

THESE

**POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 04 Juillet 2024

Par Mme. Kienana MUHREZ

Le métabolome permet-il d'identifier des biomarqueurs visant à optimiser l'utilisation des médicaments ? Exemple du méthotrexate

Membres du jury :

Président :



- LIPKA Emmanuelle, Professeur des Universités, UFR3S- Pharmacie et université de Lille.

Assesseur :

- LENSKI Marie, Praticien Hospitalo-Universitaire en toxicologie- CHU Lille

Membres extérieurs :

- BARIN Chantal, Maître de conférences des universités-praticien hospitalier, Faculté de médecine de Tours
- WILPART Claire, Pharmacien d'officine, Pharmacie de l'Horloge-Lille.

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 3/9

REDACTION	VERIFICATION	APPROBATION
Audrey Hennebelle Assistante de direction	Cyrille Porta Responsable des Services	Delphine Allorge Doyen

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Corinne ROBACZEWSKI
Olivier COLOT
Bertrand DÉCAUDIN
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

UFR3S



Doyen
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen International
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoire-Partenariats
Vice-Doyen Santé numérique et Communication
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Hervé HUBERT
Karine FAURE
Damien CUNY
Vincent DERAMECOURT
Sébastien D'HARANCY
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Vincent SOBANSKI
Anne-Laure BARBOTIN
Valentin ROUSSEL

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté et
Assesseur aux Ressources et Personnels
Responsable des Services
Représentant étudiant
Chargé de mission 1er cycle
Chargée de mission 2eme cycle
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche
Chargé de mission Relations Internationales
Chargée de Mission Qualité
Chargé de mission dossier HCERES

Delphine ALLORGE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE
Philippe GERVOIS
Héloïse HENRY
Nicolas WILLAND
Christophe FURMAN
Marie-Françoise ODOU
Réjane LESTRELIN



 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 4/9

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 5/9

M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 6/9



M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 7/9

M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 8/9

Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 9/9



M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 10/9

Maîtres de Conférences Associés



Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 11/9

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMAPGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	NDIAYE-BOIDIN	Maguette	Anglais
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

CYCLE DE VIE DU DOCUMENT

Version	Modifié par	Date	Principales modifications
1.0		20/02/2020	Création
2.0		02/01/2022	Mise à jour
2.1		21/06/2022	Mise à jour
2.2		01/02/2024	Mise à jour

UFR3S-Pharmacie
3 Rue du Professeur Laguesse
59000 Lille 03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises
dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**



Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury :

- A Dr. Emmanuelle LIPKA, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury. Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance envers vous pour avoir accepté de diriger ma thèse malgré vos multiples occupations, veuillez trouver ici mes hautes considérations. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour son encadrement, sa disponibilité, sa patience, sa confiance et ses conseils précieux tout au long de ce travail.
- A Dr. Marie LENSKI, j'exprime mon entière reconnaissance pour avoir accepté de juger mon travail en qualité de rapporteur. J'exprime ma vive reconnaissance pour avoir apporté à ce document vos différentes remarques et suggestions.
- A Dr. Chantal BARIN-LE GUELLEC, c'est un très grand honneur de compter Dr. BARIN-LE GUELLEC parmi les membres de ce jury. Je la remercie d'avoir accepté de relire cette thèse et d'en être rapporteur. Un grand merci tout particulièrement de l'intérêt qu'elle a porté au travail d'une jeune débutante en recherche en 2013, lors de mon master et jusqu'à maintenant ! Tout au long de mes études, je ne me suis jamais sentie toute seule grâce à elle. Je la remercie sincèrement de sa présence lors de ma soutenance à Lille.
- A Dr. Claire WILPART, qui a eu la gentillesse d'accepter mon invitation et de juger ce travail. Un merci particulier de m'avoir ouvert les portes de sa pharmacie depuis mon arrivé à Lille. Merci pour tous les conseils et la confiance qu'elle m'a donnée tout au long du mon stage de 6eme année. Vos valeurs et votre amour du métier m'inspirent au quotidien.

Au Dr. Delphine ALLORGE, le doyen de la faculté de pharmacie, pour ses conseils, sa gentillesse et son soutien.

Je voudrais aussi saluer chaleureusement toute l'équipe de la faculté de pharmacie de Lille et de Tours, pour la gentillesse et la sympathie qu'ils m'ont témoignées.

A la mémoire de mon père

Merci pour tout ce que tu m'as appris, pour la confiance et le courage que tu m'as toujours donnés. Pour l'ensemble de ces choses, je te serai toujours infiniment reconnaissante. Tu resteras toujours dans mes pensées.

A ma mère

Tu étais toujours un bon exemple pour moi, mon abri lors de tristesse ou faiblesse surtout lorsque j'ai décidé de reprendre les études et de m'occuper en même temps de mes deux enfants de trois et deux ans ! Je sais bien que j'ai de la chance d'avoir une telle mère !

Merci pour ton grand amour, tes mots qui resteront à jamais une source de force et d'inspiration pour moi. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

A mon amour, Hussein,

Mon rêve d'être pharmacien est réalisé grâce à toi. Merci de m'avoir encouragé à prendre ce chemin et de me pousser à être meilleure chaque jour. Merci pour ton soutien, ton encouragement, ton affection qui me comblent au quotidien. Je t'aime de tout mon cœur.

A mes anges Jude & Julia

Grâce à vous j'ai réussi à surmonter toutes les difficultés afin de valider ce parcours ! vos petits yeux m'ont donné tout ce qu'il faut pour rester forte. Les dessins, que vous m'avez offerts lors de ma faiblesse, étaient également une source de pouvoir pour que je puisse avancer et être à la hauteur de ma mission de maternité. Vos vœux d'avoir maman diplômée sont exaucés. Merci infiniment d'avoir cru en moi. J'espère que vous serez fiers de votre maman, qui vous aime énormément.

A mes chers frères et à mes adorables sœurs, Thaer, Nidal, Kinda et Rola.

Pour votre amour et soutien. En témoignage de ma profonde tendresse et reconnaissance.

A toutes les personnes qui ont cru en moi, merci beaucoup.

Table des matières

Remerciements	15
Table des matières	17
Liste des abréviations	19
Liste des tableaux	21
Liste des annexes.....	22
Liste des illustrations.....	23
INTRODUCTION.....	25
METHOTREXATE	26
I.1. Généralités :	26
I.1.1. Mécanisme d'action :.....	26
I.1.2. Indications :.....	27
I.1.3. Utilisation :.....	28
I.2. Pharmacocinétique	28
1.2.1. Pharmacocinétique normale :.....	28
1.2.2. Principales situations pouvant modifier la pharmacocinétique du MTX.....	30
1.2.2.1. Influence de la fonction rénale :.....	30
1.2.2.2. Interactions médicamenteuses :.....	31
1.2.2.3. Polymorphismes génétiques :.....	32
1.2.2.4. Autres facteurs :	32
I.3. Toxicités sévères et prise en charge.....	33
I.3.1. Toxicité rénale :	33
I.3.2. Toxicité neurologique :	34
I.3.3. Toxicité hématologique :	34
I.3.4. Toxicité muqueuse :.....	34
I.3.5. Toxicité cutanée :.....	34
I.3.6. Toxicité pulmonaire :.....	35
I.3.7. Toxicité hépatique :.....	35
I.3.8. Nausées et vomissements :.....	35
I.4. Relation « exposition-effets » et justification du suivi thérapeutique pharmacologique :	35
I.4.1. Relation exposition-effets :.....	35
I.4.2. Sauvetage par l'acide folinique :.....	36
I.4.3. Variabilité inter et intra-individuelle de la pharmacocinétique :	37
I.5. Biomarqueurs prédictifs de toxicité.....	38
I.5.1. Facteurs génétiques :.....	38
I.5.2. Facteurs épigénétiques :.....	39
I.5.3. Biomarqueurs urinaires :.....	40
I.6. Problématique :	41
L'APPROCHE METABOLOMIQUE :.....	43
II.1. Principe de l'approche :.....	43
II.2. Aperçu historique :	45
II.3. La notion de biomarqueurs métabolomiques.....	47
II.4. Principe de l'analyse métabolomique.....	49
II.4.1. Principales méthodes analytiques :.....	49

II.5. Principales applications de la métabolomique :	51
L'APPROCHE PHARMACO-METABOLOMIQUE :	56
III.1. Exemples d'application en pharmacologie	57
III.2. Application au méthotrexate :	60
DISCUSSION GÉNÉRALE	66
Perspectives :	70
Conclusion.....	73
ANNEXE	74

Liste des abréviations

5-HT3 : Sérotonine
7-OHMTX : 7-hydroxy-méthotrexate
ABCC2 : ATP Binding Cassette isoforme C2
ABCG2 : ATP Binding Cassette isoforme G2
ADN : Acide désoxyribonucléique
AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AMV : Analyse statistique multivariée
ARN : Acide RiboNucléique
ATIC :5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide transformylase
ATP : Adénosine triphosphate
BCRP : Breast Cancer Resistance Protein
CPU : Coproporphyrines urinaires
Clcréat : Clairance de la créatinine
Da : Dalton
DFG : Débit de filtration glomérulaire,
DHFR: Dihydrofolate réductase
EMA: European Medicines Agency's
FDA: Food and Drug Administration
FPGS : Folyl-polyglutamate synthase
FR : Récepteur de folate
GART : Glycinamide Ribonucleotide formyl Transferase
GC-MS : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
G-CSF: Granulocyte-colony stimulating factor
GGH: Gamma glutamate hydrolase
GLDC: Glycine decarboxylase
GSH: Glutathion
HD-MTX: High-Dose Methotrexate (MTX)
HMDB: Human Metabolome Database (HMDB)
IECA : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
IPP : Inhibiteurs de la Pompe à Protons,
IRA : Insuffisance rénale aiguë
ARA : Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II
LAL : Leucémie Aiguë Lymphoblastique
LC-MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
LCR : liquide céphalo-rachidien
miARN: Micro Acides RiboNucléiques
MRP2: Multidrug Resistance associated Protein 2
MRP3: Multidrug Resistance associated Protein 3
MRP4: Multidrug Resistance associated Protein 4
MS : spectrométrie de masse
MTHFR : Methylenetetrahydrofolate reductase
MTX : Méthotrexate
MTXpolyglu: MTX polyglutamates,
NIH: National Institute of Health
OAT: Organic Anion Transporter
OATP: Organic Anion Transporting Polypeptides

OCT2: Organic Cation Transporter 2
ORL : Oto-rhino-laryngologie
PCS : Para-crésol-sulfate
PCNSL: Primary central nervous system lymphoma
PK : Pharmacocinétique
PSA : Prostate Specific Antigen
RFC : Reduced Folate Carrier
RMN 1H : Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN : Résonance magnétique nucléaire
SLC : Solute Carrier transporters
SLCO : Solute Carrier transporters
SNP : Simple polymorphisms nucleotidiques
SMPDB: The Small Molecule Pathway Database
STP : Suivi thérapeutique pharmacologique
T1/2 : La demi-vie
T3DB: Toxin and Toxin-Target Database
THF : Tetrahydrofolate
TYMS : Thymidylate synthetase,
UHPLC : chromatographie liquide à ultra haute pression
UPLC : Ultra performance liquid chromatography
VADS : Voies aéro-digestives supérieures

Liste des tableaux

Tableau 1: Liste alphabétique non exhaustive des bases de données en ligne contenant des informations sur les médicaments, les métabolites et les produits naturels pouvant être utilisées pour faciliter la découverte de composés principaux, Wishart D et al. [105]....	47
Tableau 2: Méthodes d'analyse statistique utilisées dans l'analyse des données métabolomiques humaines.	51
Tableau 3 : Résumé non exhaustif des métabolites liés au cancer[145].	54
Tableau 4: Bref résumé d'études métabolomiques portant sur la réponse aux médicaments..	56
Tableau 5: Utilisation de la pharmaco-métabolomique pour prédire l'efficacité, la toxicité, le métabolisme et la pharmacocinétique du médicament.	58

Liste des annexes

Annexe 1 : Avantages et inconvénients des techniques analytiques couramment utilisées dans les études de métabolomique.....	74 .
---	------

Liste des illustrations

Figure 1: Voies des folates et cibles pharmacologiques du MTX par Zarou et al. [6]	27
Figure 2: Transporteurs membranaires intervenant dans la pharmacocinétique du MTX par Huang et al. [18].....	30
Figure 3: Exemple d'un abaque pour le guidage de l'administration de leucovorine en fonction des concentrations de MTX par Howard et al [42].....	37
Figure 4: Comment la nutrition et l'environnement influencent notre état de santé par des approches métabolomiques. Tirée de l'INRAE ; La biologie prédictive : une discipline entre science et science-fiction, Publié le 28 octobre 2020 [95]	45
Figure 5: Illustration des stades d'évolution d'une pathologie et types de biomarqueurs caractérisant chaque stade.	48
Figure 6: Les différentes étapes de l'analyse métabolomique.	50
Figure 7: Les principaux domaines d'application de la métabolomique.	51

INTRODUCTION

Les retards d'élimination du méthotrexate (MTX) surviennent encore de manière inattendue, alors même que les mesures préventives adéquates (hyperhydratation, alcalinisation, prise en compte de la fonction rénale, éviction des interactions médicamenteuses, etc.) ont bien été appliquées. Il persiste donc encore des sources de variabilité inexplicables. Éclaircir les sources de cette variabilité ou mettre au point un biomarqueur permettant de l'anticiper constituerait une avancée majeure pour optimiser l'utilisation de ce médicament par la mise en œuvre de mesures préventives associées au traitement.

La sécrétion tubulaire apparaissant centrale dans la pharmacocinétique et la toxicité MTX, l'évaluation de biomarqueurs centrés sur ce processus constitue une piste intéressante.

Le postulat de départ sur la capacité de l'approche métabolomique à prédire la pharmacocinétique de MTX est que, parmi les centaines de métabolites endogènes naturellement excrétés dans l'urine, certains pourraient l'être selon les mêmes voies d'élimination que le MTX. Dans cette hypothèse, les capacités qu'aurait un sujet à éliminer ce(s) métabolite(s), reflèteraient celles qu'il aura à éliminer le MTX. L'avantage majeur d'une telle approche est que, mesuré juste avant l'administration du médicament, ce biomarqueur renseignerait sur les capacités d'élimination du sujet à l'instant T, quels que soient les facteurs présents (connus ou inconnus) à même de modifier ce processus. Un tel biomarqueur phénotypique, prédictif de la pharmacocinétique du MTX et/ou de sa toxicité, pourrait alors être utilisé avant chaque nouvelle administration pour prévenir les surexpositions sévères.

Dans ce travail, après un rappel sur la pharmacologie du MTX et les moyens actuels de prédiction et/ou de suivi de sa toxicité, nous présenterons l'apport potentiel de l'utilisation de biomarqueurs métabolomiques sur la prédiction des effets du MTX et, de manière encore plus intéressante, sur l'identification des facteurs sous-jacents impliqués.

METHOTREXATE

I. Pharmacologie du méthotrexate (MTX)

I.1. Généralités :

Le MTX est utilisé comme médicament anti-néoplasique depuis 1948. Il est également indiqué dans des maladies auto-immunes comme le psoriasis de l'adulte et la polyarthrite rhumatoïde.

I.1.1. Mécanisme d'action :

C'est un analogue de l'acide folique, agent de la classe des antimétabolites, qui inhibe la réduction de l'acide folique et, de ce fait, la prolifération cellulaire.

L'affinité du MTX pour la DHFR est environ 1000 fois supérieure à celle de l'acide folique [1], ce qui lui permet de bloquer efficacement la liaison normale de l'acide folique à la DHFR [2], [3]. L'inhibition de la DHFR par le MTX entraîne une inhibition de synthèse des nucléotides puriques, de l'acide thymidylique et de la méthionine qui contribuent à l'inhibition de la réplication de l'ADN, mécanisme principal de l'inhibition de la prolifération cellulaire par le MTX [4].

Le MTX est donc un cytostatique sélectif de la phase S de la réplication cellulaire, qui agit de façon plus active sur les cellules à prolifération rapide (telles que les cellules malignes, les cellules de la moelle osseuse, des muqueuses buccale et intestinale, de l'épithélium cutané ou du fœtus). Ainsi, le mécanisme d'action est responsable à la fois de l'efficacité du médicament et de sa toxicité. Les cures de MTX sont généralement suivies par l'administration d'acide folinique pour réduire la toxicité [5].

Le MTX (MTX) pénètre dans la cellule principalement par le transporteur de folate réduit (RFC1) et dans une moindre mesure par l'endocytose médiée via un récepteur de folate (FR). Dès son entrée dans la cellule, le MTX forme, via la folylpolyglutamate synthase (FPGS), des polyglutamates de MTX (MTX(Glu)_n) qui ont des propriétés antifolate supérieures par rapport au MTX, et sont capables d'une inhibition hautement irréversible de la DHFR. De plus, le MTX entraîne l'inhibition d'autres enzymes comme TYMS et GART/ATIC, bloquant finalement les synthèses *de novo* du thymidylate et de la purine. La γ -glutamyl hydrolase (γ -GH) élimine les

résidus de glutamate du MTX, tandis que les transporteurs de la cassette de liaison à l'ATP (ABC) aident à l'excrétion du MTX de la cellule.

Dans les cellules cancéreuses, une résistance au MTX se produit par des mécanismes très variés incluant une réduction de la pénétration du MTX par modification des RFC, une augmentation de l'efflux par surexpression des transporteurs ABC, une surexpression de la DHFR par amplification du gène *DHFR*, une affinité réduite pour le MTX par mutation de la *DHFR* ou une combinaison de ces mécanismes (Figure 1).

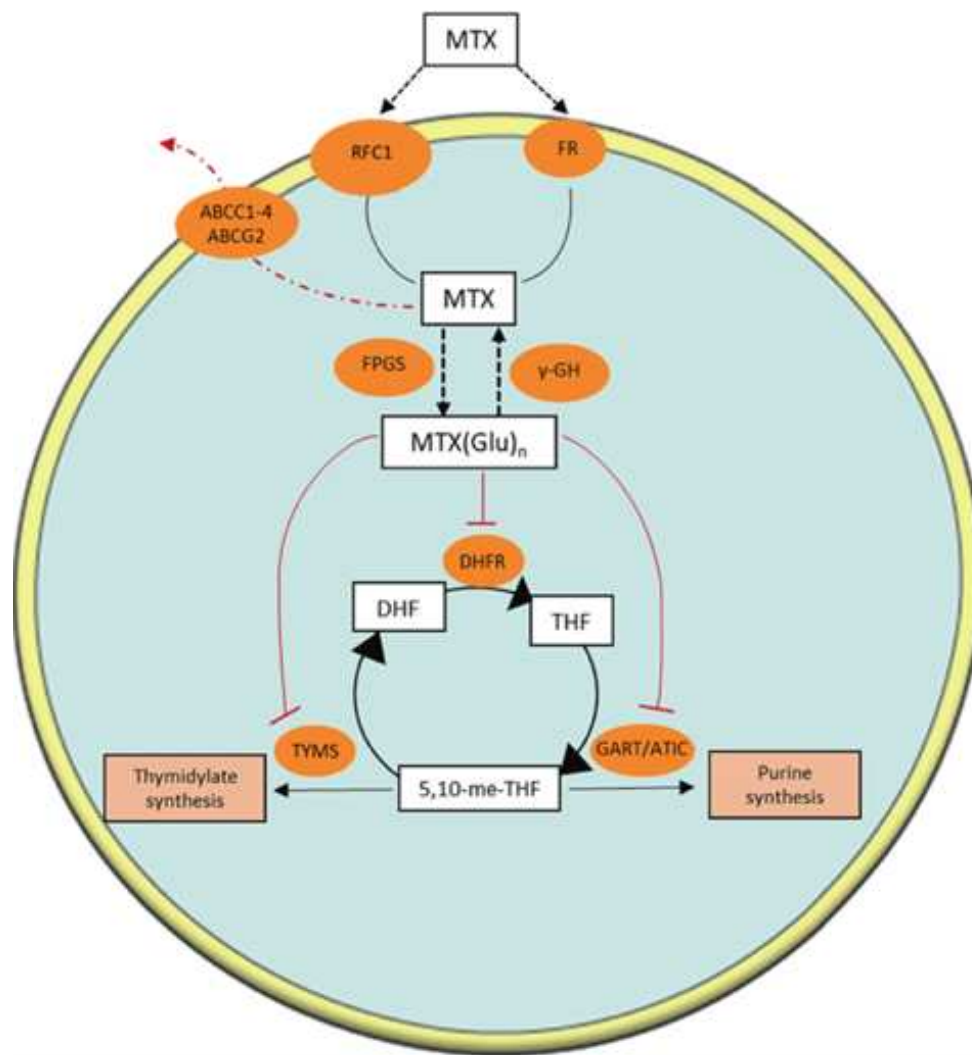


Figure 1: Voies des folates et cibles pharmacologiques du MTX par Zarou et al. [6]

I.1.2. Indications :

Le MTX est l'un des antimetabolites les plus utilisés dans les protocoles de chimiothérapie de nombreux cancers comme les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL), les lymphomes non hodgkiniens et notamment les lymphomes cérébraux et les lymphomes de Burkitt, les cancers

ORL ou des voies aéro-digestives supérieures (VADS), les cancers des ovaires, de la vessie et les sarcomes de l'adulte et de l'enfant [7].

I.1.3. Utilisation :

Le MTX est utilisé à haute dose (HD-MTX), c'est à dire à une dose $> 1 \text{ g/m}^2$, dans le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques, des ostéosarcomes et des lymphomes non hodgkiniens. Il est administré par perfusion intraveineuse à des doses et sur des durées variables selon les protocoles.

Les protocoles à Haute Dose (1 à 8 g/m^2 , voire plus dans certains sarcomes et hémopathies), nécessitent de respecter un certain nombre de précautions. Une hyperhydratation alcaline est indispensable avant le début de la perfusion pour améliorer la solubilité du MTX et de ses métabolites dans l'urine et permettre leur élimination. Au décours du traitement, il faut surveiller attentivement le pH urinaire, la fonction rénale, la fonction hépatique, l'hémogramme et l'état des muqueuses. De même, un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) est régulièrement effectué, principalement pour guider le sauvetage par l'acide folinique. Le risque d'interactions médicamenteuses étant majeur, il convient d'éviter l'association à certains médicaments tels que les AINS, les aminoglycosides, la cyclosporine, le triméthoprime ou encore les agents de contraste radiographiques.

I.2. Pharmacocinétique

1.2.1. Pharmacocinétique normale :

Le MTX est partiellement lié à l'albumine sérique (45-51 %). Il se distribue principalement dans l'espace extracellulaire mais, à haute dose, est capable de traverser les membranes cellulaires et la barrière hémato-méningée [8]. Son passage à travers les membranes cellulaires est médié par différentes protéines de transport appartenant à deux grandes familles (Figure 2) :

- Des transporteurs d'influx qui facilitent le passage du MTX à l'intérieur des cellules. Outre le transporteur des folates réduits (RFC), interviennent également les transporteurs OAT (Organic anion transporters) tels que OAT1 (codé par le gène *SL22A6*) et OAT3 (gène *SL22A8*) et les transporteurs OATP (Organic Anion Transporting Polypeptides) tels que OATP1B1 (gène *SLCO1B1*), OATP1B3 (gène *SLCO1B3*), OATP19A1 (gène *SLCO19A1*) et OATP1A2 (gène *SLCO1A2*).

- Des transporteurs d'efflux, qui consomment de l'énergie pour permettre la sortie du MTX à l'extérieur des cellules. Ceux-ci appartiennent à la superfamille ABC (ATP Binding Cassette) et sont plus particulièrement les transporteurs MRP2 (gène *ABCC2*), MRP3 (gène *ABCC3*), MRP4 (gène *ABCC4*) et BCRP (gène *ABCG2*).

Le métabolisme du MTX par une aldéhyde oxydase hépatique conduit à la formation d'un métabolite majoritaire, le 7-hydroxyMTX [9] beaucoup moins hydrosoluble que le produit parent et contribuant à augmenter sa néphrotoxicité [10]. Les concentrations sériques du 7-OH-MTX sont supérieures à celles du composé parent dès la fin de la perfusion de HD-MTX [11]. Plus de 90% de la dose administrée est éliminée dans l'urine en 24 heures, par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire proximale. Chez l'homme, seule une faible quantité de MTX (environ 10%) est excrétée dans la bile. Après administration par voie intraveineuse, le MTX inchangé est rapidement éliminé de la circulation (40% après 6 heures et 90% après 24 h), tandis que le 7-OH-MTX est éliminé plus lentement [10]. La demi-vie d'élimination est dépendante de la dose, traduisant une cinétique non linéaire, au moins si l'on considère les extrêmes de la très large gamme de doses utilisées en thérapeutique [12].

Le rôle des transporteurs basolatéraux des tubules rénaux, OAT1 et 3, dans la pharmacocinétique du MTX a été démontré par plusieurs auteurs [13] [14]. Vanwert et al. ont comparé la clairance du MTX *in vivo* par comparaison entre des souris sauvages et des souris knockout Oat3 (*oat3^{-/-}*) [14]. Celle-ci était réduite chez les animaux KO.

Concernant les transporteurs ABC, la pharmacocinétique du MTX et de son principal métabolite, le 7-OH MTX, ont été étudiés par Vlaming et al. [12,13]. Chez différentes souris transgéniques, les auteurs ont montré que chaque transporteur considéré séparément (*Abcc2*, *Abcc3* ou *Abcg2*) est impliqué dans l'élimination du MTX et du 7-OH MTX mais qu'il existe une compensation mutuelle de l'absence de chaque transporteur, se traduisant par la surexpression de l'un ou l'autres des transporteurs. *Mrp2* et *Bcrp* sont les principaux transporteurs impliqués dans l'élimination biliaire du MTX. L'absence de *Mrp2* induit effectivement une « up-regulation » de *Mrp3* dans le foie, ce qui favorise l'efflux du MTX du foie vers le sang portal, menant à une augmentation de l'élimination urinaire du MTX. Cela peut expliquer pourquoi le risque de toxicité du MTX est finalement assez peu augmenté en cas de dysfonctionnement isolé de l'un des transporteurs *Abcc2*, *Abcc3* ou *Abcg2*. A l'inverse, l'absence des trois transporteurs (*Abcc2*, *Abcc3*, *Abcg2*) induit une accumulation critique du

MTX et du 7-OH MTX (environ 67% de la dose) au niveau hépatique, induisant une hépatotoxicité sévère et une augmentation marquée (x 27) de leur excrétion rénale.

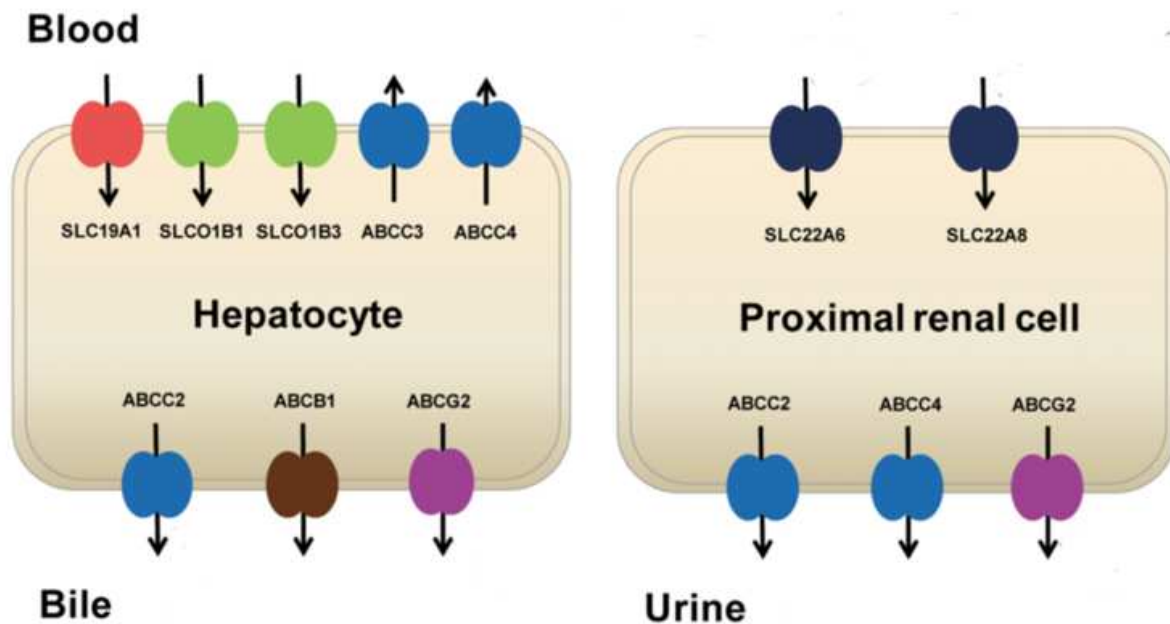


Figure 2: Transporteurs membranaires intervenant dans la pharmacocinétique du MTX par Huang et al. [18]

Les concentrations de MTX varient en fonction de la dose administrée et de la durée de la perfusion mais se caractérisent par une forte variabilité inter-individuelle. Quelles que soient les modalités d'administration, une concentration supérieure à $1\mu\text{M}$ 48 h après le début de l'administration ou la persistance de concentration $> 0.2\mu\text{M}$ au-delà de H72 constituent un "retard d'élimination". Tout retard d'élimination justifie la poursuite du sauvetage par acide folinique - afin de limiter la cytotoxicité associée à la toxicité muqueuse, hématologique et digestive - et de l'hyperhydratation alcaline qui limitera la cristallisation et favorisera l'élimination du MTX et de ses métabolites, limitant ainsi la néphrotoxicité. La mise en œuvre de ces mesures a permis de réduire l'incidence de la toxicité grave et potentiellement mortelle après HD-MTX de 10% à moins de 1% [19].

1.2.2. Principales situations pouvant modifier la pharmacocinétique du MTX

1.2.2.1. Influence de la fonction rénale :

Le HD-MTX est contre-indiqué en cas d'insuffisance rénale sévère (clairance de la créatinine ($\text{Cl}_{\text{créat}}$) $< 30\text{ ml/min/1,73 m}^2$) et la posologie doit être adaptée proportionnellement au débit

de filtration glomérulaire. Pour autant, le MTX (et son métabolite 7-OH-MTX) étant néphrotoxiques, il n'est pas rare que l'administration de HD-MTX s'accompagne d'une altération précoce de la filtration glomérulaire, dès les 24 premières heures suivant le début de la perfusion. Il a été montré que cette néphrotoxicité précoce était prédictive des retards d'élimination au décours de l'administration de HD-MTX [20].

1.2.2.2. Interactions médicamenteuses :

Des interactions médicamenteuses pharmacocinétiques ont été décrites avec le MTX, impliquant des médicaments interférant avec son métabolisme hépatique mais surtout son excrétion urinaire. Parmi ces médicaments, figurent les AINS pour lesquels l'interaction avec le MTX pourrait résulter principalement d'une compétition au niveau des transporteurs tubulaires rénaux OAT1 et OAT3 [21], [22] mais aussi MRP2 et MRP4 [23]. Les bêtalactamines entrent également en compétition au niveau des transporteurs tubulaires et pourraient également interférer avec la circulation entérohépatique [24]. Le probénécide, par son effet inhibiteur sur les transporteurs OATs, accroît considérablement la toxicité du MTX. Joerger et al. ont observé que la coadministration d'IPP (inhibiteurs de la pompe à protons) induisait une diminution de la clairance du MTX de 27%, alors celle induite par les AINS n'était que d'environ 16% [10]. Suzuki et al. ont émis l'hypothèse que l'interaction résulte de l'effet inhibiteur direct des IPP sur les transporteurs MRP2 et BCRP mais il reste possible que d'autres transporteurs impliqués dans l'excrétion rénale du MTX, tels que OAT3 ou MRP4/ABCC4, soient également impliqués dans cette interaction médicamenteuse [25]. Les IECA (inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine) et les ARA (Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II), de par leurs effets sur l'hémodynamique rénale ont le potentiel d'interférer avec l'élimination rénale du MTX en inhibant la vasoconstriction artériolaire rénale efférente afin de réduire le DFG [26]. Les diurétiques peuvent provoquer une déshydratation et des déséquilibres électrolytiques, réduisant ainsi le flux sanguin rénal et le DFG. Certains peuvent également entrer en compétition avec le MTX pour la sécrétion tubulaire rénale, entraînant une exposition prolongée et une toxicité potentielle [26]. Dans une étude réalisée chez 59 patients ayant reçu 200 cures de HD-MTX de juillet 2014 à août 2019, les diurétiques acidifiant l'urine (par ex. furosémide, hydrochlorothiazide) étaient significativement associés à l'atteinte rénale aiguë induite par le MTX [26].

1.2.2.3. Polymorphismes génétiques :

Comme vu ci-dessus, l'excrétion du MTX au pôle apical des cellules tubulaires rénales fait intervenir principalement BCRP, MRP2 et MRP4, tandis que les transporteurs SLC et SLCO interviennent dans la pénétration intracellulaire basolatérale. Ces divers transporteurs présentent pour la plupart un polymorphisme génétique qui explique une partie de la variabilité inter individuelle [27] [28].

Les variations d'activité de transporteurs d'efflux tel que *ABCC2* et/ou *ABCG2* dues à des polymorphismes génétiques peuvent affecter substantiellement l'efficacité thérapeutique et la toxicité chez les patients traités par MTX [16] [15] [29]. Il a été montré que divers polymorphismes communs du gène *ABCC2*, non forcément associés à une pathologie, avaient des répercussions sur la cinétique de médicaments substrats de MRP2, notamment le ténofovir [30], l'irinotecan [31] et le MTX [32].

En ce qui concerne les transporteurs d'influx, le rôle des polymorphismes génétiques impliquant les transporteurs SLC semble plus limité, au moins pour ceux exprimés par la cellule tubulaire rénale. Erdman et al. ont montré que certaines mutations de OAT3 abolissent totalement le transport (26), suggérant que des polymorphismes de OAT3 pourraient être une cause de variabilité de l'élimination du MTX. La découverte la plus marquante de ces dernières années est celle de Trevino et al. qui ont montré que les sujets porteurs de l'allèle C du SNP c.521T>C (rs4149056) de *SLCO1B1* avaient une clairance réduite par rapport aux sujets homozygotes TT (27). Ce polymorphisme est connu pour diminuer l'activité de transport de OATP1B1 et réduire la translocation des médicaments à partir du plasma dans les hépatocytes, ce qui entraîne des concentrations plasmatiques fortement augmentées (29). Depuis, plusieurs études ont confirmé que le SNP c.521T> C (rs4149056) était un facteur limitant de la clairance du MTX et influençait sa toxicité (29,30).

1.2.2.4. Autres facteurs :

Li et al. [33] ont décrit l'influence d'un "troisième secteur" (effusions pleurales, ascites) sur la pharmacocinétique du MTX, le relargage progressif du MTX à partir de ce compartiment périphérique provoquant un rebond des concentrations plasmatiques de MTX et une durée d'élimination prolongée. La survenue d'un troisième secteur associé à un dysfonctionnement rénal dans les jours suivant une administration de HD-MTX devrait être une indication pour un suivi thérapeutique prolongé [34].

I.3. Toxicités sévères et prise en charge

L'action cytotoxique du MTX n'épargnant pas les cellules non tumorales à renouvellement rapide, il exerce sa toxicité sur de nombreux organes (aplasie, toxicités digestives, mucites, etc.). D'autres propriétés non directement liées à son mécanisme d'action pharmacodynamique (ex. insolubilité à pH acide et atteinte rénale) viennent s'y surajouter, conduisant à des toxicités sévères mettant parfois en jeu le pronostic vital du patient.

L'aire sous la courbe des concentration mais aussi le temps d'exposition sont des déterminants critiques de la cytotoxicité du MTX [35]. Des concentrations élevées de MTX peuvent être bien tolérées pendant de courtes périodes de temps, alors qu'une exposition prolongée à de faibles concentrations peut entraîner une toxicité sévère. Le type de toxicité dépend lui aussi des concentrations de MTX et de la durée d'exposition. Ainsi, l'exposition à des concentrations millimolaires de MTX sur quelques minutes à quelques heures peut conduire à une toxicité rénale aiguë, des effets neurotoxiques et une hépatotoxicité tandis que l'exposition à des concentrations faibles, de l'ordre de 0,05 à 0.1 μM pendant plus de 24 heures, induit davantage une toxicité médullaire et gastro-intestinale [36] [37].

I.3.1. Toxicité rénale :

Comme le MTX est principalement éliminé chez l'homme par excrétion rénale, l'insuffisance rénale aiguë (IRA) induite par nécrose tubulaire aiguë est une urgence médicale. Comme nous l'avons vu, cette toxicité est en partie liée à la précipitation tubulaire du MTX et de ses métabolites peu solubles. La déplétion du volume et l'acidité de l'urine sont les principaux facteurs de risque d'IRA. Une brusque augmentation de la créatinine sérique, pendant ou juste après la perfusion de MTX, indique le développement d'une dysfonction rénale qui peut entraîner une surexposition importante en MTX. La détection rapide et le traitement de la dysfonction rénale induite par le MTX sont essentiels pour éviter les risques accrus d'effets indésirables supplémentaires et potentiellement mortels.

Les méthodes d'épuration telles que l'hémodialyse, la dialyse péritonéale, l'hémofiltration ou l'échange plasmatique ont été largement utilisées dans le passé pour éliminer le MTX. Une analyse approfondie de la littérature effectuée par Widemann et al. montre une efficacité variable et limitée de ces techniques [38]. Une des limites de cette méthode est le rebond sensible des concentrations de MTX qui peut se produire lorsque l'épuration est arrêtée.

D'autres limites sont celles liées aux complications associées à ces méthodes (anémie et thrombocytopenie, hypokaliémie, hypophosphatémie) [39] [40] [41].

La carboxypeptidase (glucarpidase) est une métalloenzyme bactérienne à zinc qui entraîne une diminution rapide, profonde et prolongée des concentrations plasmatiques du MTX. Cette enzyme hydrolyse la liaison amide du MTX pour former un métabolite inactif et non toxique.

I.3.2. Toxicité neurologique :

Le MTX interfère avec des réactions cruciales pour la formation de myéline protégeant les fibres nerveuses [42]. La complication aiguë la plus fréquente après administration d'une forte dose est la leucoencéphalopathie (insomnie évoluant vers la confusion, la stupeur ou l'agitation). Une toxicité retardée peut s'observer plusieurs mois, voire plusieurs années après le traitement. Il s'agit le plus souvent d'une leucoencéphalopathie nécrosante et démyélinisante (démence, déclin neuropsychologique, convulsions, ataxie pouvant évoluer vers un coma) [43], [44], [45].

I.3.3. Toxicité hématologique :

La toxicité hématologique est une complication grave couramment observée avec le MTX-HD [42]. Il s'agit principalement d'une thrombopénie puis d'une leuconéutropénie de progression rapide. Des hémogrammes réguliers permettent de suivre l'évolution des diverses lignées sanguines afin de proposer d'éventuelles transfusions. Des facteurs de croissance hématopoïétiques peuvent être employés, notamment le granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) pour réduire la période d'aplasie. La lymphopénie engendrée justifie un traitement prophylactique de la pneumocystose pulmonaire.

I.3.4. Toxicité muqueuse :

Des ulcérations superficielles souvent très douloureuses peuvent toucher tout le tractus digestif. Le traitement symptomatique des mucites comporte des antalgiques (morphiniques) et des bains de bouche. Les surinfections herpétiques sont fréquentes, à traiter ou prévenir par aciclovir ou valaciclovir à une posologie adaptée à la fonction rénale [9].

I.3.5. Toxicité cutanée :

Le MTX a une variété d'effets secondaires cutanés, en particulier quand il est administré à hautes doses [42]. Les réactions cutanées les plus fréquentes sont une sensation de brûlure, une photosensibilité, un érythème polymorphe, une urticaire et une vascularite [46].

I.3.6. Toxicité pulmonaire :

La pneumopathie est l'un des effets secondaires les plus graves, heureusement peu fréquent du MTX. Ces pneumopathies immunoallergiques peuvent évoluer vers la fibrose pulmonaire et nécessitent une corticothérapie [9]. Une toux non productive insidieuse est le symptôme le plus commun. Fièvre, dyspnée peuvent également se produire. Cette toxicité, observée même avec le MTX à faible dose sur de longues durées, peut être une limite pour la poursuite du traitement [43].

I.3.7. Toxicité hépatique :

L'apparition d'une cytolysé hépatique est fréquemment observée, elle est transitoire et réversible en une à deux semaines à l'arrêt du traitement et n'empêche pas la reprise du MTX. Le degré de l'atteinte hépatique augmente avec la durée d'exposition, une dose cumulée importante, l'existence d'une hépatite B ou C, l'alcoolisme, le diabète, l'obésité et lors d'irradiation hépatique [42].

I.3.8. Nausées et vomissements :

Les cures MTX présentent un risque relativement faible (10% à 30%) de nausées et vomissements [47], [48]. Les vomissements sont bien contrôlés lorsque des antiémétiques appropriés, notamment les antagonistes des récepteurs de la sérotonine (5-HT₃), sont utilisés [47], [48].

I.4. Relation « exposition-effets » et justification du suivi thérapeutique pharmacologique :

I.4.1. Relation exposition-effets :

Les administrations à haute dose et les expositions prolongées au MTX sont associées à une cytotoxicité plus importante et donc à une toxicité systémique (principalement hématologique, muqueuse et rénale) majorée par rapport aux doses conventionnelles.

En fonction de la dose administrée et de la durée de perfusion, des valeurs seuils de méthotrexatémie, définissant une élimination retardée de MTX et un risque accru de toxicité, ont été déterminées, mais elles varient selon les protocoles et les indications. Les cinétiques

doivent donc être interprétées en fonction du protocole d'administration car la concentration attendue à un temps donné est différente selon les cas.

A côté de la méthotrexatémie, on considère qu'une augmentation d'au moins 1,5 fois la valeur de la créatininémie de base, associée ou non à une concentration d'au moins 0,1 $\mu\text{mol/l}$ de MTX au-delà de 72 heures après le début de la perfusion, augmente les risques de toxicité [49].

Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) représente une des approches les plus intéressantes pour maîtriser le risque toxique et fait l'objet d'un consensus général car il permet d'adapter les mesures correctives mises en œuvre d'un patient à un autre ou même d'une cure à une autre chez un même patient dès qu'une surexposition est rapportée.

En raison de l'importante variabilité inter individuelle de la pharmacocinétique du MTX, le suivi thérapeutique de ce médicament permet :

- L'adaptation de la posologie de l'acide folinique
- La détection précoce des patients chez qui l'élimination du médicament est retardée et qui présentent de ce fait un risque accru de toxicité.

Le monitoring des concentrations sériques de MTX est généralement fait à plusieurs moments, soit 24 heures, 36 heures, 48 heures et 72 heures après le début de la perfusion, conformément aux protocoles. Des prélèvements supplémentaires sont proposés si le seuil de non-toxicité n'est pas atteint à H72. En parallèle, les valeurs de créatinine sérique sont suivies de façon étroite pour détecter une éventuelle altération de la fonction rénale [42] [50].

I.4.2. Sauvetage par l'acide folinique :

L'administration d'acide folinique (leucovorine, 5-formyltétrahydrofolate) au décours de la cure de HD-MTX (généralement 24 à 36 heures après le début de la perfusion) permet de restaurer le pool de folates intercellulaire et ainsi de limiter la toxicité du MTX. Des nomogrammes basés sur les concentrations de MTX plasmatique en fonction de la durée d'administration du MTX sont utilisés en routine pour guider la durée et le degré du sauvetage par leucovorine (Figure3)[49] [51]. La dose d'acide folinique ainsi que le temps du début d'administration sont les deux critères à considérer lors du sauvetage, puisqu'une administration trop précoce pourrait altérer l'efficacité anti tumorale du MTX et qu'un retard d'administration pourrait induire une toxicité sévère. L'hydratation et l'alcalinisation doivent

aussi être poursuivis et adaptées selon les concentrations pour promouvoir la diurèse et accroître l'excrétion rénale du MTX.

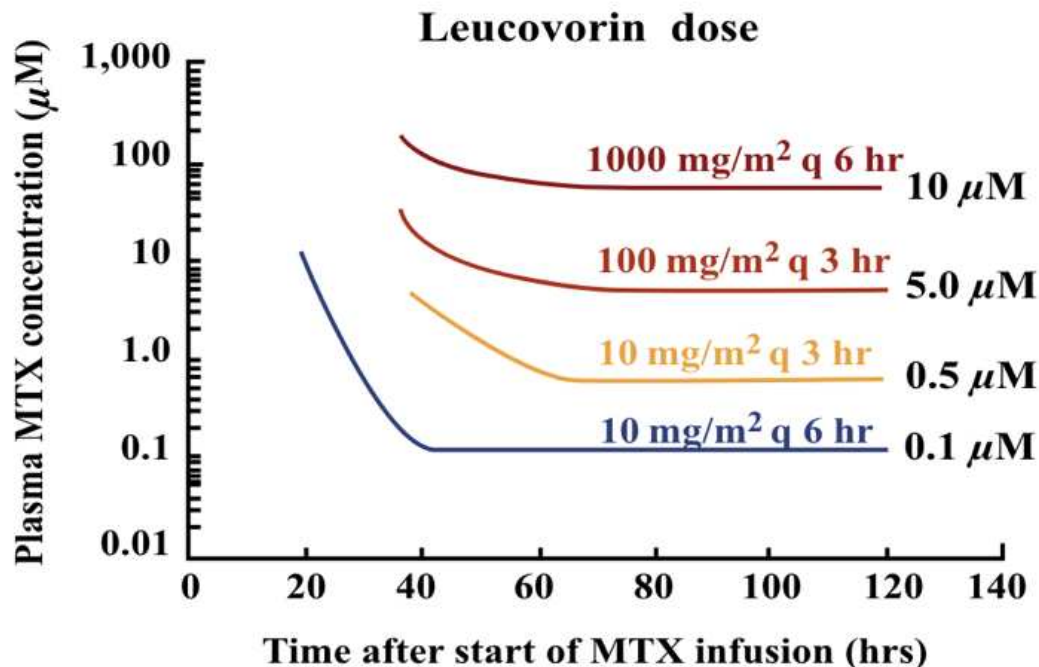


Figure 3: Exemple d'un abaque pour le guidage de l'administration de leuovorine en fonction des concentrations de MTX par Howard et al [42].

I.4.3. Variabilité inter et intra-individuelle de la pharmacocinétique :

La difficulté à administrer de manière optimale le MTX à haute dose réside dans la faible marge séparant l'efficacité et la toxicité. Une exposition systémique importante est prédictive d'une plus grande efficacité [52] mais est également associée au risque de toxicité, d'autant plus que la durée d'exposition est prolongée [53]. L'obtention de concentrations optimales chez un patient est rendue difficile par la variabilité pharmacocinétique inter et intra-individuelle de ce médicament [54].

Aujourd'hui, les principaux facteurs (âge, interactions médicamenteuses, pathologies associées, schéma d'administration ...) impliqués dans la variabilité pharmacocinétique du MTX sont contrôlés autant que possible lors de l'administration d'une cure à haute dose. Comme nous l'avons vu, la prise en compte de facteurs comme le DFG, la préparation rénale du patient (hyperhydratation, alcalinisation des urines) et l'administration d'acide folinique sont désormais intégrées à tout protocole comportant du HD-MTX.

Malgré cela, des phénomènes toxiques graves persistent et surviennent encore de façon inattendue chez certains patients, même lorsque le MTX est administré de manière optimisée. De même, des sujets ayant parfaitement toléré une cure de HD-MTX peuvent parfois présenter une toxicité sévère lors d'une autre administration. Cette variabilité intra-individuelle peut évidemment venir de médicaments associés ou d'une caractéristique pathologique (fonction rénale altérée, troisième secteur,...) présents lors d'une cure et pas de l'autre mais, dans la majorité des cas, aucune cause n'est identifiée. Les principales hypothèses émises portent sur des facteurs aussi divers que de nouvelles interactions médicamenteuses (antibiotiques divers, levetiracetam, agents de contraste radiologique, ...), certains aliments (coca-cola, yaourts, jus de framboises,...) [55] ou encore le taux de folates pré-thérapeutique [56] [57]. L'influence du statut nutritionnel, évoqué chez l'animal [58] ne semble pas avoir été étudiée en clinique.

Ainsi, on peut envisager que des facteurs liés au patient (polymorphisme génétique, état physiologique particulier, ...) ou à son environnement (alimentation, mode de vie, exposition à des toxiques environnementaux,...) un soient à l'origine de ces problèmes. Certains, comme les facteurs génétiques, peuvent expliquer la variabilité inter-individuelle mais pas intra-individuelle, tandis que d'autres peuvent intervenir dans les 2 cas. S'agissant d'observations individuelles survenant assez rarement, il est cependant très difficile (voire impossible) de regrouper ces cas pour tenter de rechercher un ou des facteurs communs pouvant être impliqués.

Des études récentes se sont intéressées à explorer le rôle de nouveaux facteurs comme potentiels biomarqueurs individuels prédictifs de la toxicité du MTX.

I.5. Biomarqueurs prédictifs de toxicité

I.5.1. Facteurs génétiques :

L'identification de déterminants pharmacogénétiques impliqués dans la variabilité de réponse au MTX permettrait de repérer à l'avance les patients risquant de présenter une toxicité et, idéalement, d'ajuster la dose selon le génotype [59]. Nous avons vu précédemment que, parmi les gènes impliqués dans la pharmacocinétique du MTX, *ABCC2* et *SLCO1B1* avaient fait l'objet de plusieurs études montrant effectivement leur implication dans la variabilité pharmacocinétique et/ou la toxicité du MTX à haute dose (MTX).

Sur le plan pharmacodynamique, le gène *MTHFR*, codant l'enzyme méthylène tétra-hydro folate réductase, a été plus particulièrement étudié. Deux polymorphismes de ce gène

(c.677C>T ; rs1801133 et c.1298A>C ; rs1801131) ont été largement étudiés dans les hémopathies malignes, chez l'enfant et l'adulte, comme facteur pharmacogénétique de susceptibilité de toxicité au MTX, mais leur implication reste controversée. Les contradictions entre les études pourraient être dues à des différences dans les protocoles de traitement, l'utilisation de différents critères de toxicité, les petits effectifs ou les populations non-homogènes (sexe, âge, ethnie, etc..).

Afin de mieux préciser l'impact des polymorphismes de MTHFR, Campbell et al. ont effectué une revue systématique regroupant les méta-analyses déjà réalisées sur les déterminants pharmacogénétiques de la toxicité induite par le MTX [60]. Les méta-analyses portaient sur des patients adultes et pédiatriques, d'origine ethniques diverses et concernaient l'un [61] ou les deux polymorphismes 677C>T et 1298A>C [62] [63]. Les toxicités étudiées comprenaient les toxicités hématologique, cutanée et hépatique. Les résultats variaient considérablement selon les groupes de patients et les sous-groupes étudiés, ainsi que selon les modèles génétiques utilisés. Néanmoins, des associations significatives ont été trouvées entre l'allèle c.677C>T et la toxicité hépatique, hématologique, gastro-intestinale et cutanée ainsi que les mucites. En outre, des données suggèrent que le polymorphisme c.1298A>C peut être associé à une diminution du risque de toxicité cutanée et de leucopénie.

La recherche de l'allèle 677C>T pourrait dans le futur devenir un outil intéressant pour sélectionner les patients à risque et proposer un suivi strict de la toxicité et des précautions plus importantes dans la gestion du traitement, notamment pour adapter les doses d'acide folinique.

Les données relatives au polymorphisme c.1298A>C sont variables mais, globalement, l'allèle muté semble protecteur vis-à-vis de la toxicité cutanée et hématologique. Là encore, les résultats divergent fortement selon la population étudiée et les modalités de traitement.

A titre indicatif, d'autres gènes impliqués dans pharmacodynamie du MTX ont été étudiés. Ainsi, Gregers J. et al. ont montré que le polymorphisme 80G>A du transporteur RFC/SLC19A1 affecte à la fois l'efficacité et la toxicité du MTX [64].

I.5.2. Facteurs épigénétiques :

Les mécanismes épigénétiques comprennent la méthylation de l'ADN, les modifications des histones et la régulation de l'ARN non codant, qui jouent tous un rôle essentiel dans la régulation de l'activité des gènes et peuvent influencer le métabolisme et la toxicité du MTX.

Des études récentes ont montré que des micro ARN (miARN), qui régulent l'expression post-transcriptionnelle des gènes, jouent un rôle crucial dans la régulation de gènes cibles impliqués dans le transport et le métabolisme du MTX [65]. Le transport cellulaire du MTX est également médié par le polypeptide de transport d'anions organiques 1A2 (OATP1A2, codé par le gène *SLCO1A2*). Une étude menée sur des enfants chinois atteints de LAL suggère que le polymorphisme *SLCO1A2* 3'-UTR rs4149009 G>A pourrait affecter la pharmacocinétique du MTX en interférant avec la fonction des miARN [66]. Deux polymorphismes du site de liaison des miARN situés dans le 3'-UTR de *MTHFR* (rs3737966 G > A et rs35134728 DEL/TTC) ainsi que celui du site de liaison du miARN rs1051296 G > T situé dans le 3'-UTR de *SLC19A1* ont été associés aux concentrations sériques de MTX, suggérant que les miARN pourraient être impliqués dans la régulation post-transcriptionnelle de *MTHFR* et *SLC19A1* [67]. Certains variants de miARN sont également associés à une hépatotoxicité ou à la leucopénie ou l'anémie [68], [69].

Il existe une compréhension limitée de la manière dont la méthylation de l'ADN sur des sites spécifiques peut influencer les niveaux d'expression des gènes liés au métabolisme et à la toxicité du MTX. Néanmoins, les recherches suggèrent qu'une altération de la méthylation de l'ADN dans les cellules du cerveau ou du système nerveux central pourrait être un mécanisme impliqué dans les neurotoxicités liées au MTX et dans les effets neurocognitifs tardifs chez les survivants de LAL [70]. De plus, les niveaux de méthylation du promoteur GGH (gamma glutamate hydrolase) peuvent affecter l'exposition et les toxicités du MTX [71].

I.5.3. Biomarqueurs urinaires :

Nous avons vu que le MTX est éliminé par voie rénale et biliaire grâce à l'intervention de transporteurs parmi lesquels la protéine MRP2/ABCC2. Cette dernière est impliquée non seulement dans la sécrétion de nombreux médicaments mais aussi dans la sécrétion des substances endogènes, telles que la bilirubine et ses dérivés conjugués, les conjugués d'hormones stéroïdes ou encore les coproporphyrines.

Hulot et al. ont rapporté un cas de surexposition au MTX chez un sujet atteint du syndrome de Dubin-Johnson [72]. Cette maladie bénigne est due à une mutation du gène *ABCC2* se traduisant par une absence de protéine MRP2 et conduisant à un défaut d'élimination de ses substrats [73], [74]. Un des signes pathognomoniques de cette maladie est une augmentation de sécrétion urinaire de l'isomère I des coproporphyrines, qui aboutit à une augmentation du

rapport des isomères I et III dans les urines (rapport CPU I/ (I+III)), qui dépasse 80% chez les sujets atteints de ce syndrome, alors qu'il est normalement inférieur à 30% chez les sujets sains [75], [76].

Benz-de Bretagne et al. ont étudié la relation phénotype-génotype chez 74 volontaires sains en mesurant le rapport CPU I/ (I+III) individuel et en analysant les 5 principaux polymorphismes communs du gène *ABCC2* (c.-24C/T (rs717620), c.1249G/A (rs2273697), c.3563T/A (rs17216324), c.3972C/T (rs3740066), et c.4544G/A (rs8187710)) [77]. Les sujets porteurs des allèles 3972T ou -24T présentaient des rapports CPU I/ (I+III) plus élevés (p=0.04 et p=0.08, respectivement) que ceux porteurs de l'allèle C pour ces deux polymorphismes, traduisant une activité réduite. Les résultats de cette étude ont donc fourni une « preuve de concept » que le rapport CPU I/(I+III) pourrait être utilisé comme biomarqueur de la fonction de MRP2 dans des études cliniques, en permettant de quantifier *in vivo* l'activité de MRP2 chez un sujet donné [78]. Cette même équipe a initié un programme de recherche visant à valider le rapport CPU I/ (I+III) comme biomarqueur de l'activité de MRP2, et donc de la pharmacocinétique du MTX [78]. A l'issue de ces travaux, probablement en raison de la diversité des transporteurs impliqués dans l'élimination du MTX, il est apparu que l'étude isolée du fonctionnement d'un transporteur particulier, était insuffisante pour prédire la pharmacocinétique individuelle. Cependant, bien que non prédictif des retards d'élimination ou de la clairance du MTX, le rapport CPU I/(I+III) des sujets variait de manière sensible pendant la perfusion. Ces résultats indiquent que le rapport CPU I/(I+III) pourrait constituer un marqueur de la variation de fonction de MRP2 sous l'effet d'un médicament substrat, apportant ainsi des informations importantes sur le fonctionnement et la régulation de ce transporteur *in vivo*.

I.6. Problématique :

Comme indiqué précédemment, l'une des caractéristiques de la pharmacocinétique du MTX est d'être très erratique avec des différences d'élimination notables d'une cure à l'autre chez un même patient. Cette observation indique que, au-delà de ses caractéristiques physiologiques, pathologiques ou génétiques propres qui peuvent bien sûr intervenir, une part importante de la variabilité provient de facteurs liés à l'environnement du sujet, variable d'une cure à l'autre (facteurs alimentaires ? autres médicaments ? état métabolique particulier ?...).

Partant de ce constat, il apparaît que seule une évaluation « phénotypique » des capacités d'élimination du MTX, devant être renouvelée avant chaque cure, pourrait constituer un test

prédictif fiable des retards d'élimination. C'est sur cette base qu'avait été initié le programme de recherche visant à valider le rapport CPU I/ (I+III) comme biomarqueur de l'activité de MRP2, et donc de la pharmacocinétique du MTX (73). La détermination du rapport CPU I/ (I+III) basal des patients ne suffisant pas à prédire la variabilité d'élimination du MTX, il apparaît nécessaire d'évaluer d'autres biomarqueurs, couvrant plus largement les diverses voies d'élimination du MTX. Ainsi, une approche phénotypique beaucoup plus globale, c'est-à-dire non restreinte au seul transporteur MRP2 et non restreinte à un seul substrat, pourrait permettre d'avancer dans cette voie. L'approche métabolomique, qui permet d'analyser un très grand nombre de substances dans les liquides biologiques (sang, urine,...) reflétant potentiellement les perturbations de systèmes très différents, semble une piste d'étude intéressante puisqu'elle permet une analyse globale des perturbations et oriente vers l'identification des systèmes affectés.

L'APPROCHE METABOLOMIQUE :

II.1. Principe de l'approche :

La métabolomique, science en « omique » au même titre que la génomique, la transcriptomique ou la protéomique, est une approche émergente apparue vers la fin des années 1990. C'est une méthode en pleine expansion pour la recherche de biomarqueurs dans de nombreuses pathologies [79] [80] [81] ou dans le cadre du suivi thérapeutique (prédiction du risque de rejet de greffe [82], prédiction de la réponse pharmacologique [83], [84] ou de la résistance aux médicaments [85] [86] , évaluation des effets toxiques d'une molécule médicamenteuses [87], etc...) afin d'offrir à chaque patient une prise en charge personnalisée et optimisée [88].

Dans des conditions biologiques données, la métabolomique décrit les différents métabolites contenus dans les tissus ou dans les fluides biologiques (tels que les urines ou le plasma) afin les identifier et/ou les quantifier. Le terme de métabolite inclut toutes les petites molécules (<1500Da), aussi bien endogènes qu'exogènes, impliquées dans les processus métaboliques. Ce sont généralement des métabolites primaires tel que les acides aminés, des sucres, des acides gras, des acides organiques, des nucléotides, des vitamines, des stéroïdes, etc...[89] et métabolites secondaires spécifiques à leurs espèces comme les hormones chez les mammifères par exemple [90]. Il inclut également les xénométabolites, métabolites provenant d'autres systèmes biologiques [91] comme les métabolites produits par le microbiote intestinal. Les xénobiotiques (médicaments, pesticides, chimiques environnementaux, ...), ainsi que leurs produits de dégradation, font également partie du métabolome. Cela rend le métabolome dynamique et lui permet de représenter le reflet le plus précis de la réponse de l'organisme à un facteur perturbant son fonctionnement (effet indésirable d'un médicament, modification génétique, maladie, exposition à un toxique...).

Les métabolites extraits de différents échantillons biologiques tels que le sang, l'urine, la salive ou les tissus peuvent révéler des situations anormales ou des maladies (Figure 4). Ceci rend cette méthode porteuse de nombreux espoirs dans la recherche de biomarqueurs à visée diagnostique, pronostique ou pour établir des phénotypes biologiques utilisables pour la stratification des patients dans les essais cliniques [92].

Généralement, l'analyse métabolomique peut être classée en deux approches ; la métabolomique ciblée et non ciblée :

- En métabolomique ciblée, les métabolites sélectionnés pour l'étude à mener sont déterminés a priori en fonction du problème biologique à analyser et peuvent représenter une ou plusieurs voies métaboliques spécifiques ou une classe de molécules spécifique. Cette approche implique une combinaison de techniques permettant d'analyser des échantillons pour un petit nombre de composés à partir d'une matrice complexe. Souvent, les techniques de préparation des échantillons visent à pré concentrer et à purifier les métabolites à l'étude, avant de les analyser avec une technique appropriée. Cette approche est utilisée lors du test d'une hypothèse spécifique ou lors des étapes de validation et de mise en œuvre [93].
- La métabolomique non ciblée, quant à elle, est largement utilisée pour la découverte de biomarqueurs. Il est donc important d'analyser autant de métabolites que possible en se basant sur une préparation d'échantillon la moins sélective possible. Cette approche dite globale utilise souvent différents systèmes analytiques afin d'identifier et quantifier le plus grand nombre possible de métabolites.

Quel que soit le type d'analyse métabolomique, ciblée ou non ciblée, celle-ci repose sur plusieurs étapes telles que la préparation des échantillons, l'identification et/ ou la quantification des métabolites, l'analyse statistique et finalement l'interprétation des données [94].

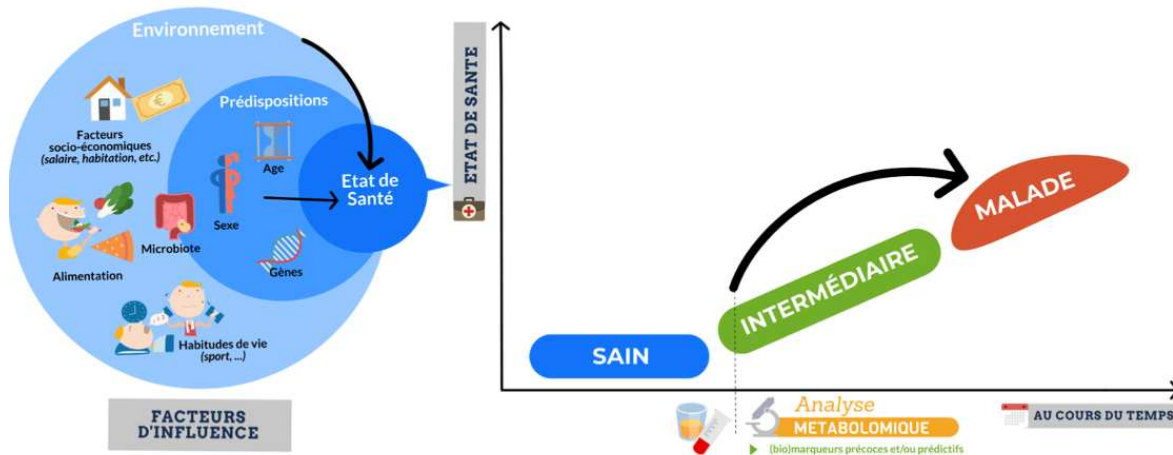


Figure 4: Comment la nutrition et l'environnement influencent notre état de santé par des approches métabolomiques. Tirée de l'INRAE ; La biologie prédictive : une discipline entre science et science-fiction, Publié le 28 octobre 2020 [95]

II.2. Aperçu historique :

Roger Williams a décrit le concept de « profil métabolique » pour la première fois à la fin des années 1940 et a proposé que les individus aient leur propre « profil métabolique » caractérisé via leurs fluides corporels [96]. Il a utilisé la chromatographie sur papier pour mettre en évidence, dans l'urine et la salive, des métabolites caractéristiques associés à des maladies telles que la schizophrénie [97]. Plusieurs décennies plus tard, entre les années 1960 et 1970, les avancées technologiques permettant des mesures quantitatives des métabolites, les scientifiques ont commencé à utiliser des métabolites comme biomarqueurs pour illustrer la relation entre les métabolites et les maladies [98]. En 1984, Nicholson a montré que la spectroscopie RMN du proton (RMN ^1H) pouvait être utilisée dans le diagnostic du diabète, initiant l'application de ces méthodes aux pathologies humaines [99].

La base de données METLIN a été créée en 2003 pour faciliter l'identification des métabolites et l'analyse des voies métaboliques, et il a été rendue publique en 2005. A cette époque, aucune base de données de ce type n'existait pour identifier les métabolites ou toute autre entité chimique. METLIN est depuis passée d'une petite collection de spectres MS/MS sur 100 métabolites dans sa première version à plus de 10 000 métabolites en 2012. En 2017, METLIN, avec plus de 942 000 spectres, est devenue une ressource essentielle dans les domaines

pharmaceutique ou de la santé préventive. Aujourd'hui, elle comprend plus d'un million de molécules incluant des lipides, des stéroïdes, des petits peptides, des glucides, des médicaments/métabolites exogènes et des substances toxiques [100].

Depuis l'introduction de METLIN, et pour répondre à la nécessité d'une analyse rapide des données, notamment l'identification, la quantification et l'interprétation ultérieure de données complexes sur les métabolites, et éventuellement à partir de plusieurs sources d'instruments, plusieurs bases de données différentes ont été créées grâce aux efforts collectifs dans le domaine métabolomique, notamment la base de données sur le métabolisme humain (HMDB) [89], [101], [102]. C'est une autre base de données destinée à être utilisée pour des applications en métabolomique, en découverte de biomarqueurs et en biochimie clinique. Elle accessible sur le Web (www.hmdb.ca) et contient des informations détaillées sur les petites molécules présentes dans l'organisme humain. Cette base de données est conçue pour contenir ou relier trois types de données : 1) des données chimiques, 2) des données cliniques et 3) des données de biologie moléculaire/biochimie. La base de données contient actuellement 220 945 métabolites, hydrosolubles et liposolubles. Quatre bases de données complémentaires ont été intégrées à la plateforme : DrugBank, T3DB, SMPDB et FooDB. DrugBank contient des informations sur environ 2832 médicaments et 800 métabolites de médicaments, T3DB contient des informations sur environ 3670 toxines et polluants environnementaux courants, SMPDB contient des diagrammes de voies pour 132 335 voies métaboliques, médicaments et maladies humaines ainsi que pour 60 628 voies pour d'autres organismes, tandis que FooDB contient des informations sur environ 70 000 composants alimentaires et additifs alimentaires. Depuis ce projet, il y a eu plusieurs entreprises similaires avec des espèces végétales, telles que *Medicago truncatula* et *Arabidopsis thaliana* [101] (104) Table 1.

Les informations existantes sur le métabolome urinaire humain ont été publiées récemment avec des informations détaillées sur chaque métabolite, y compris les niveaux de concentration normaux et liés aux maladies (<http://www.urinemetabolome.ca>). Les métabolomes urinaire et sérique humain représentent une ressource importante pour les chercheurs, utilisables pour des applications cliniques, notamment en médecine stratifiée [104].

Aujourd'hui, plus de 20 bases de données différentes sont disponibles. Leur impact a été profond, transformant une approche initialement marginale en une technologie courante, qui offre un aperçu précieux dans des domaines divers tel que les diagnostics cliniques, la

pharmacologie, la sécurité alimentaire, la médecine sportive, la toxicologie, la médecine légale, les analyses environnementales et la microbiologie [100].

Tableau 1: Liste alphabétique non exhaustive des bases de données en ligne contenant des informations sur les médicaments, les métabolites et les produits naturels pouvant être utilisées pour faciliter la découverte de composés principaux, Wishart D et al. [105].

Database name	URL or web address	Comments
ChemSpider	http://www.chemspider.com/	Meta-database containing chemical data from more than 100 other databases More than 20 million compounds Extensive search utilities and predicted property data
DrugBank	http://www.drugbank.ca/	Contains drug and drug target data on 4800 drugs including 1480 US FDA drugs and 3240 experimental drugs Extensive search utilities for <i>in silico</i> drug discovery
Dr Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases	http://www.ars-grin.gov/duke/	Collection of 3500 phytochemicals and plant secondary metabolites Searchable by known activities and enzyme targets
HMDB (Human Metabolome Database)	http://www.hmdb.ca/	Contains metabolite and metabolite target data for 2900 human metabolites and 3300 enzymes or target proteins Extensive search utilities Extensive biomedical data
KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)	http://www.genome.jp/kegg/	Best known and most complete metabolic pathway database Contains 75 000 pathways, 15 073 metabolites, 6850 drugs Covers more than 750 organisms
PubChem	http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/	Best known public database of chemical compounds Contains 18 million compounds and 38 million substances Contains structures, physical properties and literature links
USDA (US Department of Agriculture) Phytochemical Database	http://www.pl.barc.usda.gov/	Collection of more than 1500 phytochemicals and plant secondary metabolites Provides source, activity and target information – if known

II.3. La notion de biomarqueurs métabolomiques

Selon l'institut national de la santé américain (National Institute of Health (NIH)), un biomarqueur est défini comme « une caractéristique biologique qui est objectivement mesurée de manière précise et reproductible, ainsi évaluée comme un indicateur de processus biologiques normaux ou pathogéniques, ou bien un indicateur de réponses pharmacologiques provoquées par une intervention thérapeutique» [106].

On distingue généralement plusieurs types de biomarqueurs (Figure 5) [107] [108] :

- Les biomarqueurs diagnostiques, qui permettent de diagnostiquer une pathologie. Par exemple le PSA (Prostate Specific Antigen) est un marqueur tumoral inclus dans le bilan initial de diagnostic d'un cancer de la prostate.

- Les biomarqueurs pronostiques, qui permettent de différencier des catégories de patients selon la probabilité d'évolution de leur maladie, indépendamment d'un traitement spécifique.
- Les biomarqueurs prédictifs, qui permettent de prévoir les éventuels bénéfices (efficacité) et risques (toxicité) d'une thérapie spécifique.
- Les biomarqueurs de susceptibilité, qui décrivent des différences interindividuelles en réponse à des facteurs environnementaux.

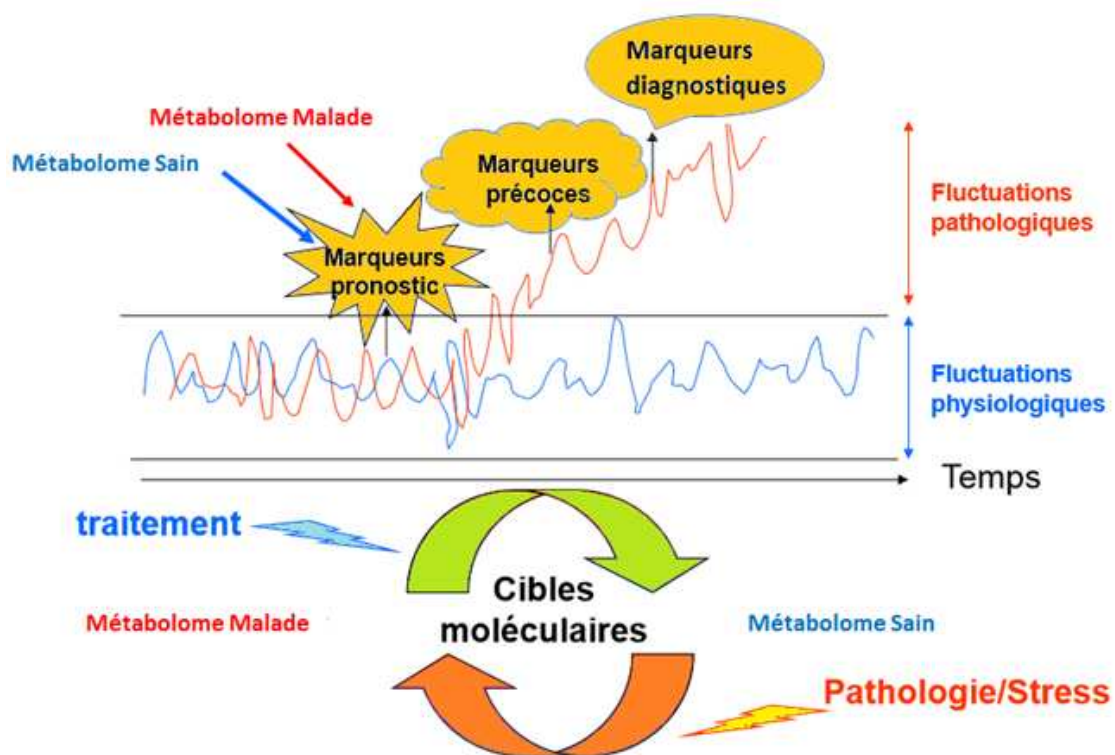


Figure 5: Illustration des stades d'évolution d'une pathologie et types de biomarqueurs caractérisant chaque stade.

Dans le domaine métabolomique, un biomarqueur peut être non seulement un métabolite mais aussi un ensemble de métabolites (profil métabolique) présents dans des échantillons d'urine, de salive, de bile ou de tout autre fluide de l'organisme [109], [110]. Ces matrices physiologiques contiennent des métabolites hautement informatifs et peuvent être facilement analysées par empreinte ou profilage métabolomique, dans le but de découvrir des biomarqueurs. La capacité de relier les modifications métaboliques aux gènes et protéines altérés pourra parfois contribuer à mieux comprendre la physio-pathologie, ou encore les voies modifiées par l'administration d'un médicament [111].

La composition métabolique des biofluides humains peut fournir des informations diagnostiques et pronostiques importantes d'autant que les composées de ces matrices biologiques et/ou leurs concentrations sont soumises à une série de facteurs tels que l'âge [112] [113], le sexe [114], le régime alimentaire [115], le mode de vie [116], la flore intestinale [117], la maladie [118] et l'obésité [119]. Il est important de garder à l'esprit que des facteurs confondants d'origine biologique (contamination bactérienne, dégradation) ou analytique (mode de prélèvement et conservation, interférences analytiques,...) peuvent modifier les profils métaboliques et par conséquent masquer le phénomène biologique que l'on souhaite étudier [118].

II.4. Principe de l'analyse métabolomique

II.4.1. Principales méthodes analytiques :

La métabolomique est une stratégie à haut débit où des centaines d'échantillons peuvent être analysés par jour ou par semaine, en fonction de l'instrument analytique. Les développements continus dans ce domaine nécessitent des approches chimiométriques spécialisées et des outils bio-informatiques adaptés [120].

En raison de la complexité du métabolome, de l'abondance des métabolites, de leur diversité chimique ainsi que de la grande variabilité des concentrations observées, aucune plateforme analytique unique ne peut couvrir la détection complète du métabolome étudié et la couverture de cette vaste gamme de métabolites nécessite l'utilisation de plusieurs protocoles et instruments analytiques [121] [122] [123]. Dans les études métabolomiques, les 2 techniques analytiques les plus souvent mises en œuvre sont la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectrométrie de masse (MS) couplée à la chromatographie gazeuse (GC-MS) ou à la chromatographie liquide (LC-MS). La RMN et la MS permettent la détection de centaines de métabolites dans divers fluides biologiques comme le sérum, l'urine ou les extraits tissulaires [124]. Chacune de ces techniques a ses propres avantages et limites, ainsi que ses exigences particulières pour la préparation des échantillons (Annexe 1 (Tableau A1)). De ce fait, certaines techniques pourraient être mieux adaptées que d'autres à l'analyse de certains types d'échantillon mais elles sont parfois complémentaires (Figure 6).

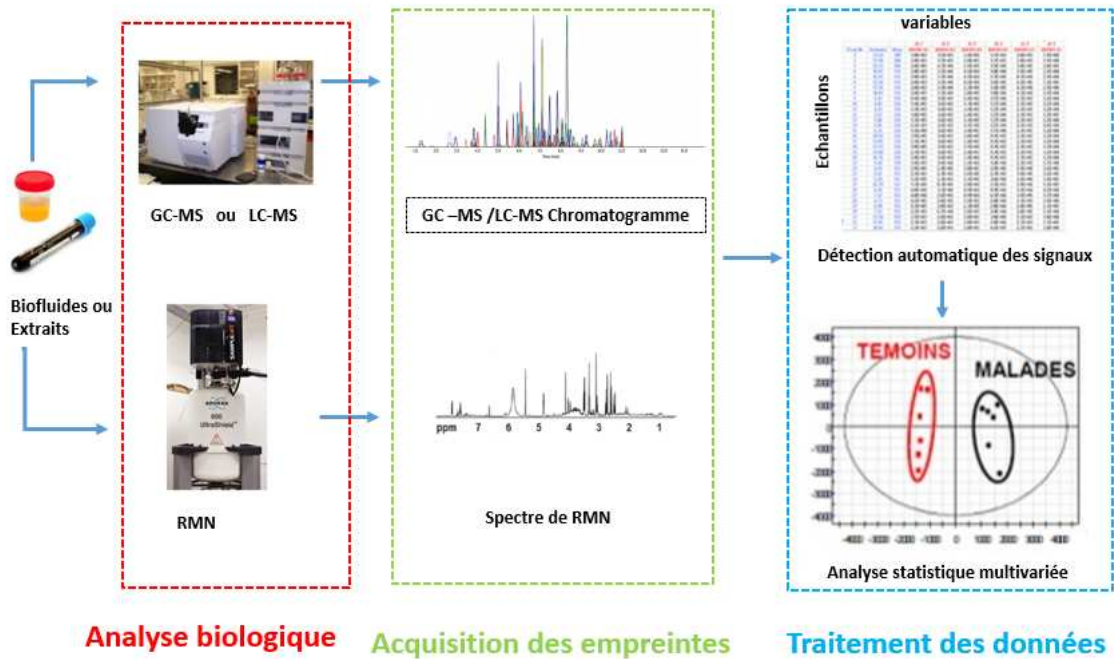


Figure 6: Les différentes étapes de l'analyse métabolomique.

Un des plus grands défis dans le domaine de la métabolomique est la grande quantité de données qui sont générées par les méthodes analytiques mises en place. L'évaluation et la visualisation des données sont des outils importants pour comprendre les résultats complexes obtenus avec une expérience de métabolomique. Diverses approches statistiques et mathématiques sont actuellement utilisées pour relever ce défi. Il est très important de garder à l'esprit que, pour une étude métabolomique, le choix de l'approche statistique dépend fortement de la question de la recherche. Le principe des études métabolomiques étant d'établir des corrélations ou de discriminer des groupes, deux grandes catégories d'analyses statistiques peuvent être utilisées, l'analyse statistique univariée & l'analyse statistique multivariée (AMV). Antonelli et al. ont résumé les méthodes qui ont été appliquées dans les études métabolomiques cliniques antérieures ou en cours [125] Tableau 2.

Tableau 2: Méthodes d'analyse statistique utilisées dans l'analyse des données métabolomiques humaines.

Method	Univariate or Multivariate	Advantages	Disadvantages
Multiple tests (e.g., univariate linear regression) with Bonferroni correction	Univariate	Simple, easy to use and interpret results	Very conservative and does not account for intercorrelation
Multiple tests with false discovery rate (FDR)	Univariate	Simple, easy to use, less conservative than Bonferroni correction	Does not account for intercorrelation among features
Principal component analysis (PCA)	Multivariate	Effective for variable reduction	No intrinsic clarity on how to select or rank variables
Sparse partial least squares (SPLS)	Multivariate	Can quickly find a subset of variables that predicts the outcome well	Multiple tuning parameters are needed to be chosen via cross validation
Linear discriminant analysis (LDA)	Multivariate	Simple and works for categorical outcomes	Can not handle large numbers of features
Least absolute shrinkage and selection operator (LASSO)	Multivariate	Can quickly find a subset of variables that predicts the outcome well	May not perform well for metabolite selection when the features are highly correlated

II.5. Principales applications de la métabolomique :

La métabolomique est une approche qui présente des avantages par rapport aux autres «omiques» [126]. Ses applications sont nombreuses et transverses, que ce soit en santé, en agro-alimentaires, en microbiologie ou en biologie végétale (Figure 7).



Figure 7: Les principaux domaines d'application de la métabolomique.

La métabolomique a déjà été utilisée pour identifier des biomarqueurs à petites molécules ou des signatures multimétaboliques pour une grande variété d'applications :

- **L'identification des IEMs (Inborn errors of metabolism)** est l'application la plus réussie de la métabolomique [105]. Les erreurs innées du métabolisme (IEM) sont un groupe de maladies héréditaires avec des incidences variables. Leur prévalence diffère d'un pays à l'autre, probablement parce que des méthodes différentes sont utilisées pour le dépistage. Les IEM sont causés par la perturbation d'activités enzymatiques dans des voies métaboliques spécifiques, suite à des mutations génétiques, entraînant une altération des niveaux de composés associés à ces voies. Un diagnostic précoce et précis des IEM est essentiel pour la santé à long terme des sujets affectés. Actuellement, les programmes de dépistage néonatal utilisent exclusivement des tests métaboliques ciblés qui se concentrent sur des panels limités de composés pour certaines maladies IEM. Contrairement à la plupart des maladies chroniques (telles que le cancer, l'arthrite, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer), la plupart des IEM se caractérisent par des niveaux inhabituels d'un ou deux métabolites seulement. Par exemple, la phénylcétonurie est caractérisée par de faibles niveaux de tyrosine et la cystinurie par des niveaux élevés de lysine et de cystine. [105]. Les données rassemblées par Ron Wevers au cours des deux dernières décennies ont montré que la métabolomique basée sur la RMN est capable de détecter et de surveiller plus de 85 IEMs différents [127], [128]. De même, les méthodes GC-MS et LC-MS ont été utilisées pour détecter ou surveiller près de 130 IEM [129], [130].

- **Le diagnostic de maladies**, notamment l'hypertension [131], l'insuffisance cardiaque [132], la maladie de Parkinson [133], le cancer de la prostate [134], du sein [135], de l'ovaire [136], la schizophrénie [137] la maladie d'Alzheimer [138] ou les maladies coronariennes [139]. Selon les données disponibles dans la HMDB, des biomarqueurs à petites molécules ont été identifiés ou associés à plus de 400 maladies différentes. Fait intéressant, certaines maladies sont associées à seulement un ou deux métabolites caractéristiques, tandis que d'autres sont associées à des niveaux altérés de dizaines de métabolites c'est-à-dire à une signature ou un profil métabolique [105].

En cancérologie, la métabolomique a ouvert de nouvelles opportunités de recherche et commence à avoir un impact sur le diagnostic et le traitement. Par exemple des analyses prospectives des métabolites circulants ont révélé une forte association entre l'acylcarnitine et les phosphatidylcholines et le risque du cancer du sein [140], certains métabolites liés à la

caféine sont inversement associés au cancer colorectal [141], des métabolites liés à l'alcool, à la vitamine E, et aux graisses animales sont associés au risque de cancer du sein à récepteurs hormonaux positifs [142], de même que les acides aminés à chaîne ramifiée au cancer du pancréas [143]. Le tableau 3 présente un aperçu des opportunités de la métabolomique pour améliorer le diagnostic, la surveillance et le traitement du cancer.

Les cellules cancéreuses ont un métabolisme cellulaire modifié et les changements métaboliques peuvent même être à la base de la résistance ou de la sensibilité aux médicaments. La recherche se concentre sur la façon dont les cellules cancéreuses produisent l'énergie nécessaire à la prolifération et à la survie, comment les nutriments essentiels tels que le glucose et la glutamine sont utilisés par ces cellules, et quelles voies métaboliques sont essentielles à la survie et pourraient potentiellement servir de cibles médicamenteuses [144].

Tableau 3 : Résumé non exhaustif des métabolites liés au cancer[145].

Cancer type	Technique	Biological sample	Metabolite	References
Colorectal cancer	RMN	Tumoral tissue	Increase: lactate, glutamate, alanine, choline, succinate, taurine, glycine Decrease: butyrate, glutamine, myoinositol, creatine, glucose	(Lin et al., 2019)
		Fecal sample	Increase: glutamate, lactate, alanine, succinate Decrease: butyrate, propionate, acetate	
Prostate cancer	GC-MS	Tumoral tissue	Increase: Glycerol-3-phosphate, proline, malate, fumarate, succinate, 2-Hydroxyglutaric acid (2-HG), fatty acids, glycerolipids, Myo-inositol, alanine, uracil	(Shao et al., 2018)
Breast cancer	NMR	Tumoral tissue	Increase: valine, lysine, arginine, glutamine, creatine, creatinine, glucose Decrease: lipoproteins, lipids, glycoproteins, acetone, glycerol derived compounds, unsaturated lipids	Cheung et al., 2019)
	NMR	Blood	Increase: valine, lysine, arginine, glutamine, creatine, creatinine, glucose, norvaline Decrease: lipoproteins, lipids, glycoproteins, acetone, glycerol derived compounds, unsaturated lipids, o-succinyl-homoserine	(Lécuyer et al., 2019; Lécuyer et al., 2018)
	UPLC-MS-MS	Blood	Increase: acetyl-L-alanine, indoxyl sulfate, kynurenine Decrease: 5-oxo-L-proline	(Lyon et al., 2018)
	LC-MS	Blood	Prostaglandin C1, ricinoleic acid, oleic acid amide, ethyl docosahexaenoic, hulupapeptide, lysophosphatidylethanolamine, cysteinyl-lysine, methacholine, vitamin K2	(Lin et al., 2019)
	NMR	Blood	1-HER2-positive: increase of carnitine, lysophosphatidylcholine, proline, valine, 2- octenedioic acid 2-ER-positive: increase of glycochenodeoxycholic acid	(Chen et al., 2019)
	LC-MS-MS GC-TOF-MS	Tumoral tissue Blood	Phosphatidylcholines Cytidine-5 monophosphate, pentadecanoic acid	(Jacob et al., 2019)
	RMN MS	Urine	Increase: 5-hydroxymethyl-2-deoxyuridine, 8- hydroxy-2-deoxyguanosine, succinyladenosine Decrease: valine, leucine, succinate, hippurate, sucrose, uracile, alanine	(Dinges et al., 2019)
	CE-LC-MS	Saliva	Increase: Spermine	(Murata et al., 2019)
	RMN MS	Tumoral tissue, blood, urine, saliva	Tyrosine, alanine, glutamic acid, valine, phenylalanine, glutamine, lysine, isoleucine, histidine, choline, glycine, arginine	(Yang et al., 2020)

- **La nutrimétabolomique**, qui permet d'évaluer de manière globale les effets des nutriments et des aliments sur des systèmes métaboliques complexes et comprendre ainsi les variations interindividuelles de réponse à des nutriments [146]. Elle a été utilisée par exemple chez les animaux pour étudier les effets métaboliques de la restriction calorique et leur impact sur la longévité [147], ainsi que pour comprendre l'étiologie de l'obésité et des maladies métaboliques associées ou encore mettre en évidence les liens entre la consommation d'acides aminés ramifiés, leur métabolisme, et leur rôle dans le diabète de type 2 [148].

- **En microbiologie** : Le microbiote humain est un écosystème d'une grande diversité et considéré comme un facteur important en santé humaine. Cette diversité est notamment influencée par le régime alimentaire et des défenses immunitaires. Ces dernières années, le microbiome intestinal a été associé à une variété de maladies telles que le diabète [149], les pathologies cardiovasculaires [150] la dépression [151] ou des maladies intestinales [152]. A ce jour, le mécanisme sous-jacent de la façon dont le microbiome affecte notre santé n'est pas parfaitement compris. La métabolomique peut identifier des métabolites bactériens susceptibles d'influencer la physiologie et les pathologies de l'hôte. Depuis la mise en évidence de l'importance du microbiote intestinal dans le métabolisme des phosphatidyl-cholines d'origine alimentaire [153], de nombreuses études mettent en lumière des liens entre l'activité du microbiote, le métabolisme humain et les risques pour la santé [146].

- **Biomarqueurs et traitement individualisé (médecine personnalisée)** : La médecine personnalisée est un objectif clé des soins de santé du XXI^e siècle, son but ultime est de permettre aux cliniciens de prescrire le bon médicament au bon patient au bon moment avec une efficacité maximale et une toxicité minimale. Ce concept, qui n'est pas si nouveau, présente de grands avantages notamment en oncologie. Au cours de la dernière décennie, des études de métabolomique ont identifié plusieurs biomarqueurs pertinents impliqués dans des phénotypes cliniques complexes utilisant divers systèmes biologiques. Le tableau 4 présente un bref résumé des nouvelles applications de la métabolomique dans la prédiction des réponses aux médicaments et la stratification des patients, ce qui éclaire la perspective de la métabolomique dans la médecine personnalisée dans un avenir proche [120].

Tableau 4: Bref résumé d'études métabolomiques portant sur la réponse aux médicaments.

Drugs	Drug Efficacy	Metabolomics	Key Metabolite	Responses
Aspirin	antiplatelet aggregation	GC-MS-based untargeted metabolomics	inosine	Increased in plasma of poor-responders at post-treatment
		MS-based targeted metabolomics	serotonin	Increased in plasma of poor-responders at both baseline and post-treatment
Simvastatin	reducing plasma LDL-cholesterol	GC/MS-based untargeted metabolomics	LCA, TLCA, GLCA, COPR	Increased in plasma of good-responders at baseline
		GC/TOFMS-based untargeted metabolomics	fructose xanthine, 2-hydroxyvaleric acid, succinic acid, stearic acid	Increased in plasma of poor-responders at baseline Increased in plasma of good-responders at baseline
Acamprosate	treating Alcohol Use Disorders (AUDs)	UPLC-MS/MS-based untargeted metabolomics	glutamate	Increased in plasma of good-responders at baseline
Atenolol	lower blood pressure	GC-TOFMS-based untargeted metabolomics	5-methoxytryptamine	Increased in plasma of good-responders at baseline
Hydrochlorothiazide	lower blood pressure	GC-TOFMS-based untargeted metabolomics	arachidonic acid, unknown metabolite (223548)	Increased in plasma of poor-responders at baseline
			unknown metabolite (223548)	Increased in plasma of good-responders at baseline
Sertraline	antidepressant	GC-TOFMS-based targeted metabolomics	5-Methoxytryptamine	Increased in plasma of good-responders at baseline
L-carnitine	treating sepsis	NMR-based untargeted metabolomics	acetyl/carnitine/carnitine	Increased in plasma of poor-responders at baseline

L'APPROCHE PHARMACO-METABOLOMIQUE :

Comme nous l'avons vu, divers facteurs tels que la génétique, le sexe, l'alimentation et l'état de santé, influencent considérablement l'efficacité des médicaments chez différents patients, avec parfois des conséquences fatales. La pharmacométabolomique, branche de la métabolomique appliquée à la prévision et au suivi des effets des médicaments, pourrait permettre une meilleure prédiction de la réponse d'un individu à des médicaments sélectionnés [104] [146]. A l'aide de plateformes analytiques à haut débit, des milliers de métabolites sont quantifiés et constituent une empreinte métabolique caractérisant le phénotype du patient. Il s'agit donc d'une approche complémentaire par rapport à la pharmacogénomique, à laquelle elle est souvent associée dans le cadre de la médecine de précision.

Cette approche présente un certain nombre d'avantages notables :

- Le phénotype métabolique reflète l'état physiologique réel du patient à un instant T
- Le profilage métabolique est sensible aux facteurs génétiques et environnementaux, y compris l'état du microbiome intestinal, qui sont critiques pour l'expression du phénotype.

III.1. Exemples d'application en pharmacologie

Une étape inaugurale dans ce domaine a consisté à tester chez le rat, en 2006, si le métabolisme et la toxicité du paracétamol étaient liés aux différences de profil métabolique pré-thérapeutique [154]. Depuis, toujours avec le paracétamol, ce concept a été étendu à l'homme [155], [156]. Plusieurs études concordantes ont ainsi montré que les capacités métaboliques (ici au sens des biotransformations métaboliques hépatiques) d'un sujet vis-à-vis du paracétamol (glucurono- et sulfo-conjugaison) étaient corrélées à un profil métabolomique urinaire particulier avant toute administration du médicament. Un métabolite urinaire, le para-crésol-sulfate (PCS) fut identifié comme le principal biomarqueur de ces différences, une excrétion importante de PCS étant inversement corrélée à la sulfo-conjugaison du paracétamol et positivement corrélée à la production de paracétamol-glucuronide. Le PCS est un métabolite exclusivement produit par les bactéries de la flore intestinale. Sa production excessive mobilise les capacités de sulfo-conjugaison de l'individu jusqu'à les saturer, provoquant un shift vers une voie métabolique habituellement accessoire pour le métabolisme des autres substrats présents. Cet exemple a montré que le métabolome urinaire pouvait effectivement refléter un « statut » individuel particulier (ici les réactions de conjugaison des médicaments au niveau hépatique) mais aussi les variations de ce « statut » sous l'influence de facteurs environnementaux (ici la flore intestinale).

Depuis, d'autres études pharmaco-métabolomiques concernant le tacrolimus, les statines, les antidépresseurs inhibiteurs de recapture de la sérotonine ou encore la capécitabine ont confirmé l'existence de relations entre le métabolome et la réponse aux médicaments (l'innocuité et l'efficacité des médicament) chez les animaux et les humains [157].

Outre son intérêt pour développer de nouveaux biomarqueurs de réponse aux médicaments, la métabolomique peut également apporter des informations sur les voies mises en jeu (métabolisme, transport) et leur régulation par des facteurs génétiques. Ainsi, après avoir démontré que le taux de glycine urinaire était prédictif de la réponse au citalopram, Ji et al. ont montré que ce taux variable dépendait d'un polymorphisme génétique du gène *GLDC*, codant la glycine deshydrogénase [158]. Song et al. ont pour leur part montré que plusieurs métabolites urinaires, dont le tryptophane, étaient significativement moins excrétés dans les urines des patients porteurs d'un variant muté du gène *SLC22A2* codant le transporteur tubulaire rénal OCT2 que chez les sujets ayant un génotype sauvage [159]. Surtout, ces métabolites urinaires prédisaient la clairance individuelle de la metformine, médicament excrété dans l'urine via

OCT2. Ainsi, ce travail a montré qu'il est possible de définir des marqueurs phénotypiques de l'activité d'un transporteur par approche métabolomique, et de les utiliser pour prédire la pharmacocinétique de ses substrats.

À ce jour, une trentaine d'études de pharmaco-métabolomique ont été conduites chez l'animal et chez l'homme. Everett et al. ont résumé la plupart des études publiées jusqu'en 2016 (Tableau 5) [157].

Tableau 5: Utilisation de la pharmaco-métabolomique pour prédire l'efficacité, la toxicité, le métabolisme et la pharmacocinétique du médicament.

Phénomène étudié	Etudes chez l'homme
Prédiction de l'efficacité des médicaments	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Préviation des effets antipsychotiques de l'olanzapine, la rispéridone et l'aripiprazole [160] ➤ Prédiction de l'efficacité de la simvastatine et lien avec la pharmacogénomique [161] [162] ➤ Prédiction de la réponse au citalopram / escitalopram chez des patients présentant un trouble dépressif majeur [158] [163], [164] ➤ Prédiction de la réponse à la sertraline et au placebo chez les patients atteints de trouble dépressif majeur [165] [166], [167] ➤ Prédiction de l'efficacité des antipsychotiques chez les patients atteints de schizophrénie [168] ➤ Prédiction de la réponse à l'aspirine chez des volontaires sains [169] [170] [171] ➤ Prédiction de l'efficacité des traitements par anti-TNF dans la polyarthrite rhumatoïde [172] ➤ Prédiction du phénotype de la thiopurine-S-méthyltransférase chez les volontaires estoniens sains [173] ➤ Prédiction de l'efficacité de la L-carnitine chez des patients en choc septique [174] ➤ Prédiction de la réponse au traitement par acamprosate chez des patients dépendants à l'alcool [175] ➤ Prédiction de la baisse de la tension artérielle chez des patients hypertendus traités par aténolol et hydrochlorothiazide [176] ➤ Prédiction de la réponse chez des patients atteints de cancer du poumon [177] ➤ Prédiction de la réponse à la thérapie néoadjuvante à base de trastuzumab-paclitaxel dans le cancer du sein HER2 positif [178]

Tableau 5 (suite) : Exemples d'applications en pharmaco-métabolomique : prédiction de l'efficacité, de la toxicité, du métabolisme ou de la pharmacocinétique du médicament.

Phéno mène étudié	Etudes chez l'homme	Etudes précliniques
Prédiction de la pharmacocinétique (PK)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Prédiction de la pharmacocinétique (PK) du Tacrolimus chez des volontaires sains [179] ➤ Prédiction de la pharmacocinétique de l'atorvastatine chez des volontaires sains [180] ➤ Prédiction de la clairance du MTX chez des patients atteints de tumeurs malignes lymphoïdes [181] 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Prédiction de la pharmacocinétique du Triptolide chez le rat [182]
Prédiction du métabolisme des médicaments	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Prédiction du métabolisme du paracétamol / acétaminophène chez des volontaires sains [156] ➤ Prédiction de l'induction du CYP3A4 chez des jumeaux [183] ➤ Prédiction de l'activité du CYP3A chez des volontaires sains [184] 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Prédiction du métabolisme du paracétamol chez le rat [154]
Prédiction des événements indésirables	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Prédiction du gain de poids chez les patients atteints d'un cancer du sein soumis à une chimiothérapie [185] ➤ Prédiction des marqueurs des lésions hépatiques chez les patients traités par ximelagatran [186] ➤ Prédiction de la toxicité du paracétamol [155] ➤ Prédiction de la toxicité chez les patients atteints d'un cancer colorectal inopérable traités par capécitabine [187] 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Prédiction de la toxicité du paracétamol chez le rat [154] ➤ Prédiction de l'apparition du diabète chez les rats recevant de la streptozotocine [188] ➤ Prédiction de la néphrotoxicité du cisplatine chez le rat [189] ➤ Prédiction de la toxicité de l'isoniazide chez le rat [190] ➤ Prédiction de la variabilité de réponse au traitement par la galactosamine chez le rat [191] ➤ Prédiction de la toxicité provoqué par l'administration de lipopolysaccharides chez le rat [192]

III.2. Application au méthotrexate :

Dans des travaux de Le Guellec et al cités plus haut, les performances du rapport CPUI/ (I+III), en tant que biomarqueur pour prédire les capacités d'élimination individuelles du MTX, se sont révélées insuffisantes.

Compte tenu de la complexité de la pharmacocinétique du MTX et de la diversité des voies impliquées dans son élimination, il apparaît qu'un biomarqueur isolé, même représentatif d'une voie majeure, ne peut pas refléter à lui seul l'ensemble de ces processus. C'est pourquoi, plutôt que de s'intéresser à un métabolite ciblé, cette équipe a ensuite opté pour une approche de « profil métabolique », c'est-à-dire d'un panel de substances qui, associées, pourraient refléter le phénotype d'excrétion rénale du MTX. Mesuré juste avant une administration ce profil métabolique pourrait alors être utilisé à visée prédictive.

Une étude a été menée sur une cohorte de 62 patients adultes traités par HD-MTX pour une hémopathie lymphoïde et ayant fait l'objet d'une évaluation pharmacocinétique et d'un relevé des toxicités liées au traitement [181]. L'analyse métabolomique a été conduite selon une approche ciblée sur l'analyse des acides organiques urinaires puisque ce sont typiquement ces métabolites qui sont substrats des voies de sécrétion coordonnées du MTX, impliquant les OATs/MRPs, au niveau rénal. Les analyses ont été réalisées par une méthode GC-MS. Vingt-huit métabolites ont présenté une bonne corrélation avec le délai d'élimination du MTX, avec cependant une mauvaise prédiction de la survenue (oui/non) d'un retard d'élimination, défini par une méthotrexatémie inférieure à un seuil 72 heures après le début de la perfusion. Ce travail a apporté la preuve de concept que la capacité de sécrétion d'anions organiques endogènes pré-thérapeutique pourrait servir de biomarqueur prédictif de la façon dont le médicament se comporte chez un patient, sachant que jusqu'à présent, la clairance du MTX ne peut être estimée qu'a posteriori, après que le médicament ait été administré. Une des limites à l'utilisation de ce profil de 28 métabolites est qu'il faudrait les doser en routine chez tout patient devant recevoir une cure de HD-MTX ce qui n'est actuellement pas envisageable. En l'état, cette approche est donc peu applicable en routine. Les futurs développements devront s'attacher, pour les métabolites qui seront fermement confirmés comme prédictifs, à développer des outils analytiques de mise en œuvre facile.

L'analyse de ces résultats a montré que 6 métabolites (acide 3-hydroxypropionique, acide 3-hydroxyisobutyrique, valérylglycine, acide 3-cétoglutarique, acide benzoïque et pyruvate)

étaient connus pour être substrats de OAT1, que 2 autres (Hexanoic acid et 2-Methyl acetoacetic acid) étaient chimiquement proches de substrats des OATs et que l'acide hydroxycinnamique est éliminé via OAT1, OAT3 et OAT4. Ces observations renforcent l'idée que la teneur en anions organiques dans l'urine pourrait être indicative du niveau de fonction des OATs et/ou des autres transporteurs urinaires au moment de la mesure. Ainsi, les variations de fonction de ces transporteurs *in vivo* pourraient être traduites dans la sécrétion altérée de leurs substrats à la fois endogènes et exogènes (y compris les médicaments tels que le MTX).

Dans un second travail, cette équipe a essayé d'identifier des métabolites endogènes substrats de MRP2/*ABCC2* qui pourraient à terme constituer des biomarqueurs applicables aux études pharmacocinétiques des médicaments substrats de cette voie [193]. L'étude a porté sur des volontaires sains ne recevant aucun traitement et chez qui un recueil urinaire sur 24h limitait les fluctuations d'excrétion au cours de la journée. Les auteurs ont de nouveau appliqué une approche métabolomique ciblée dans le but d'identifier des anions organiques endogènes excrétés de manière différentielle dans les urines en fonction du génotype *ABCC2* des sujets. Deux cent dix-sept métabolites urinaires ont été analysés sur chaque échantillon. Les sujets ont été génotypés pour trois polymorphismes communs (SNP) d'*ABCC2* (rs717620 (c.-24C>T), rs2273697 (c.1249G>A) et rs3740066 (c.3972C>T), choisis sur la base d'arguments de fréquence et de fonctionnalité. En effet, à côté de travaux expérimentaux montrant des différences d'activité du transporteur MRP2 en lien avec ces polymorphismes, leur impact est également démontré sur la pharmacocinétique de substrats de MRP2. Les allèles mutés pour les SNPs -24C>T et 3972C>T sont associés à une activité de transport réduite, tandis que l'allèle muté du SNP 1249G>A confère une activité augmentée. Ainsi, un substrat de MRP2 devrait être excrété dans le même sens (mieux ou moins bien) chez les sujets porteurs de l'un de ces allèles mutés. Les résultats ont montré que 35 métabolites étaient présents de manière différentielle dans les urines en fonction de génotype et que 8 d'entre eux contribuaient le plus à la différence entre les porteurs d'un allèle à fonction réduite et celui à fonction augmentée. Sept métabolites sur 8 sont des acides gras (acide dodécanoïque; acide 3-hydroxypropanoïque) ou des métabolites de polyphénols (caféine; résorcinol; acide caféique; acide 2-(3,4-dihydroxyphényl) acétique et acide 4-hydroxyhippurique). Fait intéressant, l'isomère I de la coproporphyrine faisait également partie de la liste finale, bien qu'il ne soit pas discriminant de manière significative en analyse univariée. Cela suggère que la mesure simultanée d'un ensemble de métabolites endogènes dans l'urine, plutôt que celle de métabolites uniques, peut potentiellement fournir une mesure phénotypique de la fonction de la MRP2 *in vivo*.

Le transporteur MRP2 est impliqué dans l'excrétion d'anions organiques conjugués tels que les conjugués sulfo-, glucurono- et glutathion (GSH) des endo et xénobiotiques [194]. A ce titre, il aurait été intéressant de focaliser l'analyse sur des métabolites strictement endogènes, par exemple des métabolites glucuroconjugués des hormones stéroïdiennes. Un des substrats tests les plus utilisés pour l'étude du fonctionnement de MRP2 *in vitro* est effectivement l'estradiol-17 β -glucuronide. L'étude de dérivés conjugués d'hormones aurait nécessité d'utiliser une approche analytique différente de celle ciblant les anions et cations organiques. Ici, les auteurs souhaitaient utiliser une approche homogène dans leurs travaux étudiant les facteurs prédictifs de la clairance de substrats de MRP2 et le rôle potentiel des facteurs génétiques sur l'activité du transporteur. L'analyse de l'ensemble des métabolites issus de travaux de cette équipe a montré que l'acide 3-hydroxy propénoïque et l'acide dodecanoïque, ainsi que des dérivés de l'acide hippurique (respectivement l'acide 4-hydroxyhippurique et l'acide benzoïque) étaient communs aux deux études [181] [193]. L'analyse sur le site HMDB des différents métabolites identifiés dans ces deux études a révélé que 14 métabolites (43%) sont purement d'origine endogène. Les 19 métabolites restants (57%) viennent de l'alimentation (polyphénols notamment) ou sont des dérivés de métabolites endogènes, modifiés par le microbiote intestinal. Les polyphénols par exemple, sont une classe de composés auxquels l'être humain est exposé quotidiennement. Ainsi, le fait de les trouver dans la liste prédictive soit de la clairance du MTX, soit de l'activité de MRP2, répond aux objectifs de ce travail puisque les auteurs cherchaient à déterminer des métabolites indicatifs de l'état « instantané » des capacités d'excrétion rénale (biomarqueur phénotypique à l'instant T), prenant en compte justement l'ensemble des facteurs environnementaux pouvant le modifier. Si l'on reste sur le problème posé par la variabilité intra-individuelle de la clairance du MTX, il est hautement probable que celle-ci résulte de facteurs alimentaires, même si les aliments suspects ne sont pas connus à ce jour. De même, un état inflammatoire ou nutritionnel particulier, régulant le microbiote intestinal, pourrait contribuer à cette variabilité [195]. Il est donc logique que l'analyse du métabolome résultant de ces interactions mette en exergue des métabolites issus de l'alimentation et/ou relevant du microbiote.

Une observation paradoxale a conduit cette même équipe à poursuivre leurs investigations combinant métabolomique et pharmacogénétique, en s'intéressant au transporteur OATP1B1 codé par le gène *SLCO1B1*. En effet, plusieurs études avaient clairement montré une association entre des polymorphismes de *SLCO1B1* et à la clairance et/ou la toxicité du MTX alors même

que ce transporteur n'est pas exprimé par les cellules tubulaires rénales. L'hypothèse qu'ils ont formulée était que cette association pharmacogénétique inattendue pourrait refléter une communication à distance entre les transporteurs hépatiques et rénaux, conformément à la théorie du « remote sensing and signaling » évoquée par Nigam et al [196] qui stipule qu'un effecteur donné (transporteur, récepteur) peut être modulé suite au dysfonctionnement d'un autre, même situé à distance. Sous cette hypothèse, des métabolites endogènes moins bien excrétés suite au dysfonctionnement d'origine génétique de OATP1B1 au niveau hépatique pourraient s'accumuler et interagir avec un autre transporteur impliqué dans l'élimination rénale du MTX. Le dysfonctionnement d'OATP1B1 influencerait donc indirectement sur la clairance (rénale) du MTX.

Sur la cohorte de patients traités par HD-MTX génotypés pour les allèles c.388A> G ou c.521T> C de *SLCO1B1*, l'approche métabolomique ciblée a permis d'identifier 38 et 34 métabolites qui étaient excrétés de manière différentielle dans les urines entre le type sauvage et les porteurs des allèles c.388A> G ou c.521T> C, respectivement. Parmi les métabolites mis en évidence par cette étude, certains étaient également associés à la toxicité de grade 3 à 4 chez les patients de l'étude et étaient par ailleurs très similaires à ceux montrés prédictifs de la clairance du MTX dans l'étude initiale [181]. Ces métabolites étaient principalement des dérivés d'acides gras et de catabolites du microbiote, notamment des conjugués de glycine et d'autres toxines urémiques, tous des substrats connus des OATs [197].

Ces résultats confirment que des interactions complexes se produisent *in vivo* entre les substrats d'OATP1B1 et ceux d'OAT et que le dysfonctionnement d'un transporteur affecte l'excrétion de substrats endogènes ou exogènes, éventuellement par le biais d'interactions médiées par des métabolites impliquant d'autres systèmes de transport, même dans des organes distants. Cela ouvre la voie à une meilleure compréhension de la pharmacocinétique complexe et des interactions médicament-médicament ou nutriment-médicament médiées par les transporteurs.

Parmi les composés mis en évidence par cette étude, les dérivés d'acides gras et des métabolites du microbiote, notamment les polyphénols, sont présents dans une alimentation normale comprenant des fruits et des légumes et sont particulièrement présents chez les consommateurs de café et de thé noir. Après ingestion, les polyphénols sont modifiés par le microbiote colique et, suite à des réactions cataboliques et de conjugaison, apparaissent dans le sang puis sont excrétés soit dans les urines, soit dans la bile. La conjugaison à la glycine est une voie métabolique majeure pour les métabolites des polyphénols qui sont ensuite excrétés dans

l'urine, certains préférentiellement par OAT1, d'autres par OAT3, et certains par les deux. L'étude suggère qu'OATP1B1 contribuerait également à leur excrétion au niveau hépatique, ce qui est à rapprocher de l'effet inhibiteur des toxines urémiques bien décrit sur l'excrétion hépatique de médicaments *in vivo* et la diminution correspondante de leur clairance [198]. Dans cette étude, trois des toxines urémiques identifiées (acide kynurénique, acide indole-3-acétique et sulfate d'indoxyle) inhibaient de manière significative le transport du MTX médié par OATP1B1.

Ces résultats renforcent l'idée selon laquelle les métabolites endogènes sont capables de communiquer entre différents organes, contribuant ainsi à un réseau adaptatif dont la fonction est de maintenir ou de restaurer l'homéostasie. Cette observation pourrait expliquer des cas de surexposition sévère au MTX observés en l'absence de cause identifiée, qui dépendraient de facteurs environnementaux ou nutritionnels non identifiés. Ainsi, des nutriments particuliers ou autres molécules endo- ou exogènes pourraient interférer avec les transporteurs, soit sous leur forme naturelle, soit après bioactivation dans le côlon et contribuer aux modifications de clairance. Les patients porteurs d'un allèle variant de *SLCO1B1* pourraient ainsi être plus enclins à accumuler de tels métabolites, ce qui viendrait à leur tour inhiber de manière compétitive les OAT. Le profil métabolomique urinaire, s'il n'identifie pas le ou les molécules interférentes, permet toutefois d'en évaluer les effets résultants dans l'organisme et d'offrir à l'instant T une mesure des capacités d'excrétion rénale globales du patient. Cette approche métabolomique semble particulièrement intéressante pour avancer dans la compréhension de la variabilité inter- mais surtout intra-individuelle de la pharmacocinétique du MTX mais aucune nouvelle étude n'a été menée dans ce domaine depuis ces résultats initiaux.

La combinaison d'approches métabolomique et pharmacogénétique a toutefois été appliquée aux traitements par HD-MTX par plusieurs auteurs, mais dans une perspective de prédiction et/ou suivi de ses effets.

- Une première étude s'est intéressée aux caractéristiques individuelles impliquées dans la réponse au traitement chez des enfants traités par HD-MTX. Des échantillons de plasma ont été prélevés à jeun sur des enfants à deux moments (1) la veille du traitement par HD-MTX et (2) après la fin du traitement, soit 3 jours après la fin de la chimiothérapie. Une sélection aléatoire de 27 enfants a été effectuée pour l'analyse métabolomique. Celle-ci a révélé que les patients hétérozygotes et homozygotes mutés pour l'allèle 677C>T de MTHFR avaient un risque significativement accru de clairance diminuée du MTX et une augmentation significative du

taux sérique de L-phénylalanine après traitement. Ce qui signifie que la L-phénylalanine pouvait potentiellement servir de marqueur prédictif des effets du polymorphisme 677C>T de MTHFR [199].

- Une seconde a étudié les facteurs pronostiques chez des patients porteurs d'un lymphome primitif du système nerveux central (PCNSL) traité par HD-MTX. Les auteurs [200] ont appliqué une approche métabolomique ciblée dans une étude de cohorte prospective incluant un groupe de « découverte » et un groupe de « validation ». Six métabolites (acide déhydroascorbique, AMP, acide 2-isopropylmalique, cholestérol, p-hydroxybenzoate et acide 4-pyridoxique), mesurés dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) avant le début du traitement, ont pu être intégrés dans un modèle de régression logique pour discriminer les patients avec une durée de survie relativement bonne dans la cohorte de découverte (48 patients). Ce modèle, appliqué à la cohorte de validation (33 patients) a donné des résultats satisfaisants (AUC = 0,745). Un tel modèle, à même de prédire le pronostic des patients PCNSL avant les traitements de chimiothérapie à base de HD-MTX, présente également un potentiel d'application future pour orienter la recherche mécanistique dans les PCNSL. Ainsi, il est intéressant de noter que parmi les métabolites modifiés dans le LCR, l'acide 4-pyridoxique, renvoie à une corrélation précédemment montrée entre un risque réduit de lymphome non hodgkinien (LNH) et des apports alimentaires plus élevés en vitamine B6 et en méthionine [200].

DISCUSSION GÉNÉRALE

La médecine personnalisée vise à administrer un traitement médicamenteux « sur mesure », prenant en compte les variations inter et intra individuelles de réponse aux médicaments pour traiter les patients efficacement et en toute sécurité.

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés au MTX, médicament qui constitue un excellent modèle de ce qu'il reste à faire dans ce domaine. En effet, sa toxicité dépend étroitement de son niveau d'exposition et les facteurs impliqués dans sa pharmacocinétique ont été très largement étudiés et semblent bien intégrés à la pratique. Or, des accidents surviennent encore trop souvent. Ce médicament est également un excellent modèle dans la mesure où l'origine rénale des surexpositions ne fait quasiment aucun doute. On peut donc focaliser sur ce processus pour tenter d'appliquer les principes de base de la pharmaco-métabolomique, tels qu'ils ont été précisés dans une revue en 2017 [201]. Puisque les transporteurs tubulaires constituent une étape limitante dans la pharmacocinétique de nombreux médicaments, la découverte de biomarqueurs endogènes représentatifs de leur fonction aurait d'importantes applications pratiques en pharmacologie.

Les travaux les plus récents sur le MTX ont porté sur les facteurs génétiques associés à la variabilité de son élimination. Cependant, on a également constaté qu'il existe une variabilité significative de sa pharmacocinétique, en cours de perfusion d'une part, et d'une cure à l'autre chez un même patient d'autre part, ce qui signifie que des facteurs environnementaux sont essentiels [157]. L'auto-inhibition de la sécrétion du MTX dépendante de MRP2 est une explication plausible de la pharmacocinétique temps-dépendante de ce médicament [202], tout comme peut l'être la sensibilité particulière d'un sujet à une interaction médicamenteuse en fonction de son statut génétique [203].

Prévenir les surexpositions au MTX revient à prédire la façon dont il va être éliminé chez le patient auquel on l'administre, au moment où on lui administre. Ainsi, soit on connaît et on peut mesurer tous les facteurs qui concourent à son élimination, ce qui n'est aujourd'hui pas le cas, soit on utilise un critère intermédiaire, en l'occurrence un biomarqueur de son élimination. Dans cette idée, l'administration d'une dose-test a été proposée pour évaluer la clairance du MTX avant une cure mais cette méthode n'est pas applicable en routine. La métabolomique offre la possibilité d'utiliser des biomarqueurs endogènes pour prédire la pharmacocinétique et

comprendre les modifications physio-pathologiques sous-jacentes. Cette approche est actuellement en plein essor en pharmacologie [204] [205] [206] [207] [208] [209]. La revue présentée par cette thèse montre que des métabolites endogènes pourraient répondre à l'objectif de prédiction de clairance. Néanmoins, pour une application en routine de ce type d'approches, il faudrait que l'analyse permette d'identifier quelques métabolites particulièrement discriminants, qui pourront secondairement faire l'objet d'une évaluation individuelle et de la mise au point d'un test applicable en routine.

Le rôle des transporteurs en pharmacologie est aujourd'hui admis et fait l'objet de nombreuses études. Cependant, il n'existe pas beaucoup d'outil permettant d'évaluer leur contribution effective à l'élimination des médicaments *in vivo*. La mesure de substances endogènes comme biomarqueurs phénotypiques des processus d'élimination des médicaments est déjà exploitée pour les enzymes du métabolisme (rapport uracile/dihydrouracile et activité de la dihydropyrimidine déshydrogénase ; 6- β -hydroxycortisol/cortisol et activité du CYP3A4, test au dextrométhorphan et activité du CYP2D6, etc) et bien sûr pour l'élimination rénale (créatininémie et débit de filtration glomérulaire). En revanche, les travaux évaluant des biomarqueurs de fonction des processus de sécrétion tubulaire sont parcellaires alors même que cette étape est limitante pour de nombreux médicaments comme l'attestent les études pharmacocinétiques chez des animaux invalidés pour un transporteur ou, chez l'homme, les interactions médicamenteuses sévères impliquant les OAT et les OCT et probablement aussi les transporteurs d'efflux. La pertinence de s'intéresser à ce processus est d'ailleurs attestée par les recommandations des autorités de santé (« *guidance for industry* » de la FDA ou de l'EMA,..) qui rendent obligatoires les études d'interaction impliquant les transporteurs, reconnaissant ainsi leur rôle majeur dans la variabilité de réponse aux médicaments. Quelques travaux récents ont porté sur l'étude de métabolites endogènes comme biomarqueurs d'interactions médicamenteuses impliquant les transporteurs chez l'homme. Ainsi, Imamura et al. ont montré que le 6- β -hydroxycortisol s'accumulait dans le plasma de volontaires sains recevant du probenecide (inhibiteur de OAT1/3), proposant ce métabolite comme biomarqueur d'interactions impliquant OAT3 [210]. L'analyse des urines est particulièrement adaptée à la recherche de biomarqueurs d'élimination rénale des médicaments car elles contiennent des substances provenant des processus de filtration, réabsorption et sécrétion tubulaire. En théorie, le plasma est également utilisable puisque la concentration des métabolites est inversement liée à leur élimination, mais explore davantage l'élimination globale, liée au métabolisme et à l'ensemble des voies d'élimination. L'approche métabolomique, ciblée ou non ciblée, est

intéressante si on ne fait aucune hypothèse a priori sur les voies qui gouvernent l'élimination d'un médicament. Ainsi, quelques études pharmaco-métabolomiques ont analysé le lien entre des métabolites endogènes et la pharmacocinétique de médicaments, montrant que des profils métabolomiques plasmatiques étaient associés à l'exposition au tacrolimus [179] et à l'atorvastatine [180]. L'approche a également été utilisée pour rechercher des biomarqueurs phénotypiques de voies enzymatiques particulières. Des métabolites urinaires endogènes étaient ainsi associés au ratio 3-OH-quinidine/quinidine, marqueur de l'induction enzymatique du CYP3A4 [183] ou de la clairance du midazolam, dépendante de cette même enzyme [184]. Cependant, contrairement aux espoirs fondés sur la « biologie des systèmes », ces études n'ont pas permis à ce jour de mettre en évidence des métabolites traduisant l'implication de voies biochimiques particulières pouvant informer sur les processus précis impliqués dans la pharmacocinétique des médicaments étudiés.

Contrairement à ces études, Le Guellec et al. ont utilisé une approche ciblée sur les acides organiques, dans le but de définir l'implication des voies de transport tubulaire actif dans l'élimination du MTX. Au niveau rénal, le MTX emprunte les transporteurs d'influx OAT1 et 3, tandis que l'efflux apical fait intervenir MRP2 et MRP4. Théoriquement, un set de métabolites qui serait prédictif de l'élimination du MTX devrait donc inclure des substrats endogènes éliminés dans l'urine par l'action coordonnée de ces mêmes transporteurs [181]. Comme nous l'avons discuté, les substrats endogènes de MRP2 ont été peu étudiés, hormis les glucuronoconjugués de phyto-œstrogènes [211]. A ce jour, la preuve expérimentale que MRP2 transporte bien *in vivo* des petits anions organiques n'a pas été faite. En revanche, de très nombreuses études *in vitro* ou chez l'animal KO confirment que les médicaments (substrats exogènes) qui sont substrats des OAT1/3 le sont aussi des MRP2/4. En se basant sur ces études, on peut déduire que les substrats endogènes des OAT1 et/ou OAT3 sont très probablement aussi substrats de MRP2 et/ou 4. Les travaux de Le Guellec et son équipe portant sur l'analyse des substrats endogènes associés à la variabilité de clairance du MTX ont permis de retrouver certains des métabolites déjà connus pour être substrats des OAT1/3. De même, dans l'étude comparant les profils d'excrétion en fonction du génotype d'*ABCC2*, les métabolites discriminants étaient eux aussi connus pour être substrats (ou structurellement apparentés) de OAT1/3 ou de MRP2. Il est intéressant de noter que les substrats endogènes des OATs comprennent de nombreux métabolites régulant des voies biochimiques majeures (α -cétoglutarate, acide urique, métabolites issus du microbiote...) et des molécules de signalisation (nucléotides cycliques, prostaglandines, stéroïdes conjugués...). Des observations similaires

avaient conduit à la naissance du concept de « *Remote sensing and signaling hypothesis* » [196] qui postule que les transporteurs membranaires ont un rôle majeur dans la régulation de l'homéostasie globale de l'organisme en orchestrant l'équilibre entre les divers organes sensibles à ces substances. De même, les résultats présentés dans cette thèse confortent dans l'idée que les biomarqueurs phénotypiques sont les outils intéressants pour l'étude des processus d'élimination des médicaments, tant sur un plan pratique que cognitif. Néanmoins, le chemin restant à parcourir pour leur application clinique est encore long. En effet, nous considérons les travaux menés par cette équipe comme une preuve de concept qui nécessite impérativement une réplique et une validation indépendante dans un autre groupe de patients. Il est probable que ces études donneront d'ailleurs des résultats en partie différents du fait de l'influence des facteurs environnementaux sur le métabolome. L'idéal serait que, au sein de différentes études, puisse émerger un (des) métabolite(s) commun(s), sa (leur) présence systématique signant sa (leur) robustesse diagnostique. Alors, il sera nécessaire de développer un test analytique simple, applicable à la routine, et qui pourra être utilisé pour mesurer le biomarqueur en vue de son application clinique.

L'approche métabolomique présente cependant quelques limites :

- 1- En métabolomique, il est possible d'adopter des approches non-ciblées reposant sur une analyse sans *a priori* de très nombreuses substances, identifiées chimiquement ou non, pour identifier des biomarqueurs. Compte tenu de la complexité du métabolome, l'analyse non ciblée nécessite, si l'on veut qu'elle soit très large, une combinaison de plusieurs plateformes analytiques. Cette stratégie peut induire un biais dans l'analyse selon le type et le nombre de méthodes analytiques utilisées. Les méthodes ciblées (mono-plateforme analytique) peuvent être, en fin de compte, une stratégie moins biaisée que les méthodes non ciblées (multi- plateformes). Une autre difficulté rencontrée au cours de l'analyse non-ciblée concerne l'identification des métabolites d'intérêt. Ainsi, certains métabolites sont difficiles à identifier et ne sont définis que par leur m/z et leur temps de rétention (pour les méthodes chromatographiques) ou par leur déplacement chimique (δ) et la multiplicité et l'intensité du signal (en RMN), rendant toute interprétation biochimique impossible.
- 2- La normalisation des données constitue un défi majeur dans les approches métabolomique quantitative, qu'elles soient ciblées ou non. Sans une normalisation appropriée, les données de spectrométrie de masse et de spectroscopie peuvent fournir

des données erronées et sous-optimales, ce qui peut conduire à des résultats biologiques trompeurs et déroutants et ainsi entraîner un échec d'application aux soins de santé humains, aux recherches cliniques et autres. Pour résoudre ce problème, un certain nombre d'approches statistiques et d'outils logiciels ont été proposés dans la littérature et mis en œuvre au fil des années [212].

- 3- Récemment, il a été reconnu que le microbiome intestinal humain pouvait contribuer à des variations dans la réponse au traitement médicamenteux, par exemple par la synthèse bactérienne de métabolites uniques provenant de médicaments administrés ou de leurs métabolites. Dans une étude sur le paracétamol, Clayton et al. ont démontré que la formation de p-crésol par le microbiome intestinal entraîne une interaction compétitive pour la sulfatation systémique du paracétamol, provoquant une diminution de la sulfatation relative du médicament [213]. Étant donné que la fenêtre thérapeutique du paracétamol est large, cette découverte n'est peut-être pas très pertinente pour ce médicament spécifique, mais elle peut avoir des implications importantes pour d'autres médicaments qui ont une fenêtre thérapeutique étroite et de grandes différences interindividuelles dans leur métabolisme. La pharmacométabolomique peut aider à prédire la pharmacodynamique et, à terme, le résultat du traitement clinique. Comme la (patho)physiologie change au cours de la maladie et de la pharmacothérapie, il est important de ne pas considérer les métabolites endogènes comme des variables statiques isolées. L'influence de la dose du médicament et des changements temporels dans les concentrations du médicament et les interactions entre les métabolites devraient également faire partie de ces études avant que les métabolites endogènes puissent être pris en compte pour éclairer la sélection du médicament ou la sélection de la dose du médicament chez les patients. Par conséquent, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique doivent être incluses dans les études de pharmacométabolomique, alors qu'actuellement, la pharmacocinétique n'est souvent pas prise en compte dans de nombreuses études de pharmacométabolomique [213].

Perspectives :

- 1- Transférer la pharmacométabolomique d'un aspect théorique à la pratique clinique

Une recherche intense sur les approches « -omics », consacrées à la santé humaine, a conduit au développement de la pharmacométabolomique, qui constitue un nouvel horizon en médecine

personnalisée. De nombreuses données de recherche sur la métabolomique, la génomique et la transcriptomique peuvent être combinées et comparées aux dossiers de santé du monde entier grâce à de puissantes bases de données et biobanques collectant des données et des échantillons. De nos jours, des logiciels et des systèmes informatiques dotés d'algorithmes sophistiqués d'intelligence artificielle permettent des analyses plus approfondies des données pharmacométabolomiques et transforment la médecine générale en une approche personnalisée. Les techniques analytiques, les bases de données et les biobanques constituent des tendances générales qui doivent être développées davantage. La sensibilité des plateformes analytiques doit être améliorée, et des améliorations supplémentaires liées au temps et aux coûts globaux doivent être apportées. Une attention particulière doit être portée à la standardisation des protocoles d'études. Le nombre de données et d'échantillons déposés dans les bases de données et les biobanques doivent être étendus.

Jusqu'à présent, les efforts majeurs en pharmacométabolomique se sont concentrés sur les aspects de recherche et de validation de méthodes pour des applications médicales. Les résultats présentés récemment montrent sans aucun doute que la pharmacométabolomique est essentielle à la médecine personnalisée et doit être transférée « du laboratoire aux hôpitaux ». Néanmoins, le personnel médical ne peut s'approprier la pharmacométabolomique que si les données sont présentées de manière simple et complète. À l'avenir, des efforts supplémentaires seront nécessaires pour accroître la sensibilisation à la pharmacométabolomique parmi les patients et le personnel du système de santé, et pour introduire les avantages de la pharmacométabolomique dans la pratique clinique.

2- Les biobanques et leur impact sur les études de médecine personnalisée

Au cours de la dernière décennie, plusieurs biobanques de grande capacité ont été créées pour servir d'outils de recherche de base et d'études cliniques utilisés par les institutions scientifiques et les cliniques englobant un nombre élevé (c'est-à-dire des millions) d'échantillons nécessaires à la recherche médicale. En outre, la normalisation des conditions de collecte et de stockage des échantillons contribuera à réduire les biais de collecte d'échantillons et à surmonter les limites imposées par les variations entre les différentes études, protocoles et pratiques. Les biobanques collectent généralement également des données pertinentes, telles que des informations sur le génome entier, le génotype, l'emplacement géographique, les préférences alimentaires, la protéomique et l'imagerie médicale. En plus des registres nationaux, l'incorporation de dossiers de santé électroniques (DSE) existants devient de plus en plus courante, rendant les grands

ensembles de données de biobanques plus applicables à un plus grand nombre d'utilisateurs. La disponibilité de ces informations supplémentaires, combinée à la collecte de plusieurs échantillons sur des périodes plus longues auprès du même individu, facilite une meilleure interprétation des données expérimentales et permet de contrôler d'éventuels facteurs de confusion. La création de biobanques nationales et internationales à grande échelle constitue donc une étape essentielle et une ressource précieuse pour les praticiens cliniques et dans l'élaboration de politiques de santé publique, en plus d'être cruciale pour le développement de traitements personnalisés. Ces mégabanques ont la capacité de stocker des échantillons provenant d'une même personne pendant de nombreuses années, qui pourront à l'avenir être collectés dès l'enfance et suivis par la collecte périodique de nouveaux échantillons tout au long de la vie.

Les biobanques représentant une ressource majeure dans les études mondiales à grande échelle, nous pensons que l'impact des approches métabolomique deviendra de plus en plus important dans les futures recherches médicales et de santé publique [104].

3- Analyses chimiques plus avancée révélant une signature métabolique beaucoup plus complète :

Nous prévoyons que l'étroite gamme d'analyses chimiques actuellement utilisées par la communauté médicale sera remplacée à l'avenir par des analyses qui révèlent une signature métabolique beaucoup plus complète, censée décrire les altérations biochimiques globales. Ces signatures métaboliques pourront devenir des biomarqueurs pour les phénotypes de réponse médicamenteuse, fournissant un moyen de prédiction de la variation de réponse d'un sujet au traitement (pharmacométabolomique) et définissant un métabotype pour chaque génotype spécifique. La communauté de métabolomique croit que l'inclusion des données métabolomiques dans les initiatives de médecine de précision fournira de précieuses données qui compléteront celles obtenues par d'autres approches [214]. De telles études de phénotypage métabolique sont en mesure de fournir de nouveaux aperçus sur la pathophysiologie des maladies et les mécanismes qui sous-tendent les différences dans les réponses aux médicaments dans la population humaine, contribuant à prédire à la fois le risque de toxicité et les réponses bénéfiques au traitement médicamenteux [215] [216].

Conclusion

La génétique humaine et les variations du mode de vie influencent directement les traitements pharmacologiques, dont l'effet peut être amélioré positivement ou négativement chez certains individus par rapport à la population statistique utilisée dans les essais cliniques [104].

De nombreux articles ont décrit la pharmacométabolomique comme un outil innovant capable d'aider les chercheurs et le personnel médical de première ligne à établir des stratégies thérapeutiques personnalisées. La pharmacométabolomique peut être utilisée pour personnaliser le type de traitement, la posologie, la durée et pour surveiller les profils des métabolites pendant la pharmacothérapie. Les bases de données existantes « -omics » et de dossiers de santé, ainsi que les biobanques d'échantillons de fluides et de tissus humains, constituent une ressource précieuse pour la pharmacométabolomique, qui identifie les biomarqueurs des effets thérapeutiques au cours de l'évolution d'une maladie. Les bases de données métabolomique augmentent chaque jour leur base de données et sont inestimables pour les chercheurs combinant les connaissances « -omiques » pour une pharmacothérapie meilleure et personnalisée.

En conclusion, la pharmacométabolomique est très prometteuse pour prédire la pharmacocinétique et la pharmacodynamique, et si nous parvenons à intégrer les découvertes dans ce domaine dans la pratique clinique, nous serons en mesure de tendre vers une individualisation effective des traitements.

ANNEXE

Annexe 1 :Avantages et inconvénients des techniques analytiques couramment utilisées dans les études de métabolomique .

Techniques	Avantages	Inconvénients
GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Puissance de résolution élevée et haute précision ❖ Temps de rétention reproductible ❖ Applicable aux composés volatils et semi-volatils (par dérivation) ❖ Coût relativement bas ❖ Bases de données exhaustives ❖ 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ La volatilité peut être une restriction ❖ Les composés sensibles à la chaleur ne peuvent généralement pas être analysés ❖ La dérivation peut compliquer la préparation et l'identification des échantillons
LC-MS	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Puissance de résolution élevée et haute précision, grande sensibilité et spécificité ❖ La préparation des échantillons est moins compliquée par rapport au GC-MS ❖ Applicable aux mélanges complexes, polaires et non polaires 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Les informations structurales sont limitées ❖ Effets de matrice ❖ Formation d'adduits multiples
RMN	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Robuste et hautement reproductible ❖ Fournit des informations structurales très spécifiques ❖ Non destructif (les échantillons peuvent être récupérés) ❖ Préparation facile des échantillons ❖ Très quantitatif 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Très cher ❖ L'interprétation spectrale prend beaucoup de temps ❖ Faible sensibilité (de l'ordre de micro molaire) par rapport à la MS (de l'ordre de pico molaire)

BIBLIOGRAPHIE:

- [1] J. C. Drake, C. J. Allegra, J. Baram, B. T. Kaufman, and B. A. Chabner, "Effects on dihydrofolate reductase of methotrexate metabolites and intracellular folates formed following methotrexate exposure of human breast cancer cells," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 36, no. 14, pp. 2416–2418, Jul. 1987.
- [2] D. S. Goodsell, "The molecular perspective: methotrexate," *The Oncologist*, vol. 4, no. 4, pp. 340–341, 1999.
- [3] P. R. Rajagopalan, Z. Zhang, L. McCourt, M. Dwyer, S. J. Benkovic, and G. G. Hammes, "Interaction of dihydrofolate reductase with methotrexate: ensemble and single-molecule kinetics," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 99, no. 21, pp. 13481–13486, 2002.
- [4] M. C. Waltham, J. W. Holland, S. C. Robinson, D. J. Winzor, and P. F. Nixon, "Direct experimental evidence for competitive inhibition of dihydrofolate reductase by methotrexate," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 37, no. 3, pp. 535–539, Feb. 1988.
- [5] L. Holmboe, A. M. Andersen, L. Mørkrid, L. Slørdal, and K. S. Hall, "High dose methotrexate chemotherapy: pharmacokinetics, folate and toxicity in osteosarcoma patients: High dose methotrexate toxicity in osteosarcoma patients," *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 73, no. 1, pp. 106–114, Jan. 2012, doi: 10.1111/j.1365-2125.2011.04054.x.
- [6] M. M. Zarou, A. Vazquez, and G. Vignir Helgason, "Folate metabolism: a re-emerging therapeutic target in haematological cancers," *Leukemia*, vol. 35, no. 6, pp. 1539–1551, Jun. 2021, doi: 10.1038/s41375-021-01189-2.
- [7] J. Jolivet, K. H. Cowan, G. A. Curt, N. J. Clendeninn, and B. A. Chabner, "The pharmacology and clinical use of methotrexate," *N. Engl. J. Med.*, vol. 309, no. 18, pp. 1094–1104, Nov. 1983, doi: 10.1056/NEJM198311033091805.
- [8] A. Reggev and I. Djerassi, "The safety of administration of massive doses of methotrexate (50 g) with equimolar citrovorum factor rescue in adult patients," *Cancer*, vol. 61, no. 12, pp. 2423–2428, Jun. 1988.
- [9] S. Reutenauer, D. Chauveau, and C. Récher, "Surdosage au méthotrexate : complications, prise en charge et prévention," *Réanimation*, vol. 18, no. 7, pp. 654–658, Oct. 2009, doi: 10.1016/j.reaurg.2009.06.018.
- [10] M. Joerger *et al.*, "Determinants of the elimination of methotrexate and 7-hydroxy-methotrexate following high-dose infusional therapy to cancer patients," *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 62, no. 1, pp. 71–80, Jul. 2006, doi: 10.1111/j.1365-2125.2005.02513.x.
- [11] R. Erttmann, S. Bielack, and G. Landbeck, "Kinetics of 7-hydroxy-methotrexate after high-dose methotrexate therapy," *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 15, no. 2, pp. 101–104, 1985.
- [12] J. D. Borsi, E. Sagen, I. Romslo, and P. J. Moe, "Comparative study on the pharmacokinetics of 7-hydroxy-methotrexate after administration of methotrexate in the dose range of 0.5–33.6 g/m² to children with acute lymphoblastic leukemia," *Med. Pediatr. Oncol.*, vol. 18, no. 3, pp. 217–224, 1990.
- [13] A. Takeuchi, S. Masuda, H. Saito, T. Doi, and K. Inui, "Role of kidney-specific organic anion transporters in the urinary excretion of methotrexate," *Kidney Int.*, vol. 60, no. 3, pp. 1058–1068, Sep. 2001, doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.0600031058.x.
- [14] A. L. VanWert and D. H. Sweet, "Impaired clearance of methotrexate in organic anion transporter 3 (Slc22a8) knockout mice: a gender specific impact of reduced folates," *Pharm. Res.*, vol. 25, no. 2, pp. 453–462, Feb. 2008, doi: 10.1007/s11095-007-9407-0.
- [15] M. L. H. Vlaming *et al.*, "Abcc2 (Mrp2), Abcc3 (Mrp3), and Abcg2 (Bcrp1) are the main determinants for rapid elimination of methotrexate and its toxic metabolite 7-hydroxymethotrexate in vivo," *Mol. Cancer Ther.*, vol. 8, no. 12, pp. 3350–3359, Dec. 2009, doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0668.

- [16] M. L. H. Vlaming *et al.*, “Functionally Overlapping Roles of Abcg2 (Bcrp1) and Abcc2 (Mrp2) in the Elimination of Methotrexate and Its Main Toxic Metabolite 7-Hydroxymethotrexate In vivo,” *Clin. Cancer Res.*, vol. 15, no. 9, pp. 3084–3093, May 2009, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2940.
- [17] M. L. H. Vlaming *et al.*, “Impact of Abcc2 (Mrp2) and Abcc3 (Mrp3) on the in vivo elimination of methotrexate and its main toxic metabolite 7-hydroxymethotrexate,” *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, vol. 14, no. 24, pp. 8152–8160, Dec. 2008, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1609.
- [18] C. Huang *et al.*, “Coadministration of vindesine with high-dose methotrexate therapy increases acute kidney injury via BCRP, MRP2, and OAT1/OAT3,” *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 85, no. 2, pp. 433–441, Feb. 2020, doi: 10.1007/s00280-019-03972-6.
- [19] S. Buchen *et al.*, “Carboxypeptidase G2 rescue in patients with methotrexate intoxication and renal failure,” *Br. J. Cancer*, Jan. 2005, doi: 10.1038/sj.bjc.6602337.
- [20] T. Skärby *et al.*, “High-dose methotrexate: on the relationship of methotrexate elimination time vs renal function and serum methotrexate levels in 1164 courses in 264 Swedish children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL),” *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 51, no. 4, pp. 311–320, Apr. 2003, doi: 10.1007/s00280-002-0552-1.
- [21] Y. Uwai, R. Taniguchi, H. Motohashi, H. Saito, M. Okuda, and K. Inui, “Methotrexate-loxoprofen interaction: involvement of human organic anion transporters hOAT1 and hOAT3,” *Drug Metab. Pharmacokinet.*, vol. 19, no. 5, pp. 369–374, Oct. 2004.
- [22] N. Apiwattanakul *et al.*, “Transport properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by organic anion transporter 1 expressed in *Xenopus laevis* oocytes,” *Mol. Pharmacol.*, vol. 55, no. 5, pp. 847–854, May 1999.
- [23] A. A. K. El-Sheikh, J. J. M. W. van den Heuvel, J. B. Koenderink, and F. G. M. Russel, “Interaction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with multidrug resistance protein (MRP) 2/ABCC2- and MRP4/ABCC4-mediated methotrexate transport,” *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 320, no. 1, pp. 229–235, Jan. 2007, doi: 10.1124/jpet.106.110379.
- [24] K. Yamamoto, Y. Sawada, Y. Matsushita, K. Moriwaki, F. Bessho, and T. Iga, “Delayed elimination of methotrexate associated with piperacillin administration,” *Ann. Pharmacother.*, vol. 31, no. 10, pp. 1261–1262, Oct. 1997.
- [25] K. Suzuki *et al.*, “Co-administration of proton pump inhibitors delays elimination of plasma methotrexate in high-dose methotrexate therapy,” *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 67, no. 1, pp. 44–49, Jan. 2009, doi: 10.1111/j.1365-2125.2008.03303.x.
- [26] C.-A. Liang, Y.-C. Su, S.-J. Lin, and T.-H. Tsai, “Risk factors for acute kidney injury after high-dose methotrexate therapy: a single-center study and narrative review,” *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 79, no. 6, pp. 789–800, Jun. 2023, doi: 10.1007/s00228-023-03491-7.
- [27] A. R. Erdman, “The human organic anion transporter 3 (OAT3; SLC22A8): genetic variation and functional genomics,” *AJP Ren. Physiol.*, vol. 290, no. 4, pp. F905–F912, Nov. 2005, doi: 10.1152/ajprenal.00272.2005.
- [28] L. R. Treviño *et al.*, “Germline genetic variation in an organic anion transporter polypeptide associated with methotrexate pharmacokinetics and clinical effects,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 27, no. 35, pp. 5972–5978, Dec. 2009, doi: 10.1200/JCO.2008.20.4156.
- [29] P. Ranganathan *et al.*, “Methotrexate (MTX) pathway gene polymorphisms and their effects on MTX toxicity in Caucasian and African American patients with rheumatoid arthritis,” *J. Rheumatol.*, vol. 35, no. 4, pp. 572–579, Apr. 2008.
- [30] K. Rungtivasuwan *et al.*, “Influence of ABCC2 and ABCC4 polymorphisms on tenofovir plasma concentrations in Thai HIV-infected patients,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 59, no. 6, pp. 3240–3245, 2015, doi: 10.1128/AAC.04930-14.
- [31] F. A. de Jong *et al.*, “Irinotecan-induced diarrhea: functional significance of the

- polymorphic ABCC2 transporter protein,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 81, no. 1, pp. 42–49, Jan. 2007, doi: 10.1038/sj.clpt.6100019.
- [32] T. Rau, B. Erney, R. Göres, T. Eschenhagen, J. Beck, and T. Langer, “High-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia: impact of ABCC2 polymorphisms on plasma concentrations,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 80, no. 5, pp. 468–476, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.clpt.2006.08.012.
- [33] J. Li and P. Gwilt, “The effect of malignant effusions on methotrexate disposition,” *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 50, no. 5, pp. 373–382, Nov. 2002, doi: 10.1007/s00280-002-0512-9.
- [34] J. L. Pauley, J. C. Panetta, J. Schmidt, N. Kornegay, M. V. Relling, and C.-H. Pui, “Late-onset delayed excretion of methotrexate,” *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 54, no. 2, pp. 146–152, Aug. 2004, doi: 10.1007/s00280-004-0797-y.
- [35] A. J. M. Ferreri *et al.*, “Area under the curve of methotrexate and creatinine clearance are outcome-determining factors in primary CNS lymphomas,” *Br. J. Cancer*, vol. 90, no. 2, pp. 353–358, Jan. 2004, doi: 10.1038/sj.bjc.6601472.
- [36] B. A. Chabner and R. C. Young, “Threshold methotrexate concentration for in vivo inhibition of DNA synthesis in normal and tumorous target tissues,” *J. Clin. Invest.*, vol. 52, no. 8, p. 1804, 1973.
- [37] K. Schmiegelow, “Advances in individual prediction of methotrexate toxicity: a review,” *Br. J. Haematol.*, vol. 146, no. 5, pp. 489–503, Sep. 2009, doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07765.x.
- [38] B. C. Widemann *et al.*, “High-dose methotrexate-induced nephrotoxicity in patients with osteosarcoma,” *Cancer*, vol. 100, no. 10, pp. 2222–2232, May 2004, doi: 10.1002/cncr.20255.
- [39] M. V. Relling *et al.*, “Removal of methotrexate, leucovorin, and their metabolites by combined hemodialysis and hemoperfusion,” *Cancer*, vol. 62, no. 5, pp. 884–888, Sep. 1988.
- [40] E. Bouffet *et al.*, “Charcoal haemoperfusion and methotrexate toxicity,” *The Lancet*, vol. 327, no. 8496, p. 1497, 1986.
- [41] J. Saland, P. Leavey, R. Bash, E. Hansch, G. Arbus, and R. Quigley, “Effective removal of methotrexate by high-flux hemodialysis,” *Pediatr. Nephrol.*, vol. 17, no. 10, pp. 825–829, Oct. 2002, doi: 10.1007/s00467-002-0946-7.
- [42] S. C. Howard, J. McCormick, C.-H. Pui, R. K. Buddington, and R. D. Harvey, “Preventing and Managing Toxicities of High-Dose Methotrexate,” *The Oncologist*, vol. 21, no. 12, pp. 1471–1482, Dec. 2016, doi: 10.1634/theoncologist.2015-0164.
- [43] S. P. Ackland and R. L. Schilsky, “High-dose methotrexate: a critical reappraisal,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 5, no. 12, pp. 2017–2031, Dec. 1987.
- [44] A. Shuper, B. Stark, L. Kornreich, I. J. Cohen, G. Avrahami, and I. Yaniv, “Methotrexate-related neurotoxicity in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia,” *Isr. Med. Assoc. J. IMAJ*, vol. 4, no. 11, pp. 1050–1053, Nov. 2002.
- [45] F. Keime-Guibert, M. Napolitano, and J. Y. Delattre, “Neurological complications of radiotherapy and chemotherapy,” *J. Neurol.*, vol. 245, no. 11, pp. 695–708, Nov. 1998.
- [46] J. Del Pozo, W. Martínez, J. García-Silva, M. Almagro, C. Peña-Penabaz, and E. Fonseca, “Cutaneous ulceration as a sign of methotrexate toxicity,” *Eur. J. Dermatol. EJD*, vol. 11, no. 5, pp. 450–452, Oct. 2001.
- [47] E. Basch *et al.*, “Antiemetics: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 29, no. 31, pp. 4189–4198, Nov. 2011, doi: 10.1200/JCO.2010.34.4614.
- [48] American Society of Clinical Oncology *et al.*, “American Society of Clinical Oncology guideline for antiemetics in oncology: update 2006,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 24, no. 18, pp. 2932–2947, Jun. 2006, doi: 10.1200/JCO.2006.06.9591.

- [49] B. C. Widemann and P. C. Adamson, "Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity," *The oncologist*, vol. 11, no. 6, pp. 694–703, 2006.
- [50] C. Le Guellec, H. Blasco, I. Benz, A. Hulin, and Suivi Thérapeutique Pharmacologique de la Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, "[Therapeutic drug monitoring of methotrexate after its administration in high-dose protocols]," *Thérapie*, vol. 65, no. 3, pp. 163–169, Jun. 2010, doi: 10.2515/therapie/2010016.
- [51] Y. Albushra, "Prevention and Management of High Dose Methotrexate Toxicity," *J. Cancer Sci. Ther.*, vol. 05, no. 03, 2013, doi: 10.4172/1948-5956.1000193.
- [52] W. E. Evans *et al.*, "Clinical pharmacodynamics of high-dose methotrexate in acute lymphocytic leukemia. Identification of a relation between concentration and effect," *N. Engl. J. Med.*, vol. 314, no. 8, pp. 471–477, Feb. 1986, doi: 10.1056/NEJM198602203140803.
- [53] J. H. Goldie, L. A. Price, and K. R. Harrap, "Methotrexate toxicity: correlation with duration of administration, plasma levels, dose and excretion pattern," *Eur. J. Cancer*, vol. 8, no. 4, pp. 409–414, Aug. 1972.
- [54] R. Johnson, R. Newport, R. Kerr, and D. Kerr, "Toxgnostics: predicting and preventing chemotherapy-induced side effects," *Pers. Med.*, vol. 11, no. 7, pp. 683–685, Sep. 2014, doi: 10.2217/pme.14.56.
- [55] T. Bauters, T. Lammens, P. Belin, Y. Benoit, H. Robays, and B. de Moerloose, "Delayed elimination of methotrexate by cola beverages in a pediatric acute lymphoblastic leukemia population," *Leuk. Lymphoma*, vol. 54, no. 5, pp. 1094–1096, May 2013, doi: 10.3109/10428194.2012.737918.
- [56] D. Valik, J. Sterba, V. Bajciová, and R. Demlova, "Severe encephalopathy induced by the first but not the second course of high-dose methotrexate mirrored by plasma homocysteine elevations and preceded by extreme differences in pretreatment plasma folate," *Oncology*, vol. 69, no. 3, pp. 269–272, 2005, doi: 10.1159/000088334.
- [57] J. Sterba, L. Dusek, R. Demlova, and D. Valik, "Pretreatment plasma folate modulates the pharmacodynamic effect of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma: 'folate overrescue' concept revisited," *Clin. Chem.*, vol. 52, no. 4, pp. 692–700, Apr. 2006, doi: 10.1373/clinchem.2005.061150.
- [58] M. H. Torosian, J. L. Mullen, E. E. Miller, K. R. Zinnser, and G. P. Buzby, "Reduction of methotrexate toxicity with improved nutritional status in tumor-bearing animals," *Cancer*, vol. 61, no. 9, pp. 1731–1735, May 1988.
- [59] M. Ansari, G. St-Onge, and M. Krajcinovic, "[Pharmacogenomics of acute lymphoblastic leukemia]," *Médecine Sci. MS*, vol. 23, no. 11, pp. 961–967, Nov. 2007, doi: 10.1051/medsci/20072311961.
- [60] J. M. Campbell, E. Bateman, M. D. Stephenson, J. M. Bowen, D. M. Keefe, and M. D. J. Peters, "Methotrexate-induced toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses," *Cancer Chemother. Pharmacol.*, May 2016, doi: 10.1007/s00280-016-3043-5.
- [61] M. M. Hagleitner *et al.*, "The role of the MTHFR 677C>T polymorphism in methotrexate-induced liver toxicity: a meta-analysis in patients with cancer," *Pharmacogenomics J.*, vol. 14, no. 2, pp. 115–119, Apr. 2014, doi: 10.1038/tpj.2013.19.
- [62] E. Lopez-Lopez, I. Martin-Guerrero, J. Ballesteros, and A. Garcia-Orad, "A systematic review and meta-analysis of MTHFR polymorphisms in methotrexate toxicity prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia," *Pharmacogenomics J.*, vol. 13, no. 6, pp. 498–506, Dec. 2013, doi: 10.1038/tpj.2012.44.
- [63] L. Yang, X. Hu, and L. Xu, "Impact of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms on methotrexate-induced toxicities in acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis," *Tumor Biol.*, vol. 33, no. 5, pp. 1445–1454, Oct. 2012, doi: 10.1007/s13277-012-0395-2.

- [64] J. Gregers *et al.*, “The association of reduced folate carrier 80G>A polymorphism to outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia interacts with chromosome 21 copy number,” *Blood*, vol. 115, no. 23, pp. 4671–4677, Jun. 2010, doi: 10.1182/blood-2010-01-256958.
- [65] W. Li, J. Mo, Z. Yang, Z. Zhao, and S. Mei, “Risk factors associated with high-dose methotrexate induced toxicities,” *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, pp. 1–12, Mar. 2024, doi: 10.1080/17425255.2024.2332366.
- [66] S. Wang, W. Zeng, W. Wu, L. Sun, and D. Yan, “Association between a microRNA binding site polymorphism in SLCO1A2 and the risk of delayed methotrexate elimination in Chinese children with acute lymphoblastic leukemia,” *Leuk. Res.*, vol. 65, pp. 61–66, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.leukres.2018.01.004.
- [67] S.-M. Wang, W.-X. Zeng, W.-S. Wu, L.-L. Sun, and D. Yan, “Association between MTHFR microRNA binding site polymorphisms and methotrexate concentrations in Chinese pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia,” *J. Gene Med.*, vol. 19, no. 11, pp. 353–359, Nov. 2017, doi: 10.1002/jgm.2990.
- [68] M. Zhan *et al.*, “Impact of microRNA polymorphisms on high-dose methotrexate-related hematological toxicities in pediatric acute lymphoblastic leukemia,” *Front. Pediatr.*, vol. 11, p. 1153767, 2023, doi: 10.3389/fped.2023.1153767.
- [69] A. Gutierrez-Camino *et al.*, “Pharmacoeigenetics in childhood acute lymphoblastic leukemia: involvement of miRNA polymorphisms in hepatotoxicity,” *Epigenomics*, vol. 10, no. 4, pp. 409–417, Apr. 2018, doi: 10.2217/epi-2017-0138.
- [70] V. J. Forster, A. McDonnell, R. Theobald, and J. A. McKay, “Effect of methotrexate/vitamin B₁₂ on DNA methylation as a potential factor in leukemia treatment-related neurotoxicity,” *Epigenomics*, vol. 9, no. 9, pp. 1205–1218, Sep. 2017, doi: 10.2217/epi-2016-0165.
- [71] S.-M. Wang, X.-Y. Kong, M. Li, L.-L. Sun, and D. Yan, “Association of GGH Promoter Methylation Levels with Methotrexate Concentrations in Chinese Children with Acute Lymphoblastic Leukemia,” *Pharmacotherapy*, vol. 40, no. 7, pp. 614–622, Jul. 2020, doi: 10.1002/phar.2430.
- [72] J.-S. Hulot *et al.*, “A mutation in the drug transporter gene ABCC2 associated with impaired methotrexate elimination,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 15, no. 5, pp. 277–285, May 2005.
- [73] S. Toh *et al.*, “Genomic Structure of the Canalicular Multispecific Organic Anion–Transporter Gene (MRP2/cMOAT) and Mutations in the ATP-Binding–Cassette Region in Dubin-Johnson Syndrome,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 64, no. 3, pp. 739–746, Mar. 1999, doi: 10.1086/302292.
- [74] I. N. Dubin and F. B. Johnson, “Chronic idiopathic jaundice with unidentified pigment in liver cells; a new clinicopathologic entity with a report of 12 cases,” *Medicine (Baltimore)*, vol. 33, no. 3, pp. 155–197, Sep. 1954.
- [75] M. Frank and M. O. Doss, “Relevance of urinary coproporphyrin isomers in hereditary hyperbilirubinemias,” *Clin. Biochem.*, vol. 22, no. 3, pp. 221–222, Jun. 1989.
- [76] M. Frank, M. Doss, and D. G. de Carvalho, “Diagnostic and pathogenetic implications of urinary coproporphyrin excretion in the Dubin-Johnson syndrome,” *Hepatology*, vol. 37, no. 1, pp. 147–151, Feb. 1990.
- [77] I. Benz-de Bretagne *et al.*, “Urinary Elimination of Coproporphyrins Is Dependent on ABCC2 Polymorphisms and Represents a Potential Biomarker of MRP2 Activity in Humans,” *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2011, pp. 1–9, 2011, doi: 10.1155/2011/498757.
- [78] I. Benz-de Bretagne *et al.*, “Urinary coproporphyrin I/(I + III) ratio as a surrogate for MRP2 or other transporter activities involved in methotrexate clearance: Urinary coproporphyrin I/(I + III) ratio and transporter-mediated MTX clearance,” *Br. J. Clin.*

Pharmacol., vol. 78, no. 2, pp. 329–342, Aug. 2014, doi: 10.1111/bcp.12326.

[79] J. Wang, Y. Zhou, M. Xu, R. Rong, Y. Guo, and T. Zhu, “Urinary metabolomics in monitoring acute tubular injury of renal allografts: a preliminary report,” *Transplant. Proc.*, vol. 43, no. 10, pp. 3738–3742, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.109.

[80] T. F. Mueller, K. Solez, and V. Mas, “Assessment of kidney organ quality and prediction of outcome at time of transplantation,” *Semin. Immunopathol.*, vol. 33, no. 2, pp. 185–199, Mar. 2011, doi: 10.1007/s00281-011-0248-x.

[81] I. Láins *et al.*, “Metabolomics in the study of retinal health and disease,” *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 69, pp. 57–79, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.11.002.

[82] K. Muhrez *et al.*, “Correction: Elucidating time-dependent changes in the urinary metabolome of renal transplant patients by a combined (1)H NMR and GC-MS approach,” *Mol. Biosyst.*, vol. 13, no. 2, p. 432, Jan. 2017, doi: 10.1039/c7mb90005h.

[83] R. S. Funk, R. K. Singh, and M. L. Becker, “Metabolomic Profiling to Identify Molecular Biomarkers of Cellular Response to Methotrexate *In Vitro*,” *Clin. Transl. Sci.*, vol. 13, no. 1, pp. 137–146, Jan. 2020, doi: 10.1111/cts.12694.

[84] J. Sigaux *et al.*, “Analyse métabolomique du globule rouge dans la polyarthrite rhumatoïde récente avant et après traitement par méthotrexate,” *Rev. Rhum.*, vol. 87, pp. A26–A27, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.rhum.2020.10.040.

[85] M. Rachmale, N. Rajput, T. Jadav, A. K. Sahu, R. K. Tekade, and P. Sengupta, “Implication of metabolomics and transporter modulation based strategies to minimize multidrug resistance and enhance site-specific bioavailability: a needful consideration toward modern anticancer drug discovery,” *Drug Metab. Rev.*, vol. 54, no. 2, pp. 101–119, Apr. 2022, doi: 10.1080/03602532.2022.2048007.

[86] X. Wang, Z. Wang, K. Wang, M. Gao, H. Zhang, and X. Xu, “Metabolomics analysis of multidrug resistance in colorectal cancer cell and multidrug resistance reversal effect of verapamil,” *Biomed. Chromatogr.*, vol. 35, no. 2, Feb. 2021, doi: 10.1002/bmc.4976.

[87] J. D. Stewart and H. M. Bolt, “Metabolomics: biomarkers of disease and drug toxicity,” *Arch. Toxicol.*, vol. 85, no. 1, pp. 3–4, Jan. 2011, doi: 10.1007/s00204-010-0635-4.

[88] D. Cochereau and C. Junot, “Apport de la métabolomique à la détection de biomarqueurs prédictifs,” *Oncologie*, vol. 15, no. 9, pp. 461–466, Sep. 2013, doi: 10.1007/s10269-013-2323-5.

[89] D. S. Wishart *et al.*, “HMDB: the Human Metabolome Database,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 35, no. Database issue, pp. D521–526, Jan. 2007, doi: 10.1093/nar/gkl923.

[90] R. B. Herbert, *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1989. Accessed: Oct. 27, 2016. [Online]. Available: <http://public.eblib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=3103751>

[91] E. Holmes, I. D. Wilson, and J. K. Nicholson, “Metabolic Phenotyping in Health and Disease,” *Cell*, vol. 134, no. 5, pp. 714–717, Sep. 2008, doi: 10.1016/j.cell.2008.08.026.

[92] H. Blasco and P. Corcia, “Une nouvelle ‘omique’ : l’approche métabolomique,” *Lett. Neurol. XVIII Février 2014*, p. 5.

[93] D. R. Schmidt, R. Patel, D. G. Kirsch, C. A. Lewis, M. G. Vander Heiden, and J. W. Locasale, “Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology,” *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 71, no. 4, pp. 333–358, Jul. 2021, doi: 10.3322/caac.21670.

[94] C. Pereira Braga and J. Adamec, “Metabolome Analysis,” in *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*, Elsevier, 2019, pp. 463–475. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.20134-9.

[95] “La biologie prédictive : une discipline entre science et science-fiction,” INRAE Institutionnel. Accessed: Sep. 02, 2022. [Online]. Available: <https://www.inrae.fr/actualites/biologie-predictive-discipline-entre-science-science-fiction>

[96] Z. Chen, Z. Li, H. Li, and Y. Jiang, “Metabolomics: a promising diagnostic and

- therapeutic implement for breast cancer,” *OncoTargets Ther.*, vol. Volume 12, pp. 6797–6811, Aug. 2019, doi: 10.2147/OTT.S215628.
- [97] S. C. Gates and C. C. Sweeley, “Quantitative metabolic profiling based on gas chromatography,” *Clin. Chem.*, vol. 24, no. 10, pp. 1663–1673, Oct. 1978.
- [98] M. Yan *et al.*, “Metabolomics profiling of metformin-mediated metabolic reprogramming bypassing AMPK α ,” *Metabolism*, vol. 91, pp. 18–29, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.metabol.2018.11.010.
- [99] JeremyK. Nicholson, PeterJ. Sadler, JohnR. Bales, SandraM. Juul, AndrewF. Macleod, and PeterH. Sonksen, “MONITORING METABOLIC DISEASE BY PROTON NMR OF URINE,” *The Lancet*, vol. 324, no. 8405, pp. 751–752, Sep. 1984, doi: 10.1016/S0140-6736(84)92656-4.
- [100] C. Guijas *et al.*, “METLIN: A Technology Platform for Identifying Knowns and Unknowns,” *Anal. Chem.*, vol. 90, no. 5, pp. 3156–3164, Mar. 2018, doi: 10.1021/acs.analchem.7b04424.
- [101] “History of Metabolomics,” News-Medical.net. Accessed: Sep. 06, 2022. [Online]. Available: <https://www.news-medical.net/life-sciences/History-of-Metabolomics.aspx>
- [102] D. S. Wishart *et al.*, “HMDB: a knowledgebase for the human metabolome,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 37, no. Database, pp. D603–D610, Jan. 2009, doi: 10.1093/nar/gkn810.
- [103] D. S. Wishart *et al.*, “HMDB: the Human Metabolome Database,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 35, no. Database issue, pp. D521–526, Jan. 2007, doi: 10.1093/nar/gkl923.
- [104] A.-H. Emwas *et al.*, “Pharmacometabolomics: A New Horizon in Personalized Medicine,” in *Metabolomics - Methodology and Applications in Medical Sciences and Life Sciences*, X. Zhan, Ed., IntechOpen, 2021. doi: 10.5772/intechopen.98911.
- [105] D. S. Wishart, “Applications of metabolomics in drug discovery and development,” *Drugs RD*, vol. 9, no. 5, pp. 307–322, 2008, doi: 10.2165/00126839-200809050-00002.
- [106] K. Strimbu and J. A. Tavel, “What are biomarkers?,” *Curr. Opin. HIV AIDS*, vol. 5, no. 6, pp. 463–466, Nov. 2010, doi: 10.1097/COH.0b013e32833ed177.
- [107] V. G. De Gruttola *et al.*, “Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials. summary of a National Institutes of Health workshop,” *Control. Clin. Trials*, vol. 22, no. 5, pp. 485–502, Oct. 2001.
- [108] Biomarkers Definitions Working Group., “Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 69, no. 3, pp. 89–95, Mar. 2001, doi: 10.1067/mcp.2001.113989.
- [109] J. A. Timbrell, “Biomarkers in toxicology,” *Toxicology*, vol. 129, no. 1, pp. 1–12, Aug. 1998.
- [110] R. Ramautar, R. Berger, J. van der Greef, and T. Hankemeier, “Human metabolomics: strategies to understand biology,” *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 17, no. 5, pp. 841–846, Oct. 2013, doi: 10.1016/j.cbpa.2013.06.015.
- [111] L. K. Schnackenberg and R. D. Beger, “Metabolomic biomarkers: their role in the critical path,” *Drug Discov. Today Technol.*, vol. 4, no. 1, pp. 13–16, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.ddtec.2007.10.012.
- [112] P. D’Adamo *et al.*, “Metabonomics and population studies: age-related amino acids excretion and inferring networks through the study of urine samples in two Italian isolated populations,” *Amino Acids*, vol. 38, no. 1, pp. 65–73, Jan. 2010, doi: 10.1007/s00726-008-0205-8.
- [113] S. Collino *et al.*, “Reprint of: Musculoskeletal system in the old age and the demand for healthy ageing biomarkers,” *Mech. Ageing Dev.*, vol. 136–137, pp. 94–100, Apr. 2014, doi: 10.1016/j.mad.2014.03.002.
- [114] M. Ruoppolo, E. Scolamiero, M. Caterino, V. Mirisola, F. Franconi, and I. Campesi, “Female and male human babies have distinct blood metabolomic patterns,” *Mol BioSyst*, vol.

- 11, no. 9, pp. 2483–2492, 2015, doi: 10.1039/C5MB00297D.
- [115] A. Scalbert *et al.*, “The food metabolome: a window over dietary exposure,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 99, no. 6, pp. 1286–1308, Jun. 2014, doi: 10.3945/ajcn.113.076133.
- [116] L. Le Moyec, L. Mille-Hamard, M. N. Triba, C. Breuneval, H. Petot, and V. L. Billat, “NMR metabolomics for assessment of exercise effects with mouse biofluids,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 404, no. 2, pp. 593–602, Aug. 2012, doi: 10.1007/s00216-012-6165-6.
- [117] M. Matsumoto *et al.*, “Impact of intestinal microbiota on intestinal luminal metabolome,” *Sci. Rep.*, vol. 2, p. 233, 2012, doi: 10.1038/srep00233.
- [118] A.-H. Emwas *et al.*, “Standardizing the experimental conditions for using urine in NMR-based metabolomic studies with a particular focus on diagnostic studies: a review,” *Metabolomics*, vol. 11, no. 4, pp. 872–894, Aug. 2015, doi: 10.1007/s11306-014-0746-7.
- [119] R. Calvani *et al.*, “Gut microbiome-derived metabolites characterize a peculiar obese urinary metabotype,” *Int. J. Obes.*, vol. 34, no. 6, pp. 1095–1098, Jun. 2010, doi: 10.1038/ijo.2010.44.
- [120] B. Li, X. He, W. Jia, and H. Li, “Novel Applications of Metabolomics in Personalized Medicine: A Mini-Review,” *Molecules*, vol. 22, no. 7, p. 1173, Jul. 2017, doi: 10.3390/molecules22071173.
- [121] W. B. Dunn, D. I. Broadhurst, H. J. Atherton, R. Goodacre, and J. L. Griffin, “Systems level studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 40, no. 1, pp. 387–426, Jan. 2011, doi: 10.1039/b906712b.
- [122] V. Shulaev, “Metabolomics technology and bioinformatics,” *Brief. Bioinform.*, vol. 7, no. 2, pp. 128–139, Jun. 2006, doi: 10.1093/bib/bbl012.
- [123] A. Zhang, H. Sun, P. Wang, Y. Han, and X. Wang, “Modern analytical techniques in metabolomics analysis,” *The Analyst*, vol. 137, no. 2, pp. 293–300, Jan. 2012, doi: 10.1039/c1an15605e.
- [124] S. Collino, F.-P. J. Martin, and S. Rezzi, “Clinical metabolomics paves the way towards future healthcare strategies,” *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 75, no. 3, pp. 619–629, Mar. 2013, doi: 10.1111/j.1365-2125.2012.04216.x.
- [125] Antonelli *et al.*, “Statistical Workflow for Feature Selection in Human Metabolomics Data,” *Metabolites*, vol. 9, no. 7, p. 143, Jul. 2019, doi: 10.3390/metabo9070143.
- [126] D. I. Ellis, W. B. Dunn, J. L. Griffin, J. W. Allwood, and R. Goodacre, “Metabolic fingerprinting as a diagnostic tool,” *Pharmacogenomics*, vol. 8, no. 9, pp. 1243–1266, Sep. 2007, doi: 10.2217/14622416.8.9.1243.
- [127] S. H. Moolenaar, U. F. H. Engelke, and R. A. Wevers, “Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of body fluids in the field of inborn errors of metabolism,” *Ann. Clin. Biochem. Int. J. Lab. Med.*, vol. 40, no. 1, pp. 16–24, Jan. 2003, doi: 10.1258/000456303321016132.
- [128] C. B. Speyer and J. D. Baleja, “Use of nuclear magnetic resonance spectroscopy in diagnosis of inborn errors of metabolism,” *Emerg. Top. Life Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 39–48, May 2021, doi: 10.1042/ETLS20200259.
- [129] K. L. M. Coene *et al.*, “Next-generation metabolic screening: targeted and untargeted metabolomics for the diagnosis of inborn errors of metabolism in individual patients,” *J. Inherit. Metab. Dis.*, vol. 41, no. 3, pp. 337–353, May 2018, doi: 10.1007/s10545-017-0131-6.
- [130] T. Kuhara, “Noninvasive human metabolome analysis for differential diagnosis of inborn errors of metabolism,” *J. Chromatogr. B*, vol. 855, no. 1, pp. 42–50, Aug. 2007, doi: 10.1016/j.jchromb.2007.03.031.
- [131] J. T. Brindle, J. K. Nicholson, P. M. Schofield, D. J. Grainger, and E. Holmes, “Application of chemometrics to ¹H NMR spectroscopic data to investigate a relationship between human serum metabolic profiles and hypertension,” *The Analyst*, vol. 128, no. 1, pp.

32–36, Jan. 2003, doi: 10.1039/b209155k.

[132] W. B. Dunn *et al.*, “Serum metabolomics reveals many novel metabolic markers of heart failure, including pseudouridine and 2-oxoglutarate,” *Metabolomics*, vol. 3, no. 4, pp. 413–426, Nov. 2007, doi: 10.1007/s11306-007-0063-5.

[133] M. Bogdanov *et al.*, “Metabolomic profiling to develop blood biomarkers for Parkinson’s disease,” *Brain J. Neurol.*, vol. 131, no. Pt 2, pp. 389–396, Feb. 2008, doi: 10.1093/brain/awm304.

[134] N. J. Serkova *et al.*, “The metabolites citrate, myo-inositol, and spermine are potential age-independent markers of prostate cancer in human expressed prostatic secretions,” *The Prostate*, vol. 68, no. 6, pp. 620–628, May 2008, doi: 10.1002/pros.20727.

[135] X. Fan, J. Bai, and P. Shen, “Diagnosis of breast cancer using HPLC metabonomics fingerprints coupled with computational methods,” *Conf. Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Conf.*, vol. 2005, pp. 6081–6084, 2005, doi: 10.1109/IEMBS.2005.1615880.

[136] K. Odunsi *et al.*, “Detection of epithelial ovarian cancer using ¹H-NMR-based metabonomics,” *Int. J. Cancer*, vol. 113, no. 5, pp. 782–788, Feb. 2005, doi: 10.1002/ijc.20651.

[137] R. Kaddurah-Daouk, “Metabolic profiling of patients with schizophrenia,” *PLoS Med.*, vol. 3, no. 8, p. e363, Aug. 2006, doi: 10.1371/journal.pmed.0030363.

[138] X. Han, D. M. Holtzman, D. W. McKeel, J. Kelley, and J. C. Morris, “Substantial sulfatide deficiency and ceramide elevation in very early Alzheimer’s disease: potential role in disease pathogenesis,” *J. Neurochem.*, vol. 82, no. 4, pp. 809–818, Aug. 2002, doi: 10.1046/j.1471-4159.2002.00997.x.

[139] J. T. Brindle *et al.*, “Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabonomics,” *Nat. Med.*, vol. 8, no. 12, pp. 1439–1444, Dec. 2002, doi: 10.1038/nm1202-802.

[140] M. His *et al.*, “Prospective analysis of circulating metabolites and breast cancer in EPIC,” *BMC Med.*, vol. 17, no. 1, p. 178, Sep. 2019, doi: 10.1186/s12916-019-1408-4.

[141] K. A. Guertin *et al.*, “Serum biomarkers of habitual coffee consumption may provide insight into the mechanism underlying the association between coffee consumption and colorectal cancer,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 101, no. 5, pp. 1000–1011, May 2015, doi: 10.3945/ajcn.114.096099.

[142] M. C. Playdon *et al.*, “Nutritional metabolomics and breast cancer risk in a prospective study,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 106, no. 2, pp. 637–649, Aug. 2017, doi: 10.3945/ajcn.116.150912.

[143] J. R. Mayers *et al.*, “Elevation of circulating branched-chain amino acids is an early event in human pancreatic adenocarcinoma development,” *Nat. Med.*, vol. 20, no. 10, pp. 1193–1198, Oct. 2014, doi: 10.1038/nm.3686.

[144] J. Hu *et al.*, “Heterogeneity of tumor-induced gene expression changes in the human metabolic network,” *Nat. Biotechnol.*, vol. 31, no. 6, pp. 522–529, Jun. 2013, doi: 10.1038/nbt.2530.

[145] A. Zineddine Boumehira, “Metabolomics approaches for early cancer diagnosis: a review,” *Asian J. Agric. Biol.*, no. Online First, Apr. 2022, doi: 10.35495/ajab.2020.12.566.

[146] S. Ellero-Simatos, S. Claus, and H. Guillou, “La métabolomique : applications médicales,” *Médecine Mal. Métaboliques*, vol. 13, no. 3, pp. 263–267, May 2019, doi: 10.1016/S1957-2557(19)30072-0.

[147] S. Ma *et al.*, “Organization of the Mammalian Metabolome according to Organ Function, Lineage Specialization, and Longevity,” *Cell Metab.*, vol. 22, no. 2, pp. 332–343, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.cmet.2015.07.005.

[148] C. B. Newgard *et al.*, “A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance,” *Cell Metab.*, vol. 9,

- no. 4, pp. 311–326, Apr. 2009, doi: 10.1016/j.cmet.2009.02.002.
- [149] J. Aron-Wisnewsky, C. Lefevre, and L. B. Bindels, “Interactions entre les traitements du diabète et le microbiote intestinal : état des connaissances et perspectives,” *Médecine Mal. Métaboliques*, vol. 16, no. 2, pp. 148–159, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.mmm.2022.01.004.
- [150] C. Chong-Nguyen, H. Duboc, and H. Sokol, “Le microbiote, un nouveau facteur de risque cardiovasculaire ?,” *Presse Médicale*, vol. 46, no. 7–8, pp. 708–713, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.lpm.2017.06.005.
- [151] E. Y. Hsiao *et al.*, “Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders,” *Cell*, vol. 155, no. 7, pp. 1451–1463, Dec. 2013, doi: 10.1016/j.cell.2013.11.024.
- [152] P. Seksik, “Gut microbiota and IBD,” *Gastroentérologie Clin. Biol.*, vol. 34, pp. S44–S51, Sep. 2010, doi: 10.1016/S0399-8320(10)70020-8.
- [153] Z. Wang *et al.*, “Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease,” *Nature*, vol. 472, no. 7341, pp. 57–63, Apr. 2011, doi: 10.1038/nature09922.
- [154] T. Andrew Clayton *et al.*, “Pharmaco-metabonomic phenotyping and personalized drug treatment,” *Nature*, vol. 440, no. 7087, pp. 1073–1077, Apr. 2006, doi: 10.1038/nature04648.
- [155] J. H. Winnike, Z. Li, F. A. Wright, J. M. Macdonald, T. M. O’Connell, and P. B. Watkins, “Use of Pharmaco-Metabonomics for Early Prediction of Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Humans,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 88, no. 1, pp. 45–51, Jul. 2010, doi: 10.1038/clpt.2009.240.
- [156] T. A. Clayton, D. Baker, J. C. Lindon, J. R. Everett, and J. K. Nicholson, “Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 106, no. 34, pp. 14728–14733, Aug. 2009, doi: 10.1073/pnas.0904489106.
- [157] J. R. Everett, “From Metabonomics to Pharmacometabonomics: The Role of Metabolic Profiling in Personalized Medicine,” *Front. Pharmacol.*, vol. 7, Sep. 2016, doi: 10.3389/fphar.2016.00297.
- [158] Y. Ji *et al.*, “Glycine and a Glycine Dehydrogenase (GLDC) SNP as Citalopram/Escitalopram Response Biomarkers in Depression: Pharmacometabolomics-Informed Pharmacogenomics,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 89, no. 1, pp. 97–104, Jan. 2011, doi: 10.1038/clpt.2010.250.
- [159] I.-S. Song *et al.*, “Pharmacogenetics Meets Metabolomics: Discovery of Tryptophan as a New Endogenous OCT2 Substrate Related to Metformin Disposition,” *PLoS ONE*, vol. 7, no. 5, p. e36637, May 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0036637.
- [160] R. Kaddurah-Daouk *et al.*, “Metabolomic mapping of atypical antipsychotic effects in schizophrenia,” *Mol. Psychiatry*, vol. 12, no. 10, pp. 934–945, Oct. 2007, doi: 10.1038/sj.mp.4002000.
- [161] R. Kaddurah-Daouk *et al.*, “Lipidomic analysis of variation in response to simvastatin in the Cholesterol and Pharmacogenetics Study,” *Metabolomics*, vol. 6, no. 2, pp. 191–201, Jun. 2010, doi: 10.1007/s11306-010-0207-x.
- [162] M. Trupp *et al.*, “Metabolomics Reveals Amino Acids Contribute to Variation in Response to Simvastatin Treatment,” *PLoS ONE*, vol. 7, no. 7, p. e38386, Jul. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0038386.
- [163] M. Gupta *et al.*, “TSPAN5, ERICH3 and selective serotonin reuptake inhibitors in major depressive disorder: pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics,” *Mol. Psychiatry*, vol. 21, no. 12, pp. 1717–1725, Dec. 2016, doi: 10.1038/mp.2016.6.
- [164] R. Abo *et al.*, “Merging pharmacometabolomics with pharmacogenomics using ‘1000 Genomes’ single-nucleotide polymorphism imputation: selective serotonin reuptake inhibitor response pharmacogenomics,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 22, no. 4, pp. 247–253, Apr. 2012, doi: 10.1097/FPC.0b013e32835001c9.

- [165] R. Kaddurah-Daouk *et al.*, “Pretreatment metabotype as a predictor of response to sertraline or placebo in depressed outpatients: a proof of concept,” *Transl. Psychiatry*, vol. 1, no. 7, p. e26, Jul. 2011, doi: 10.1038/tp.2011.22.
- [166] H. Zhu *et al.*, “Pharmacometabolomics of Response to Sertraline and to Placebo in Major Depressive Disorder – Possible Role for Methoxyindole Pathway,” *PLoS ONE*, vol. 8, no. 7, p. e68283, Jul. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0068283.
- [167] R. Kaddurah-Daouk *et al.*, “Pharmacometabolomic mapping of early biochemical changes induced by sertraline and placebo,” *Transl. Psychiatry*, vol. 3, no. 1, p. e223, Jan. 2013, doi: 10.1038/tp.2012.142.
- [168] R. Condray *et al.*, “3-Hydroxykynurenine and clinical symptoms in first-episode neuroleptic-naive patients with schizophrenia,” *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, vol. 14, no. 06, pp. 756–767, Jul. 2011, doi: 10.1017/S1461145710001689.
- [169] J. P. Lewis, L. M. Yerges-Armstrong, S. Ellero-Simatos, A. Georgiades, R. Kaddurah-Daouk, and T. Hankemeier, “Integration of Pharmacometabolomic and Pharmacogenomic Approaches Reveals Novel Insights Into Antiplatelet Therapy,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 94, no. 5, pp. 570–573, Oct. 2013, doi: 10.1038/clpt.2013.153.
- [170] L. M. Yerges-Armstrong *et al.*, “Purine pathway implicated in mechanism of resistance to aspirin therapy: pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 94, no. 4, pp. 525–532, Oct. 2013, doi: 10.1038/clpt.2013.119.
- [171] S. Ellero-Simatos *et al.*, “Pharmacometabolomics Reveals That Serotonin Is Implicated in Aspirin Response Variability,” *CPT Pharmacomet. Syst Pharmacol*, vol. 3, no. 7, p. e125, Jul. 2014, doi: 10.1038/psp.2014.22.
- [172] S. R. Kapoor *et al.*, “Metabolic Profiling Predicts Response to Anti-Tumor Necrosis Factor α Therapy in Patients With Rheumatoid Arthritis: Metabolic Profiling Predicts Response to Anti-TNF α Therapy,” *Arthritis Rheum.*, vol. 65, no. 6, pp. 1448–1456, Jun. 2013, doi: 10.1002/art.37921.
- [173] N. Karas-Kuželjčki, A. Šmid, R. Tamm, A. Metspalu, and I. Mlinarič-Raščan, “From pharmacogenetics to pharmacometabolomics: SAM modulates TPMT activity,” *Pharmacogenomics*, vol. 15, no. 11, pp. 1437–1449, Aug. 2014, doi: 10.2217/pgs.14.84.
- [174] M. A. Puskarich *et al.*, “Pharmacometabolomics of L -Carnitine Treatment Response Phenotypes in Patients with Septic Shock,” *Ann. Am. Thorac. Soc.*, vol. 12, no. 1, pp. 46–56, Jan. 2015, doi: 10.1513/AnnalsATS.201409-415OC.
- [175] H. W. Nam *et al.*, “Elevated baseline serum glutamate as a pharmacometabolomic biomarker for acamprosate treatment outcome in alcohol-dependent subjects,” *Transl. Psychiatry*, vol. 5, no. 8, p. e621, Aug. 2015, doi: 10.1038/tp.2015.120.
- [176] D. Rotroff *et al.*, “Pharmacometabolomic Assessments of Atenolol and Hydrochlorothiazide Treatment Reveal Novel Drug Response Phenotypes: Treatment Reveals Novel Drug Response Phenotypes,” *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.*, vol. 4, no. 11, pp. 669–679, Nov. 2015, doi: 10.1002/psp4.12017.
- [177] D. Hao *et al.*, “Temporal characterization of serum metabolite signatures in lung cancer patients undergoing treatment,” *Metabolomics*, vol. 12, no. 3, Mar. 2016, doi: 10.1007/s11306-016-0961-5.
- [178] G. Miolo *et al.*, “Pharmacometabolomics study identifies circulating spermidine and tryptophan as potential biomarkers associated with the complete pathological response to trastuzumab-paclitaxel neoadjuvant therapy in HER-2 positive breast cancer,” *Oncotarget*, Jun. 2016, doi: 10.18632/oncotarget.9489.
- [179] P. B. Phapale *et al.*, “An Integrative Approach for Identifying a Metabolic Phenotype Predictive of Individualized Pharmacokinetics of Tacrolimus,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 87, no. 4, pp. 426–436, Apr. 2010, doi: 10.1038/clpt.2009.296.
- [180] Q. Huang *et al.*, “A Pharmacometabolomic Approach To Predicting Metabolic

- Phenotypes and Pharmacokinetic Parameters of Atorvastatin in Healthy Volunteers,” *J. Proteome Res.*, vol. 14, no. 9, pp. 3970–3981, Sep. 2015, doi: 10.1021/acs.jproteome.5b00440.
- [181] K. Muhrez *et al.*, “Endogenous metabolites that are substrates of organic anion transporter’s (OATs) predict methotrexate clearance,” *Pharmacol. Res.*, May 2016, doi: 10.1016/j.phrs.2016.05.021.
- [182] L. Liu *et al.*, “Prediction of the Pharmacokinetic Parameters of Triptolide in Rats Based on Endogenous Molecules in Pre-Dose Baseline Serum,” *PLoS ONE*, vol. 7, no. 8, p. e43389, Aug. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0043389.
- [183] N. Rahmioglu *et al.*, “Prediction of Variability in CYP3A4 Induction Using a Combined ¹ H NMR Metabonomics and Targeted UPLC–MS Approach,” *J. Proteome Res.*, vol. 10, no. 6, pp. 2807–2816, Jun. 2011, doi: 10.1021/pr200077n.
- [184] K.-H. Shin, M. H. Choi, K. S. Lim, K.-S. Yu, I.-J. Jang, and J.-Y. Cho, “Evaluation of Endogenous Metabolic Markers of Hepatic CYP3A Activity Using Metabolic Profiling and Midazolam Clearance,” *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 94, no. 5, pp. 601–609, Oct. 2013, doi: 10.1038/clpt.2013.128.
- [185] H. C. Keun *et al.*, “Serum Molecular Signatures of Weight Change during Early Breast Cancer Chemotherapy,” *Clin. Cancer Res.*, vol. 15, no. 21, pp. 6716–6723, Nov. 2009, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1452.
- [186] U. Andersson *et al.*, “A systems biology approach to understanding elevated serum alanine transaminase levels in a clinical trial with ximelagatran,” *Biomarkers*, vol. 14, no. 8, pp. 572–586, Dec. 2009, doi: 10.3109/13547500903261354.
- [187] A. Backshall, R. Sharma, S. J. Clarke, and H. C. Keun, “Pharmacometabonomic Profiling as a Predictor of Toxicity in Patients with Inoperable Colorectal Cancer Treated with Capecitabine,” *Clin. Cancer Res.*, vol. 17, no. 9, pp. 3019–3028, May 2011, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2474.
- [188] H. Li *et al.*, “Pharmacometabonomic Phenotyping Reveals Different Responses to Xenobiotic Intervention in Rats,” *J. Proteome Res.*, vol. 6, no. 4, pp. 1364–1370, Apr. 2007, doi: 10.1021/pr060513q.
- [189] H. N. Kwon *et al.*, “Predicting idiopathic toxicity of cisplatin by a pharmacometabonomic approach,” *Kidney Int.*, vol. 79, no. 5, pp. 529–537, Mar. 2011, doi: 10.1038/ki.2010.440.
- [190] K. Cunningham *et al.*, “Pharmacometabonomic Characterization of Xenobiotic and Endogenous Metabolic Phenotypes That Account for Inter-individual Variation in Isoniazid-Induced Toxicological Response,” *J. Proteome Res.*, vol. 11, no. 9, pp. 4630–4642, Sep. 2012, doi: 10.1021/pr300430u.
- [191] M. Coen *et al.*, “Pharmacometabonomic Investigation of Dynamic Metabolic Phenotypes Associated with Variability in Response to Galactosamine Hepatotoxicity,” *J. Proteome Res.*, vol. 11, no. 4, pp. 2427–2440, Apr. 2012, doi: 10.1021/pr201161f.
- [192] D. Dai *et al.*, “A pharmacometabonomic approach using predose serum metabolite profiles reveals differences in lipid metabolism in survival and non-survival rats treated with lipopolysaccharide,” *Metabolomics*, vol. 12, no. 1, Jan. 2016, doi: 10.1007/s11306-015-0892-6.
- [193] Kienana. Muhrez *et al.*, “Single nucleotide polymorphisms of ABCC2 modulate renal secretion of endogenous organic anions,” *Biochem. Pharmacol.*, May 2017, doi: 10.1016/j.bcp.2017.05.012.
- [194] L. W. van der Schoor, H. J. Verkade, F. Kuipers, and J. W. Jonker, “New insights in the biology of ABC transporters ABCC2 and ABCC3: impact on drug disposition,” *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, pp. 1–21, Nov. 2014, doi: 10.1517/17425255.2015.981152.
- [195] S. M. Jandhyala, “Role of the normal gut microbiota,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 21, no. 29, p. 8787, 2015, doi: 10.3748/wjg.v21.i29.8787.

- [196] S.-Y. Ahn and S. K. Nigam, "Toward a systems level understanding of organic anion and other multispecific drug transporters: a remote sensing and signaling hypothesis," *Mol. Pharmacol.*, vol. 76, no. 3, pp. 481–490, Sep. 2009, doi: 10.1124/mol.109.056564.
- [197] D. Martinez *et al.*, "Endogenous metabolites-mediated communication between OAT1/OAT3 and OATP1B1 may explain the association between *SLCO1B1* SNPs and methotrexate toxicity: *SLCO1B1* pharmacogenetic association with MTX toxicity: A role for endogenous metabolites," *Clin. Pharmacol. Ther.*, Dec. 2017, doi: 10.1002/cpt.1008.
- [198] C.-H. Hsueh *et al.*, "Identification and Quantitative Assessment of Uremic Solutes as Inhibitors of Renal Organic Anion Transporters, OAT1 and OAT3," *Mol. Pharm.*, vol. 13, no. 9, pp. 3130–3140, Sep. 2016, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00332.
- [199] Y. Zhou *et al.*, "Effects of gene polymorphisms on delayed MTX clearance, toxicity, and metabolomic changes after HD-MTX treatment in children with acute lymphoblastic leukemia," *Eur. J. Pediatr.*, vol. 183, no. 2, pp. 581–590, Feb. 2024, doi: 10.1007/s00431-023-05267-8.
- [200] L. Zhou *et al.*, "Cerebrospinal fluid metabolic markers predict prognosis behavior of primary central nervous system lymphoma with high-dose methotrexate-based chemotherapeutic treatment," *Neuro-Oncol. Adv.*, vol. 5, no. 1, p. vdac181, 2023, doi: 10.1093/noajnl/vdac181.
- [201] V. Kantae *et al.*, "Integration of pharmacometabolomics with pharmacokinetics and pharmacodynamics: towards personalized drug therapy," *Metabolomics*, vol. 13, no. 1, Jan. 2017, doi: 10.1007/s11306-016-1143-1.
- [202] J.-B. Woillard *et al.*, "A Time-Dependent Model Describes Methotrexate Elimination and Supports Dynamic Modification of MRP2/ABCC2 Activity:," *Ther. Drug Monit.*, vol. 39, no. 2, pp. 145–156, Apr. 2017, doi: 10.1097/FTD.0000000000000381.
- [203] L. Zhu *et al.*, "CYP2C19 Genotype-Dependent Pharmacokinetic Drug Interaction Between Voriconazole and Ritonavir-Boosted Atazanavir in Healthy Subjects," *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 57, no. 2, pp. 235–246, Feb. 2017, doi: 10.1002/jcph.798.
- [204] P. Bernini *et al.*, "Individual Human Phenotypes in Metabolic Space and Time," *J. Proteome Res.*, vol. 8, no. 9, pp. 4264–4271, Sep. 2009, doi: 10.1021/pr900344m.
- [205] A. R. Fernie, R. N. Trethewey, A. J. Krotzky, and L. Willmitzer, "Metabolite profiling: from diagnostics to systems biology," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 5, no. 9, pp. 763–769, 2004, doi: 10.1038/nrm1451.
- [206] L. Guo *et al.*, "Plasma metabolomic profiles enhance precision medicine for volunteers of normal health," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 112, no. 35, pp. E4901–E4910, Sep. 2015, doi: 10.1073/pnas.1508425112.
- [207] L. K. Schnackenberg, "Global metabolic profiling and its role in systems biology to advance personalized medicine in the 21st Century," *Expert Rev. Mol. Diagn.*, vol. 7, no. 3, pp. 247–259, May 2007, doi: 10.1586/14737159.7.3.247.
- [208] K. Suhre *et al.*, "Human metabolic individuality in biomedical and pharmaceutical research," *Nature*, vol. 477, no. 7362, pp. 54–60, Aug. 2011, doi: 10.1038/nature10354.
- [209] J. van der Greef, T. Hankemeier, and R. N. McBurney, "Metabolomics-based systems biology and personalized medicine: moving towards n = 1 clinical trials?," *Pharmacogenomics*, vol. 7, no. 7, pp. 1087–1094, Oct. 2006, doi: 10.2217/14622416.7.7.1087.
- [210] Y. Imamura *et al.*, "6 β -Hydroxycortisol is an endogenous probe for evaluation of drug-drug interactions involving a multispecific renal organic anion transporter, OAT3/SLC22A8, in healthy subjects," *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.*, vol. 42, no. 4, pp. 685–694, Apr. 2014, doi: 10.1124/dmd.113.055475.
- [211] P. Krumpochova *et al.*, "Transportomics: screening for substrates of ABC transporters in body fluids using vesicular transport assays," *FASEB J.*, vol. 26, no. 2, pp. 738–747, Feb. 2012, doi: 10.1096/fj.11-195743.

- [212] B. B. Misra, "Data normalization strategies in metabolomics: Current challenges, approaches, and tools," *Eur. J. Mass Spectrom.*, vol. 26, no. 3, pp. 165–174, Jun. 2020, doi: 10.1177/1469066720918446.
- [213] T. A. Clayton, D. Baker, J. C. Lindon, J. R. Everett, and J. K. Nicholson, "Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 106, no. 34, pp. 14728–14733, Aug. 2009, doi: 10.1073/pnas.0904489106.
- [214] R. D. Beger *et al.*, "Metabolomics enables precision medicine: 'A White Paper, Community Perspective,'" *Metabolomics Off. J. Metabolomic Soc.*, vol. 12, no. 10, p. 149, 2016, doi: 10.1007/s11306-016-1094-6.
- [215] J. R. Everett, "Pharmacometabonomics in humans: a new tool for personalized medicine," *Pharmacogenomics*, vol. 16, no. 7, pp. 737–754, May 2015, doi: 10.2217/pgs.15.20.
- [216] J. K. Nicholson, J. R. Everett, and J. C. Lindon, "Longitudinal pharmacometabonomics for predicting patient responses to therapy: drug metabolism, toxicity and efficacy," *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, vol. 8, no. 2, pp. 135–139, Feb. 2012, doi: 10.1517/17425255.2012.646987.

Université de Lille
UFR3S-Pharmacie
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2023/2024

Nom : MUHREZ
Prénom : Kienana

Titre de la thèse :

Le métabolome permet-il d'identifier des biomarqueurs visant à optimiser l'utilisation des médicaments ? Exemple du méthotrexate

Mots-clés : Biomarqueur, Méthotrexate, Pharmacocinétique PK, Métabolome, Métabolomique, pharmaco- métabolomique

Résumé :

Le méthotrexate (MTX) est un agent anticancéreux utilisé à hautes doses pour le traitement des hémopathies malignes et de certaines tumeurs solides. Il présente une importante variabilité pharmacocinétique (PK), inter et intra-individuelles, qui se manifeste par des surexpositions à l'origine de toxicités très sévères, surtout lors d'une administration à haute dose. A ce jour, il n'existe aucun biomarqueur qui permette un diagnostic précoce du risque de surexposition. Dans ce travail, nous essayons de faire une revue de littérature où l'approche métabolomique a été utilisée pour mieux adapter le traitement par méthotrexate ou prédire la PK pharmacocinétique du méthotrexate.

Membres du jury :

➤ **Président :**

- LIPKA, Emmanuelle, Professeur des Universités, UFR3S- Pharmacie et université de Lille.

➤ **Assesseurs :**

- LENSKI, Marie, Praticien Hospitalo-Universitaire en toxicologie- CHU Lille

➤ **Membre extérieur :**

- BARIN, Chantal, Maître de conférences des universités-praticien hospitalier, Faculté de médecine de Tours
- WILPART, Claire, Pharmacien d'officine, Pharmacie de l'Horloge-Lille.