

# Le concept de pharmacogénétique

Doron Lancet

*Directeur du Crown Human Genome Centre, Rehovot, Israël*

En Israël, nous avons fait certaines découvertes sur les gènes impliqués dans les maladies génétiques et avons essayé de comprendre ce qu'elles signifient. Cependant, je voudrais centrer mon intervention sur le concept de pharmacogénétique. Je commencerai par une introduction générale et je poursuivrai en examinant le sujet plus en détail.

La voie que nous suivons tous part de la séquence telle qu'elle s'affiche dans l'appareil de séquençage, à l'aide de la bio-informatique et de la génomique informatique, lorsque nous utilisons les ordinateurs pour nous aider à déterminer, au moins en partie, ce que nous avons obtenu. Nous utilisons ensuite diverses technologies, y compris celle sur laquelle je vais insister au cours de mon exposé et qui s'intéresse à la compréhension de la variation humaine à grande échelle.

L'année dernière, le génome nous a été apporté sur un plat d'argent, si je puis dire. Par génome, il faut entendre la séquence, le texte du génome, qui vous a déjà été décrit d'une manière très détaillée. Comme il a été dit, deux articles ont donné une description générale de ce qui s'est produit jusqu'en 2001 et un certain nombre d'indications sur ce qui reste à accomplir avec cette séquence, avec ce texte. Il se trouve que je suis, parmi des centaines d'autres personnes, l'un des co-auteurs de l'article de la revue *Nature*. C'est un honneur d'avoir contribué à un document qui constitue un événement historique. Ma contribution porte sur quelques « lignes » de ce texte relatives au sens de l'odorat et sur environ un millier de gènes responsables de la fabrication des protéines de notre nez, qui nous permettent de sentir et de goûter les différentes substances. Mais je ne vais pas vous parler de cela aujourd'hui.

Si l'on représente le génome à l'échelle de trois lettres (un codon) pour un millimètre, il faudra 1 000 kilomètres pour écrire l'ensemble du génome... Tel est l'ordre de grandeur du sujet dont nous nous occupons. Les gènes ne sont que des « points remarquables » dans cet énorme ensemble, au nombre de 30 000 environ dans le génome humain. Comme vous l'a dit le Dr Strosberg, le métro de Paris est bien plus que des stations de métro, il y a également des voyageurs qui se déplacent à l'intérieur, des employés chargés de l'entretien, des lignes qui relient entre eux les points, etc. Nous essayons de comprendre les diverses interconnexions et interactions mais il est également vital d'étudier les gènes, ces points remarquables qui ne

constituent que quelques pour cent de la séquence mais qui sont extrêmement importants.

Nous devons intégrer, annoter et essayer de comprendre par divers moyens, par des systèmes experts, qu'il s'agisse d'intelligence humaine ou d'intelligence artificielle, tout cet ensemble de données. Un exemple de cette approche est une base de données appelée « Gene-Cards » que nous avons créée à l'institut Weizmann. Elle est accessible sur le réseau internet. C'est un outil très utile aussi bien pour les profanes que pour les spécialistes d'autres domaines biologiques. Si vous lisez un article sur un gène quelconque dans la section scientifique de *Paris Match* et que vous souhaitez en savoir plus, il vous suffit d'insérer un simple mot clé pour savoir, grâce à notre base de données, quels gènes sont impliqués et ce que l'on connaît d'autre à leur sujet.

Ceci inclut également le stockage de données très intéressantes sur des points particuliers où ces gènes présentent des variations individuelles, appelées polymorphismes de nucléotide unique ou (*single nucleotide polymorphisms*, SNP), je vais y revenir plus loin.

Ce qui intéresse nombre d'entre nous, ce sont les maladies génétiques. Chacune d'elles est liée à un mauvais fonctionnement d'une fonction normale. Une personne peut être sourde de naissance, par exemple, parce que quelque chose dans une protéine liée à l'audition normale ne fonctionne pas correctement en raison d'une mutation. Il en va de même dans certaines anémies liées au dysfonctionnement d'une protéine qui s'exprime dans les globules rouges. Ce sont deux exemples des maladies génétiques sur lesquelles nous travaillons à l'Institut Weizmann, mais il en existe beaucoup d'autres – environ 5 000 en tout – et les équipes de recherche du monde entier essayent de les déchiffrer et de déterminer les mécanismes génétiques sous-jacents.

Il existe une méthode nouvelle qui permet de comparer des gènes différents pour tenter déterminer ce que chaque gène fait : ce sont les puces à ADN. Les puces à ADN sont un moyen de comprendre la différence entre un tissu sain et un tissu malade, ou entre des tissus sains différents, foie par rapport au cerveau par exemple, ou cerveau par rapport aux reins et ainsi de suite. Vous pouvez ensuite vous demander comment ces tissus diffèrent en termes de quantité d'expression d'un gène donné dans chacun d'eux. Comme vous le savez, le génome reste le même dans tous les tissus et dans toutes les cellules, mais une cellule du foie diffère d'une cellule du cerveau en ce qu'elle exprime des gènes différents en quantités différentes.

Ainsi un gène peut être exprimé très fortement dans le cerveau et faiblement dans le foie ou vice versa. Si vous souhaitez faire cette étude pour le génome entier, vous utilisez une technologie dans laquelle le génome est « étalé » sur une puce mesurant environ un centimètre carré, avec de très petits pixels qui contiennent des fragments de gène, des petits segments de la séquence d'ADN. Ensuite, vous placez l'ARN

extrait de cellules différentes, qui est la copie fonctionnelle de l'ADN, sur la puce. Vous hybridez cet ARN à la puce entière et vous déterminez, grâce à un simple code de couleurs, où il se lie fortement et où il se lie faiblement. La force de liaison de l'ARN d'un tissu donné dépend du degré d'expression du gène correspondant. À l'échelle du génome entier, vous pouvez ainsi effectuer une comparaison entre deux tissus à l'aide d'une représentation graphique dans laquelle l'un des axes représente un tissu et l'autre axe un autre tissu. Ce qui se trouve sur la diagonale signifie que l'expression des gènes est la même dans les deux tissus. Vous pouvez ainsi déterminer quels gènes sont exprimés de façon très différente entre le tissu malade et le tissu sain, et sont donc suspects d'être impliqués dans la maladie. L'utilisation des puces à ADN est une manière d'observer un instantané du génome entier, en posant une question qui peut s'appliquer à la thérapeutique.

Revenons maintenant aux SNP. Le « brouillon » du génome humain contient de nombreux points – de nombreuses « lettres » – qui comportent des variations interindividuelles : environ une lettre sur mille, soit trois millions parmi les trois milliards de lettres. Ces points sont appelés polymorphismes de nucléotide unique ou, selon l'abréviation anglaise, SNP. Lorsque nous étudions un SNP sur une série d'individus (de quelques dizaines à quelques centaines en général dans une expérience), nous déterminons lesquels ont en ce point la lettre A et lesquels la lettre T, ou toute autre combinaison. Il est important de noter qu'en amont et en aval de ce point de variation unique, vous pouvez trouver 500 ou 1 000 nucléotides qui sont tous exactement identiques chez tous les individus, à de rares exceptions près.

Nous estimons qu'il existe environ trois millions de SNP dans le génome. Pour les découvrir, il faut réaliser le séquençage du génome de plusieurs individus. C'est un processus très coûteux et il n'est accessible qu'à de très grandes sociétés, telles que la société Celera qui a effectivement pratiqué le séquençage de la totalité du génome de cinq individus et qui a fait la comparaison. Vous pouvez également vous contenter du séquençage de très petits segments et déterminer s'ils contiennent ou non des variations. En bref, vous finissez par élaborer un dictionnaire de tous les points où les êtres humains diffèrent les uns des autres. Ces points sont très importants parce que pratiquement toutes les maladies existantes sont liées à de telles variations. D'autres intervenants ont déjà dit que même les maladies infectieuses peuvent avoir des effets différenciés selon les personnes en fonction de leur génome, c'est-à-dire en fonction de la combinaison de SNP qu'elles possèdent.

La première erreur métabolique innée a été décrite il y a tout juste un siècle par Sir Archibald Garrod. Il s'agissait de l'alcaptonurie, maladie liée à une mutation ponctuelle ou à une très petite variation dans une enzyme appelée homogentisate oxydase. Ceci se traduit par une maladie mineure, un simple changement de couleur de l'urine qui dépend du type d'alimentation. Il existe des cas où les conséquences de la mutation sont beaucoup plus graves.

Certaines peuvent toucher un récepteur et le rendre totalement non fonctionnel, donc incapable de s'associer à son ligand, qui peut être par exemple une hormone ou un neurotransmetteur servant aux communications dans le cerveau, ce qui peut conduire à une maladie grave. De telles maladies sont dites monogéniques : une seule mutation d'un seul gène provoque une modification très grave du phénotype.

En revanche, dans le cas des maladies polygéniques ou multigéniques, une mutation isolée ne produit qu'une légère altération dans le récepteur et, de ce fait, n'a qu'un effet minime. Par exemple, elle amplifie une protéine fixée au récepteur ou modifie très légèrement la voie métabolique, et ainsi de suite le long de la voie de transduction. Si la voie métabolique toute entière est affectée par de très petites variations qui indépendamment ont très peu d'effet, elles peuvent, lorsqu'elles se combinent, s'accumuler pour déclencher un changement beaucoup plus important, aboutissant à une maladie multigénique. Pratiquement toutes les maladies que nous rencontrons dans les hôpitaux sont des maladies multigéniques et elles sont donc très importantes.

Le tableau qui se dessine est celui d'environ 250 000 ou peut-être 150 000 variations différentes qui causent les maladies multigéniques. Vous devez donc prendre en considération les centaines de milliers de variations de ce genre qui peuvent être impliquées non seulement dans les maladies, mais dans les réponses induites par les médicaments. Pour ce type d'étude, nous faisons appel à une autre sorte de puce, la puce à variation, ou système de notation des SNP.

Nous nous servons de ces technologies dans notre propre institut, en collaboration avec le Professeur Jacques Beckmann qui, jusqu'à une date récente, était en France à Généthon et qui a maintenant rejoint notre centre en Israël. La technologie de notation des SNP – déterminer qui possède un A et qui possède un C dans une position donnée – repose sur l'utilisation d'une puce sur laquelle, grâce à la robotique, on place des échantillons d'ADN. En utilisant un procédé particulier, nous convertissons une différence entre un C et un A (par exemple) en une différence dans la longueur d'un petit fragment d'ADN. Un robot place les ADN de différents individus sur la puce à variation et nous utilisons ensuite un spectromètre de masse pour déterminer si le fragment généré est long ou court. Les fragments sont propulsés dans le vide sous l'impulsion un champ électrique, les gros fragments restant à l'arrière tandis que les plus petits « volent » plus vite. Vous obtenez une image dans laquelle, par exemple, le fragment lourd indique la version A tandis que le plus léger indique la version C.

Vous pouvez découvrir non seulement si vous avez un A ou un C de manière homozygote – c'est-à-dire que les deux versions du génome que vous possédez dans vos cellules, héritées de vos deux parents, sont soit C-C, soit A-A – mais aussi découvrir les hétérozygotes, lorsque deux versions différentes ont été transmises par chacun des deux parents.

Avant de terminer, je voudrais dire quelques mots sur l'importance de tout ceci, non seulement pour l'étude des maladies mais aussi pour leur traitement. Il existe un domaine appelé la pharmacogénétique, qui est l'étude de la variabilité de la réponse aux médicaments causée par l'hérédité. Si vous observez une différence dans la réponse aux médicaments, vous pouvez penser qu'elle est due au hasard. En réalité, nous savons maintenant qu'il existe dans certains cas une raison génétique. C'est bien entendu une considération importante en ce qui concerne les traitements.

Le premier cas de ce genre a été découvert, ou du moins signalé, il y a 2 500 ans déjà par Pythagore à propos des fèves, légumes dont la consommation provoque des réponses différentes selon les individus. Bien qu'il ne s'agisse pas à proprement parler d'un médicament, le principe est le même : un aliment particulier rend malade certaines personnes tandis que d'autres ne ressentent rien, et ceci en raison d'une différence génétique. Dans un autre domaine, si une maladie de cœur est traitée par un médicament qui agit sur le muscle cardiaque, certaines personnes vont répondre positivement tandis que d'autres peuvent répondre beaucoup moins nettement.

Les essais cliniques sont indispensables, vous le savez, pour s'assurer qu'un médicament est efficace. Supposons que dans une expérience clinique un certain médicament fasse passer en moyenne de 1,7 à 1,2 un paramètre de la maladie : c'est un changement modeste à l'échelle de la population entière mais il n'est pas exclu que la réponse au médicament soit beaucoup plus importante chez certaines personnes et inexistante chez d'autres, voire négative dans une troisième catégorie de sujets.

Il faudrait pouvoir examiner suffisamment de SNP et les tester tous pour répondre à la question suivante : lorsque l'on compare les mauvais répondeurs aux bons répondeurs à un médicament, la fraction des individus qui ont A est-elle différente de ceux qui ont C ? S'il y a plus de A dans le groupe des bons répondeurs, nous pouvons devenir capables :

- de distinguer ces deux populations,
- de sélectionner un gène candidat qui affecte peut-être la réponse au médicament.

D'une manière plus générale, on doit considérer tout le spectre des réponses, depuis les réponses très bonnes ou bonnes jusqu'aux réponses très faibles, et essayer de les corrélérer aux génotypes correspondant à plusieurs gènes différents. La combinaison de ces variations est une sorte de loterie où l'on tire tantôt un A, tantôt un C, tantôt un T, tantôt un G. À toute combinaison de ces facteurs appelée haplotype peut correspondre une réponse spécifique.

La perspective d'avenir de la pharmacogénétique est la capacité d'envisager les différences induites par les médicaments entre les êtres humains à la lumière des différences génétiques. Si nous avons un bon répondeur au médicament par rapport au placebo, nous savons qu'il possède un haplotype préférentiel pour ce

médicament. Mieux encore, nous pouvons peut-être faire varier la dose du médicament de façon individualisée. Ce que nous découvrons peut aussi servir de base pour de nouveaux médicaments.

Finalement, si les gens sont différents et si le jeu est de nature combinatoire, comme dans une loterie, il devrait être possible de concevoir pour un sujet possédant la version A du gène 1, la version B du gène 2, etc., un médicament combinatoire ou un cocktail de médicaments qui soit fondé sur des paramètres génétiques. Beaucoup d'entre nous considèrent effectivement que l'avenir de la médecine se trouve dans le traitement par des médicaments personnalisés, c'est-à-dire que chaque individu admis à l'hôpital recevrait une combinaison différente de médicaments définie en fonction d'une analyse préalable de son génome sur puce.