



Jade Huguet

« Études métaboliques des isoenzymes
du cytochrome P450 exprimées dans les
ventricules de cœurs humains »

Mercredi, le 23 mars 2016

À 11h00 – Amphithéâtre R05.210

Centre de recherche du CHUM

900, rue St-Denis – Station de métro Champs-de-Mars

Jury de thèse

Président-rapporteur : Marc Servant

Directeur : Jacques Turgeon

Membre du jury : Denis deBlois

Examineur externe : Chantale Simard

Représentant du doyen de la FESP : À déterminer

Résumé

Les isoenzymes du CYP450 sont grandement impliquées dans le métabolisme oxydatif des médicaments et des variations dans leur activité (interactions médicamenteuses, polymorphismes génétiques) peuvent occasionner des changements importants dans les concentrations plasmatiques et tissulaires des médicaments. Le foie régit de façon prédominante les concentrations plasmatiques des médicaments en raison d'une forte concentration des CYP450s dans cet organe. En moyenne, l'élimination d'un médicament par métabolisme représente environ 75% des mécanismes de clairance par rapport à 20% par voie rénale et 10% par la bile sous forme inchangée. Les CYP450s contribuent à environ 75% du métabolisme des médicaments. Il est ainsi logique de s'attarder au comportement et facteurs influençant l'expression et l'activité des CYP450s. L'abondance et la variété des CYP450s exprimés diffèrent entre le foie et les tissus extra-hépatiques. Le rôle de ces isoenzymes dans le devenir extra-hépatique des composés endogènes et exogènes demeure peu étudié malgré leur implication et association reconnue dans certains échecs thérapeutiques, interactions médicamenteuses ou toxicités tissulaires.

Le ventricule de cœur humain exprime (ARNmessenger) de façon variable certaines isoenzymes dont le CYP1A1, 2B6, 2C8, 2C9, 2D6, 2E1, 2J2, 3A5 et 4A11. La participation de ces isoenzymes exprimées dans la paroi ventriculaire cardiaque dans le métabolisme des médicaments reste à ce jour inconnue. Établir l'existence d'une participation active de certains CYP450s, étudier leur profil métabolique et leur contribution dans la clairance locale tout en déterminant les facteurs responsables de leur variabilité en terme d'activité et d'expression (ARNm) dans le tissu ventriculaire cardiaque humain représente l'objectif principal des travaux de recherche présentés dans cette thèse.

Le premier volet fût le développement de cocktails médicamenteux afin d'optimiser la quantité de résultats à travers l'usage unique d'un tissu avec des substrats sélectifs jumelés à des méthodes analytiques ultrasensibles et spécifiques (manuscrit 1). Parmi les 9 composés testés, les substrats ébastine et chlorzoxazone, substrats-cibles reconnus des isoenzymes CYP2J2 et CYP2E1 respectivement, ont démontré des activités menant à l'étude approfondie de leur profil métabolique généré par la fraction microsomale de ventricules de cœurs humains explantés (MCH). Ces travaux ont démontré une cinétique préférentielle et de très haute affinité par les MCH envers la voie d'hydroxylation de l'ébastine décrite par un modèle Michaelis-Menten. Jumelé à des essais d'inhibition, un lien fût établi, pour la toute première fois, entre l'hydroxylation de l'ébastine et l'isoenzyme CYP2J2 (manuscrit 2).

L'hydroxylation de l'ébastine par les MCH fût aussi reconnue comme étant hautement variable entre des individus adressés à une transplantation cardiaque présentant des cardiomyopathies potentiellement mortelles n'étant plus maîtrisées par les thérapies ou traitements standards. L'objectif de ce dernier volet était d'étudier des facteurs (extrinsèques et intrinsèques, dont le polymorphisme du CYP2J2*7) connus chez ces patients et leur implication dans la variabilité de l'expression du CYP2J2 (ARNm) et de son activité enzymatique, déduite par l'étude du comportement métabolique du marqueur ébastine suite à une analyse des paramètres de cinétique enzymatique (K_m , V_{max} , CL_{int}). Il a été démontré que le sexe, le côté gauche du ventricule, la prise d'amiodarone et le diagnostic clinique d'ischémie sont associés à la variabilité d'expression (ARNm) et d'activité (K_m , V_{max} , CL_{int}) du CYP2J2 et expliquent environ 20% de la variabilité observée entre les individus. Il s'agit des premiers travaux expliquant une portion de la variabilité associée à l'expression (ARNm) et l'activité du CYP2J2 dans le ventricule du cœur humain (manuscrit 3). Finalement, nos résultats suggèrent que la capacité métabolique du CYP2J2 au sein des MCH est réelle et importante et pourrait participer aux fluctuations locales des concentrations de médicaments. L'extrapolation des résultats obtenus *in vitro* à l'échelle *in vivo* (organe entier) a permis de mettre en perspective la contribution métabolique du CYP2J2 dans le contexte locale physiologique du tissu ventriculaire cardiaque étudié.

Nos résultats appuient la proposition que la concentration libre plasmatique ne reflète pas nécessairement la concentration tissulaire efficace puisque des mécanismes locaux de métabolisme enzymatique (CYP2J2) peuvent grandement faire varier la concentration libre au site d'action intracellulaire. Les résultats obtenus répondent à un besoin en recherche de comprendre le comportement et l'ampleur de la participation de différentes isoenzymes du CYP450 connues s'exprimant dans le cœur humain envers le métabolisme de médicaments s'y distribuant et ultimement prédire leurs concentrations intracellulaires.

Publications durant le doctorat :

Huguet J, Gaudette F, Michaud V, Turgeon J. In vitro selective CYP450 probe drugs oxidation by human heart microsomes. *British Journal of Pharmacology*. Ongoing Submission.

Huguet J, Gaudette F, Michaud V, Turgeon J. Metabolic Profile Characterization in the Microsomal Fraction of Human Ventricles. Targeted Journal: *Drug Metabolism and Disposition*. In preparation.

Huguet J, Michaud V, Turgeon J. YP2J2 mRNA levels and activities in cardiac ventricular tissues of patients undergoing heart transplantation. Targeted Journal: *Circulation*. Finalized, to be submitted.

Huguet J, Lu J, Gaudette F, Chiasson J.-L., Hamet P, Michaud V, Turgeon J. No effects of pantoprazole on the pharmacokinetics of rosuvastatin in healthy subject. *European Journal of Clinical Pharmacology*. Considered for publication, pending revision. Deadline: April 1st.

Résumés publiés:

Huguet J, Michaud V, Turgeon J. In vitro biotransformation of triazolam in human heart microsomes. *Clin Pharmacol Ther*, 87(Suppl. 1) : S46 (PII-20), February 2010.

Huguet J, Michaud V., Turgeon J. Biotransformation of triazolam in human liver and heart microsomes. *Can J Clin Pharmacol*. Vol 17(1) 2010: e228; May 28, 2010.

Huguet J, Gaudette F, Bélanger F, Dallaire S, Iglesias L, Doucet J, Nelson M, Chiasson J-L, Hamet P, Turgeon J. A drug-drug interactions study between rosuvastatin and pantoprazole after oral administration in healthy male subjects. *Clin Pharmacol Ther*, 89(Suppl. 1) : S77 (PIII-31), February 2011.

Huguet J, Gaudette F, Bélanger F, Dallaire S, Iglesias L, Doucet J, Nelson M, Chiasson J-L, Hamet P, Turgeon J. A drug-drug interactions study between rosuvastatin and pantoprazole after oral administration in healthy male subjects. *J Popul Ther Clin Pharmacol*. Vol 18(2):e330; May 22, 2011.

Huguet J, Gaudette F, Chiasson J-L, Hamet P, Turgeon J. A drug-drug interactions study between rosuvastatin and pantoprazole after oral administration in healthy male subjects. *J Clin Pharmacol* 2011;51:1330.

Huguet J, Chehade E., Michaud V, Gaudette F, Turgeon J. Functional Activity of human heart microsomes expressing CYP2E1. *Clin Pharmacol Ther* 91: S7-S47: S18 (PI-30), February 2012.

Huguet J, Michaud V, Gaudette F, Turgeon J. CYP450 functional activities in human heart microsomes. *Clin Pharmacol Ther* 91: S7-S47: S19 (PI-31), February 2012.

C. Armstrong, **J. Huguet**, F. Gaudette, F. Belanger, D. Balicki, J Turgeon. In vitro metabolism study of ébastine and 7-ethoxyresorufin in breast cancer cell lines. *Clin Pharmacol Ther*, 91(Suppl. 1) : S20 (PII-34), March 2012.

Huguet J, Gaudette F, Michaud V, Turgeon J. Functional activity of CYP450 2J2, 3A5 and 2E1 in human heart ventricles. *J Popul Ther Clin Pharmacol*. Vol 19(2):e265; August 1, 2012

Huguet J, Michaud V, Gaudette F, Turgeon J. A probe drug cocktail to study CYP450 2C8, 1A1 and 2D6 in the human heart. *Clin Pharmacol Ther* 93: S1 (PI-46), February 2013.

Huguet J, Michaud V, Gaudette F, Turgeon J. Intersubject variability of CYP2J2 activity in human heart microsomes. *Clin Pharmacol Ther* 95: S1 (PI-41), March 2014.

Huguet J, Sandeep Sharma, Fleur Gaudette, François Bélanger, Stéphanie Fulton, Jacques Turgeon, Véronique Michaud. CYP450 mediated metabolism in extra-hepatic tissues. *Clin Pharmacol Ther* 95: S1 (PI-42), March 2014.