POD, SS

# 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



# Tacrolimus

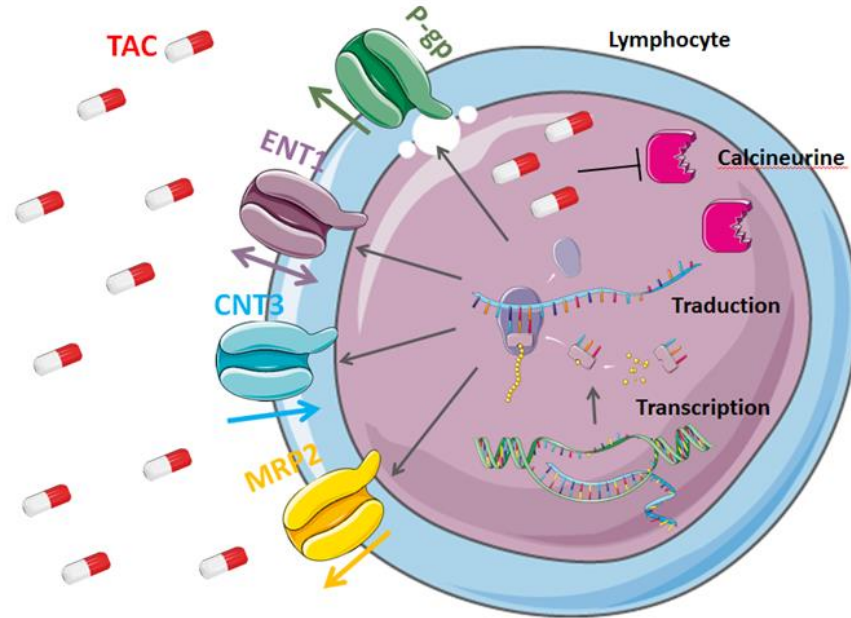
- PK influencée par la génétique
  - CYP3A4, 3A5
  - Et transporteurs !
- Exprimés par les lymphocytes (compartiment d'effet) : P-gp, MRP2, CNT3, (ENT1)

# Hypothèse

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



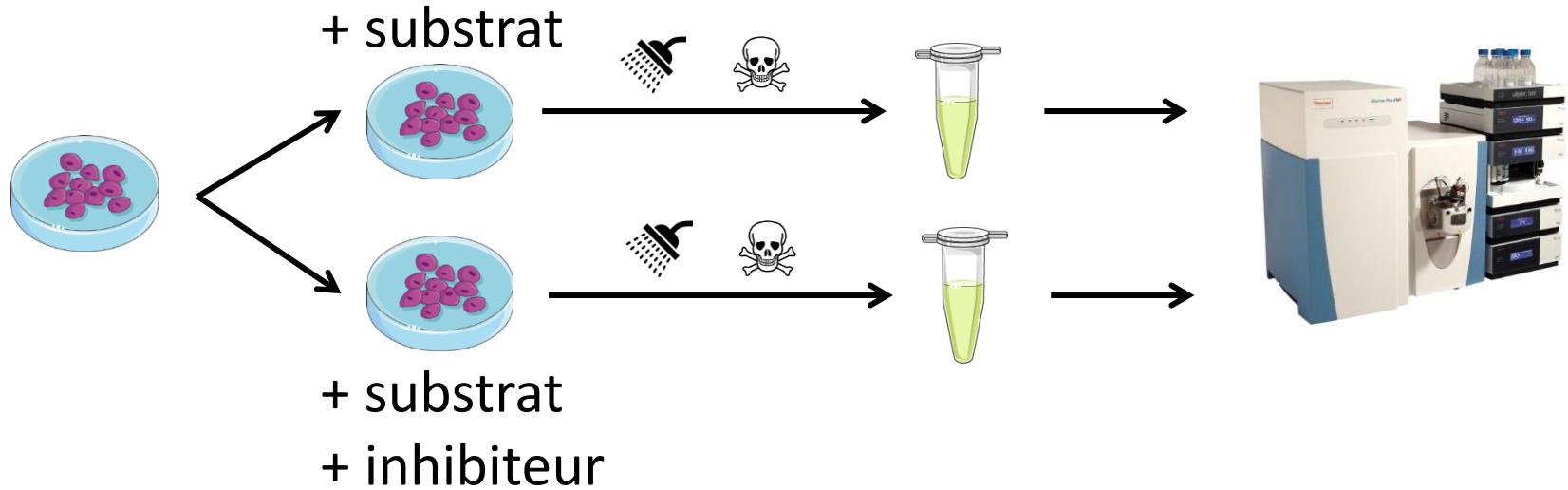
# Schéma de l'hypothèse de travail



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

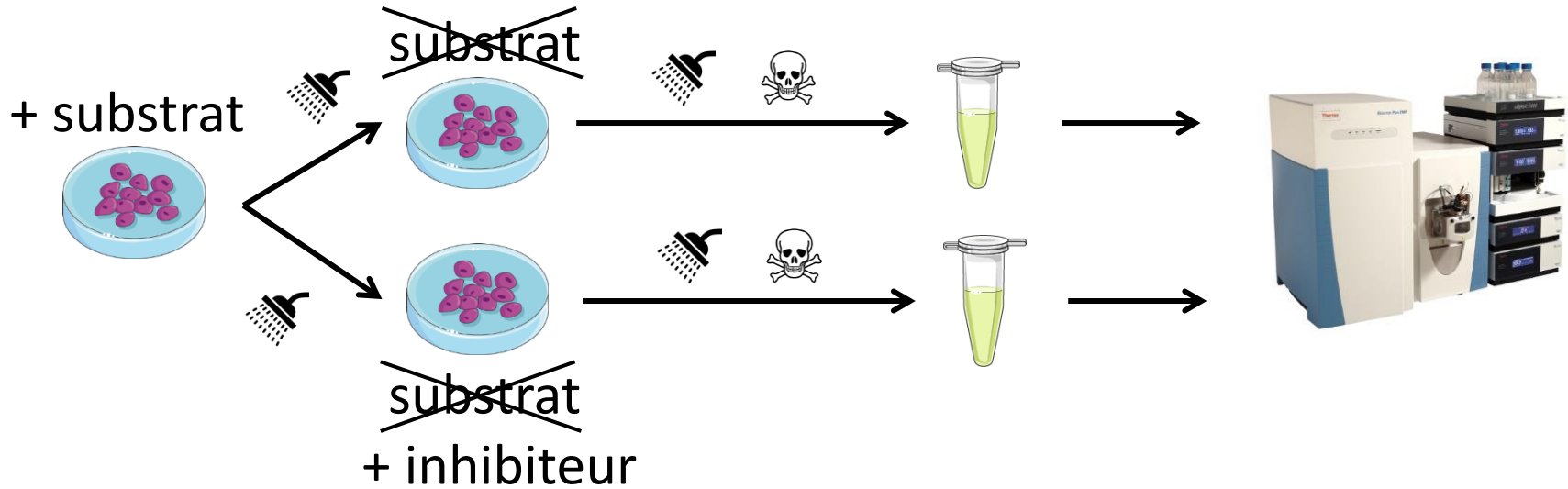
# Matériels et méthodes

- Accumulation



# Matériels et méthodes

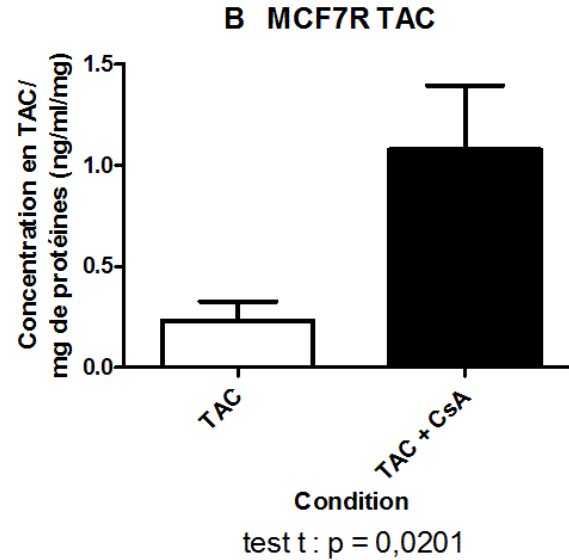
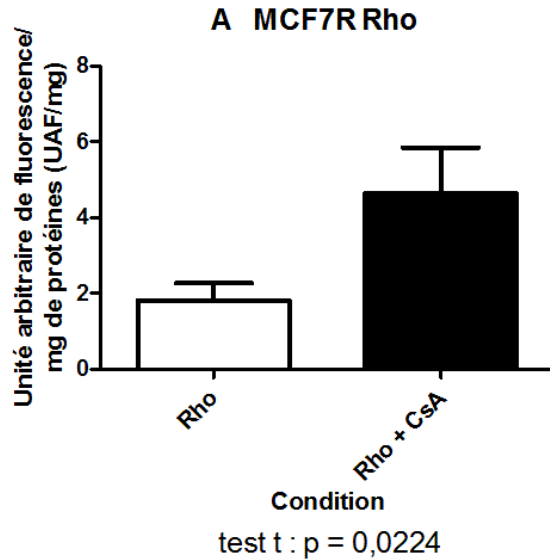
- Rétention



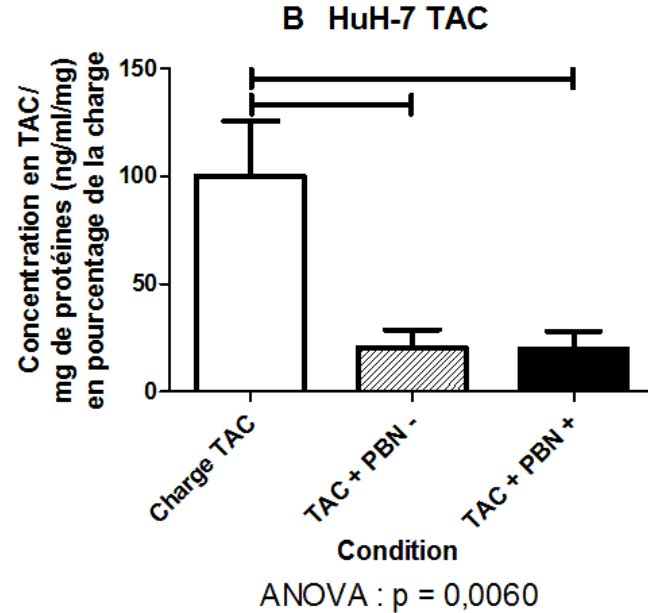
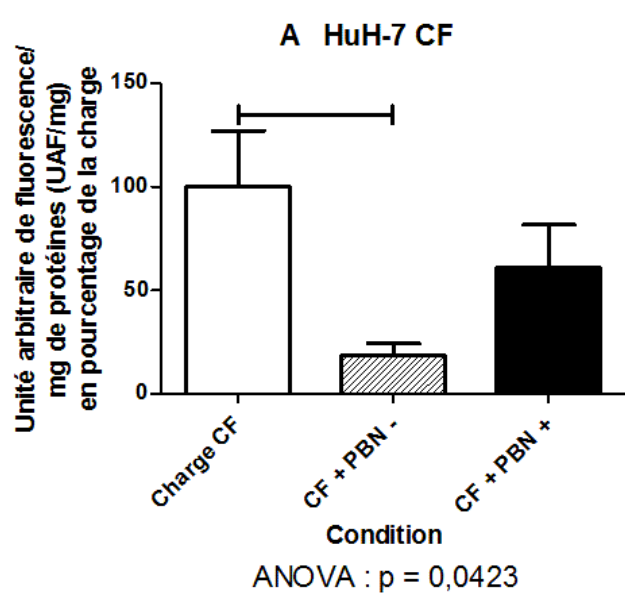
# Matériels et méthodes

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)	

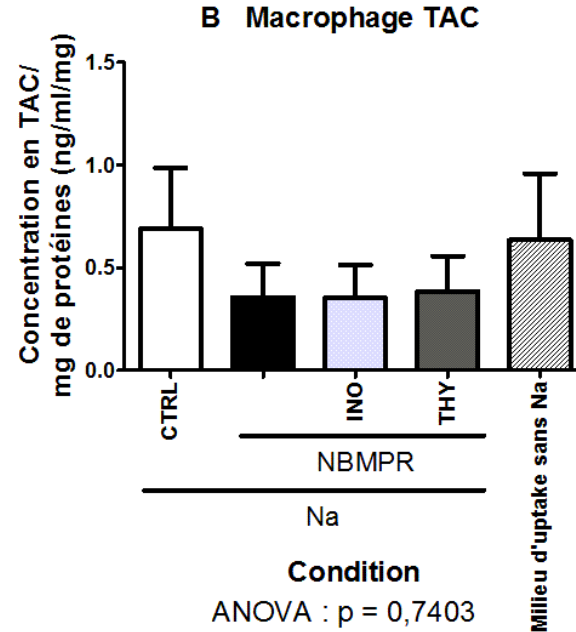
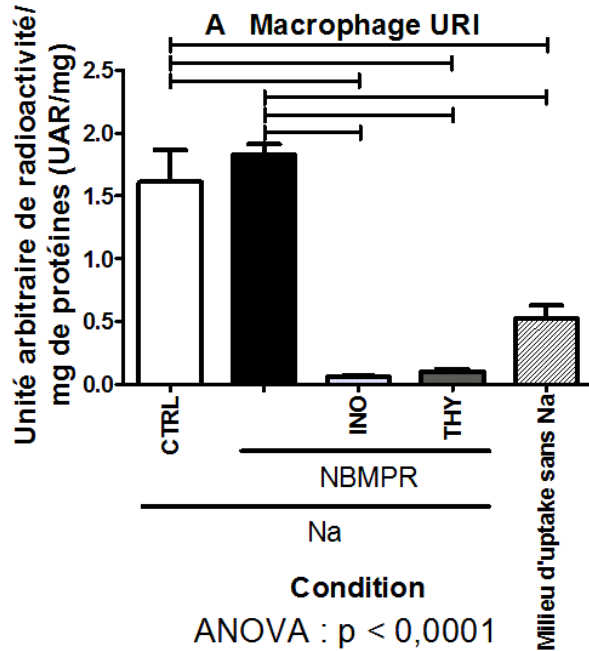
# Résultats P-gp



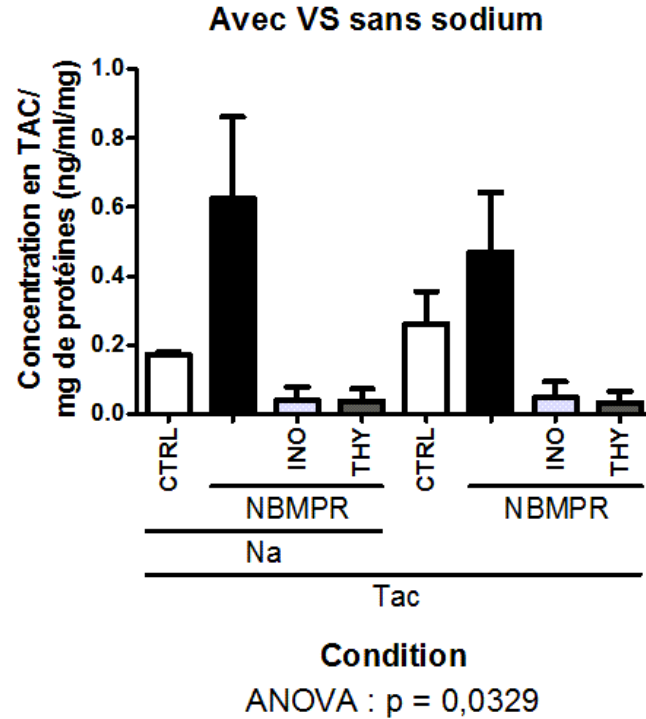
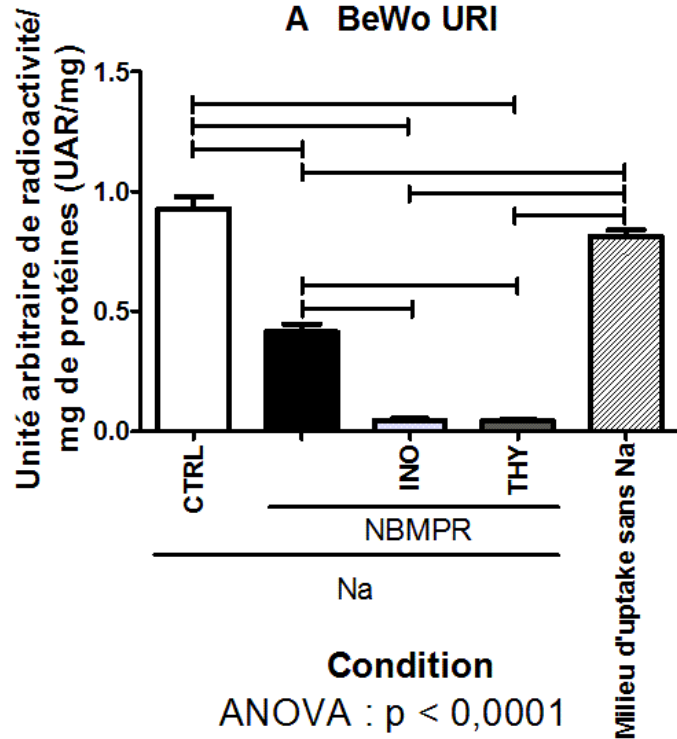
# Résultats MRP2



# Résultats CNT3 & ENTs

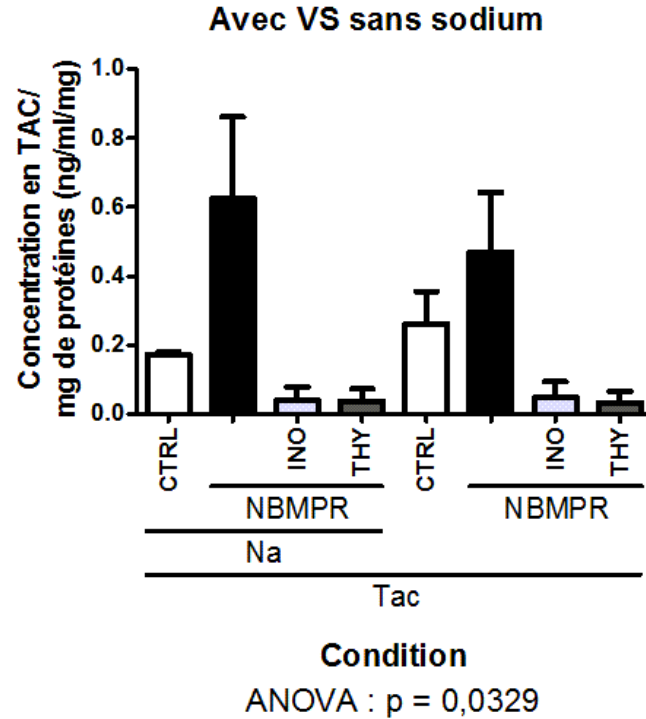
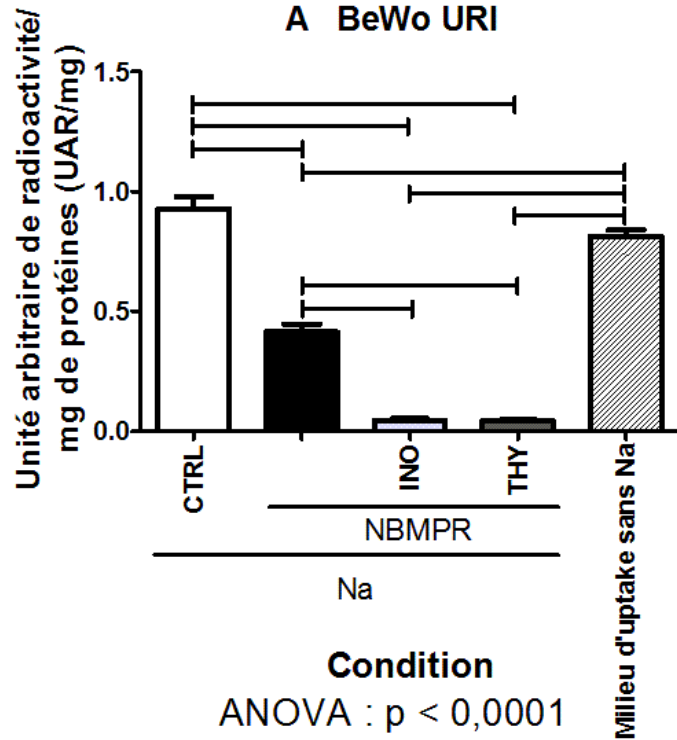


# Résultats CNT3 & ENTs

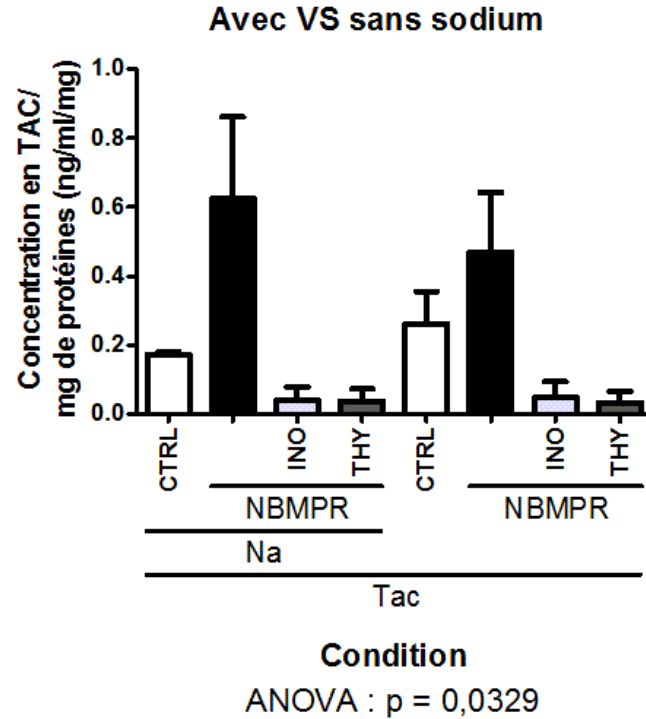
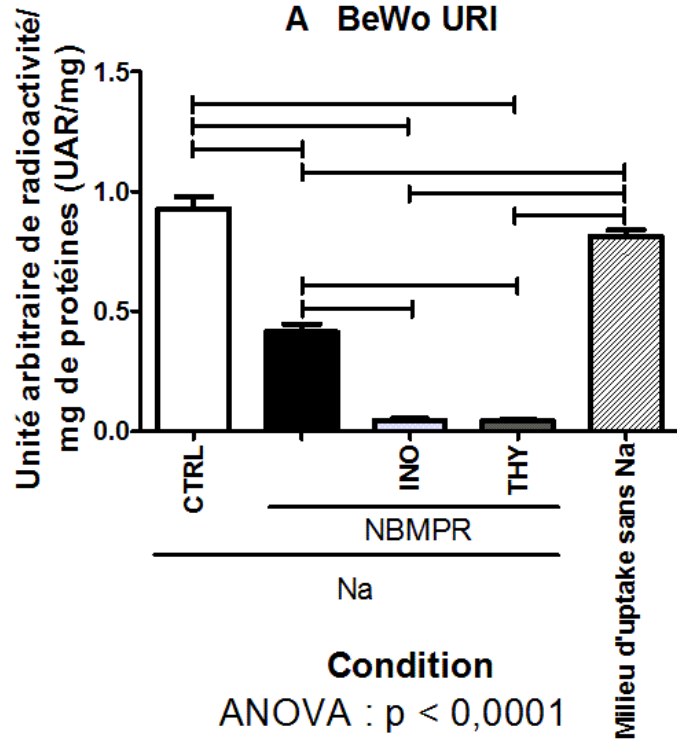







# Résultats **C<sup>13</sup>** & ENTs



# Résultats ~~C<sup>13</sup>~~ & 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<sup>†</sup> and Franklin A. Hays<sup>†,\*,\*</sup>

Substrate <sup>a</sup>	Human ( $K_m$ (mM)) <sup>b)±</sup>
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*