

Etude clinique, génétique et pharmacogénétique sur l'arrêt du tabac

Rapport final

Lausanne, 23 mars 2011

- Unité de Biochimie et Psychopharmacologie Clinique, Département de Psychiatrie-CHUV,
Université de Lausanne
Maria Dobrinas, Chin Bin Eap
- Policlinique Médical Universitaire de Lausanne, Université de Lausanne
Jacques Cornuz

Ce projet de recherche a été financé par les Fonds de prévention du tabagisme No. 06.004879

1. Introduction

La fumée de cigarette peut influencer un traitement médicamenteux par des mécanismes pharmacocinétiques et/ou pharmacodynamiques. Parmi les différents composés présents dans la fumée de cigarette, les hydrocarbures polycycliques aromatiques exercent un puissant effet inducteur sur les isoenzymes du cytochrome P450 (CYP) 1A1, 1A2 et probablement 2E1 (1). Le CYP1A2 est un des principaux cytochromes dans le foie (environ 13% du contenu total des CYPs) et participe au métabolisme de plusieurs médicaments (caféine, clozapine, lidocaïne, mélatonine, olanzapine, ropivacaïne, théophylline, tizanidine, triamtérène, zolmitriptan, etc) et composés endogènes (2). Plusieurs publications ont déjà montré que l'induction du CYP1A2 par la fumée de cigarette peut produire une baisse des taux plasmatiques des médicaments métabolisés principalement par cette isoenzyme, avec une diminution de l'effet thérapeutique. Par exemple, des taux plus faibles de clozapine (un antipsychotique atypique) ont été mesurés chez les fumeurs comparés aux non-fumeurs, et des doses supérieures de clozapine ont été nécessaires chez les fumeurs (3). Ceci a également été observé pour d'autres médicaments, comme l'olanzapine (4), la fluvoxamine (5), la théophylline (6) et l'halopéridol (7).

L'effet de l'arrêt de la cigarette sur le métabolisme des médicaments a aussi été étudié. Une augmentation des taux de clozapine a été observée chez 11 patients schizophrènes après l'arrêt du tabac, augmentation de 72% en moyenne, mais avec une grande variabilité (8). Par contre, il y a très peu de données jusqu'à présent qui traitent de la variation interindividuelle de l'activité du CYP1A2 après l'arrêt de la cigarette. Pourtant, l'augmentation des taux plasmatiques des médicaments après l'arrêt de la cigarette peut entraîner des effets secondaires importants. Ainsi, des confusions (9), des convulsions tonico-cloniques et coma (10)(11), une pneumonie d'aspiration (8) ont été rapportés chez des patients traités avec la clozapine qui ont arrêtés de fumer. Des symptômes extrapyramidaux ont aussi été décrits à l'arrêt du tabac chez des patients traités avec l'olanzapine (9). Ainsi, la généralisation de la politique « non-fumeur » dans les hôpitaux crée un nouveau défi pour la prise en charge des patients fumeurs traités avec des médicaments qui dépendent principalement du CYP1A2 pour leur élimination. Pour ces patients, une diminution de la dose du médicament de 10% par jour jusqu'au 4^{ème} jour après l'arrêt du tabac a été recommandée (12), ce qui correspond aux différences d'activité du CYP1A2 généralement observées entre les fumeurs et les non-fumeurs. Pourtant, ces recommandations ne prennent pas en compte la grande variabilité interindividuelle de l'induction du CYP1A2 par la fumée, et devraient donc être accompagnées d'une mesure (monitoring thérapeutique) des médicaments concernés. Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité du CYP1A2, comme le genre, l'ethnie, l'exposition aux facteurs environnementaux inducteurs ou inhibiteurs et les facteurs génétiques (13).

2. Objectifs de l'étude

Du fait du manque de données actuellement disponibles sur la variabilité interindividuelle de l'inductibilité du CYP1A2 par la fumée de cigarette, le but principal de cette étude était d'examiner la variation de l'activité du CYP1A2 dans un large groupe de fumeurs avant et après l'arrêt du tabac. Nous avons aussi essayé de déterminer les facteurs environnementaux et génétiques qui pourraient expliquer cette variabilité dans l'induction du CYP1A2.

Procédures et méthodes

2.1 Design de l'étude et participants

Cette étude longitudinale a été conduite au Centre des Neurosciences Psychiatriques du Département de Psychiatrie du CHUV et à la Policlinique Médicale Universitaire (PMU) de Lausanne. Nous avons recruté 211 fumeurs de la population générale, qui voulaient arrêter de fumer et désiraient participer à un programme de sevrage tabagique. Le déroulement de l'étude impliquait pour chaque participant une visite d'inclusion (anamnèse médicale, vérification des critères d'inclusion) et un suivi de 6 mois. Le suivi s'est fait à un rythme d'une fois par semaine durant le premier mois, une fois toutes les 2 semaines jusqu'à 3 mois après l'arrêt de la cigarette et une dernière visite à 6 mois pour une conclusion et la collecte des dernières données. Chaque visite incluait une prescription d'un traitement pharmacologique (thérapie de substitution nicotinique ou varénicline, au choix du participant et en accord avec le médecin de l'étude), des conseils thérapeutiques sur des thèmes cognitivo-comportementaux classiques (motivation, bénéfices pour la santé, barrières, syndrome de manque, situations à risque) et différents contrôles. Le coût du traitement pharmacologique était pris en charge par l'étude. Pour remplir les critères d'inclusion, les participants devaient être fumeurs (au moins 10 cigarettes/jour) depuis au moins une année, être âgés entre 18 et 65 ans, ne pas présenter une condition médicale instable, et ne pas prendre des médicaments substrats du CYP1A2. Une consommation de drogues, de cannabis ou une consommation élevée d'alcool (plus de 4 verres par jour pour les hommes et 3 verres par jour pour les femmes) et une grossesse en cours ou planifiée étaient des critères d'exclusion. La varénicline n'était pas prescrite chez les sujets avec un antécédent de dépression ou un traitement antidépresseur dans le passé. Les personnes qui ne remplissaient pas les critères d'inclusion étaient orientées vers la consultation de tabacologie de la PMU Lausanne.

Des questionnaires sur le niveau de tabagisme et les symptômes de manque étaient remplies à chaque session et des mesures de poids, tour de taille, pression artérielle étaient faites. Des prises de sang étaient effectuées au début de l'étude, à 1 mois d'arrêt et à la visite à 6 mois et ont servi pour le dosage des médicaments et pour des analyses de phénotypage et de génotypage. L'abstinence a été évaluée durant l'étude à l'aide des déclarations des participants,

des mesures de CO expiré et des taux plasmatiques de cotinine chez les sujets recevant la varénicline.

L'étude a été approuvée par la Commission d'éthique de la Faculté de biologie et de médecine de l'Université de Lausanne et par Swissmedic. Un consentement éclairé écrit a été obtenu pour chaque participant, incluant l'accord pour des analyses génétiques.

2.2 Analyses de phénotypage

L'activité du CYP1A2 a été déterminée avant la date d'arrêt et à 4 semaines après l'arrêt de la cigarette. Pour ce faire, les sujets ont du s'abstenir de consommer des boissons ou aliments contenant la caféine durant la journée du test et la nuit avant. Le jour du test, les sujets ont pris une capsule de 200 mg de caféine (correspondant à environ 2 tasses de café), et une prise de sang a été effectuée 6 heures. Les taux de paraxanthine (17X) et de caféine (137X) ont été mesurés par chromatographie gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse, utilisant une méthode déjà décrite (3). Le rapport 17X/137X, qui est un marqueur valide de l'activité du CYP1A2 (14), (15) a été calculé pour tous les sujets.

Comme mesure de l'inductibilité nous avons également déterminé le rapport entre l'activité CYP1A2 avant et après l'arrêt de la cigarette (semaine 0/semaine4).

2.3 Analyses de génotypage

L'ADN génomique a été extrait des échantillons de sang collectés dans des tubes EDTA, à l'aide du kit d'extraction FlexiGene (Qiagen, Hilden, Allemagne), selon le protocole du fabricant. Des polymorphismes génétiques décrits pour le gène *CYP1A2* et analysés dans des études épidémiologiques ont été sélectionnés: *CYP1A2*1C* (-3860G>A; rs2069514), *CYP1A2*1D* (-2467T/delT; rs35694136), and *CYP1A2*1F* (-163C>A; rs762551). Tous les polymorphismes ont été analysés par analyse de polymérase en temps réel (PCR), en utilisant des essais de discrimination allélique TaqMan (Applied Biosystems, Rotkreuz, Switzerland).

2.4 Analyses statistiques

Les tests Kruskal–Wallis et Wilcoxon/Mann–Whitney ont été utilisés pour évaluer les différences de rapport paraxanthine/caféine entre les génotypes. Des analyses de régression linéaire multiple ont été effectuées pour estimer l'influence des covariables sur l'activité du CYP1A2. Tous les tests étaient bilatéraux et une valeur de P plus petite ou égale à 0.05 était considérée statistiquement significative. Toutes les analyses étaient effectuées avec le logiciel STATA (version 11.0; StataCorp, College Station, Texas, USA).

3. Résultats

3.1 Déroulement de l'étude

L'étude a été soumise à la Commission d'éthique le 27.08.07, un avis positif avec recommandations a été obtenu le 10.10.2007. Les modifications demandées ont été effectuées et un avis positif final a été obtenu le 28.02.08. Nous avons soumis l'étude à Swissmedic le 13.03.08 et un rapport de notification avec recommandations a été obtenu le 16.04.08, et la notification finale de l'acceptation de l'étude par Swissmedic le 26.05.08. L'étude a débuté en juin 2008 et nous avons inclus le dernier sujet dans l'étude (last patient in) le 30 septembre 2009. Nous avons recruté 211 fumeurs en tout, parmi lesquels 194 ont rempli les critères d'inclusion et ont participé effectivement au programme.

Concernant l'abstinence, 118 participants étaient abstinents à 1 mois après l'arrêt (ce qui signifie un taux de 61%), 93 participants étaient abstinents à 3 mois (taux de 48%) et 72 participants étaient abstinents à 6 mois (taux de 37%). Ces taux d'abstinence sont supérieurs aux taux de réussite sans accompagnement et similaires aux autres études avec un accompagnement psychologique.

3.2 Effets du tabagisme et de l'arrêt du tabac sur l'activité et l'inductibilité du CYP1A2

Nous avons pu répondre à la question principale de l'étude, à savoir déterminer la variabilité interindividuelle de l'induction du cytochrome 1A2 (CYP1A2) et analyser les facteurs génétiques au niveau du gène CYP1A2 pouvant expliquer cette variabilité. En effet, comme nous l'avons mentionné dans notre requête, cette détermination est importante pour les fumeurs recevant les médicaments métabolisés par cette enzyme. Les résultats montrent ainsi que la différence d'activité du cytochrome 1A2 est d'environ 60% entre les fumeurs et les non-fumeurs, mais qu'il y a une très forte différence interindividuelle. Alors que chez certains sujets fumer ou arrêter de fumer ne modifie pas ou peu l'activité du CYP1A2, l'arrêt du tabac peut entraîner une différence d'activité de 700%! Concrètement, chez des patients recevant des médicaments métabolisés par cette enzyme, le fait de fumer ou d'arrêter de fumer pourrait donc fortement diminuer ou augmenter, respectivement, les taux sanguins de ces médicaments (potentiellement 700% de variation!), avec des conséquences cliniques importantes (inefficacité chez les fumeurs, intoxication chez les patients qui arrêtent de fumer). Un suivi clinique attentif de ces patients, avec si possible une mesure du taux sanguin des médicaments concernés, et une adaptation des doses des médicaments sont donc impératifs. Ces résultats ont une grande importance clinique et un article a été accepté pour publication dans le journal « Clinical Pharmacology and Therapeutics », un des meilleurs journaux de pharmacologie clinique (**annexe 1**, in press). Un article de revue sur l'implication pharmacologique du sevrage au tabac a également été écrit dans le cadre de cette étude (Dobrinas et al., 2009, **annexe 2**).

Parmi les facteurs génétiques étudiés, les polymorphismes *CYP1A2*1F* et *CYP1A2*1D* ont montré une influence sur l'activité du CYP1A2 soit à l'état induit (semaine 0) ou après l'arrêt de la

cigarette (semaine 4), mais aucun effet a été observé sur l'inductibilité du CYP1A2 (rapport semaine 0/semaine 4).

4. Conclusions et perspectives

En conclusion, nous avons pu répondre à l'objectif principal de cette étude, à savoir mesurer l'activité du CYP1A2 dans une grande cohorte de fumeurs, avant et après l'arrêt du tabac. Nous avons ainsi pu démontrer une grande variabilité interindividuelle dans l'induction du CYP1A2 par le tabac et étudier certains facteurs génétiques et non-génétiques pouvant expliquer cette variabilité. Ces résultats sont très importants pour le suivi clinique de patients recevant des médicaments métabolisés par cette enzyme qui fument ou qui arrêtent de fumer.

Du fait de la richesse des données et du nombre important de sujets étudiés, plusieurs analyses et projets sont actuellement en cours:

- 1) Investigations sur d'autres facteurs génétiques pouvant influencer l'activité du CYP1A2. Nous avons pu démontrer qu'un polymorphisme du gène codant pour le cytochrome P450 oxydo-réductase influence l'activité CYP1A2. C'est la première fois qu'une telle démonstration est faite, un article est en cours de rédaction et va être soumis prochainement (voir résumé en **annexe 3**).
- 2) Analyse d'autres gènes pouvant influencer l'activité du CYP1A2: AHR (aryl hydrocarbon receptor), GST (glutathion S-transférase), CYP1A1, PXR (pregnane X receptor), CAR (constitutive androstane receptor), etc.
- 3) Une méthode analytique a été développée pour doser la varenicline (Champix®), la nicotine et ses métabolites (cotinine, 3'-hydroxycotinine) dans le sang des sujets inclus dans l'étude dans les programmes de sevrage tabagique, utilisant la chromatographie liquide haute performance / spectrométrie de masse / spectrométrie de masse (article à soumettre prochainement, voir résumé en **annexe 4**).
- 4) Investigations sur la pharmacogénétique de la varenicline (Champix®) et de la nicotine, qui ont été utilisées pour faciliter les sevrages. Cette sous-étude pourrait permettre de mettre en évidence certains facteurs génétiques pouvant contribuer aux succès / échecs des sevrages tabagiques utilisant ces deux médicaments.

Références:

- (1) Kroon, L.A. Drug interactions with smoking. Am J Health Syst Pharm 64, 1917-1921 (2007).
- (2) Zhou, S.F., Wang, B., Yang, L.P., Liu, J.P. Structure, function, regulation and polymorphism and the clinical significance of human cytochrome P450 1A2. Drug Metab Rev 42, 268-354 (2010).

- (3) Eap, C.B. et al. Nonresponse to clozapine and ultrarapid CYP1A2 activity: Clinical data and analysis of the CYP1A2 gene. *J. Clin. Psychopharmacol.* 24, 214-219 (2004).
- (4) Carrillo, J.A. et al. Role of the Smoking-Induced Cytochrome P450 (CYP)1A2 and Polymorphic CYP2D6 in Steady-State Concentration of Olanzapine. *J. Clin. Psychopharmacol.* 23, 119-127 (2003).
- (5) Spigset, O., Carleborg, L., Hedenmalm, I., Dahlqvist, R. Effect of cigarette smoking on fluvoxamine pharmacokinetics in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 58, 399-403 (1995).
- (6) Zevin, S., Benowitz, N.L. Drug interactions with tobacco smoking. An update. *Clin Pharmacokinet* 36, 425-438 (1999).
- (7) Miller, D.D., Kelly, M.W., Perry, P.J., Coryell, W.H. The influence of cigarette smoking on haloperidol pharmacokinetics. *Biol Psychiatry* 28, 529-531 (1990).
- (8) Meyer, J.M. Individual changes in clozapine levels after smoking cessation: results and a predictive model. *J. Clin. Psychopharmacol.* 21, 569-574 (2001).
- (9) Zullino, D.F., Delessert, D., Eap, C.B., Preisig, M., Baumann, P. Tobacco and cannabis smoking cessation can lead to intoxication with clozapine or olanzapine. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 17, 141-143 (2002).
- (10) McCarthy, R.H. Seizures following smoking cessation in a clozapine responder. *Pharmacopsychiatry* 27, 210-211 (1994).
- (11) Skogh, E., Bengtsson, F., Nordin, C. Could discontinuing smoking be hazardous for patients administered clozapine medication? a case report. *Ther. Drug Monit.* 21, 580-582 (1999).
- (12) Faber, M.S., Fuhr, U. Time response of cytochrome P450 1A2 activity on cessation of heavy smoking. *Clin Pharmacol Ther* 76, 178-184 (2004).
- (13) Landi, M.T., Sinha, R., Lang, N.P., Kadlubar, F.F. Human cytochrome P4501A2. Ryder W, editor. *Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer.* 173-195 (1999).
- (14) Faber, M.S., Jetter, A., Fuhr, U. Assessment of CYP1A2 activity in clinical practice: Why, How, and When? *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 97, 125-134 (2005).
- (15) Fuhr, U., Rost, K.L. Simple and reliable CYP1A2 phenotyping by the paraxanthine/caffeine ratio in plasma and in saliva. *Pharmacogenetics* 4, 109-116 (1994).