



Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de
Bamako

Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

N°..... ...CREFPAM/FMOS/USTTB

MEMOIRE

Master en génétique et pathologie moléculaire

ETUDE DU POLYMORPHISME c.1236C>T DU GENE *MDR1* DANS LA POPULATION GENERALE MALIENNE

Année universitaire 2025 - 2026

Présentée et Soutenue publiquement le/...../2026

Par M. Sidi TRAORE

Président : M. Guimogo DOLO, Professeur honoraire

Directeur : M. Yaya KASSOGUE, Maître de conférences

Membre : M. Mamadou KEITA, Pharmacien

Dédicaces :

Je dédie ce travail

À mon défunt père Teneman TRAORE

Vous nous avez préparés à affronter les épreuves de la vie et à nous glorifier par votre appellation « Bâ », qui signifie « le grand », accolée à nos noms, et surtout au mien, en tant que benjamin. Bien que vous soyez parti tôt, j'ai eu assez de vous pour bien étudier. Recevez ce travail comme le fruit de ce que vous m'avez transmis et qu'Allah vous accueille dans son paradis. Amen.

À ma mère Hawa KEITA

Celle qui n'a cessé, à aucun moment, de se battre pour ma réussite. Celle qui m'a tout donné sans condition. Ce jour est le vôtre et ce travail est le fruit de vos sacrifices, chère Maman. Qu'Allah vous garde encore plus longtemps à nos côtés.

À mes frères, sœurs et épouse

Ce travail est le fruit de vos soutiens et accompagnements ; merci à vous tous, et restons soudés et unis.

Au Pr Saibou MAIGA

Vous m'avez accepté dans votre officine, la « Pharmacie du Point G », sans condition pour ma formation et vous m'avez formé, guidé, rassuré et accompagné durant tout mon cycle universitaire ; recevez ce travail, cher maître, comme le témoignage de ma reconnaissance.

Au Pr Sékou BAH

Mon cher Prof, je vous serai toujours reconnaissant pour votre soutien, votre aide et votre accompagnement indéfectibles. Merci et, un jour, je vous rendrai fier.

Dr Sadio Demba SYLLA

Cher guide et idole, Dr Sylla, c'est avec enthousiasme, sympathie et rigueur que vous m'avez accueilli, formé et guidé, surtout sur le chemin de l'étude. Je tiens à vous dédier ce travail pour votre motivation et votre passion intenses pour les études et les formations continues. Merci pour tout.

Remerciements :

À ALLAH

Louange à Allah, le Tout-Puissant, le Miséricordieux, celui qui nous a permis de voir ce jour et a rendu possible ce travail.

À notre cher maître et président, Pr Guimogo DOLO

Nous ne trouverions aucun mot qualifié pour témoigner de notre reconnaissance ; vous êtes une référence, un baobab, une bibliothèque vivante dont nous voulons toujours nous inspirer davantage. Veuillez recevoir, cher Professeur, notre sincère gratitude, et longue vie à vous.

À notre cher maître et directeur, Pr Yaya KASSOGUE

Cher maître, votre calme, votre rigueur, vos encouragements et votre soutien indéfectible nous ont vraiment touchés. Merci d'avoir été là à chaque moment où le besoin se présentait. Vous êtes une idole et nous sommes fiers d'être parmi vos disciples.

À notre cher maître et rapporteur, Dr Mamadou KEITA

Merci à vous, cher maître, pour vos enseignements de qualité et votre rigueur dans le travail bien fait. Nous en ferons bon usage. Veuillez accepter notre profonde reconnaissance.

Au service du CREFPAM

Je remercie tout le personnel du CREFPAM et, plus particulièrement, le Pr Diakité, le Pr Cheick, Pr Diallo... Merci pour votre soutien.

À tous mes enseignants

Mes chers maîtres, un grand merci à vous pour vos encouragements, votre accompagnement ainsi que les connaissances transmises.

Aux Programmes de formation des formateurs (PFF)

Merci de m'avoir donné la chance de continuer ma formation en finançant ce master.

À tous mes amis et mes collègues de la pharmacie du Point G

Je tiens à remercier tous ceux qui m'ont soutenu durant ce master. Mention spéciale au Dr Adama, à Mambi, à Yaya, au Dr Oumar...

Aux camarades de la 1^{ère} promotion de master en génétique et pathologie moléculaire

Ce fut un bon moment de partage d'expérience, d'apprentissage et, surtout, de rencontre. Je vous remercie et souhaite une excellente carrière à tous.

Liste des abréviations :

<i>ABCB1</i>	Adénosine triphosphate binding cassette 1
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
ATP	Adénosine triphosphate
ARN	Acide ribonucléique
ARV	Antirétroviral
CHO	Chinese Hamster Ovary
DbSNP	Base des données du polymorphisme nucléotidique simple
Kb	Kilo-paire de base
KDa	Kilo dalton
LMC	Leucémie myéloïde chronique
LNH-B	Leucémie non hodgkinien à cellule B
<i>MDR1</i>	Résistance Multi drogue 1
ml	Millilitre
NDB	Domaine de liaison nucléotidique
PCR	Réaction en chaine par polymérase
RFLP	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction
P -gp	Glycoprotéine P
SNP	Polymorphisme nucléotidique simple
VIH	Virus Immunodéficiencie humaine

Liste des tableaux

Tableau I: Les médicaments utilisés cliniquement et autres composés qui sont reconnus et transportés par la glycoprotéine-P [27].	7
Tableau II: Amorces utilisées pour l'amplification du gène <i>MDR1</i>	16
Tableau III: Protocole du cycle d'amplification de la réaction PCR.....	17
Tableau IV:: Préparation de la solution de digestion enzymatique des produits PCR	18
Tableau V: Répartition des participants selon la tranche d'âge.....	21
Tableau VI: Répartition des participants selon le niveau d'instruction.....	22
Tableau VII : Répartition des participants selon le statut matrimonial	23
Tableau VIII: Répartition des participants en fonction de leur profession	23
Tableau IX: Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du gène <i>MDR1</i> dans notre population d'étude	24
Tableau X : Répartition des génotypes du gène <i>MDR1</i> en fonction des tranches d'âge	24
Tableau XI: Répartition des génotypes du gène <i>MDR1</i> selon le genre	25
Tableau XII: Répartition des génotypes du gène <i>MDR1</i> en fonction de l'ethnie.....	25

Liste des figures

Figure 1: Structure du gène humain <i>ABCB1</i> et de sa protéine, la glucoprotéine P. [24]	5
Figure 2: Modèle de transport des substrats par la P.gp.....	6
Figure 3: Mécanismes proposés pour l'efflux de médicaments médié par la P-gp[30].....	8
Figure 4: Mécanisme d'inhibition de la glycoprotéine-P [31]	9
Figure 5: Polymorphismes dans le gène <i>MDR1</i> [41].	11
Figure 6: Différents profils de polymorphisme c.1236C>T du gène <i>MDR1</i> dans l'exon 12... 19	
Figure 7: Répartition de la population d'étude en fonction du sexe.....	21
Figure 8: Répartition des participants selon leur origine ethnique.....	22

Sommaire

1	INTRODUCTION.....	1
2	OBJECTIFS	3
2.1	Objectif général.....	3
2.2	Objectifs spécifiques	3
3	GENERALITE	4
3.1	Gène <i>MDR1</i>	4
3.1.1	Structure et localisation	4
3.2	Protéine du gène <i>MDR1</i>	4
3.2.1	Structure et fonction de la Glycoprotéine P (P.gp)	4
3.3	Polymorphisme du gène <i>MDR1</i>	10
3.3.1	Le polymorphisme c.2677G>T/A (rs2032582, Ser893Ala/Thr) du gène <i>MDR1</i>	11
3.3.2	Polymorphisme c.3435C>T (rs1045642, Ile1145Ile) du gène <i>MDR1</i>	11
3.3.3	Polymorphisme c.1236C>T (rs1128503, Gly412Gly) du gène <i>MDR1</i> :	12
4	METHODOLOGIE	13
4.1	Cadre d'étude.....	13
4.2	Lieu d'étude.....	13
4.3	Type et période d'étude.....	13
4.4	Population d'étude.....	13
4.5	Technique d'échantillonnage.....	13
4.6	Critères d'inclusion et de non-inclusion	13
4.6.1	Critère d'inclusion.....	13
4.6.2	Critères de non-inclusion	14
4.7	Collecte des données	14
4.8	Prélèvement sanguin.....	14
4.9	Analyse moléculaire.....	14
4.9.1	Extraction de l'ADN génomique	14
4.9.2	Principe	14
4.9.3	Protocole.....	14
4.9.3.1	La lyse des globules rouges	14
4.9.3.2	Lyse des globules blancs et élimination des protéines	15
4.10	Détermination de la qualité et de la concentration d'ADN	16
4.10.1	Evaluation de la qualité de l'ADN	16
4.10.2	La quantité et la pureté de l'ADN.....	16

4.11	Génotypage du polymorphisme c.1236C>T du gène <i>MDR1</i>	16
4.11.1	Principe de la PCR (Polymerase Chain Reaction)	16
4.11.2	Préparation du produit de PCR.....	17
4.11.3	Conditions d'amplification	17
4.11.4	Analyse des produits d'amplification	18
4.11.5	Digestion des produits de PCR.....	18
4.11.6	Digestion par l'enzyme de restriction HaeIII	18
4.11.7	Électrophorèse	18
4.11.8	Interprétation des profils RFLP obtenus	19
4.12	Considération éthique et déontologie.....	19
4.13	Gestion des données.....	19
5	RESULTATS.....	21
5.1	Données socio-démographiques :	21
5.2	Étude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme c.1236C>T du gène <i>MDR1</i>	24
6	DISCUSSION	26
6.1	Caractéristiques socio-démographiques.....	26
6.2	Distribution génotypique et allélique du polymorphisme c.1236C>T du gène <i>MDR1</i>	27
7	CONCLUSION	29
8	RECOMMANDATION.....	30
9	REFERENCES.....	31
10	ANNEXES :	37

Résumé :

Le gène de résistance multidroque 1 (***MDR1***) code pour la glycoprotéine P (P-gp) qui a un rôle crucial dans la protection de l'organisme contre les xénobiotiques ainsi que dans le transport de diverses gammes de substrats médicamenteux hors de l'organisme. Cependant, les polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) du gène *MDR1* peuvent influencer l'expression et la fonction de la P-gp, engendrant des différences interindividuelles dans la réponse aux traitements médicamenteux. Ainsi, l'étude de ces polymorphismes pourrait aider à mieux comprendre ces variations observées dans la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des médicaments, mais également à anticiper des différences interindividuelles de réponse thérapeutique et à évaluer le risque de toxicité et d'effets indésirables des médicaments. Cette étude a inclus 96 participants en bonne santé, âgés de 18 à 73 ans. L'objectif était de déterminer les fréquences génotypiques du polymorphisme c.1236C>T dans la population malienne à l'aide de la technique de polymorphisme de longueur des fragments de restriction après amplification par PCR (PCR-RFLP) afin de fournir des données essentielles pour de futures études en pharmacogénétique au Mali. Les fréquences génotypiques observées étaient de 67,7 % pour l'homozygote sauvage CC, de 30,3 % pour l'hétérozygote CT et de 2 % pour l'homozygote muté TT. Les allèles C et T représentaient respectivement 82,8 % et 17,2 %. La distribution génotypique du SNP c.1236C>T en fonction du genre n'était pas statistiquement significative ($p = 0,3$) ; en revanche, la distribution génotypique en fonction de l'ethnie a montré une variabilité statistiquement significative avec un $p < 0,0001$. À notre connaissance, ces résultats constituent les premières données sur la distribution génotypique du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1* dans la population générale malienne et pourraient non seulement élargir notre compréhension du gène *MDR1*, mais aussi fournir des références pour des recherches futures en pharmacogénétique sur ce gène.

Mots-clés : Gène, *MDR1*, c.1236C>T, polymorphisme, PCR-RFLP, pharmacogénétique, Mali

Abstract :

The multidrug resistance gene 1 (*MDR1*) encodes P-glycoprotein (P-gp), which plays a crucial role in protecting the body against xenobiotics and in transporting a wide range of drug substrates out of the body. However, single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *MDR1* gene can influence the expression and function of P-gp, leading to interindividual differences in response to drug treatments. Thus, studying these polymorphisms could help to better understand the observed variations in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs, as well as to anticipate interindividual differences in therapeutic response and assess the risk of drug toxicity and adverse effects. This study included 96 healthy participants aged 18 to 73 years. The objective was to determine the genotype frequencies of the c.1236C>T polymorphism in the Malian population using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique in order to provide essential data for future pharmacogenetic studies in Mali. The observed genotype frequencies were 67.7% for the wild-type homozygote CC, 30.3% for the heterozygote CT, and 2% for the mutant homozygote TT. The C and T alleles accounted for 82.8% and 17.2%, respectively. The genotypic distribution of the c.1236C>T SNP by gender was not statistically significant ($P = 0.3$); however, the genotypic distribution by ethnicity showed statistically significant variability ($P < 0.0001$). To our knowledge, these results represent the first data on the genotypic distribution of the c.1236C>T polymorphism of the *MDR1* gene in the general malian population and could not only broaden our understanding of the *MDR1* gene but also provide a baseline for future pharmacogenetic research on this gene.

Keywords: *MDR1*, c.1236C>T, polymorphism, PCR-RFLP, Mali

1 INTRODUCTION

Le gène de résistance multi drogue 1 (***MDR1***), également connu sous le nom de gène ***ABCB1*** (*adénosine triphosphate-binding cassette*), est localisé sur la région chromosomique 7q21.12 et comporte 28 exons [1]. Le ***MDR1*** code pour une protéine transmembranaire d'environ 170 kDa, surnommée glycoprotéine P (P-gp), reconnue pour son implication dans les mécanismes de résistance aux médicaments, notamment par l'élimination des médicaments cytotoxiques des cellules tumorales [2 - 3].

P-gp exprimée dans différents organes, particulièrement le foie, l'intestin, les reins, les testicules et la barrière hémato-encéphalique, est une protéine de transport transmembranaire. Elle transporte une vaste gamme de substrats, notamment les médicaments utilisés dans le traitement des infections, des allergies et de l'hypertension, ainsi que des immunosuppresseurs et des agents chimiothérapeutiques anticancéreux. La P-gp se comporte comme un régulateur pour de nombreux xénobiotiques. Elle intervient également dans la prévention des dommages à l'ADN, l'apoptose, la réponse immunitaire et la sécrétion des composés toxiques, en jouant un rôle de protection pour les cellules [4].

De nombreux polymorphismes nucléotidiques (SNP) ont été identifiés dans le gène ***MDR1***, dont plus de cinquante (50) variants ont été décrits à ce jour [5]. Parmi ces polymorphismes, trois sont les plus étudiés, notamment ceux localisés dans l'exon 12 (c.1236C>T ; rs1128503), l'exon 21 (c.2677G>T/A ; rs2032582) et l'exon 26 (c.3435C>T ; rs1045642). Plusieurs travaux ont rapporté des associations entre ces polymorphismes et la susceptibilité à diverses pathologies, particulièrement les maladies inflammatoires de l'intestin, le cancer colorectal, la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) et la leucémie myéloïde chronique (LMC) [6 - 9].

Les variations génétiques du gène ***MDR1*** peuvent influencer l'expression et la fonction de la glycoprotéine P, ce qui peut engendrer des différences interindividuelles dans la réponse aux traitements médicamenteux. Cependant, les porteurs de certains SNP peuvent présenter une susceptibilité accrue à certaines maladies et une réponse thérapeutique variable aux mêmes traitements [3].

Certaines études ont évalué l'association entre le polymorphisme ***MDR1*** c.1236C>T et différentes pathologies. Ainsi, une étude menée sur la population de l'Est de la Chine n'a mis en évidence aucune association significative entre le risque de lymphome non hodgkinien à cellules B (LNH-B) et les toxicités liées au traitement [10]. Par contre, une autre étude réalisée dans la population marocaine a montré que le génotype 1236TT était

significativement associé à la susceptibilité à la LMC. De plus, le modèle récessif 1236TT versus 1236CC/CT était trois fois plus associé à un risque de LMC [11].

Des différences interethniques significatives ont été rapportées relativement aux fréquences alléliques et génotypiques des SNPs du gène *MDR1*, et ces fréquences varient d'un pays à l'autre dans le monde [12]. Notamment, dans une étude en Turquie (Europe) les fréquences génotypiques étaient de 20,6 % pour CC, 50,5 % pour CT et 28,9 % pour TT [13]. En Chine (Asie) elles étaient de 10,5 % pour CC, 47,5 % pour CT et 42 % pour TT, et au Maroc (Afrique) ces fréquences étaient de 43 % pour CC, 49 % pour CT et 8 % pour TT [10, 11].

Cependant, les données sur ce polymorphisme sont limitées dans certains pays du monde, notamment en Afrique. Plus particulièrement au Mali, où la population se caractérise par une grande diversité ethnique, à notre connaissance, il n'existe pas de données sur la distribution du polymorphisme du gène *MDR1*. Dans ce contexte, il nous a paru pertinent d'étudier la distribution du polymorphisme c.1236C>T dans la population malienne afin de fournir des données de références susceptibles de contribuer aux recherches futures en pharmacogénétique et en génétique moléculaire.

2 OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Étudier la distribution du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1* dans la population générale malienne.

2.2 Objectifs spécifiques

- Déterminer les caractéristiques sociodémographiques des participants ;
- Établir les fréquences génotypiques de SNP c.1236C>T dans la population malienne ;
- Déterminer les fréquences alléliques de SNP c.1236C>T dans la population malienne ;
- Examiner la distribution de SNP c.1236C>T du gène *MDR1* en fonction des caractéristiques sociodémographiques.

3 GENERALITE

3.1 Gène *MDR1*

3.1.1 Structure et localisation

Le gène *MDR1*, également connu sous le nom d'*ABCB1* (ATP-binding cassette), est le premier transporteur *ABC* parmi les 49 membres de la superfamille des *ABC* et aussi le plus étudié et caractérisé chez l'être humain. De plus, il a été cloné pour la première fois en 1985 par Riordan et al. [14, 15]. Le gène *MDR1* se trouve sur le chromosome 7q21.12 à moins de 25 kb du gène *ABCB4*. Il est composé de 27 introns et de 28 exons codant pour une séquence de 3,8 kb et s'étend sur plus de 200 kb du chromosome 7 humain. Cependant, selon les bases de données *Genbank*, cette longueur s'étale entre 6,3 et 210 kb (Figure 1.) [16, 17].

Le promoteur du gène *MDR1* ne possède pas de boîte TATA ; néanmoins, un élément initiateur (Inr) permet de réguler l'initiation de sa transcription [18]. Par contre, ce promoteur possède une boîte CCAAT (-79 à -75) et des îlots (CpG) qui interagissent respectivement avec des facteurs de transcription NF-Y et Sp (en particulier Sp1 et Sp3) [19, 20].

3.2 Protéine du gène *MDR1*

3.2.1 Structure et fonction de la Glycoprotéine P (P-gp)

Le gène *ABCB1* code pour le transporteur *MDR1*, également connu sous le nom de glycoprotéine P (P-gp), une protéine transmembranaire glycosylée et phosphorylée de 170 kDa composée de 1 280 acides aminés. Cette protéine a été décrite pour la première fois dans une lignée cellulaire CHO (ovaire de hamster chinois) résistante à la colchicine, puis dans diverses lignées cellulaires cancéreuses chimiorésistance [21]. La P-gp est composée de deux sous-unités homologues et symétriques de 610 acides aminés chacune. Chacune comporte un domaine hydrophobe contenant six domaines transmembranaires (TMD) et un domaine de liaison nucléotidique (NBD) à l'ATP du côté cytoplasmique (Figure 1.). Cette structure permet à la P-gp de se lier à une grande variété de substrats médicamenteux hydrophobes et amphipathiques, puis de les expulser grâce à sa capacité à adopter des changements conformationnels dynamiques (Figure 2.) [22-23].

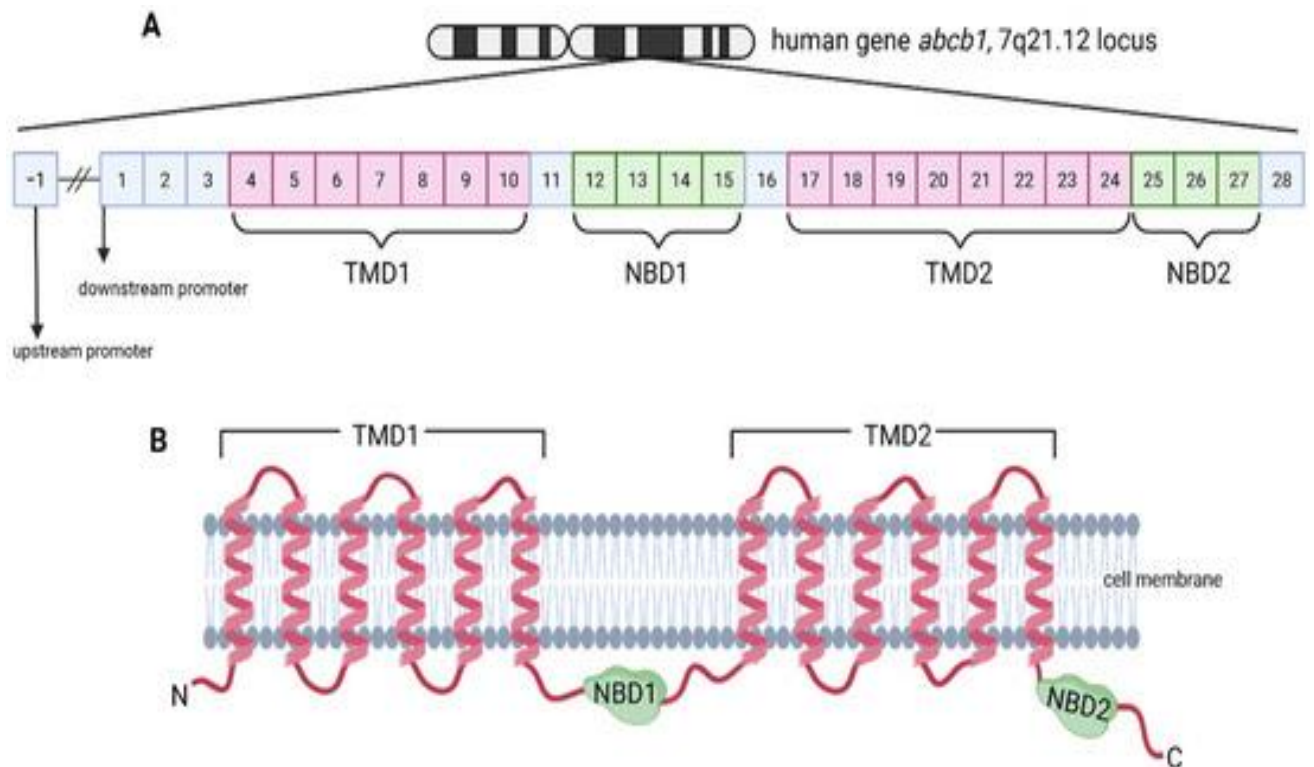


Figure 1: Structure du gène humain *ABCB1* et de sa protéine, la glucoprotéine P. [24]

(A) Représentation schématique du gène humain *MDR1*. Ce gène comprend 28 exons et deux promoteurs : un promoteur en aval, situé dans l'exon 1, et un promoteur en amont, situé à proximité de l'exon -1. Les exons 4 à 10 et 17 à 24, colorés en rose, codent respectivement pour les domaines transmembranaires TMD1 et TMD2. Les exons 12 à 15 et 25 à 27, colorés en vert, codent respectivement pour les domaines de liaison aux nucléotides NBD1 et NBD2 [24-25].

(B) Représentation schématique de la glycoprotéine P (P-gp). La P-gp est une protéine transmembranaire contenant 12 hélices transmembranaires (six dans chaque domaine transmembranaire, TMD1 et TMD2), colorées en rose. Les deux domaines de liaison aux nucléotides (NBD1 et NBD2), colorés en vert, sont situés à l'intérieur de la cellule. Le domaine NBD1 se trouve entre TMD1 et TMD2, tandis que le NBD2 est situé après le TMD2.

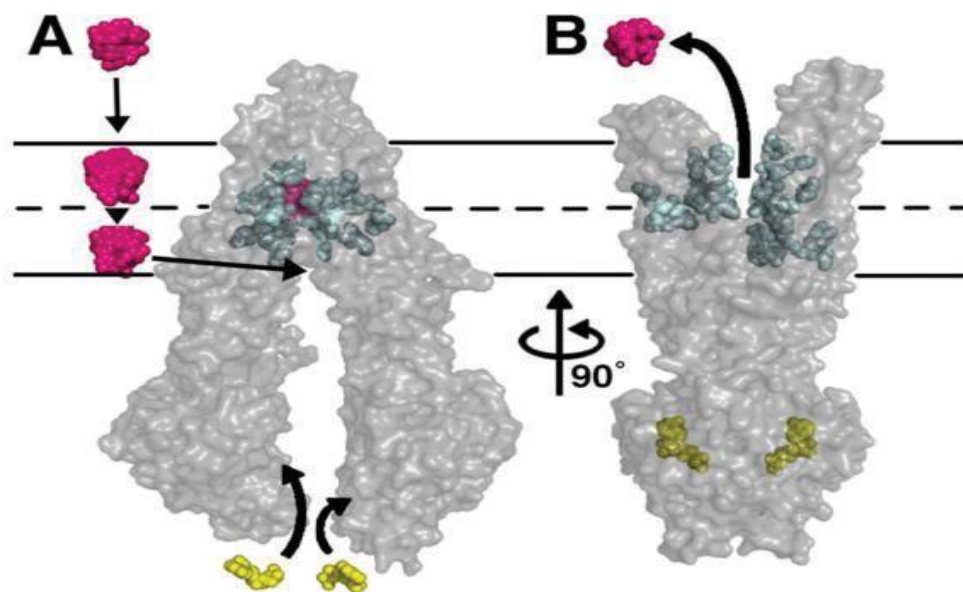


Figure 2: Modèle de transport des substrats par la P.gp.

(A) Le substrat provenant de l'extérieur de la cellule entre dans la bicouche lipidique et pénètre dans la poche de fixation des molécules de la P-gp. Les résidus en bleu cyan représentent les molécules QZ59 et le vérapamil [26].
 (B) La fixation de l'ATP (jaune) sur les NBD provoque un important changement conformationnel de la P-gp, permettant l'expulsion de la molécule vers l'extérieur de la cellule [27].

La P-gp est présente dans divers tissus humains tels que le côlon, le jéjunum, les testicules, le placenta, le foie et les reins. Cette protéine est également retrouvée dans les cellules constituant la barrière hémato-encéphalique. La P-gp joue un rôle primordial dans l'expulsion des xénobiotiques hautement toxiques grâce à sa présence au niveau des tubules rénaux, des hépatocytes et de la face apicale des entérocytes. De plus, par sa localisation dans la barrière hémato-encéphalique, elle protège le cerveau contre les substances toxiques [17]. Elle joue ainsi un rôle central dans la pharmacocinétique des médicaments, notamment dans leur absorption, leur distribution et leur élimination. La plupart des substrats de la P-gp sont hydrophobes et appartiennent à différentes classes pharmacologiques, en particulier les agents anticancéreux (tableau 1) [27].

Tableau I: Les médicaments utilisés cliniquement et autres composés qui sont reconnus et transportés par la glycoprotéine-P [27].

Les drogues appropriées cliniquement et autres composés qui interagissent avec la Pgp	Les inhibiteurs de HMG-CoA reductase
les agents anticancéreux	Lovastatin Simvastatin
Vinca-alcaloïdes (vinblastine et vincristine)	Les inhibiteurs de la tyrosine kinase
Anthracyclines (doxorubicine et daunorubicine)	Imatinib mesylate
Taxanes (paclitaxel and docetaxel)	Gefitinib
Epipodophyllotoxins (etoposide et teniposide)	Les bloqueurs des canaux de calcium
Camptothecine (topotecan)	Vérapamil
Anthracenes (bisantrene et mitoxantrone)	Nifedipine
Les inhibiteurs de la protéase virale	Azidopine
Ritonavir	Diltiazem
Saquinavir	Les antagonistes de la calmoduline
Nelfinavir	Trifluoperazine
Les analgésiques	Clorpromazine
Morphine	Trans-flupentixol
Les antihistamines	Les antihypertensives
Terfenadine	Reserpine
Fexofenadine	Propanolol
Les agents immunosuppressive	Les antibiotiques
Cyclosporine A	Erythromycin
Tocrolimus (FK506)	Gramicidin A
Les antiarrhythmiques	Les stéroïdes
Quinidine	Corticostérone
Amiodarone	Dexamethasone
Propafenone	Aldostérone
Les antiépileptiques	Cortisol
Felbamate	Les pesticides
Topiramate	Methylparathion
Les composés fluorescents	Endosulfan
Calcein-AM	Cypermethrin
Hoechst 33342	Fenvalerate
Rhodamine 123	Produits naturels
Les glycosides cardiaque	Curcumin
Digoxine	Colchicine
	Drogues antialcoolisme (Disulfirame)

L'expression de la P-gp est régulée par plusieurs mécanismes, notamment les rythmes circadiens, les microARN, les protéines de liaison à l'ARN, les modifications épigénétiques et les voies de signalisation [25]. Dans les cellules cancéreuses, l'expression de la P-gp est davantage augmentée par une combinaison d'altérations génétiques et épigénétiques, ainsi qu'en réponse à divers facteurs de stress environnementaux présents au sein du microenvironnement tumoral [28]. En effet, la P-gp est surexprimée dans les cellules cancéreuses. Cette surexpression entraîne une résistance à certains agents anticancéreux, ces derniers étant éliminés plus rapidement des cellules cancéreuses par les transporteurs *MDR1* [29].

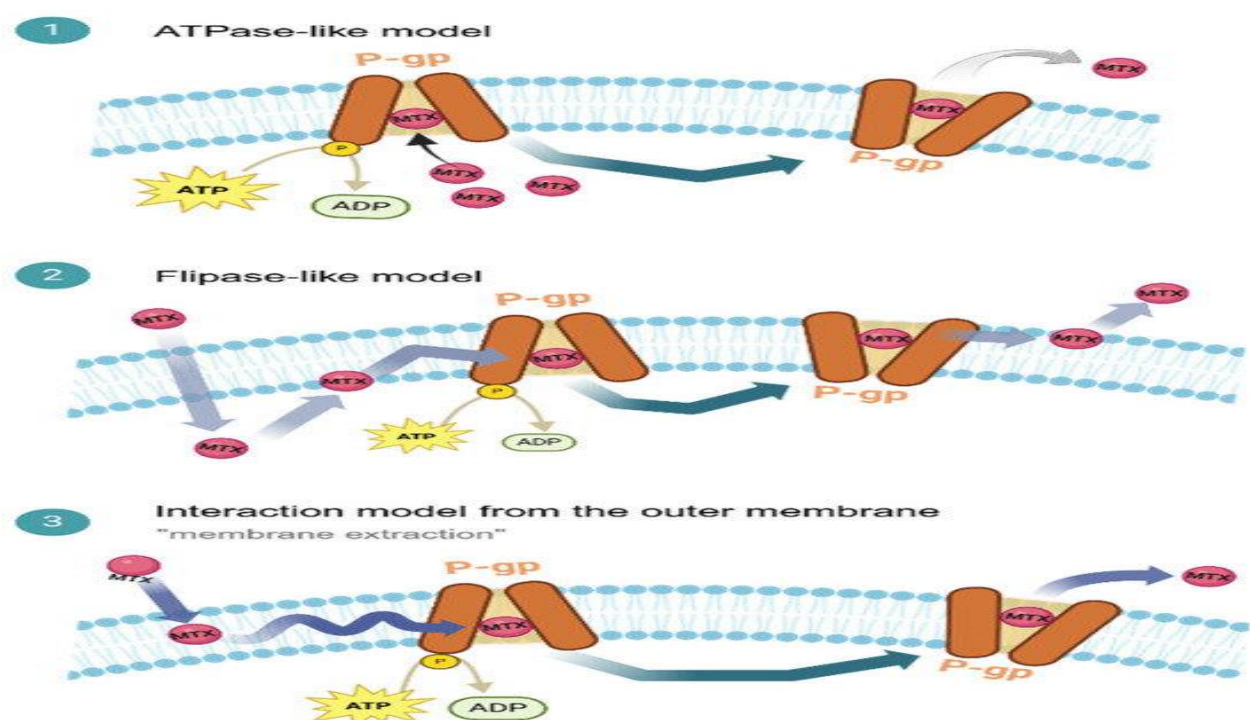


Figure 3: Mécanismes proposés pour l'efflux de médicaments médié par la P-gp [30].

Trois modèles principaux ont été proposés pour expliquer ce mécanisme d'efflux :

- (A) L'extraction directe, dans laquelle la P-gp extrait directement les substrats du cytoplasme ;
- (B) L'activité flippase, dans laquelle la P-gp transporte les substrats du feuillet interne vers le feuillet externe de la membrane plasmique ;
- (C) L'extraction membranaire, dans laquelle la P-gp extrait directement les substrats du feuillet externe de la membrane.

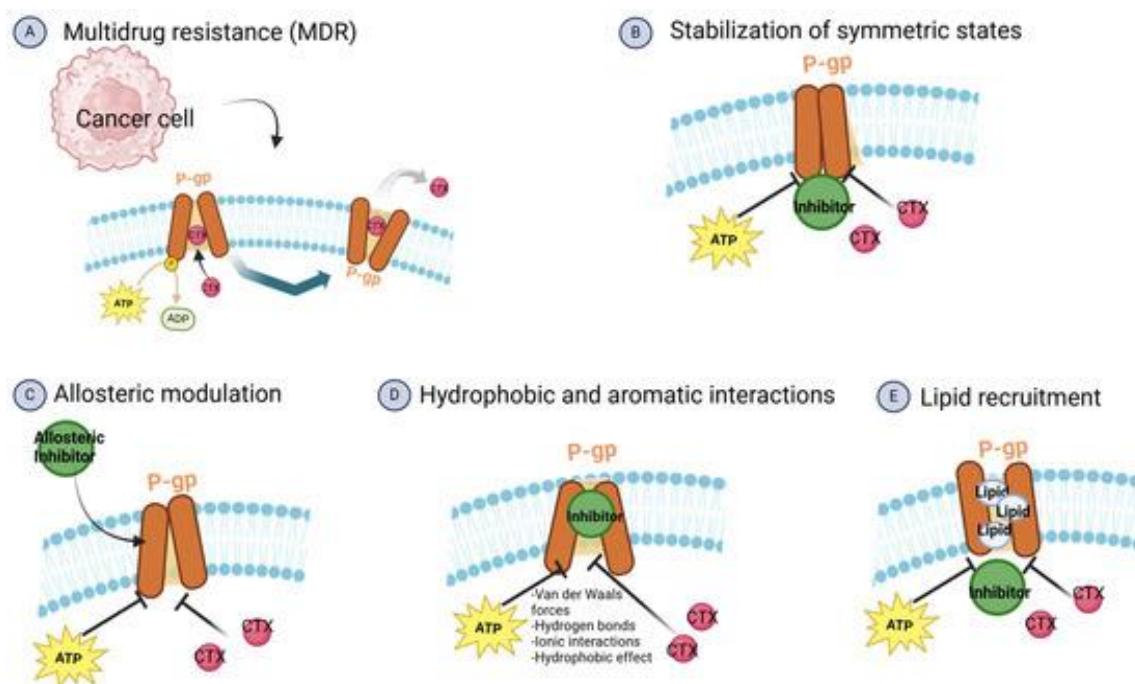


Figure 4: Mécanisme d'inhibition de la glycoprotéine-P [31]

(A) Résistance multidrogue (MDR) : la P-gp expulse une large gamme de substrats de structures diverses, y compris des agents de chimiothérapie (CTX), ce qui entraîne une diminution de l'accumulation intracellulaire des médicaments et une réduction de leur efficacité thérapeutique.

(B) Stabilisation de l'état symétrique : les inhibiteurs de la P-gp stabilisent l'état symétrique des domaines de liaison aux nucléotides, empêchant l'hydrolyse de l'ATP et le transport subséquent des médicaments [31].

(C) Modulation allostérique : les inhibiteurs se lient à la P-gp et induisent des changements allostériques qui affectent sa dynamique conformationnelle et réduisent sa fonction de transport [32].

(D) Interactions hydrophobes et aromatiques : les interactions hydrophobes et π - π (aromatiques) entre les inhibiteurs et les domaines de liaison de la P-gp constituent des facteurs clés du mécanisme d'inhibition. Ces interactions stabilisent la conformation de la P-gp liée à l'inhibiteur, l'empêchant de subir les changements conformationnels nécessaires au transport des médicaments [33, 26]. Plusieurs modèles pharmacophores ont été développés pour prédire l'activité inhibitrice de la P-gp. Ces modèles incluent souvent des groupements hydrophobes et des cycles aromatiques comme composants clés, soulignant l'importance de ces interactions dans le processus de liaison [34-35].

(E) Recrutement lipidique : certains inhibiteurs, comme le tariquidar, recrutent des molécules lipidiques dans la lumière de la P-gp, renforçant les changements conformationnels induits par l'inhibiteur et inhibant le transport des médicaments [36]. La présence de lipides dans la membrane peut préconfigurer des inhibiteurs, tels que le tariquidar, dans des conformations actives, facilitant leur liaison à la P-gp. Ceci suggère un mécanisme membranaire dans lequel les lipides jouent un rôle dans l'accès et la liaison des inhibiteurs à la P-gp, renforçant potentiellement leurs effets inhibiteurs [37].

3.3 Polymorphisme du gène *MDR1*

Comprendre les facteurs qui caractérisent la fonction du gène *MDR1* est indispensable, car il s'agit d'un gène conservé qui joue un rôle déterminant dans l'efficacité des médicaments. Son niveau d'expression influence directement la manière dont les cellules cancéreuses résistent à la chimiothérapie [38].

Des études ont montré que des modifications au niveau des acides aminés perturbent le fonctionnement de la protéine *MDR1*. Ainsi, ces modifications affectent les domaines impliqués dans le transport, notamment les domaines transmembranaires, ainsi que les domaines de liaison à l'ATP, impliqués dans l'apport d'énergie [39-40]. Il est donc crucial d'identifier les SNP du gène *MDR1* et d'étudier leur effet sur la fonction de la protéine.

De nombreux polymorphismes nucléotidiques (SNP) ont été identifiés dans le gène *MDR1*, dont plus de cinquante (50) variants ont été décrits à ce jour (Figure 5) [5]. Parmi ces polymorphismes, trois (3) sont les plus étudiés : ceux localisés dans l'exon 12 (c.1236C>T ; rs1128503), l'exon 21 (c.2677G>T/A ; rs2032582) et l'exon 26 (c.3435C>T ; rs1045642). Plusieurs travaux ont rapporté des associations entre ces polymorphismes et la susceptibilité à diverses pathologies, en particulier les maladies inflammatoires de l'intestin, le cancer colorectal, la leucémie lymphoblastique aiguë et la leucémie myéloïde chronique (LMC) [6–9].

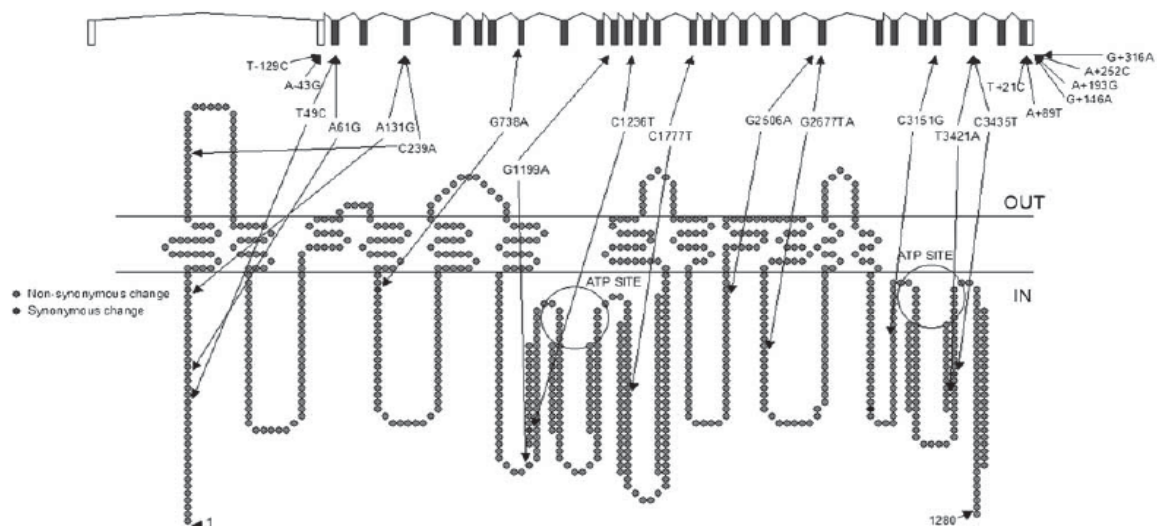


Figure 5: Polymorphismes dans le gène *MDR1*[41].

3.3.1 Le polymorphisme c.2677G>T/A (rs2032582, Ser893Ala/Thr) du gène *MDR1*

Le polymorphisme c.2677G>T/A est le premier variant de la P-gp humaine identifiée. Localisé dans l'exon 21, ce SNP non synonyme a un impact direct sur la protéine *MDR1*. Le remplacement de la sérine par une alanine ou une thréonine altère la structure secondaire et la conformation globale de la protéine, ainsi que son interaction avec ses substrats [42].

Cependant, en fonction de l'appartenance ethnique et selon les données du projet international HapMap, la fréquence allélique du variant 2677T révèle une variabilité importante, comprise entre 2 % et 56 %. En revanche, le génotype homozygote sauvage 2677GG est généralement prédominant dans les populations africaines, avec une fréquence supérieure à 80 %, tandis qu'il est moins fréquent dans les populations asiatiques, américaines, italiennes, mexicaines et caucasiennes, où cette fréquence varie généralement entre 10 % et 32 %. Par ailleurs, à l'échelle mondiale, l'allèle 2677A reste relativement rare, avec une fréquence variante entre 0 % et 17 % [43].

3.3.2 Polymorphisme c.3435C>T (rs1045642, Ile1145Ile) du gène *MDR1*

De nombreux SNPs localisés dans les régions exoniques du gène *MDR1* présentent des fréquences élevées, soulignant leur rôle crucial dans l'évolution et la régulation fonctionnelle de *MDR1*. Parmi ces SNPs, le polymorphisme c.3435C>T, situé au centre de l'exon 26, a suscité une attention particulière en raison de sa forte prévalence et de ses importantes implications biologiques. Ce SNP, dit synonyme, correspond à une substitution de la cytosine par la thymine, qui n'entraîne pas de changement de la séquence en acides aminés, mais qui

peut néanmoins influencer l'expression et la conformation de la protéine. Cette isoleucine est fortement conservée chez plusieurs espèces de mammifères, notamment chez l'homme, les primates, la souris et le porc, ce qui témoigne de son importance fonctionnelle. Les premières études menées par Hoffmeyer et al. sur l'association de ce polymorphisme avec l'expression de *MDR1* ont rapporté que le génotype TT était corrélé à une diminution de l'expression de la P-gp et que l'allèle 3435T était associé à une réduction de 50 % de l'expression au niveau du côlon [44].

Cependant, une autre étude a montré qu'en fonction des populations étudiées, le SNP c.3435C>T se caractérise par une importante variabilité interethnique de sa fréquence allélique, l'allèle 3435T variant entre 34 % et 90 % selon la population [45].

3.3.3 Polymorphisme c.1236C>T (rs1128503, Gly412Gly) du gène *MDR1* :

Le SNP c.1236C>T est un polymorphisme synonyme (Gly412Gly) localisé dans l'exon 12 du gène *MDR1* [29]. Cette mutation n'entraîne ni modification de l'acide aminé ni modification de la protéine codée par le gène *MDR1*. Selon plusieurs études, elle n'est pas non plus due à des modifications de la stabilité de l'ARNm [46]. Selon l'origine ethnique, les données issues de la base dbSNP (*Single Nucleotide Polymorphism Database*) montrent une variation considérable de la fréquence allélique du SNP c.1236C>T, dont l'allèle C présente une fréquence comprise entre 30 % et 90 %. Cependant, cet allèle est généralement considéré comme minoritaire dans les populations asiatiques, tandis que l'allèle T est plus souvent minoritaire dans les populations africaines [43]. À ce jour, les études visant à établir un lien entre ce SNP et des phénotypes cliniques ont rapporté des résultats divergents, sans qu'un consensus n'ait été établi [39].

4 METHODOLOGIE

4.1 Cadre d'étude

Cette étude financée par l'union Européenne (Traning Mobility Action 2016 Career Development fellowship) s'inscrit dans le cadre du projet de pharmacogénétique des antirétroviraux (ARV).

4.2 Lieu d'étude

Notre étude s'est déroulée au CREFPAM (centre de recherche et de formation sur les pathologies moléculaires) et le recrutement a été effectué au service d'infectiologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) du Point G.

➤ CREFPAM

Le CREFPAM dirigé par un professeur d'Anatomo-pathologiste est situé dans l'enceinte du Centre Hospitalo Universitaire du Point-G et rattaché à la faculté de Pharmacie de l'USTTB. Il est doté de matériels de recherche biologique de dernière génération. Il dispose de différentes salles et équipements, notamment ordinateurs, des réfrigérateurs, des congélateurs, une chambre PCR, des centrifugeuses, des machines de RT-PCR, des automates d'amplifications isothermiques (*ScreenFire*, d'*ATILA BioSystems*), des machines de *GenXpert*, des thermocycleurs, des incubateurs, une salle d'électrophorèse, une chambre UV, etc. Le centre est composé de plusieurs professeurs et spécialistes dans divers domaines médicaux, couvrant la recherche, la formation, la prévention, et le diagnostic des pathologies moléculaires, en particulier les cancers.

4.3 Type et période d'étude

Nous avons mené une étude observationnelle analytique rétrospective basée sur une cohorte existante utilisant des échantillons de bio-banques allant de décembre 2025 à mai 2026.

4.4 Population d'étude

L'étude a porté sur 96 individus apparemment sains accompagnant les patients, recrutés au service d'infectiologie du CHU du Point G durant la période d'enquête.

4.5 Technique d'échantillonnage

Nous avons inclus de façon exhaustive les personnes répondant aux critères d'inclusions durant toute la période d'enquête.

4.6 Critères d'inclusion et de non-inclusion

4.6.1 Critère d'inclusion

Nous avons inclus dans cette étude tout participante :

- ayant donné son consentement libre et éclairé ;
- dont l'âge était compris entre 18 et 78 ans ;
- apparemment en bonne santé ;
- pouvant fournir un échantillon de sang requis pour l'étude.

4.6.2 Critères de non-inclusion

N'ont pas été inclus dans cette étude les individus :

- ayant refusé de donner leur consentement libre et éclairé ;
- âgés de moins de 18 ans ou de plus de 78 ans ;
- Ayant refusé de fournir l'échantillon de sang requis pour l'étude.

4.7 Collecte des données

Les données ont été recueillies au moyen d'un questionnaire préétabli visant à collecter, pour chaque participant, les données socio-démographiques :

- Âge ;
- Sexe ;
- Profession ;
- Statut matrimonial ;
- Régime matrimonial ;
- Ethnie ;
- Niveau d'instruction.

4.8 Prélèvement sanguin

Pour chaque participant, un prélèvement sanguin de 4 ml a été effectué dans un tube EDTA afin d'isoler le matériel génétique nécessaire à la réalisation des analyses génétiques. Les échantillons sanguins ont ensuite été conservés à -20°C en vue des analyses ultérieures de biologie moléculaire.

4.9 Analyse moléculaire

4.9.1 Extraction de l'ADN génomique

4.9.2 Principe

L'ADN génomique a été extrait à partir de sang total à l'aide du kit *Gentra Puregene*, selon les étapes suivantes : la lyse des globules rouges, la lyse des globules blancs, l'élimination des protéines, l'élimination des autres acides nucléiques (ARN) et la précipitation de l'ADN à l'isopropanol.

4.9.3 Protocole

4.9.3.1 La lyse des globules rouges

- Décongeler 3 ml de sang total.

- Compléter le volume jusqu'à 12 ml avec la solution de lyse des globules rouges (RBC Lysis Solution), prête à l'emploi, constituée (pour 1 L) de 10 ml de Tris-HCl (1 M, pH 8,6), 5 mL de MgCl₂ (1 M) et 3 mL de NaCl (3 M).
- Mélanger par inversion (10 inversions).
- Laisser agir la solution de lyse pendant 5 min à température ambiante.
- Centrifuger à 2 000 × g pendant 2 min.

4.9.3.2 Lyse des globules blancs et élimination des protéines

- Éliminer le surnageant tout en maintenant le culot déposé au fond du tube avec un volume de 200 µl ;
- Ajouter 3 ml de la solution (hypotonique) de lyse des globules blancs (CLS) renfermant (Tris 1 M, EDTA 0,5 M et NaCl 5 M), et mélanger vigoureusement pendant 20 secondes avec le vortex ;
- Ajouter 1 ml de la solution de précipitation des protéines (PK) et mixer vigoureusement avec le vortex pendant 20 secondes ;
- Centrifuger pendant 5 min à 2000 g ;
- Transférer le surnageant dans un nouveau tube flacon de 15 ml contenant 3 ml d'isopropanol préalablement refroidi sans entraîner le culot au fond.
- Mixer en inversant le tube 50 fois. L'ADN apparaît sous forme de méduse ;
- Centrifuger pendant 2 min à 2000g, l'ADN se dépose au fond sous forme de culot blanc ;
- Éliminer le surnageant en veillant de ne pas drainer le culot d'ADN au fond ; pour cela utiliser un papier absorbant ;
- Ajouter 3 ml d'éthanol à 70 % et inverser le tube plusieurs fois pour laver l'ADN ;
- Centrifuger pendant 1 min 2000g ;
- Éliminer le surnageant sur un papier absorbant sans amener le culot d'ADN et laisser les tubes sécher à l'air libre pendant 5 à 10 min ;
- Ajouter 300 µl à l'ADN de la solution d'hydratation, tout en vous assurant que la méduse est bien au fond ;
- Incuber à 65 °C au bain-marie pendant 1 heure pour dissoudre l'ADN ;
- Dissoudre l'ADN à la température ambiante toute la nuit en mixant gentiment.
- Les échantillons peuvent être centrifugés brièvement et transférés dans des cryotubes pour le stockage à -20 °C pour une conservation à long terme ou à +4 °C pour une utilisation très prochaine.

4.10 Détermination de la qualité et de la concentration d'ADN

4.10.1 Evaluation de la qualité de l'ADN

La qualité de l'ADN extrait a été évaluée par électrophorèse sur un gel d'agarose à 3 %, coloré au bromure d'éthidium (0,5 µg/ml). Ensuite, 3 à 5 µL de la solution d'ADN ont été déposés dans chaque puits. Le gel a été soumis à une migration sous une tension de 100 V pendant 20 min. Cette analyse a permis de détecter une éventuelle dégradation de l'ADN survenue au cours de l'extraction.

4.10.2 La quantité et la pureté de l'ADN

La pureté de l'ADN a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre. Le maximum d'absorbance de l'ADN et de l'ARN se situe à 260 nm, tandis que celui des protéines se situe à 280 nm. Le rapport A260/A280 constitue un indicateur de la pureté de l'ADN. Une valeur comprise entre 1,8 et 2,0 est considérée comme acceptable. Une valeur inférieure à 1,8 indique une contamination par les protéines, tandis qu'une valeur supérieure à 2,0 suggère une contamination par l'ARN.

4.11 Génotypage du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1*

Le génotypage du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1* a été effectué par la PCR-RLFP en exploitant les séquences d'amorces sens et antisens (tableau II) en suivant ces étapes :

- La PCR et contrôle du produit sur le gel d'agarose
- La digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction Hae III
- La migration électrophorétique sur un gel d'agarose à 3 % a permis la séparation des produits de digestion et sous UV, les différents génotypes ont été révélés par transillumination.

Tableau II: Amorces utilisées pour l'amplification du gène *MDR1*

Amorces	Séquences nucléotidiques	Référence
Forward	TATCCTGTGTCTGTGAATTGCC	[43]
Reverse	CCTGACTCACCACACCAATG	

4.11.1 Principe de la PCR (Polymerase Chain Reaction)

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est une méthode de biologie moléculaire qui permet, par amplification exponentielle de l'ADN, d'obtenir de multiples copies d'un fragment

d'ADN spécifique *in-vitro*. Sa réalisation repose sur des réactions successives de réplication à partir d'une seule molécule matrice d'ADN. L'ADN est synthétisé grâce à la Taq polymérase, une ADN polymérase issue de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*, en utilisant deux amorces Oligo nucléotidiques complémentaires des extrémités de la séquence cible à amplifier, l'une sens et l'autre antisens. Chaque cycle de PCR comprend trois étapes : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation.

4.11.2 Préparation du produit de PCR

L'exon 12 du gène *MDR1* a été la région ciblée pour l'amplification. La réaction de PCR a été réalisée dans un volume final de 25 µL, contenant :

- 100 ng d'ADN génomique ;
- Tampon de réaction 10× (*Buffer*) ;
- MgCl₂ (2,5 mM) : cofacteur facilitant la réaction ;
- dNTP (5 mM) : bases azotées nécessaires à la synthèse de l'ADN ;
- Amorces (5 pM) (Tableau II) : courtes séquences d'ADN spécifiques de 20 à 30 nucléotides ;
- Taq polymérase (5 U) : enzyme thermostable isolée de la bactérie *Thermus aquaticus*, responsable de la polymérisation de la chaîne d'ADN en incorporant les bases azotées selon leur complémentarité ;
- Nuclease-Free Water : eau ultrapure exempte de nucléases.

4.11.3 Conditions d'amplification

Le thermocycleur de marque PTC-200 a été utilisé pour la réaction de PCR

Tableau III: *Protocole du cycle d'amplification de la réaction PCR*

Nombre de Cycle	Température	TEMPS
1 Cycle	94 °C	5 min
35 Cycles	94 °C	1 min
	55 °C	1 min
	72 °C	1 min
1Cycle	72 °C	7 min

4.11.4 Analyse des produits d'amplification

Cette analyse a été réalisée par électrophorèse sur un gel d'agarose à 3 %, préparé dans une solution tampon TBE 1× et coloré au bromure d'éthidium (0,5 µg/mL), un agent intercalant de l'ADN. Après l'électrophorèse, le gel a été déposé sur un transilluminateur à ultraviolets (UV) afin de visualiser les produits d'amplification et les différents profils génotypiques.

4.11.5 Digestion des produits de PCR

Le milieu de digestion de l'enzyme HaeIII a été préparé selon (Tableau IV).

Tableau IV:: Préparation de la solution de digestion enzymatique des produits PCR

Milieu de digestion	Quantité en µl
Tampon de HaeIII	2µl
HaeIII	0,5-1 µl
H ₂ O	20 µl
ADN (Produit PCR)	10 µl

4.11.6 Digestion par l'enzyme de restriction HaeIII

L'enzyme de restriction HaeIII, extraite de la bactérie *Haemophilus aegyptius*, reconnaît et clive la séquence GG/CC, correspondant au codon 412 codant pour la glycine. Les produits de PCR ont ensuite été soumis à une digestion enzymatique par HaeIII, puis incubés à 37 °C dans un bain-marie pendant toute une nuit (ou selon le temps d'incubation optimisé). Après incubation, les produits de digestion ont été concentrés pendant quelques minutes à l'aide d'un *SpeedVac*.

4.11.7 Électrophorèse

Préparer un gel d'agarose à 3 % contenant du bromure d'éthidium (3 g d'agarose dans 100 ml de tampon TBE 1×). Ensuite, il faut homogénéiser la préparation, puis la couler immédiatement dans le support muni de plaques de verre, en évitant la formation de bulles. Placer le peigne afin de former les puits et de laisser le gel se solidifier à température ambiante pendant 15 min. Une fois le gel solidifié, placer le système (gel et électrodes) dans la cuve d'électrophorèse horizontale contenant du tampon TBE 1×. Retirer le peigne, puis déposer au fond des puits délicatement les échantillons préalablement mélangés au colorant de charge. La migration est réalisée sous une tension de 100 V, en présence d'un marqueur de taille constitué de fragments d'ADN de tailles connues. Après l'obtention d'une séparation

nette des différents fragments du marqueur (environ 1 h 30 min), visualiser et photographier le gel après transillumination sous ultraviolets (UV).

4.11.8 Interprétation des profils RFLP obtenus

La digestion enzymatique des produits de PCR du gène *MDR1* par l'enzyme de restriction HaeIII permet de distinguer les différents génotypes du polymorphisme c.1236C>T (Figure 6.). Le génotype homozygote muté (TT) génère deux fragments de 269 pb et 97 pb, visualisés sous forme de deux bandes. Le génotype homozygote sauvage (CC) produit trois fragments de 269 pb, 62 pb et 35 pb, correspondant à trois bandes. Enfin, le génotype hétérozygote (CT) présente les quatre bandes de 269 pb, 97 pb, 62 pb et 35 pb, résultant de la présence simultanée des deux allèles.

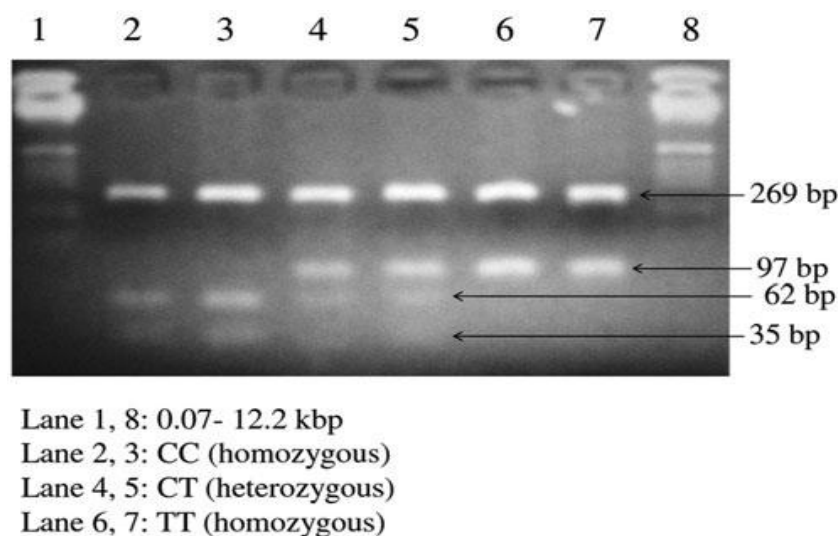


Figure 6: Différents profils de polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1* dans l'exon 12[11].

4.12 Considération éthique et déontologie

Le travail a reçu l'approbation du Comité d'éthique de la Faculté de médecine et d'odontostomatologie/Faculté de pharmacie (2018/113/CE/FMPOS) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali. Pour le respect des codes d'éthique et de déontologie, nous avons obtenu des autorisations administratives du responsable du service d'infectiologie du CHU du Point G ainsi que le consentement individuel volontaire, libre et éclairé de tous les participants.

4.13 Gestion des données

Les données recueillies ont été saisies dans le logiciel Microsoft Excel 2016. Les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1* ont été déterminées à l'aide du logiciel SPSS version 26.0. Le test de Fischer a été utilisé pour évaluer les

différences de distribution des profils génétiques en fonction des caractéristiques sociodémographiques. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative. Enfin, Microsoft Word 2016 a été utilisé pour la mise en forme et le traitement de texte.

5 RESULTATS

5.1 Données socio-démographiques :

Tableau V: Répartition des participants selon la tranche d'âge

Tranche âge	Effectif	Pourcentage
[18-33]	61	63,5
[34-49]	22	23,0
[50-65]	10	10,4
[66-81]	3	3,1
Total	96	100

La tranche d'âge de [18-33] était la plus représentée avec 63,5 %.

L'âge des participants variait de 18 à 73 ans avec une moyenne de $32,4 \pm 13,2$ ans.

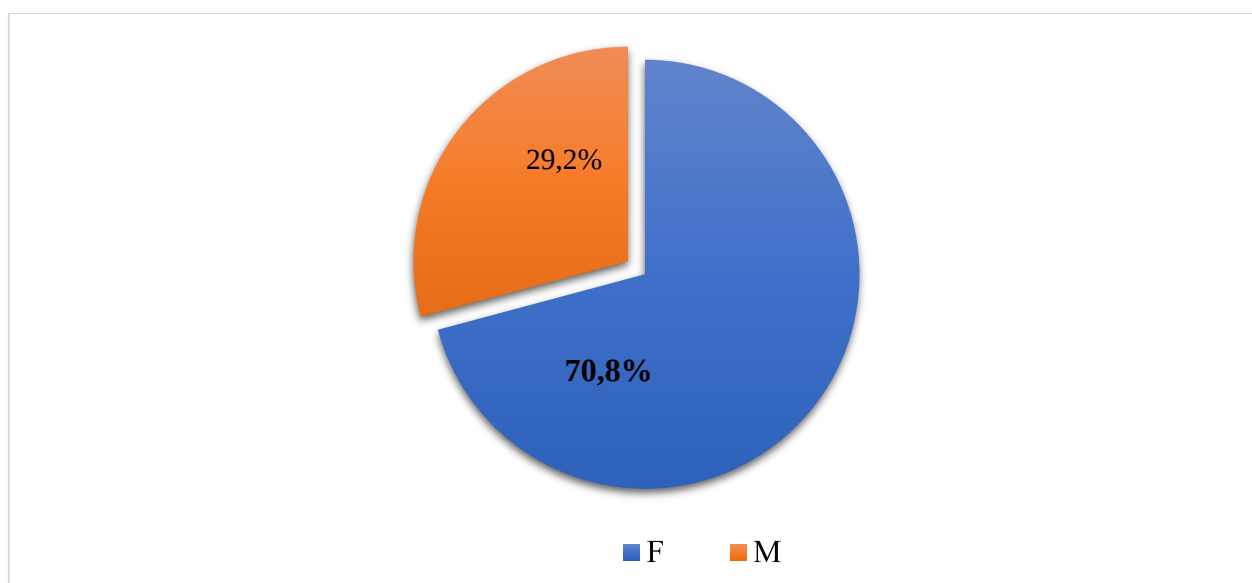


Figure 7: Répartition de la population d'étude en fonction du sexe

Le sexe féminin prédominait avec 70,8 % comparativement au sexe masculin.

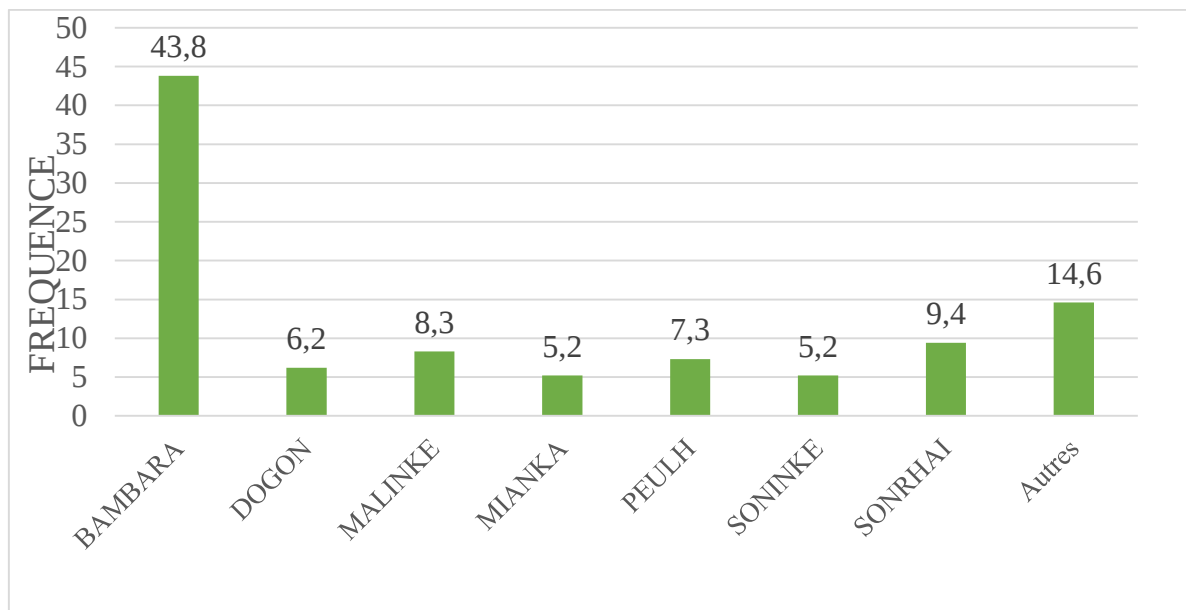


Figure 8: Répartition des participants selon leur origine ethnique

Autres*= Dafi, Kakolo, Kassonke, Forgérons, Mossi, Samoko

Parmi les participants, l'ethnie bambara était la plus représentée, avec 43,8 %.

Tableau VI: Répartition des participants selon le niveau d'instruction

Niveau d'instruction	Effectif	Pourcentage
Non scolarisé	26	27,1
Primaire	25	26
Professionnel	13	13,5
Secondaire	23	24
Supérieur	9	9,4
Total	96	100

Notre étude a révélé que les participants non scolarisés étaient majoritaires, avec une proportion de 27,1 % suivi de ceux ayant un niveau primaire avec 26 %.

Tableau VII : Répartition des participants selon le statut matrimonial

Statut matrimonial	Effectif	Pourcentage
Célibataire	33	34,3
Marié	57	59,4
Veuve	6	6,3
Total	96	100

Parmi les participants, les personnes mariées étaient les plus représentées, avec une proportion de **59,4 %**, suivies des célibataires, qui représentaient **34,3 %** de l'effectif.

Tableau VIII: Répartition des participants en fonction de leur profession

Profession	Effectif	Pourcentage
Commerçant	10	10,4
Comptable	2	2,1
Élève/Étudiant	33	34,4
Manœuvre	4	4,1
Ménagère	33	34,4
Menuisier	2	2,1
Secrétaire	2	2,1
Autres	10	10,4
Total	96	100,0

Autre* : Chauffeur, coiffeuse, douanier, football, gestionnaire, infirmière, maçon, mécanicien, chômeur, tailleur

La majorité des participants étaient des ménagères et élèves/étudiants, représentant 34,4 % de l'effectif chacun.

5.2 Étude de la distribution des fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1*

Tableau IX : Distribution des fréquences génotypiques et alléliques du gène *MDR1* dans notre population d'étude

Génotype N(%)			Allèles N(%)	
CC	CT	TT	C	T
65 (67,7)	29 (30,3)	2 (2,0)	159 (82,8)	33 (17,2)

Dans notre population d'étude, la fréquence du génotype CT du polymorphisme c.1236C>T était de 30,3 % (n = 29). Le génotype CC était majoritaire, avec une fréquence de 67,7 % (n = 65), tandis que le génotype homozygote muté TT n'a été observé que chez 2 participants, soit 2,0 % de l'effectif.

La fréquence allélique était de 82,8 % (n = 159) pour l'allèle C et de 17,2 % (n = 33) pour l'allèle T.

Tableau X : Répartition des génotypes du gène *MDR1* en fonction des tranches d'âge

Tranche d'âge	Génotype (N%)			Total
	CC	CT	TT	
[18-33]	42 (68,9)	17 (27,8)	2 (3,3)	61 (63,6)
[34-49]	16 (72,7)	6 (27,3)	-	22 (22,9)
[50-65]	5 (50)	5 (50)	-	10 (10,4)
[66-81]	2 (66,7)	1 (33,3)	-	3 (3,1)

P = 0,8

La tranche d'âge de 50 à 65 ans comptait la plus forte proportion de participants hétérozygotes (CT), avec 50 %. Il est également à noter que tous les individus homozygotes mutés (TT) appartenaient à la tranche d'âge de 18-33. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée dans la distribution des différentes combinaisons génotypiques entre les tranches d'âge (P = 0,8).

Tableau XI: Répartition des génotypes du gène *MDR1* selon le genre

Genre	Génotype (N%)		
	CC	CT	TT
Féminin	49 (72,1)	18 (26,5)	1 (1,4)
Masculin	16 (57,1)	11 (39,1)	1 (3,8)

p = 0,3

La répartition des génotypes du gène *MDR1* selon le sexe montre que le génotype CT était plus fréquent chez les femmes (26,5 %) que chez les hommes (11,5 %). Les deux porteurs du génotype homozygote muté (TT) étaient répartis entre les deux sexes, avec un participant dans chaque groupe.

Tableau XII: Répartition des génotypes du gène *MDR1* en fonction de l'ethnie

ETHNIE	Génotype (%)		
	CC	CT	TT
Bambara	28 (66,7)	14 (33,3)	0
Dogon	4 (66,7)	2 (33,3)	0
Malinké	4 (50)	4 (50)	0
Mianka	4 (80)	0	1 (20)
Peulh	3 (42,9)	4 (57,1)	0
Soninké	5 (100)	0	0
Sonrhäi	7 (77,8)	2 (22,2)	0
Autre	10 (71,4)	3 (21,4)	1 (7,2)

p < 0,0001

Autres*= Dafi, Kakolo, Kassonke, Forgéron, Mossi, Samoko

Les Peulhs présentaient les fréquences les plus élevées de l'hétérozygote CT avec 57,1 % suivi des malinkés avec 50 %. La fréquence du génotype CC prédominait chez les soninkés (100 %) suivi des miankas (80 %) et des sonrhaïs (77,8 %). Une différence statistiquement significative a été observée dans la distribution du génotype c.1236C>T entre les ethnies (p < 0,0001).

6 DISCUSSION

6.1 Caractéristiques socio-démographiques

La distribution génotypique et allélique du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1*, un gène impliqué dans l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion des médicaments, a été explorée par notre étude pour une meilleure compréhension de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique des médicaments, ainsi que de leur susceptibilité au développement de maladies. En effet, l'efficacité et les effets secondaires du médicament peuvent être modifiés par la variation génétique du gène *MDR1*.

Dans la présente étude, les participants avaient un âge moyen de $32,4 \pm 13,2$ ans. La tranche d'âge de 18-33 ans a été la plus représentée, avec 63,5 %, suivi de la tranche d'âge de 34-49 ans avec 23 %. Ce résultat montre que notre population d'étude était majoritairement jeune, ce qui concorde avec l'étude démographique au Mali menée par l'Institut national de la statistique du Mali, à travers le Recensement général de la population et de l'habitat, qui a prouvé que la population malienne est principalement composée de jeunes [47].

Le sexe féminin prédominait dans notre étude, avec une fréquence de 70,8 %, comparativement au sexe masculin. Ce résultat est similaire à celui rapporté au Maroc en 2014 par Kassogué et al. [11]. Cette tendance est également en accord avec les résultats de l'étude démographique réalisée au Mali, qui a montré une prédominance du sexe féminin dans la population malienne [47].

La répartition des participants selon l'origine ethnique a révélé que les Bambaras étaient les plus représentés, avec une fréquence de 43,8 %. Un résultat similaire a été rapporté par Kassogué et al. au Mali en 2019, avec 34,5 % [48], ainsi que par Gariko et al. au Mali en 2024, avec 34,6 % [49]. Cette similitude pourrait s'expliquer non seulement par la taille de nos échantillons et l'absence de certaines ethnies, mais également par le choix du site d'étude.

En ce qui concerne la profession, les ménagères et les élèves/étudiants prédominaient, avec une fréquence de 34,4 % chacun. De même, notre étude a révélé que les participants non scolarisés et ceux ayant un niveau d'instruction primaire étaient majoritaires, avec une fréquence de 26 % chacun, tandis que les personnes mariées représentaient 59,5 % de l'effectif. Ces résultats pourraient s'expliquer par le fait que la quasi-totalité de nos participants était des femmes, dont une grande partie était soit non scolarisée, soit avait interrompu précocement sa scolarité.

6.2 Distribution génotypique et allélique du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1*

Dans cette étude, la fréquence du génotype CT était de 30,3 % ce qui était similaire à celle observée dans la population saoudienne (35,4 %) en 2012 [50]. Cependant, ces résultats sont inférieurs à ceux observés chez les Caucasiens comme les Serbes (61 %) en 2011 [51], les Allemands (49,2 %) en 2001 [43] et les Tchèques (47,1 %) en 2006 [52], ainsi que dans plusieurs autres pays tels que le Maroc (49 %) en 2014, l'Inde (46,9 %) en 2009 et la Chine (45,5 %) en 2022 [11, 53, 10]. En revanche, ils étaient supérieurs à ceux observés chez les Ghanéens (0 %) en 2010 [54]. La divergence entre nos résultats et ceux de ces études pourrait s'expliquer par les variations génétiques, géographiques et ethniques entre nos différentes populations ainsi que par la taille de nos échantillons.

La fréquence du génotype CC observée dans la population malienne (67,7 %) était largement supérieure à celle des autres populations, que ce soit la population asiatique, comme en Chine (10,5 %) et au Japon (11 %) en 2006 [10, 55], ou la population européenne, telle que l'Allemagne (34,4 %) et la Roumanie (20,7 %) en 2011 [43, 56]. En revanche dans la population africaine, elle était supérieure à celle du Maroc (43 %) [11], mais inférieure à celle du Ghana (100 % CC) [54]. Cette différence s'explique par la diversité ethnique et géographique de ces populations.

Particulièrement, dans notre étude, la fréquence du génotype homozygote muté TT (2,1 %) était différente de celles rapportées dans plusieurs autres pays, notamment en Turquie (28,9 %) en 2010, au Japon (35,7 %), au Maroc (8,0 %) en 2014 et en Allemagne (16,4 %) en 2001 [13, 54, 11, 43].

La fréquence de l'allèle mutant T était de 17,2 % dans notre population d'étude. Cette fréquence était inférieure à celles rapportées dans plusieurs autres pays, où elle variait selon les populations étudiées. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que la distribution de l'allèle mutant T varie d'une population à l'autre et d'une ethnie à l'autre. La répartition du génotype c.1236C>T du gène *MDR1* selon le sexe a révélé que la fréquence du génotype CT était légèrement plus élevée chez les femmes (18,8 %) que chez les hommes (11,5 %). Toutefois, cette différence n'était pas statistiquement significative ($p = 0,3$).

En ce qui concerne la répartition génotypique selon l'origine ethnique, la différence observée était statistiquement significative ($p < 0,0001$), suggérant que la distribution des génotypes varie en fonction de l'origine ethnique.

Limite de l'étude

La principale limite de cette étude a été les données manquantes dans notre base de données. En effet, certaines variables étaient absentes, telles que le niveau d'instruction et le génotype de certains participants.

Une autre limite peut être due au fait que l'étude n'a concerné que le centre-ville et plus particulièrement le service d'infectiologie du Point G, ce qui pourrait différer de la population générale.

Perspectives :

- ❖ Elargissement de la taille de l'échantillon
- ❖ Mener des études multicentriques
- ❖ Mener des études d'association de ce gène avec des maladies comme le cancer.

7 CONCLUSION

Cette étude a permis de déterminer la distribution génotypique et allélique du polymorphisme c.1236C>T dans la population générale malienne. Les résultats de notre étude ont montré une prédominance du génotype homozygote sauvage CC (67,7 %), suivi de l'hétérozygote muté CT (30,3 %) et de l'homozygote muté TT (2,0 %). L'allèle C'était majoritaire avec 82,8 %, par contre l'allèle T représentait 17,2 %.

Aucun lien statistiquement significatif n'a été observé entre les génotypes et les caractéristiques socio-démographiques dans la population malienne, à l'exception de l'origine ethnique ($p < 0,0001$).

De manière générale, nous avons constaté que nos résultats divergeaient de ceux rapportés dans plusieurs populations comme Européennes, Asiatiques et Nord-africaines, mais se rapprochent plus de ceux de la population saoudienne.

Cependant, nos données constituent des données de référence qui pourront contribuer aux futures études portant sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des médicaments substrats de la P-glycoprotéine (*MDR1*), en particulier celles concernant le polymorphisme c.1236C>T. Elles pourront également servir de base à des études d'association génétique portant sur la susceptibilité à diverses maladies.

8 RECOMMANDATION

❖ Aux autorités Politiques

- Mettre en place des stratégies de financement pérennes pour la recherche en pharmacogénétique et les études d'association génétiques en général, en particulier celles portant sur le polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1* ;
- Accompagner et encourager la réalisation de ces études, dont les résultats pourraient contribuer à une meilleure compréhension des polymorphismes génétiques et à la personnalisation de la prise en charge thérapeutique des patients ;
- Assurer le suivi et une prise en charge efficiente des individus porteurs de polymorphismes spécifiques par la création de centres dédiés.

❖ Aux chercheurs

- Mener des études similaires sur des échantillons de plus grande taille et plus diversifiés afin de mieux comprendre le lien du polymorphisme c.1236C>T du gène *MDR1* et la susceptibilité au développement de certaines maladies, ainsi que la variabilité interindividuelle de la réponse aux traitements.
- Mettre en place une approche multidisciplinaire afin d'élucider davantage les implications cliniques associées à ce polymorphisme.

❖ À la population

- Collaborer avec les chercheurs en participant massivement et en fournissant des informations fiables.

9 REFERENCES

1. García-Carrasco M, Mendoza-Pinto C, Macias Díaz S, et al. La glycoprotéine P dans les maladies rhumatismales auto-immunes. *Autoimmunity Rev.* 2015;14(7):594-600.
2. Chen ML, Sun A, Cao W, et al. Expression physiologique et fonction du transporteur *MDR1* dans les lymphocytes T cytotoxiques. *J Exp Med.* 2020;217: e20191388.
3. Picchianti-Diamanti A, Rosado M, Scarsella M, et al. P-glycoprotéine et résistance aux médicaments dans les maladies auto-immunes systémiques. *Int J Mol Sci.* 2014;15:4965-76.
4. Saib S. Modulations de la P-glycoprotéine et variabilité pharmacocinétique des médicaments : mise au point d'approches in-vitro [thèse de doctorat]. Saint-Etienne : Université Jean Monnet-Saint-Etienne ; 2022.
5. Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV, et al. A "silent" polymorphism in the *MDR1* gene changes substrate specificity. *Science.* 2007;315(5811):525-8.
6. Brinar M, Cukovic-Cavka S, Bozina N, Ravic K, Markos P, Ladic A, et al. *MDR1* polymorphisms are associated with inflammatory bowel disease in a cohort of Croatian IBD patients. *BMC Gastroenterol.* 2013;13:57.
7. Andersen V, Ostergaard M, Christensen J, Overvad K, Tjønneland A, Vogel U. Polymorphisms in the xenobiotic transporter Multidrug Resistance 1 (*MDR1*) and interaction with meat intake in relation to risk of colorectal cancer in a Danish prospective case-cohort study. *BMC Cancer.* 2009;9:407.
8. Jamroziak K, Młynarski W, Balcerczak E, Mistygacz M, Trelińska J, Mirowski M, et al. Functional C3435T polymorphism of *MDR1* gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol.* 2004;72(5):314-21. Available from: PubMed PMID: 15059065.
9. Elghannam D, Ibrahim L, Ebrahim M, Azmy E, Hakem H. Association of *MDR1* gene polymorphism (G2677T) with imatinib response in Egyptian chronic myeloid leukemia patients. *Hematology.* 2014;19(3):123-8. Available from: PubMed PMID: 23683876.
10. Zhang Y, Jiang XH, Hu YQ, Li ZR, Su L, Wang ZG, et al. *MDR1* genotypes do not influence the absorption of a single 600 mg oral dose of valacyclovir in healthy Chinese Han male subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;66(2):247-54.

11. Kassogue Y, Dehbi H, Quachouh M, Quessar A, Benchekroun S, Nadifi S. Single nucleotide polymorphisms of multidrug resistance 1 (*MDR1*) gene and risk of chronic myeloid leukemia. *Tumor Biol.* 2014;35(10):10013-8
12. GRATIEN D, Marilyne. Etude rétrospective de l'influence des polymorphismes génétiques de CYP3A4, CYP3A5 et *ABCB1* des donneurs et des receveurs sur les effets des immunosuppresseurs en transplantation hépatique. 2015. Thèse de doctorat. Université de Limoges
13. Gümüş-Akay G, Rüstemoğlu A, Karadağ A, Sunguroğlu A. Genotype and allele frequencies of *MDR1* gene C.1236C>T polymorphism in a Turkish population. *Genet Mol Res.* 2008 Oct 28;7(4):1193-9. PMID: 19048498.
14. Riordan, J., Deuchars, K., Kartner, N., Alon, N., Trent, J., and Ling, V. Amplification of P-glycoprotein genes in multidrug-resistant mammalian cell lines. *Nature* 1985 ;316(6031) :817-9.
15. Gottesman MM, Ling V. The molecular basis of multidrug resistance in cancer: The early years of P-glycoprotein research. *FEBS Lett.* 2006;580(4):998-1009.
16. Bodor M, Kelly EJ, Ho RJ. Characterization of the human *MDR1* gene. *AAPS J.* 2005;7(1):E1-5.
17. Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, Schwab M, Nies AT. Impact of Genetic Polymorphisms of *ABCB1* (*MDR1*, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature. *Clin Pharmacokinet.* 2015;54(7):709-35.
18. Stöckel B, König J, Nies AT, Cui Y, Brom M, Keppler D. Characterization of the 5'-flanking region of the human multidrug resistance protein 2 (*MRP2*) gene and its regulation in comparison with the multidrug resistance protein 3 (*MRP3*) gene. *Eur J Biochem.* 2000;267(5):1347-58.
19. Hu Z, Jin S, Scotto KW. Transcriptional activation of the *MDR1* gene by UV irradiation. Role of NF-Y and Sp1. *J Biol Chem.* 2000;275(4):2979-85.
20. Cornwell MM, Smith DE. SP1 activates the *MDR1* promoter through one of two distinct G-rich regions that modulate promoter activity. *J Biol Chem.* 1993;268(26):19505-11.
21. Chinn LW, Kroetz DL. *ABCB1* pharmacogenetics: progress, pitfalls, and promise. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;81(2):265-9.

22. Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim RB. Polymorphisms in human *MDR1* (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;75(1):13-33.
23. Cole SP. Patterns of cross-resistance in a multidrug-resistant small-cell lung carcinoma cell line. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1990;26(4):250-6.
24. Chen CJ, Clark D, Ueda K, Pastan I, Gottesman MM, Roninson IB. Genomic organization of the human multidrug resistance (*MDR1*) gene and origin of P-glycoproteins. *J Biol Chem.* 1990;265(9):506-14.
25. Skinner KT, Palkar AM, Hong AL. Genetics of *ABCB1* in Cancer. *Cancers.* 2023;15(17):4236.
26. Aller SG, Yu J, Ward A, Weng Y, Chittaboina S, Zhuo R, et al. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science.* 2009;323(5922):1718-22.
27. Sharom FJ. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics.* 2008;9(1):105-27.
28. Yoshimori M, Takada H, Imadome K, Kurata M, Yamamoto K, Koyama T, et al. P-glycoprotein is expressed and causes resistance to chemotherapy in Epstein-Barr virus-associated T-cell lymphoproliferative diseases. *Cancer Med.* 2015;4(10):1494-504.
29. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. Pharmacogenetics of Drug Transporters and Its Impact on the Pharmacotherapy. *Curr Topics Med Chem.* 2004;4(13):1383-96.
30. Marie S. Imagerie translationnelle pour la mise en évidence des répercussions pharmacocinétiques des transporteurs de médicaments [thèse de doctorat]. Université Paris-Saclay; 2020
31. Dastvan R, Mishra S, Peskova YB, Nakamoto RK, Mchaourab HS. Mechanism of allosteric modulation of P-glycoprotein by transport substrates and inhibitors. *Science.* 2019;364(6441):689-92.
32. Mollazadeh S, Hadizadeh F, Ferreira RJ. Theoretical studies on 1,4-dihydropyridine derivatives as allosteric inhibitors of P-glycoprotein: insights into symmetry and stereochemistry. *J Biomol Struct Dyn.* 2021;39(13):4752-63.
33. Mollazadeh S, Sahebkar A, Hadizadeh F, Behravan J, Arabzadeh S. Structural and functional aspects of P-glycoprotein and its inhibitors. *Life Sci.* 2018;214:118-23.

34. Ekins S, Kim RB, Leake BF, Dantzig AH, Schuetz EG, Lan LB, et al. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships of inhibitors of P-glycoprotein. *Mol Pharmacol*. 2002;61(5):964-73.
35. Srivastava S, Choudhary BS, Sharma M, Malik R. Pharmacophore modeling and 3D-QSAR studies of galloylbenzamides as potent inhibitors of P-GP. *Med Chem Res*. 2016;25(6):1140-7.
36. Kapoor K, Pant S, Tajkhorshid E. Active participation of membrane lipids in inhibition of the drug transporter P-glycoprotein. *Chem Sci*. 2021;12(18):6293-306.
37. Gao Y, Wei C, Luo L, Tang Y, Yu Y, Li Y, et al. Membrane-assisted access and binding mechanisms of tariquidar to the human ABC transporter P-glycoprotein. *Front Mol Biosci*. 2024;11:1344400.
38. Callaghan R, Crowley E, Potter S, Kerr ID. P-glycoprotein: multi-drug a molecular mechanism of action. *J Clin Pharmacol*. 2008;48(3):365-78.
39. Sauna ZE, Müller M, Peng XH, Ambudkar SV. Importance of the conserved Walker B glutamate residues, 556 and 1201, for the completion of the catalytic cycle of ATP hydrolysis by human P-glycoprotein (*ABCB1*). *Biochemistry*. 2002;41(47):13989-14000.
40. Loo TW, Bartlett MC, Clarke DM. Mutations affecting maturation of the human multidrug resistance P-glycoprotein disrupt interactions between the nucleotide-binding domains. *J Biol Chem*. 2004;279(37):38395-401.
41. Leschziner GD, Andrew T, Pirmohamed M, Johnson MR. *ABCB1* genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research. *Pharmacogenomics J*. 2007;7(3):154-79.
42. Siegmund W, Ludwig K, Giessmann T, Dazert P, Schroeder E, Sperker B, et al. The effects of the human *MDR1* genotype on the expression of duodenal P-glycoprotein and disposition of the probe drug talinolol. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;72(5):572-83.
43. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, et al. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter *MDR1* gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):169-74.
44. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Bröckmoller J, Johne A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(7):3473-8.

45. Dey S. Single nucleotide polymorphisms in human P-glycoprotein: its impact on drug delivery and disposition. *Expert Opin Drug Deliv.* 2006;3(1):23-35.
46. Wang D, Johnson AD, Papp AC, Kroetz DL, Sadee W. Multidrug resistance polypeptide 1 (*MDR1*, *ABCB1*) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics.* 2005;15(10):693-704.
47. Institut National de la Statistique (INSTAT) Mali. Santé, emploi, sécurité alimentaire et dépenses de consommation des ménages : Octobre-décembre 2017. Bamako: INSTAT; 2018.
48. Kassogué O. Distribution génotypique des gènes *GSTM1* et *GSTT1* dans la population générale malienne [thèse de doctorat]. Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB); 2019.
49. Gariko A. Distribution du polymorphisme *c677t* du gène méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHFR*) dans la population générale au Mali [thèse de doctorat]. Bamako: Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB); 2024.
50. Al-Mohizea AM, Alkharfy KM, Bagulb KM, Alghamdi AM, Al-Jenoobi FI, Al-Muhsen S, et al. Genetic variability and haplotype profile of *MDR1* in Saudi Arabian males. *Mol Biol Rep.* 2012;39(11):10293-301.
51. Milojkovic M, Stojnev S, Jovanovic I, Ljubisavljevic S, Stefanovic V, Sunder-Plassmann R. Frequency of the c.1236C>T, c.2677G>T/A and C3435T *MDR1* gene polymorphisms in the Serbian population. *Pharmacol Rep.* 2011;63(3):808-14.
52. Pechandová K, Buzková H, Slanar O, Perlík F. Polymorphisms of the *MDR1* gene in the Czech population. *Folia Biol (Praha).* 2006;52(6):184-9.
53. Lakhan R, Misra U, Kalita J, Pradhan S, Gogtay N, Singh M, et al. No association of *ABCB1* polymorphisms with drug-refractory epilepsy in a north Indian population. *Epilepsy Behav.* 2009;14(1):78-82.
54. Kudzi W, Dodoo AN, Mills JJ. Genetic polymorphisms in *MDR1*, *CYP3A4* and *CYP3A5* genes in a Ghanaian population: a plausible explanation for altered metabolism of ivermectin in humans? *BMC Med Genet.* 2010;11:1-8.
55. Omoto CK, Akamura TN, Akaeda TS, Roetz DLK, Amada TY, Matsu HO, et al. *MDR1* haplotype frequencies in Japanese and Caucasian, and in Japanese patients with colorectal cancer and esophageal cancer. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2006;21(2):126–132.

56. Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Maasz A, Takacs I, et al. Genetic Variability and Haplotype Profile of *MDR1* (*ABCB1*) in Roma and Hungarian Population Samples with a Review of the Literature. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2011;26(2):206–215.

10 ANNEXES :

ANNEXE 1 : Questionnaire

FICHE D'EXPLOITATION SPATOMA TMA2016CDF-1566

TEMOIN (PERSONNE EN BONNE SANTE)

Date de recrutement :

Service :

Numéro de dossier :/...../..... (1^{er} espace correspond aux initiales du participant (Nom et Prénom), le 2^{ème} au numéro de série du participant et le 3^{ème} à T comme témoin).

Nom du recruteur :

Renseignements personnels

Nom :

Prénom :

Date de naissance :

Sexe : /...../ **1. Féminin** **2. Masculin**

Adresse :

Profession :

Téléphone :

Origine ethnique :

Statut matrimonial : /...../ **1. Célibataire** **2. Marié** **3. Divorcé** **4. Veuf(ve)** **5. Autres**

Régime matrimonial : /...../ **1. Monogamie** **2. Polygamie**

Niveau d'instruction : /...../ **1. Non scolarisé** **2. Primaire** **3. Secondaire** **4. Professionnel**

5. Supérieur

ANNEXE 2 : Consentement éclairé

CONSENTEMENT ECLAIRE POUR PARTICIPER A L'ETUDE

PHARMACOGENETIQUE

Je, soussigné(e), M./Mme.....confirme que :

- J'ai reçu une explication détaillée sur le projet d'étude intitulé « Etude de la pharmacogénétique des antirétroviraux au Mali, Afrique de l'Ouest » envisagé par le Dr..... comme indiqué dans la fiche d'information datée.
- J'ai eu l'opportunité de poser des questions sur le projet et sur ma participation.
- J'accepte volontairement de participer au projet.
- Je comprends que ma participation exige :
 - Un prélèvement sanguin
 - Un questionnaire à remplir
- Je comprends que je peux me retirer à tout moment sans donner de raisons et que je ne serai pas pénalisé pour mon retrait et je ne serai pas interrogé sur les raisons pour lesquelles je me suis retiré.
- Je déclare avoir été pleinement informé de la nature des études à effectuer sur mon sang.
- J'autorise la collecte, la saisie et le traitement des données contenues dans mes dossiers médicaux dans le strict respect du secret médical.
- L'utilisation des données de la recherche à travers les publications, le partage et l'archivage m'a été bien expliquée.
- Je comprends que les autres chercheurs n'auront accès à ces données que s'ils acceptent de préserver la confidentialité des données et s'ils acceptent les termes que j'ai spécifiés dans ce formulaire.
- J'ai reçu un duplicata signé de ce formulaire de consentement que je garderai.
- J'accepte volontairement de participer à cette étude en signant ce consentement en tant que:

A. TEMOIN (PERSONNE EN BONNE SANTE)

B. PATIENT

.....

.....

...../...../.....

Nom du participant

Signature

Date

.....

.....

...../...../.....

Nom de l'investigateur

Signature

Date

ANNEXE 3 : Fiche d'information

. **Titre du projet de recherche:** Etude de la pharmacogénétique des antirétroviraux au Mali, Afrique de l'Ouest.

Investigateurs

Dr. Yaya KASSOGUE, MD, PhD; Téléphone : 00223 60313685

Dr Bréhima DIAKITE, MD,

PhD Dr Issa KONATE,

MD, DES

Sponsor : Union Européenne (Numéro de référence : TMA2016CDF-1566)

Nom du volontaire : _____

Prénom

Nom

Numéro d'identification du volontaire----- _____

Age : ____ **Ans**

INTRODUCTION

Nous vous invitons à participer à cette étude de recherche financée par l'Union européenne à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie/Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako (FMOS/USTTB). Avant de décider de participer, vous pouvez autant de fois que vous souhaitez poser des questions et d'en discuter avec les investigateurs du projet ou avec votre famille, vos amis, votre médecin personnel ou d'autres professionnels de la santé. Vous pouvez conserver une copie non signée de ce formulaire de consentement et d'autorisation pour réfléchir à votre décision ou discuter avec votre famille, vos amis ou votre médecin de premier recours avant de prendre votre décision de participer ou non à cette étude de recherche.

Cette étude de recherche a été approuvée par le Comité d'éthique de la FMOS/USTTB suivant la lettre **N°2018/113/CE/FMPOS** du 13 août 2018 et sera menée conformément au décret N° 2017-

0245/P-RM du 13 Mars 2017 fixant les modalités d'application de la loi N° 09-059 du 28 Décembre 2009 régissant la recherche biomédicale sur l'être humain.

POURQUOI CETTE ETUDE EST REALISEE ?

L'objectif de cette recherche est d'étudier la distribution des gènes qui ont un intérêt pharmacogénétique dans la population générale et chez les patients. L'étude porte sur l'influence du patrimoine génétique de l'individu sur les résultats thérapeutiques des médicaments. Cette étude explore les SNP (mutations non-délétères) dans les gènes du cytochrome P 450, de la glutathion S- transférase et du gène de résistance multiple aux médicaments. Nous vous demandons de participer à cette étude en tant que sujet sain ou patient âgé de 18 à 75 ans. La participation à cette étude impliquera la collecte des informations de vos dossiers médicaux et votre information génétique qui sera obtenue à partir de l'ADN isolé du sang. Les gènes sont composés du matériel génétique appelé ADN (acide désoxyribonucléique) qui est la partie de la cellule qui est responsable des caractéristiques héréditaires (comme la couleur des yeux ou la couleur des cheveux, etc.). Les résultats qui seront obtenus dans cette étude pourraient être très bénéfiques pour les générations futures et pour les personnes qui souffrent de maladies ou d'affections particulières à travers la mise en place d'une stratégie de prévention, de diagnostic et de traitement.

QUI PEUT PARTICIPER À CETTE ÉTUDE ?

Au total, 355 participants en bonne santé et 710 patients HIV positifs seront enrôlés dans cette étude pendant trois ans.

Vous êtes éligible à participer à l'étude si :

- Vous acceptez de donner votre accord pour la participation
- Vous êtes âgés de 18 à 75 ans. ☐
- **Vous êtes un sujet apparemment en bonne santé**

- **Vous êtes un sujet HIV1 positif** ☐
- Vous avez la volonté et la capacité de donner un consentement éclairé.
- Vous avez la volonté et la capacité à donner des échantillons biologiques requis pour l'étude.
- Vous avez la volonté de donner votre consentement pour l'utilisation future des échantillons biologiques collectés donnés.

Vous n'êtes pas éligible si :

- Vous refusez de donner votre accord pour la participation
- Vous êtes âgé de moins de 18 ans et plus de 75 ans.
- Vous recevez des médicaments autres que les antirétroviraux (sauf une semaine de traitement antipaludéen) pouvant potentiellement interagir avec le métabolisme des ARV.
- Vous êtes un patient atteint de maladies rénales ou hépatiques chroniques.
- Vous êtes un patient alcoolique.
- Vous avez un problème médical connu ou toutes autres circonstances qui, selon l'avis des médecins de l'étude, pourraient rendre votre participation difficile ou néfaste pour votre santé.

Si vous acceptez de participer à cette étude en signant ce formulaire de consentement, nous allons vous poser des questions sur vos informations démographiques et votre santé. Ces questions comprendront le sexe, l'âge et d'antécédent de toute maladie actuelle ou passé, les maladies familiales connues.

IMPORTANCE DE VOTRE ADN POUR LA RECHERCHE

Nous, les scientifiques, pouvons apprendre beaucoup de l'étude de l'ADN et des informations médicales des personnes souffrant de problèmes médicaux et des informations

concernant les sujets en bonne santé. Celles-ci sont utilisées pour la recherche sur des gènes qui provoquent des différences individuelles dans le résultat du traitement d'un médicament donné.

STOCKAGE DE L'ADN ET DES INFORMATIONS MÉDICALES

Votre ADN sera utilisé pour la recherche génétique directement liée au présent projet. De plus, si les chercheurs souhaitent utiliser votre ADN stocké pour des recherches supplémentaires dans ce domaine, ils devront demander la permission du comité d'éthique de la FMOS/FAPH//USTTB. Les données provenant de l'ADN et des dossiers médicaux recueillies auprès de vous seront stockées dans le référentiel sur un serveur sécurisé, chiffré et protégé par mot de passe hébergé dans le gestionnaire des données du ICER-Mali-IT (*Secure Storage Services*). Ces données comprendront des informations sur votre âge, votre sexe, votre poids et vos paramètres biologiques dans le temps, mais aussi l'information génétique dérivée de l'analyse de votre ADN. Votre ADN et ces informations seront stockés de manière codée pour garder votre identité personnelle secrète.

PARTICIPATION A CETTE ETUDE

Si vous acceptez de participer à cette étude et que vous répondez aux critères d'inclusion. Nous procéderons à un prélèvement de 5 millilitres de sang par ponction veineuse, qui constitue une méthode de routine utilisée pour obtenir des échantillons de sang et un questionnaire à remplir. Une aiguille est insérée dans une veine du bras et un échantillon de sang est prélevé dans un tube. Bien qu'une ponction veineuse soit généralement suffisante, une seconde peut être nécessaire si la première n'est pas réussie. Vos échantillons de sang seront codés. Seuls, Dr Yaya Kassogue et Prof. Seydou Doumbia auront la clé du code pour lier vos informations personnelles aux résultats génétiques. Nous garderons confidentiels votre nom et toute autre information personnelle que nous apprenons sur vous. Nous prendrons les mesures suivantes pour assurer la confidentialité. Votre nom, votre date de naissance et toute autre information d'identification personnelle seront supprimés de vos données et échantillons. Ils seront liés à vos échantillons uniquement par un numéro de code. La clé de code pour les échantillons sera stockée dans une base de données protégée par mot de passe sous le contrôle du Dr. Yaya Kassogue et du Pr. Seydou Doumbia. Les renseignements médicaux, les échantillons et les données génétiques partagés avec d'autres personnes seront codés et ne comprendront pas d'information d'identification (nom, adresse, numéro de téléphone ou numéro d'identification personnel). Vos échantillons d'ADN codés

peuvent être analysés dans un autre laboratoire, mais ils n'auront pas la clé du code. Seuls, Dr. Yaya Kassogue et Pr. Seydou Doumbia auront la clé du code pour lier vos informations personnelles aux résultats génétique

INFORMATION CONCERNANT LA RECHERCHE GENETIQUE

Votre sang sera testé pour les facteurs génétiques qui affectent les résultats du traitement à un médicament donné et l'information obtenue peut révéler des informations génétiques sur vous. Cette information sera gardée confidentielle. Dans le cas où le profil génétique d'un participant montre, qu'il est plus exposé à développer des effets indésirables sur les médicaments, et ceci au-delà des médicaments prescrits dans cette étude.

RISQUE DE PARTICIPATION A CETTE ETUDE

Prise de sang : peut causer de la douleur et/ou des ecchymoses à l'endroit où le sang a été prélevé. En de rares occasions, il peut provoquer des étourdissements ou des évanouissements et une infection.

Risque psychologique : Si vous vous sentez angoissé de quelque façon que ce soit pour une raison inconnue, la personne qui explique l'étude s'arrêtera.

Confidentialité : votre échantillon génétique et vos informations seront codés et votre identifiant modifié avant le dépôt dans le référentiel, le risque d'identification est extrêmement faible. Seuls, le Dr. Yaya Kassogue et le Pr. Seydou Doumbia auront la clé du code qui lie votre numéro d'étude unique et vos informations personnelles. Votre identité ne peut pas être facilement découverte ou associée aux données par les autres chercheurs.

AVANTAGE POUR LE PARTICIPANT A CETTE ETUDE

Il n'y a aucun avantage direct de participer à cette étude de recherche ; cependant, les données et les échantillons recueillis dans cette étude pourraient être utiles à l'avenir pour établir un test de pharmacogénétique pour les patients avant l'administration du médicament.

PARTICIPATION VOLONTAIRE/RETRAIT D'ETUDE

Vous n'êtes pas obligé de participer à cette étude. Votre participation à cette étude est entièrement volontaire et vous pouvez refuser de participer ou cesser de participer à tout moment sans pénalité ni perte d'avantages auxquels vous auriez normalement droit. Votre décision de participer ou non à l'étude n'affectera pas les soins assurés par votre médecin. Vous avez le droit de retirer votre autorisation (révoquer l'autorisation) de participation à l'étude en contactant l'investigateur en charge de l'étude :

Yaya Kassogue, MD, PhD

Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie
Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de
Bamako PB : 1805
Cellulaire : 00223 60313685

Dans ce cas, aucune autre information sur la santé ne sera recueillie et l'échantillon de sang sera détruit.

ALTERNATIVES POUR PARTICIPER A CETTE ETUDE

Si vous décidez de ne pas participer à cette étude, aucune information personnelle, aucun dossier médical ne seront enregistrés et aucun sang ne sera prélevé à des fins de recherche.

COUTS DE PARTICIPATION A CETTE ETUDE

Il n'y a aucun coût pour vous ou votre compagnie d'assurances pour participer à cette étude

COMPENSATION POUR LA PARTICIPATION

Chaque participant sera compensé à hauteur de 5.000 FCFA pour le temps perdu et les efforts de voyage. Certaines recherches utilisant du sang ou des tissus humains, peuvent permettre aux chercheurs de développer des tests ou des traitements médicaux ayant une valeur commerciale. Il n'est pas prévu de vous fournir, ni à votre famille, d'argent pouvant, en résulter de ces tests ou de ces traitements commerciaux.

ET SI VOUS AVEZ DES QUESTIONS ?

Les participants sont encouragés à poser des questions. Si vous avez des questions au sujet de la recherche, veuillez communiquer avec l'un des investigateurs ci-dessous :

Dr Yaya KASSOGUE, FMOS/USTTB au (00223)
60313685 Dr Bréhima DIAKITE, FMOS/USTTB au
(00223) 67 16 01 16

Dr. Issa KONATE, FMOS/USTTB au (00223) 65 66 68 06

Si vous avez des questions sur vos droits en tant que participant de recherche ou pour toute autre question, préoccupations ou plaintes concernant cette recherche, veuillez communiquer avec le comité d'éthique de la FMOS/FAPH. Le comité d'éthique évalue et supervise les études de recherche sur les personnes. Il protège les droits et le bien-être des personnes qui participent aux études de recherche. Leur contact est le suivant :

1. Pr Mamadou Marouf KEITA, (Bamako, Mali), président du comité d'éthique à la FMOS/FAPH ; cellulaire : (00223) 6672 20 22; Email : keitamamadoumarouf@yahoo.fr

2. Pr Mahamadou DIAKITE, Secrétaire Principal du CE de la FMOS et FAPH de l'USTTB, BP : 1805, Téléphone : (00223) 76 23 11 91 Email : mdiakite@icermali.org

CONFIDENTIALITE DES DOSSIERS ET AUTORISATION D'UTILISER/PARTAGER DES RENSEIGNEMENTS PROTÉGÉS SUR LA SANTÉ POUR LA RECHERCHE

Si vous acceptez de participer à cette étude, des informations protégées vous concernant seront utilisées et partagées avec d'autres personnes impliquées dans cette étude. Pour que vous soyez dans cette étude, nous avons besoin de votre permission pour collecter et partager ces informations. Les politiques institutionnelles protègent votre droit à la vie privée concernant ces informations. Lorsque vous signez ce formulaire de consentement à la fin, cela signifie que vous avez lu cette section et autorisez l'utilisation et/ou le partage de vos informations protégées comme c'est expliqué ci-dessous.

Les informations de santé identifiables individuellement dans le cadre des politiques de confidentialité de l'établissement sont considérées comme des informations provenant de votre dossier médical, ou obtenues à partir de cette étude, qui peuvent vous être associées et concernent votre état physique passé, présent ou futur. C'est ce que nous appelons une information de santé protégée.

Vos informations de santé protégées seront gardées confidentielles. Votre identité ne sera révélée dans aucune publication ou présentation des résultats de cette étude. Nous ferons tout ce qui est en notre pouvoir pour empêcher les autres de connaître votre participation à cette étude.

POURQUOI EST-IL NECESSAIRE D'UTILISER/PARTAGER LES INFORMATIONS PROTEGEES SUR VOTRE SANTE AVEC D'AUTRES ?

La raison principale pour utiliser et partager vos informations de santé est de mener la recherche comme décrit dans ce formulaire de consentement. Vos informations peuvent également être partagées avec des personnes et des organisations qui s'assurent que la recherche est effectuée correctement et rapportent les effets secondaires inattendus ou négatifs que vous pourriez avoir.

QUELLES INFORMATIONS DE SANTÉ PROTÉGÉES VOUS CONCERNANT SERONT UTILISÉES OU PARTAGÉES AVEC D'AUTRES PERSONNES DANS LE CADRE DE CETTE RECHERCHE ?

Nous pouvons utiliser et partager les résultats des tests génétiques, les informations provenant de vos dossiers médicaux ; nous ne collecterons que les informations nécessaires à l'étude.

QUI SERA AUTORISE À UTILISER ET/OU PARTAGER VOS RENSEIGNEMENTS PROTÉGÉS ?

Les chercheurs de la Faculté de médecine et d'odontostomatologie (FMOS) / USTTB dans le cadre de la recherche utiliseront vos informations de santé protégées pour cette étude de recherche. En outre, le comité d'éthique institutionnel de la FMOS/FAPH, qui est chargé de protéger les droits des sujets de recherche, qui supervisent la manière dont la recherche est effectuée, peut avoir accès à vos informations protégées.

AVEC QUI LES INFORMATIONS PROTEGEES SUR VOTRE SANTE SERONT-ELLES PARTAGEES ?

Vos informations protégées peuvent être partagées avec le comité d'éthique de la FMOS/FAPH/USTTB qui supervise la manière dont la recherche est menée, ainsi qu'avec l'EDCTP (qui sponsorise la présente étude) à des fins de suivi et de statistiques. Tous les efforts raisonnables seront utilisés pour protéger la confidentialité de vos informations de santé.

PENDANT COMBIEN DE TEMPS VOS INFORMATIONS PROTEGEES SERONT-ELLES UTILISEES OU PARTAGEES AVEC D'AUTRES ?

Il n'y a pas de date prévue pour laquelle cette information sera détruite ou ne sera plus utilisée. En effet, les informations collectées à des fins de recherche continuent d'être utilisées et analysées pendant de nombreuses années et il n'est pas possible de déterminer quand elles seront complètes.

POUVEZ-VOUS RETIREZ L'AUTORISATION DE COLLECTER/UTILISER/PARTAGER VOS INFORMATIONS PROTÉGÉS ?

Vous avez le droit de retirer votre autorisation (révoquer l'autorisation), en soumettant votre demande par écrit à l'investigateur en charge de l'étude. Cela signifie qu'aucune autre information privée sur la santé ne sera recueillie. Une fois l'autorisation révoquée, vous ne pouvez plus participer à cette activité de recherche, mais les soins médicaux et les autres avantages auxquels vous avez droit ne seront pas affectés. La révocation de votre

autorisation affecte uniquement les utilisations et le partage des informations obtenues après réception de votre demande écrite, mais pas les informations obtenues avant cette date.

POUVEZ-VOUS AVOIR ACCES A VOS INFORMATIONS PROTEGES ?

Pour des raisons éthiques, les participants ne recevront pas leurs données génomiques. Cependant, s'ils le souhaitent, ils auront l'opportunité de recevoir un aperçu des profils génétiques des gènes sélectionnés que nous allons générer à partir de leur ADN. Cet aperçu sera fourni à des fins éducatives seulement.