



HAL
open science

Identification de biomarqueurs génétiques de réponse à la venlafaxine dans une cohorte de patients déprimés

Adela Taranu

► **To cite this version:**

Adela Taranu. Identification de biomarqueurs génétiques de réponse à la venlafaxine dans une cohorte de patients déprimés. Génétique humaine. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. Français. NNT : 2017SACLS356 . tel-01685843

HAL Id: tel-01685843

<https://theses.hal.science/tel-01685843>

Submitted on 16 Jan 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

NNT : 2017SACLS356

THESE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITÉ PARIS-SACLAY
PRÉPARÉE À

INSERM UMR 1178, Équipe « Dépression »
CESP

INSERM UMR 1184 dirigée par Pr Roger LEGRAND
Équipe « Contrôle des infections virales (CoVir) » Pr Olivier LAMBOTTE

FACULTÉ DE MEDECINE

ÉCOLE DOCTORALE DE SANTÉ PUBLIQUE

Spécialité de doctorat : Recherche Clinique

Par

Mme Adéla TARANU

**Identification de biomarqueurs génétiques
de réponse à la venlafaxine
dans une cohorte de patients déprimés**

**Directeurs de thèse : Pr Céline VERSTUYFT
Pr Emmanuelle CORRUBLE**

Thèse présentée et soutenue à Le Kremlin Bicêtre, le 23 octobre 2017

Composition du Jury :

Mme Caroline VICTORRI-VIGNEAU	MCU-PH (CHU Nantes - INSERM U1246)	Rapporteur
Mme Sandrine KATSAHIAN	PU-PH (CHU HEGP - INSERM U1138)	Rapporteur
Mr Jean Claude ALVAREZ	PU-PH (CHU Garches - INSERM U1173)	Président
Mme Gisèle PICKERING	PU-PH (CHU Clermont Ferrand-INSERM U1107)	Examineur
Mr Jérôme BOULIGAND	MCU-PH (CHU Kremlin Bicêtre - INSERM U1185)	Examineur
Mme Céline VERSTUYFT	PU-PH (CHU Kremlin Bicêtre - INSERM U1184)	Directeur de thèse
Mme Emmanuelle CORRUBLE	PU-PH (CHU Kremlin Bicêtre -INSERM U1178)	Directeur de thèse

Dédicace

Je dédie cette thèse à ma famille. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous m'avez apportés pendant toutes ces années, d'avoir été toujours à mes côtés et de m'avoir toujours encouragée même de loin. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, amour et considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui...

Remerciements

Je souhaiterais remercier Madame le Professeur Céline VERSTUYFT qui a fait l'honneur d'encadrer et diriger ce travail de thèse. Merci pour vos conseils, pour l'attention avec laquelle vous avez accompagné mes travaux de recherche, votre réactivité et surtout votre patience. Vos qualités scientifiques et d'enseignement sont très utiles pour moi chaque jour. C'est avec une grande reconnaissance et respect que je vous remercie. Je n'oublierai pas la confiance que vous m'avez accordée pour la réalisation de ce projet de thèse ainsi que celui de mon mémoire d'ingénieur.

Je remercie Madame le Professeur Emmanuelle CORRUBLE de m'avoir acceptée au sein de son laboratoire, pour son encadrement, ses conseils et sa patience. Je vous remercie de m'avoir transmis de nombreuses notions de Santé publique et psychiatrie, pour vos qualités scientifiques qui sont des modèles pour moi. Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée pour la réalisation de ce projet très ambitieux.

Je souhaite remercier Monsieur le Professeur Laurent BECQUEMONT, Madame le Docteur Florence GRESSIER, Monsieur le Docteur Romain COLLE et Khalil EL ASMAR pour leurs contributions à la réalisation de mes publications. Je remercie également le reste de l'équipe U1178 « Dépression » pour nos échanges scientifiques en psychiatrie.

Je souhaiterais également remercier Monsieur le Professeur Roger LE GRAND et Monsieur le Professeur Olivier LAMBOTTE de m'avoir acceptée dans leur équipe. Un grand merci à Monsieur le Professeur Olivier LAMBOTTE de m'avoir soutenue dans des moments qui n'ont pas été évidents pour moi.

Un grand merci à Madame le Docteur Christine BOURGEOIS. Je me rappelle jusqu'à présent la gentillesse avec laquelle vous m'avez félicitée pour ma première présentation à la journée des doctorants du CEA et accueillie ensuite au sein de l'unité. Je n'oublierai jamais votre disponibilité, vos qualités humaines, votre temps et votre humour, qui m'ont tellement aidé à gérer les moments les plus difficiles. Vous m'avez beaucoup guidée, conseillée et soutenue et pour ceci je vous remercie. Votre porte a toujours été ouverte pour moi et je ne l'oublierai jamais.

Je remercie également l'équipe de l'unité 1184. Je n'oublierai jamais nos discussions de midi, votre soutien quand j'en avais besoin, les blagues sur mon côté Russe. J'ai apprécié nos échanges, j'ai appris beaucoup de choses sur l'immunologie, comme par exemple tous les clusters de différenciation aka, tous les « cd ».

Je remercie également tout le personnel du service GMPH de l'hôpital Kremlin Bicêtre pour leur accueil et encouragements et notamment Monsieur le Docteur Jérôme BOULIGAND pour la formation sur le NGS qu'il m'a fournie.

Je souhaiterais remercier toute l'équipe de l'ED Santé Publique qui m'a accompagnée durant ce projet avec des conseils, réponses à mes questions, une formation intéressante et des échanges constructifs. Un grand merci au directeur de l'ED, Monsieur le Professeur Jean BOUYER pour son soutien, à mon tuteur de doctorat, Madame le docteur Raphaëlle VARRASO et à l'assistante de l'ED, Fabienne RENOIRT.

Je remercie tous mes amis qui m'ont écoutée pendant des heures et des heures à parler de ma thèse et qui m'ont tellement soutenue pendant des moments pas évidents : Alice, Zineb, Manon, MG, Angéla, Tatiana, Sveta et les autres. Merci pour vos encouragements et l'optimisme que vous essayez de me transmettre à chaque fois.

Je remercie Lamouri, qui a gentiment relu ma thèse et passé des heures à corriger les erreurs d'orthographe et de frappe. Merci pour tes encouragements et ton soutien, qui m'est très, très cher.

Je souhaite remercier ma famille, sans laquelle je ne serais jamais arrivée à ces 4h du matin à écrire les remerciements de ma thèse. Merci de m'avoir soutenue dans mes idées les plus folles et ambitieuses, comme celle de venir à Paris pour réaliser mes études. Vous êtes tout pour moi....

Productions scientifiques issues du travail de thèse

Publications

Taranu A, Colle R, Gressier F, El Asmar K, Becquemont L, Corruble E and Verstuyft C (2017) Should a routine genotyping of CYP2D6 and CYP2C19 genetic polymorphisms be recommended to predict venlafaxine efficacy in depressed patients treated in psychiatric settings? *Pharmacogenomics* 18(7) :639-650.

Taranu A, Asmar KE, Colle R, Ferreri F, Polosan M, David D, Becquemont L, Corruble E and Verstuyft C (2017) The COMT Val(108/158)Met Genetic Polymorphism can not be Recommended as a Biomarker of Prediction of Venlafaxine Efficacy in Patients treated in Psychiatric settings. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* doi: 10.1111/bcpt.12827. [Epub ahead of print].

Colle R, Deflesselle E, Martin S, David DJ, Hardy P, **Taranu A**, Falissard B, Verstuyft C and Corruble E (2015) BDNF/TRKB/P75NTR polymorphisms and their consequences on antidepressant efficacy in depressed patients. *Pharmacogenomics*:1-17.

Taranu A, Colle R, L. Becquemont, E Corruble, Verstuyft C Drug transporters involved in the central nervous system: OCTs and PMAT and the modulation of Major Depression Disorder. Article en cours de correction, soumission prévue en septembre à la revue *Fundamental & Clinical Pharmacology*.

Communications

A Taranu, F Gressier, R Colle, L Becquemont, E Corruble (2016) Impact of the cytochrome CYP2D6 and CYP2C19 phenotype on venlafaxine efficacy in major depression. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, 30 (Suppl. 1), 25–35, PM2-015.

A Taranu, R Colle K El Asmar, L Becquemont, E Corruble, C Verstuyft (2017) The *COMT Val(108/158)Met* genetic polymorphism and response to venlafaxine in patients with major depression. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique, 31 (Suppl. 1), 5–20, CO – 025.

Sommaire

LISTE DES ABREVIATIONS	1
LISTE DES FIGURES	3
LISTE DES TABLEAUX	4
I PREMIERE PARTIE	5
I. Introduction	5
I.1 La dépression majeure : enjeu de Santé Publique	7
I.2 Pharmacogénétique et Santé Publique	10
I.3 Médecine personnalisée : enjeu de Santé Publique	11
I.4 Antidépresseurs et Santé Publique	14
I.5 Médicaments antidépresseurs	14
I.6 Généralités sur la pharmacogénétique	20
I.6.1 Pharmacogénétique des gènes impliqués dans la pharmacodynamie des antidépresseurs	21
I.6.2 Pharmacogénétique des gènes impliqués dans la pharmacocinétique des antidépresseurs	21
I.6.2.1 Principaux enzymes impliqués dans le métabolisme des antidépresseurs et composés endogènes	21
I.6.2.1.1 Polymorphismes génétiques du CYP2D6	24
I.6.2.1.2 CYP2D6 et métabolisme des composés endogènes	26
I.6.2.1.3 CYP2D6 et métabolisme des antidépresseurs	27
I.6.2.1.4 Polymorphismes génétiques du CYP2C19	30
I.6.2.1.5 CYP2C19 et métabolisme des composés endogènes	31
I.6.2.1.6 CYP2C19 et métabolisme des antidépresseurs	32
I.6.2.1.7 CYP2D6, CYP2C19 et métabolisme de la venlafaxine	33
I.6.2.2 Pharmacogénétique des transporteurs impliqués dans le transport des antidépresseurs et des composés endogènes	36
I.6.2.2.1 Transporteurs d'Uptake 2- voie alternative de clairance des monoamines dans le cerveau	37
I.6.2.2.2 Transporteurs d'Uptake 2 – une cible potentielle pour les médicaments antidépresseurs	40
I.6.3 Pharmacogénétique des autres gènes associés à la dépression	40
I.6.3.1 Cathecol-O-méthyltransferase (COMT)	41
I.6.3.2 Polymorphismes génétiques de la COMT et l'épisode dépressif majeur	42
I.6.3.3 Polymorphisme génétique COMT Val(108/158)Met et la réponse au traitement antidépresseur	43
I.6.3.3.1 Fonctionnalité du polymorphisme génétique COMT Val(108/158)Met	43

I.6.3.3.2	COMT Val(108/158)Met, facteur de risque dans la dépression	44
I.6.3.3.3	COMT Val(108/158)Met et réponse aux antidépresseurs	45
I.6.3.3.4	COMT Val(108/158)Met et la réponse à la venlafaxine	46
I.7	Etudes de GWAS et réponse aux antidépresseurs	47
I.8	Recommandations sur l'utilisation de la pharmacogénomique pour les antidépresseurs dans la dépression : vers la personnalisation de traitement antidépresseur	48
I.9	Séquençage de l'ADN : des méthodes classiques de séquençage jusqu'au séquençage à haut débit et leur application dans les études pharmacogénétiques de réponse aux antidépresseurs	53
I.9.1	Génotypage par séquençage direct selon la technique de Sanger	53
I.9.2	Technologie de génotypage par discrimination des sondes allèle spécifique « TaqMan »	53
I.9.3	Puces à ADN	54
I.9.4	Technologies de séquençage à haut débit (NGS)	54
I.9.5	Applications du NGS dans la psychiatrie	55
PLAN DES RESULTATS		57
II	DEUXIÈME PARTIE	58
II.1	Objectif de l'étude	58
II.2	Patients, matériels et méthodes	58
II.2.1	Cohorte METDAP	58
II.2.1.1	METADAP : déroulement de l'étude	58
II.2.1.2	Critères d'inclusion	59
II.2.1.3	Critères d'exclusion	59
II.2.1.4	Traitements de l'étude	60
II.2.1.5	Critères d'évaluation	60
II.2.2	Echantillon de l'étude ancillaire sur la venlafaxine	61
II.2.3	Génotypage et le choix des polymorphismes	61
II.2.4	Phénotypage des patients	62
II.2.5	Réponse clinique à la venlafaxine	62
II.2.6	Analyses statistiques des données	63
II.3	Résultats	63
II.3.1	Description générale de la cohorte METADAP	63
II.3.2	Description des patients traités par venlafaxine	64
II.3.3	Génotypes CYP2D6 et CYP2C19	65
II.3.4	Phénotypes CYP2D6 et CYP2C19 et les données cliniques	65
II.3.5	CYP2D6 et réponse à la venlafaxine	69

II.3.6	CYP2C19 et réponse à la venlafaxine	69
II.4	Discussion	74
II.5	Conclusion	78
III	TROISIÈME PARTIE	79
III.1	Objectif de l'étude	79
III.2	Matériels et méthodes	79
III.2.1	Echantillon étudié	79
III.2.2	Génotypage	80
III.2.3	Réponse à la venlafaxine	80
III.2.4	Méthodes statistiques	80
III.3	Résultats	81
III.3.1	Description de l'échantillon étudié	81
III.3.2	Polymorphisme génétique COMT Val(108/158)Met et réponse à la venlafaxine	82
III.4	Discussion	85
III.5	Conclusion	90
IV	QUATRIÈME PARTIE	91
IV.1	Objectif de l'étude	91
IV.2	Matériels et Méthodes	91
IV.2.1	Technologie Illumina MiSeq	91
IV.2.2	Analyse bioinformatique des données génétiques	94
IV.2.2.1	Outil bioinformatique – Galaxy	95
IV.2.2.2	Workflow d'analyse bioinformatique des données NGS	97
IV.2.3	Patients, matériels et méthodes	100
IV.2.3.1	Construction in silico du panel de gènes pertinents pour la réponse aux antidépresseurs	100
IV.2.3.2	Construction de la librairie des gènes du panel METADAP	102
IV.2.3.3	Sélection des patients éligibles pour le séquençage à haut débit	105
IV.3	Résultats des analyses préliminaires NGS	105
IV.3.1	Validation des SNPs du CYP2D6 et CYP2C19 par NGS	105
IV.3.2	Autres variants des CYP2D6 et CYP2C19 détectés par le séquençage par NGS	106
IV.4	Discussion	107
IV.5	Conclusion	108
V	CINQUIÈME PARTIE	109
V.1	Introduction	109
V.1.1	Organic cation transporter (OCT)	109
V.1.2	OCTs – propriétés pharmacologiques	109

V.1.3	Rôle des OCTs dans le cerveau	112
V.1.4	Polymorphismes génétiques des SLC22A (OCTs)	113
V.1.5	PMAT- Plasma membrane monoamine transporter (SLC29A4)	114
V.1.6	PMAT- propriétés pharmacologiques	114
V.1.7	Rôle des PMATs dans le cerveau	116
V.1.8	Polymorphismes génétiques du SCL29A4	116
V.2	Discussion	116
V.3	Conclusion	118
VI	CONCLUSION et DISCUSSION	119
VI.1	Discussion	119
VI.2	Limites	123
VI.2.1	Limites de l'étude	123
VI.2.2	Limites de la cohorte METADAP	125
VI.3	Conclusion	126
VI.4	Perspectives	127
VII	REFERENCES	130
VIII	ANNEXE	151

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
AD	Antidépresseur
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé
AP-HP	Assistance Publique – Hôpitaux de Paris
ASC	Aire sous la courbe
ATCs	Antidépresseurs tricycliques
AVCI	Année de vie corrigée du facteur invalidité
AVI	Années vécues en incapacité
AVP	Années de vie perdue
CGI	Impressions cliniques globales (Clinical Global Impression)
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique
CNVs	Variations du nombre des copies
COMT	Catechol-O-methyl transferase
CPIC	Clinical Pharmacogenetics Implimentation
DALY	Disability adjusted life years
DCI	Dénomination Commune Internationale
DSM-IV-TR	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – IV – Text Revision
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – 5
ECT	Electroconvulsivothérapie
EDM	Episode dépressif majeur
GMPH	Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique, Hormonologie
GWAS	Etude d'association pangénomique
HDRS	Hamilton Depression Rating Scale
IMAOs	Inhibiteurs de la monoamine oxydase
InDel	Insertion, délétion
ISRSs	Inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine
ISRNs	Inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine et noradrénaline
KO	Knock-out
LOF	Allèle de perte de fonction
MAO-A	Monoamine oxydase A
MAO-B	Monoamine oxydase B
MI	Métaboliseur intermédiaire
MINI	Mini International Neuropsychiatric Interview
ML	Métabliseur lent
MN	Métaboliseur normal
MT ₁	Récepteur mélatoninergique 1
MT ₂	Récepteur mélatoninergique 2
MUR	Métaboliseur ultrarapide
NA	Noradrénaline
NAT	Transporteur de la noradrénaline
NDV	N-desmethylvenlafaxine
NGS	Séquençage de Nouvelle Génération
NNT	Nombre de Sujets Nécessaires à Traiter
ODV	O-desmethylvenlafaxine
OMS	Organisation Mondiale de la Santé

PM	Métaboliseurs lents
rTSM	Stimulation magnétique Trans-crânienne
RM	Métaboliseurs rapides
SERT	Transporteur de la sérotonine
SNP	Polymorphisme génétique
STP	Suivi thérapeutique pharmacologique
TDM	Trouble dépressif majeur
UM	Métaboliseurs ultrarapides
YLD	Years lived with disability
5-HT1A	Récepteur de la sérotonine 1A
5-HT1B	Récepteur de la sérotonine 1B
5-HT2C	Récepteur à la sérotonine 2C
5-MT	5-methoxytryptamine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Développement des outils pharmacogénétiques (PG) dans le choix du traitement.	12
Figure 2: Paradigme monoaminergique de la dépression.....	15
Figure 3: Recommandations d’ajustement de la posologie des ADs en fonction du phénotype CYP2D6 d’après (Kirchheiner et al., 2004).	29
Figure 4: Recommandations d’ajustement de la posologie des ADs en fonction du phénotype CYP2C19 (d’après (Kirchheiner et al., 2004)).	33
Figure 5: Métabolisme de la venlafaxine (d'après PharmGKB).	35
Figure 6: Rôle des OCTs dans le cerveau	40
Figure 7: Physiologie de la COMT d’après (Craddock et al., 2006).	42
Figure 8: Polymorphisme génétique de la COMT Val(108/158)Met, rs4680.....	44
Figure 9: Traitements reçus des patients de la cohorte METADAP (Corruble et al., 2015)..	64
Figure 10: Répartition des phénotypes CYP2D6 dans l’échantillon étudié.....	68
Figure 11: Répartition des phénotypes CYP2C19 dans l’échantillon étudié.....	68
Figure 12: Présentation de l’amélioration du score HDRS (%), répondeurs (%), patients en rémission, score HDRS et l’amélioration HDRS en fonction du temps en fonction du phénotype ML, MI, MN et MUR.	72
Figure 13: Pourcentage d’amélioration du score HDRS et la réponse à la venlafaxine au cours du temps en fonction du génotype COMT Val(108/158)Met, rs4680.....	84
Figure 14: Principales étapes analytiques du séquençage NGS dans notre laboratoire.....	92
Figure 15: Principe de séquençage par synthèse, Illumina ® (Illumina, 2014).....	94
Figure 16: Interface Galaxy	97
Figure 17: « Workflow » Galaxy.....	99
Figure 18: Classification des clusters des gènes du panel METADAP en 2 catégories : les pharmacogènes qui interviennent dans la pharmacocinétique et pharmacodynamie des médicaments ADs	102
Figure 19: Panel de gènes pour la cohorte METADAP avec les probegroups Agilent®	104
Figure 20: Résumé des principaux résultats de thèse	126

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Représentants de chaque classe d'ADs et leur DCI.....	19
Tableau 2: Métabolisme des antidépresseurs par les différents cytochromes.....	23
Tableau 3: La traduction du génotype en phénotype du CYP2D6 d'après CPIC (Hicks et al., 2016).	25
Tableau 4: Traduction du génotype en phénotype du CYP2C19 d'après CPIC (Hicks et al., 2016).	31
Tableau 5: Principaux outils pharmacogénétiques disponibles à ce jour de prédiction de la réponse au traitement antidépresseur d'après (Bousman and Hopwood, 2016).	51
Tableau 6: Description et fréquence des principaux polymorphismes génétiques des CYP2D6 et CYP2C19 dans cette étude.....	67
Tableau 7: Phénotype CYP2D6 et efficacité de la venlafaxine.....	70
Tableau 8: Phénotype CYP2C19 et efficacité de la venlafaxine	71
Tableau 9: Distribution des phénotypes du CYP2D6 et CYP2C19	73
Tableau 10: Génotype du COMT et efficacité de la venlafaxine	83
Tableau 11: Rôle des OCTs dans le transport des composés endogènes et des médicaments	111
Tableau 12: Inhibition des hOCT2 and hOCT3 par les ADs (Haenisch et al., 2012; Massmann et al., 2014).....	112
Tableau 13: Constantes cinétiques du transport des composés endogènes du transport du PMAT (Engel and Wang, 2005; Engel et al., 2004)	115
Tableau 14: Inhibition du PMAT par les ADs (Haenisch and Bonisch, 2010)	115

PREMIERE PARTIE

I. Introduction

Le trouble dépressif majeur (TDM) représente un enjeu important de Santé Publique. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le TDM sera la seconde cause d'incapacité après les maladies cardiovasculaires en 2020 dans le monde (Murray and Lopez, 1996). De nombreux médicaments antidépresseurs (ADs) ayant des mécanismes d'action primaire souvent différents, sont utilisés aujourd'hui pour traiter la dépression. Même si aujourd'hui il existe différentes molécules avec des mécanismes d'action innovants, 60% des patients qui présentent des TDM ne répondent pas correctement à ces traitements. Par ailleurs 30% sont résistants aux médicaments antidépresseurs. Ainsi, la médecine personnalisée pourrait apporter des réponses en combinant les connaissances des données génétiques et cliniques pour améliorer la prise en charge du patient et apporter une stratégie plus précise en termes de stratégies thérapeutiques. A ce jour, les mécanismes physiopathologiques de la dépression ne sont pas encore bien connus. Par conséquent, les biomarqueurs moléculaires et génétiques impliqués dans ces phénomènes de variabilité interindividuelle de la réponse aux traitements ADs restent à identifier.

Dans le cadre de cette thèse d'université, nous nous sommes intéressés à rechercher et identifier des biomarqueurs de réponse aux traitements ADs. Pour répondre à cette question, nous avons structuré ce mémoire en cinq parties différentes.

La première partie est une large introduction qui positionne la dépression majeure dans un contexte de Santé Publique et présente la physiopathologie de la dépression majeure avec les principaux mécanismes des médicaments ADs. Dans cette partie, sont présentés les facteurs de variabilité interindividuelle de réponse liée au métabolisme des ADs et la pharmacogénétique des ADs, ainsi que les transporteurs des monoamines. Le but de cette partie est également d'introduire les principales études d'associations de pharmacogénétique publiées en lien avec la réponse pharmacocinétique et les enzymes de métabolisme, les Cytochromes P450 (CYP) 2D6 et 2C19 et les traitements ADs. Nous présentons aussi dans un deuxième temps les études d'association publiées sur la réponse pharmacodynamique, avec notamment l'étude d'une enzyme qui dégrade les monoamines, la catechol-O-méthyltransférase (COMT), et les traitements ADs. Cette partie présente aussi les recommandations cliniques qui existent à

ce jour, basées sur les principaux résultats de la pharmacogénétique par des approches études d'association gènes candidats ainsi que les études de Genome-Wide Association Study (GWAS). Cette première partie apporte également des informations sur les principales technologies de séquençage, notamment le Next Generation Sequencing (NGS) et son application en psychiatrie.

La deuxième partie de ce projet consiste, dans une première étape des travaux de recherche de ma thèse, dans une étude d'association, où l'objectif principal est d'étudier si un génotypage systématique des polymorphismes génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* pourrait prédire l'efficacité de la venlafaxine chez les patients déprimés traités en milieu psychiatrique et suivis prospectivement pendant 6 mois après le début d'un traitement AD.

La troisième partie de ce manuscrit représente la deuxième étape des travaux de recherche consacrée à l'étude de l'impact du polymorphisme génétique d'un enzyme fonctionnel du métabolisme des monoamines, la *COMT Val(108/158)Met* sur la réponse à la venlafaxine. Plus précisément, l'objectif de cette étude a été d'étudier si le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* pourrait être un biomarqueur de prédisposition à la réponse clinique à la venlafaxine chez les patients déprimés traités en milieu psychiatrique après l'introduction d'un traitement AD.

La quatrième partie consiste dans la réalisation des analyses exhaustives par la technologie de séquençage à haut débit, le NGS, par une approche gène candidat. L'objectif de ce projet comporte dans un premier plan la validation des polymorphismes génétiques identifiés par la technologie PCT allèle spécifique (TaqMan) classique et par la suite de valider par notre nouvelle technique de séquençage par NGS appliquée aux gènes couramment analysés en pharmacogénétique.

Le cinquième chapitre de cette thèse résume le troisième travail qui a comporté une d'étude plus large des gènes des transporteurs impliqués dans la réponse au traitement AD. L'étude présentée dans ce chapitre est une revue de la littérature de nouveaux biomarqueurs de réponse à un traitement AD. Ce travail a comme objectif de mettre en évidence l'importance de

quelques transporteurs découverts récemment et leur implication potentielle dans la réponse aux ADs.

I.1 La dépression majeure : enjeu de Santé Publique

Le trouble dépressif majeur est une maladie psychiatrique caractérisée par un ou plusieurs épisodes dépressifs majeurs (EDM) qui persistent dans le temps (Robinson and Sahakian, 2008). Elle est caractérisée par une faible estime de soi, perte d'intérêt, trouble de sommeil ou appétit ainsi que des comportements suicidaires (DSM-5) (Uher et al., 2014). D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 350 millions de personnes présentent cette maladie dans le monde, soit une augmentation de plus de 18% de 2005 à 2015, et elle sera la seconde cause d'incapacité après les maladies cardiovasculaires en 2020 (Murray and Lopez, 1996). Cette maladie est ainsi montée d'un rang dans le classement depuis 1990 et devient plus que jamais une priorité de santé publique. L'OMS anticipe que la dépression atteindra la première place en 2030 (OMS, 2017a). Ainsi, le coût annuel cumulé des troubles mentaux aux États-Unis représenterait environ 2,5 % du produit national brut et dans l'UE ce chiffre est d'environ 170 milliards d'euros par an (OMS, 2012). En Europe, la part des dépenses consacrées aux troubles mentaux dans le coût total des services de santé se situerait entre 20 et 25 %, en ne tenant compte que des hospitalisations (OMS, 2012).

La prévalence sur une vie du TDM est de 16% (Kessler et al., 2009). Le sex-ratio de la prévalence du TDM est deux femmes pour un homme (Kupfer et al., 2012).

Tous les dix ans, les experts de l'OMS estiment, pour plus de 200 maladies ou accidents, le temps de vie en bonne santé perdu au niveau mondial. Cette variable a été élaborée afin de répondre au besoin de données dans la prise de décision en santé à l'échelle internationale. L'OMS se sert d'une mesure appelée année de vie corrigée du facteur invalidité (AVCI, ou DALY en anglais) qui sert à prendre en compte les années de vie mais également la qualité de vie de ces années de la population. Cet indicateur est intéressant dans la mesure où il considère à la fois la mortalité et la perte de santé fonctionnelle. Il permet également de comparer les estimations produites pour différentes maladies et d'ordonner leurs impacts sur l'état de santé de la population étudiée. Les impacts d'une maladie sur la mortalité sont mesurés par les années de vie perdues (AVP) et la perte de santé fonctionnelle est estimée à l'aide des années vécues avec une incapacité (AVI ou YLD en anglais). Les AVCI résultent de la somme des AVP et des AVI.

Un AVCI représente une année de vie en bonne santé perdue. Le calcul prend en compte le nombre de décès attribués à une maladie, tout en intégrant l'âge du décès et en comptant le nombre d'années de vie potentielle perdues. La dépression majeure est responsable de 40.5% d'AVCI dans le monde (Demyttenaere et al., 2004). L'autre statistique de mesure de la santé de la population utilisée par l'OMS, l'AVI, indique les années vécues avec une incapacité. Le TDM est parmi les premières des dix causes d'AVI au niveau mondial, alors que dans les pays développés, le TDM est parmi les cinq premières causes d'AVI (Global Burden of Disease Study, 2015). Les AVIs causés par la dépression majeure ont augmenté de 53.6% entre 1990 et 2013, ce qui a augmenté la gravité de la dépression dans la population les 20 dernières années (Global Burden of Disease Study, 2015).

En France, chaque année on enregistre plus d'un million de prises en charge en psychiatrie pour un coût total des dépenses de 13 milliards d'euros (2010), soit 7% des dépenses du régime général avec un risque de tentative de suicide multiplié par 21 en cas d'épisode dépressif. Au final, entre 5 à 20 % des patients se suicident (INSERM, 2014). Après le cancer et les maladies cardiovasculaires, les pathologies liées à la psychiatrie arrivent au troisième rang en France (ANSM, 2006).

Une vingtaine d'ADs ayant des mécanismes d'action primaire différents sont utilisés aujourd'hui pour traiter la dépression. Cinq classes d'ADs sont commercialisées en 2017 en France : les ADs inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAOs), les inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine (ISRSs), les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSNs), les tricycliques (ATCs) et la classe des « autres » ADs. Des traitements non-pharmacologiques comme certaines psychothérapies peuvent être indiqués en accompagnant un traitement pharmacologique ou séparément. Deux critères principaux d'évaluation des patients suite à un traitement AD existent : la réponse et la rémission (Belmaker and Agam, 2008). Celles-ci sont évaluées par différentes échelles psychométriques, comme l'échelle Hamilton (HDRS), reconnue au niveau international, qui mesure la sévérité des symptômes observés lors d'une dépression (Hamilton, 1960). La réponse correspond à une réduction significative des symptômes sous un traitement d'AD. Celle-ci aide le clinicien à établir une stratégie de traitement, comme de changer le traitement, ajuster la dose ou interrompre le traitement AD. La rémission correspond à l'absence de symptômes dépressifs après la mise en place d'un traitement AD. Ces critères sont évalués après un mois, deux mois, trois mois ou six mois de traitement.

Cependant, d'après un rapport de l'ANSM, après huit semaines de traitement AD bien conduit, l'efficacité des médicaments n'est que partielle (ANSM, 2006). Un tiers des patients déprimés traités par ADs ont une réponse complète au traitement avec rémission des symptômes, un tiers des patients ont une réponse partielle ou insuffisante au traitement et un tiers des patients ne répondent pas au traitement (ANSM, 2006; 2008). De plus, les ADs induisent des effets secondaires comme l'arythmie, modification du rythme cardiaque, la sécheresse buccale, l'agitation, l'anxiété ou l'apathie (Rau et al., 2004). Ainsi, certains effets indésirables et la non-réponse aux ADs pourraient être évités grâce à l'identification précoce de biomarqueurs prédictifs (Rau et al., 2004).

On a assisté depuis les années 1980-1990 à une prise de conscience de la nécessité de mieux diagnostiquer et de mieux traiter les patients dépressifs. En parallèle de ce mouvement, on a assisté à une augmentation considérable de la consommation des antidépresseurs. Néanmoins, les déterminants de la prescription restent encore peu connus, ne permettant pas de déterminer avec précision si cette consommation est excessive par rapport à la prévalence de la dépression ou pourquoi la consommation excessive est retrouvée dans certains pays et pas dans d'autres ou si l'utilisation des ADs est mal ciblée. En effet, une large fraction de la population de patients dépressifs n'accède pas aux traitements, mais en revanche, une fraction non négligeable de la population serait traitée par antidépresseurs sans qu'un TDM soit identifié (OMS, 2017a).

Le TDM est une maladie multifactorielle influencée par le facteur génétique et le facteur environnemental, avec des interactions complexes. Les études basées sur des jumeaux monozygotes estiment une héritabilité de 40%-50% et les études basées sur des familles indiquent 2 à 3 fois plus de chances de risque de dépression dans la première génération (Sullivan et al., 2000). L'identification des patients qui présentent un risque important de non-rémission ou résistance au traitement pourrait améliorer la prise en charge du patient ainsi que l'attribution d'un traitement optimal. Ceci pourrait être réalisé par l'optimisation des stratégies de prescription et l'identification d'un biomarqueur de prédiction de la réponse ou rémission à un AD donné. La pharmacogénétique, qui étudie la variabilité génétique de la réponse au traitement médicamenteux, pourrait apporter des réponses à ces questions qui constituent un enjeu important de Santé Publique, améliorant la prescription des ADs.

I.2 Pharmacogénétique et Santé Publique

La pharmacogénétique a pour objectif d'identifier des facteurs génétiques participant à la variabilité de la réponse au traitement. Elle a pour objectif d'aboutir à une médecine personnalisée (Becquemont et al., 2011; Becquemont et al., 2006). Le chapitre de médecine personnalisée appliquée à la psychiatrie sera détaillé dans le chapitre I.8.

La pharmacogénétique est un outil important de la pharmacologie d'un médicament et aide à la compréhension de la variabilité de réponse aux médicaments (Spina and de Leon, 2015). Cette approche a comme objectif la personnalisation du traitement, c'est à dire : identifier les répondeurs et les non-répondeurs, améliorer le taux de patients en rémission, adapter la dose en fonction du métabolisme du patient et prévenir les effets secondaires (Becquemont et al., 2006; Marquet et al., 2015). Son but dans la psychiatrie est d'utiliser un test génétique pour optimiser la prise en charge des patients ou les effets secondaires des médicaments (Becquemont et al., 2006). Les recommandations thérapeutiques suite à la réalisation d'un test de pharmacogénétique peuvent conduire à débiter le traitement optimal plutôt qu'un choix « classique » de première intention. Il y a aussi des recommandations de commencer à une dose plus élevée (cas répondeur/non répondeur), ou pour certains cas de commencer à une dose beaucoup plus faible que celle recommandée du fait du risque d'événements indésirables (Quaranta et al., 2017).

L'utilisation de la pharmacogénétique dans la prise en charge des patients dans le domaine de la psychiatrie a pu expliquer certaines mauvaises réponses aux médicaments ou effets indésirables (Spina and de Leon, 2015). Ceci a été possible grâce aux études d'association des gènes impliqués dans la pharmacocinétique des ADs comme les *CYP2D6* et *CYP2C19*, enzymes métabolisant les ADs et influençant la réponse au traitement, ou expliquant la survenue de certains effets indésirables des ADs. Ainsi, nous pouvons retrouver des ajustements de doses pour les patients (Kirchheiner et al., 2004). Nous détaillerons dans les parties suivantes les études de la variabilité génétique dans la prise en charge de la dépression qui pourront expliquer la variabilité de réponse au traitement liée aux gènes de la pharmacodynamie des ADs et à ceux de la pharmacocinétique, notamment des gènes du métabolisme et du transport.

I.3 Médecine personnalisée : enjeu de Santé Publique

Le but de la médecine personnalisée est d'améliorer la performance des soins, d'éviter des traitements inutiles et d'améliorer la qualité de vie des patients. La pharmacogénétique est l'une des premières applications cliniques importantes de la médecine personnalisée (Figure 1).

La réponse à un médicament, son efficacité ou toxicité est variable d'un individu à un autre. Cette variabilité interindividuelle peut être expliquée par des facteurs environnementaux, les facteurs individuels et les « omiques » (Becquemont et al., 2011; Becquemont et al., 2006; Taranu et al., 2017b). Parmi les facteurs environnementaux on peut trouver : l'interaction entre les médicaments, les conditions physiologiques et pathologiques de la personne, la compliance (Figure 1). Les facteurs individuels représentent l'âge, le sexe, l'ethnicité, etc. Les technologies dites « omiques » telles que la génomique et le séquençage de l'ADN à grande échelle sont apparues parallèlement au développement du projet Génome Humain dans les années 1990. Le génome représente l'ensemble de l'information génétique contenue dans l'ADN, le transcriptome représente l'ensemble des ARNs issus de la transcription des gènes, le protéome représente l'ensemble des protéines présentes dans l'organisme, le métabolome constitue l'ensemble des métabolites, l'épigénome représente l'ensemble de modifications épigénétiques et le microbiome représente l'ensemble de gènes de la microbiote (Figure 1).

La médecine personnalisée se définit comme une utilisation combinée des connaissances issues des données génomiques et moléculaires afin d'optimiser la prise en charge d'un patient par une meilleure évaluation en amont de la pathologie et du phénotype observé, du fait d'une approche plus précise quant aux stratégies à conduire en particulier du point de vue thérapeutique. Ainsi, une meilleure prise en charge du patient en basant la décision du traitement sur les « omiques », facteurs individuels et environnementaux, conduirait à un dosage du médicament et donc à une augmentation de l'efficacité du traitement et à une diminution de la toxicité.

Suite à des publications d'étude de grande cohorte confirmant l'intérêt de ces tests pharmacogénétiques, des algorithmes ont été ainsi proposés, et la FDA (Food and Drug Administration) a modifié des résumés des caractéristiques pour plus de 100 molécules (FDA, 2017). Il a été souligné que ces tests pouvaient optimiser la bonne dose plus rapidement, diminuer le temps d'hospitalisation et la survenue d'évènements indésirables.

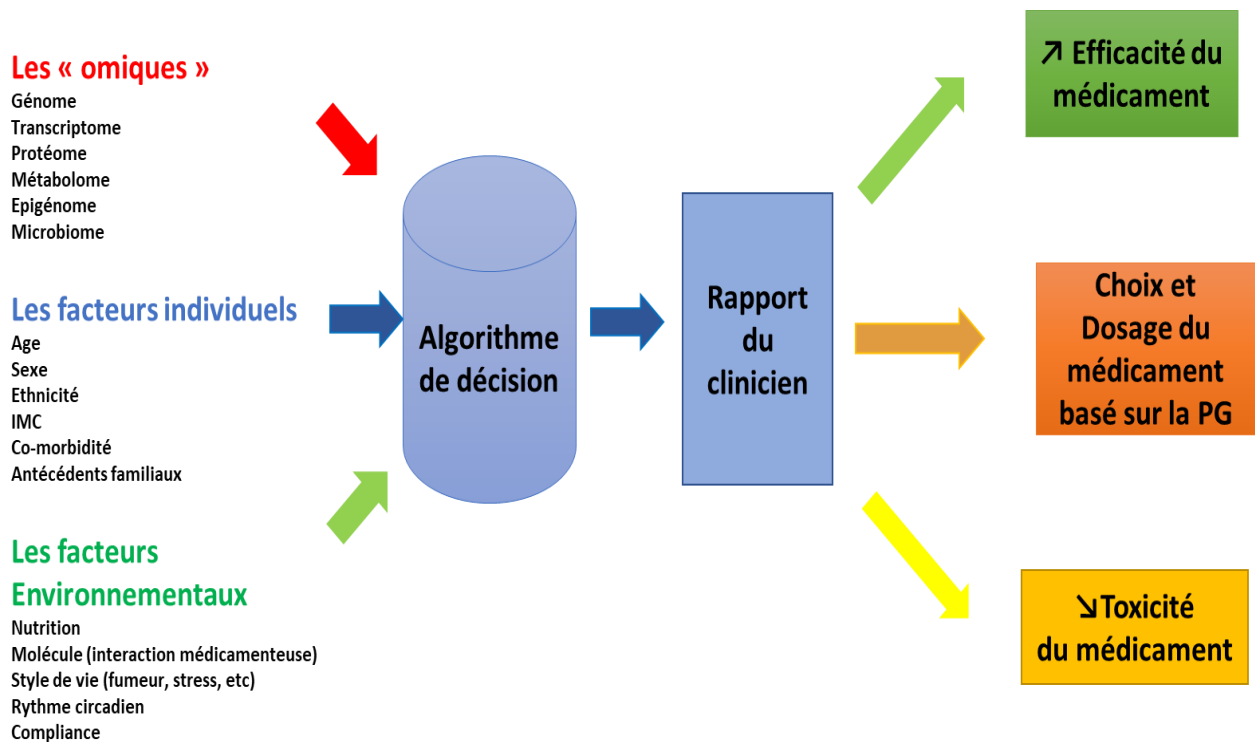


Figure 1: Développement des outils pharmacogénétiques (PG) dans le choix du traitement

La médecine personnalisée est déjà une réalité dans certains cas et les progrès amorcés en génétique, en protéomique, en imagerie médicale, en thérapeutique et sur les aspects sociaux vont accélérer ce mode de prise en charge dans les années à venir. Avec le temps, elle pourrait concerner tous les patients.

Dans le domaine cardiovasculaire les patients ont pu bénéficier de considérables progrès quant à la prise en charge thérapeutique. Ces patients nécessitent souvent des prises de médicaments de façon chronique, avec des médicaments à index thérapeutique étroit et à risque d'effets indésirables fréquents et importants comme les anticoagulants oraux, les antiagrégants plaquettaires ou les statines dans le cas de la prévention primaire ou secondaire comme le post infarctus. Une étude récente, basée sur 156 questionnaires des cliniciens sur leurs patients depuis 2010, a évalué le taux de cliniciens qui utilisent la médecine personnalisée pour la prescription des traitements, notamment dans le domaine cardiovasculaire (Peterson et al., 2016). Dans cette étude 99% de cliniciens approuvent l'importance de la médecine personnalisée dans la réponse au traitement, plus de 90% de cliniciens suivent les recommandations de la FDA lors du traitement des patients et 80-90% adaptent leur traitement en fonction de la médecine personnalisée pour la warfarine et le clopidogrel (Peterson et al.,

2016). De même, CPIC recommande le génotypage du transporteur *SLCO1B1* pour les patients traités par la simvastatine pour éviter les effets secondaires (Wilke et al., 2012).

Les gènes de la *HLA* (Human leukocyte antigen) sont impliqués dans la survenue des effets secondaires dans le traitement du HIV par abacavir et dans le traitement de l'épilepsie par carbamazépine. Ainsi, la FDA recommande le génotypage de l'allèle *HLA B*57 :01* pour diminuer la survenue du Syndrome d'Hypersensibilité. La mise en place de ce test a diminué la survenue de ce syndrome de 8% à 1% (Yip et al., 2015). De même, la FDA recommande le génotypage de l'allèle *HLA B*57 :02* dans la traitement par carbamazépine chez les patients asiatiques pour diminuer la survenue du Syndrome Stevens-Johnson (Yip et al., 2015)

Dans le domaine de la cancérologie, la médecine personnalisée est également beaucoup utilisée (Yip et al., 2015). Dix-sept thérapies ciblées peuvent être prescrites en France pour différents types de cancers tels que celui du sein, de l'estomac, du côlon, du poumon, les leucémies myéloïdes chroniques, les leucémies aiguës lymphoblastiques ou encore les tumeurs stromales gastro-intestinales. Les chercheurs estiment que 20 à 30 % des tumeurs solides présentent une anomalie qui permettra d'envisager un traitement avec une thérapie ciblée (INSERM, 2013). En 2011, en France, 55 000 patients ont bénéficié d'un examen des caractéristiques moléculaires de leur tumeur afin qu'ils puissent bénéficier de thérapies ciblées. Cet examen personnalisé a été effectué dans l'une des 28 plateformes de génétique disponibles en France. Mises en place en 2006 avec le soutien de l'institut national du cancer (INCa) et la direction générale de l'offre de soins (DGOS), ces plateformes peuvent appartenir à des établissements de soins différents et réalisent des tests génétiques et moléculaires pour l'ensemble des patients d'une région (INSERM, 2013).

Depuis plus de 40 ans la pharmacogénétique a montré un intérêt en psychiatrie avec l'explication de la survenue de certains effets indésirables des ATCs, du fait de polymorphismes génétiques du *CYP2D6* (Hicks et al., 2015) ou l'adaptation de la dose en fonction des phénotypes *CYP2D6* et *CYP2C19* pour les patients traités par des ISRSs (Hicks et al., 2016). Cependant, il existe encore assez peu de tests utilisés en routine hospitalière permettant d'améliorer la prise en charge des patients déprimés (Hicks et al., 2016).

Cependant, même avec les dernières avancées dans la médecine personnalisée, son utilisation reste encore compliquée pour le clinicien au vu de la complexité des données qu'elle génère.

I.4 Antidépresseurs et Santé Publique

En France ou aux Etats-Unis par exemple, comme dans beaucoup de pays, ce sont les antidépresseurs récents (ISRSs, IRSNs et autres antidépresseurs non imipraminiques non IMAOs) qui sont recommandés en 1^{ère} intention puisqu'ils obéissent le mieux à des exigences pour une prise en charge ambulatoire. Chez les patients hospitalisés pour une dépression sévère, quand la recherche de l'efficacité maximale est au premier plan, les antidépresseurs tricycliques ou imipraminiques (surtout l'amitriptyline) ou la venlafaxine à une dose de 150 mg ou plus seront préférés aux ISRSs ou aux IMAOs (Bauer et al., 2007). Cette croissance de la consommation des ISRSs s'explique on par le profil de ces produits qui combinent une bonne efficacité et une meilleure tolérance. Leur utilisation a donc été préférée à celle des antidépresseurs en place, ATCs et IMAOs qui étaient difficiles à manier par les seconds et mal tolérés par les premiers. A ces recommandations cliniques, s'ajoutent dans de nombreux pays, des considérations d'ordre économique, les autorités recommandant les antidépresseurs les moins chers, c'est-à-dire les ISRSs génériques puisqu'ils sont efficaces et néanmoins bien tolérés.

De plus, une étude montre qu'entre 1998 et 2008, en France le volume de prescriptions a été de 0,7-1,1, avec une évolution annuelle de 5%, ce qui correspond à une croissance qui ralentit. En 1998 et en 2008 les ISRSs étaient les ADs les plus prescrits en France (Bauer et al., 2007).

I.5 Médicaments antidépresseurs

Au XX^{ème} siècle, une des découvertes les plus importantes qui a été réalisée en neurosciences a été le rôle de la synapse et la communication inter-neuronale grâce aux monoamines cérébrales (Woolley and Shaw, 1954). L'activité pré- et post-synaptique est très régulée, celle-ci étant la base de toute l'activité dans le cerveau. La première hypothèse explicative de la physiopathologie de la dépression propose comme principe de base la déficience monoaminergique dans le cerveau : la sérotonine, la noradrénaline et la dopamine (Belmaker and Agam, 2008). La conséquence de cette déficience conduit aux symptômes de base de la dépression (Coppin, 1967) (Figure 2).

En effet, le paradigme monoaminergique postule une déficience des principaux neuromédiateurs tels que la sérotonine, la noradrénaline ou la dopamine dans le cerveau (Berton and Nestler, 2006).

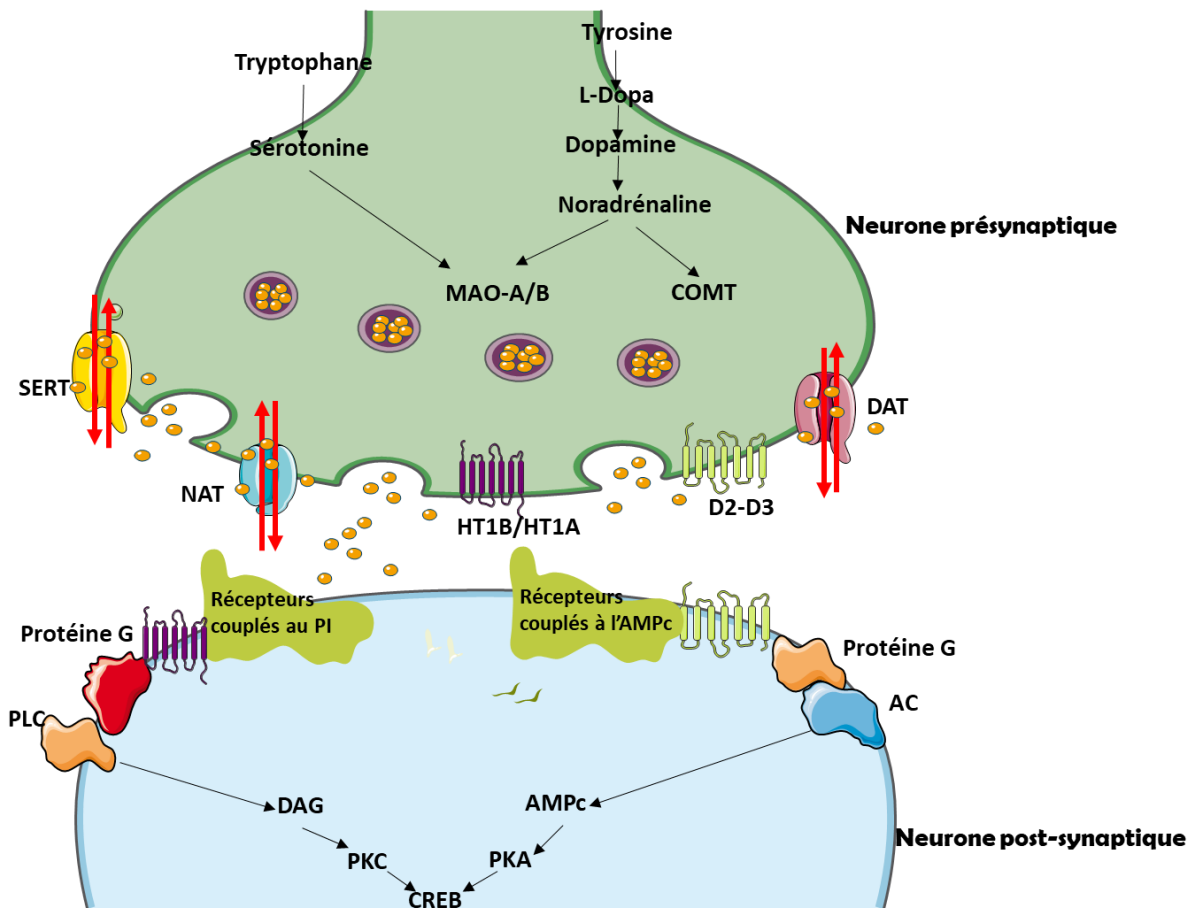


Figure 2: Paradigme monoaminergique de la dépression

La transmission monoaminergique est effectuée par les neurotransmetteurs : sérotonine, dopamine, noradrénaline. La sérotonine est synthétisée à partir du tryptophane, la noradrénaline et la dopamine sont synthétisées à partir de la tyrosine. Les enzymes MAO-A/B catabolisent la sérotonine et la noradrénaline et la COMT catabolise la noradrénaline et la dopamine. Les monoamines activent les récepteurs couplés aux protéines G qui activent la voie AC-AMPC ou à la voie PI-PLC post-synaptique qui activent des cascades de signalisation (DAG, PKC, PKA). Ces cascades de signalisation activent le facteur de transcription CREB. Les monoamines sont ensuite recapturées par des transporteurs à haute affinité pour la sérotonine, dopamine et noradrénaline SERT, NAT et DAT et sont stockées dans des vésicules dans le neurone présynaptique. La sérotonine, dopamine et noradrénaline de la fente synaptique activent des récepteurs du neurone présynaptique.

COMT- catechol-O-méthyltransférase; MAO-A/B- monoamine oxydase A/B ; AMPc-adénosine monophosphate cyclique ; PLC-phospholipase C ; PI-PLC phosphatidylinositol phospholipase C; AC- adénylate cyclase ; PKA-protéine kinase A ; PKC-protéine kinase C ; DAG- diacylglycérol; CREB- C-AMP Response Element-binding protein ; D2-D3- récepteurs de la dopamine ; HT1B/HT1A- récepteurs de la sérotonine ; SERT- transporteurs de la sérotonine, DAT-transporteur de la dopamine, NAT-transporteur de la noradrénaline.

Les premiers médicaments ADs découverts, l'imipramine et l'iproniazide de la famille des tricycliques (ATCs) et les inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAOs) bloquaient la recapture de la sérotonine et la noradrénaline (Chessin et al., 1957). L'effet pharmacologique de ces molécules est l'augmentation de la biodisponibilité de la sérotonine et de la noradrénaline dans la fente synaptique et la stimulation du neurone post-synaptique qui ont des conséquences pharmacodynamiques (Belmaker and Agam, 2008). Les IMAOs ont été également décrits pour leurs propriétés d'inhiber les monoamines oxydases, donc d'inhiber la dégradation des monoamines et d'augmenter leur biodisponibilité.

Ces découvertes ont conduit à l'établissement de l'hypothèse monoaminergique de la dépression. Cependant, cette hypothèse est contradictoire car certaines études suggèrent que la diminution des monoamines n'est pas présente chez tous les patients dépressifs. (Leonard, 2000). Ceci évoque le fait que l'hypothèse de la déficience en monoamines n'est pas suffisante pour décrire un syndrome clinique de dépression (Belmaker and Agam, 2008).

Il existe trois types de classification des médicaments ADs : en fonction de la structure chimique, le mode d'action biochimique et le profil thérapeutique des molécules (Preskorn et al., 2013). Dans la littérature, la classification en fonction de la structure chimique est celle qui est le plus souvent utilisée. Ainsi nous utilisons cette classification pour décrire les groupes de médicaments et les classes citées : les inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAOs), les ADs tricycliques (ATCs), les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRSs), les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et noradrénaline (IRSNs) et les autres ADs.

Les IMAOs sont les premiers médicaments qui sont commercialisés sur une théorie neurobiologique : les IMAOs inhibent la dégradation des monoamines avec un effet AD. Après sa découverte, *Chessin et al.*, montrent pour la première fois en 1957 les propriétés antidépressives de l'iproniazide, qui est le chef de file de cette classe d'ADs (Chessin et al., 1957).

La seconde classe des ADs les plus anciens sont les ATCs avec le chef de file l'imipramine. Les autres molécules de cette classe comme la clomipramine, la trimipramine et l'amytriptiline sont des dérivés du noyau tricyclique et la maprotiline (Willner, 1997) (Tableau 1).

La majorité des ATCs ont comme mécanisme principal d'action le blocage de la recapture de la sérotonine et la noradrénaline (Figure 2). Cependant dans le mécanisme d'action de ces molécules il y a des actions plus sélectives sur certains transporteurs tels que les transporteurs de la sérotonine SERT et de la noradrénaline NAT. En effet, la clomipramine est un puissant inhibiteur du SERT et son métabolite, la desméthylchlorimipramine inhibe préférentiellement le NAT (Willner, 1997). La désipramine bloque surtout le NAT et a très peu d'effet sur le SERT (Gillman, 2007).

Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRSs) sont généralement considérés comme les ADs de première intention (Olfson et al., 2002). Le mécanisme d'action des ISRSs consiste dans l'inhibition de la recapture de la sérotonine ce qui augmente le taux de cette dernière au niveau de la synapse. Ce mécanisme est également commun aux ATCs, mais les ISRSs induisent moins d'effets secondaires (Preskorn, 1997). Cette classe de médicaments présente des molécules très différentes sur le plan chimique, mais elle est très homogène du point de vue biochimique. Elle comporte les molécules suivantes : citalopram, escitalopram, qui est un composé racémique du citalopram, la paroxétine, fluoxétine (chef de file), sertraline et fluvoxamine (Olfson et al., 2002) (Tableau 1). Le citalopram est l'une des molécules les plus prescrites dans cette classe d'ADs.

Parmi les IRSNs, on compte trois molécules avec un effet d'inhibition de la recapture de la sérotonine et noradrénaline (IRSNs). Les molécules qui sont décrites pour avoir ce profil sont : la duloxétine, le milnacipran et la venlafaxine (Tableau 1). Comparé aux ISRSs, les IRSNs ont une activité antidépressive via une inhibition du transporteur NAT (Koenig and Thase, 2009).

La venlafaxine est un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, étant une des molécules les plus prescrites dans beaucoup de pays (Entsuah et al., 2001). Ce médicament est composé d'un mélange racémique de deux énantiomères R (+) et S (-) (Preskorn et al., 2009). Il a été montré que l'énantiomère (R) agit plus sur l'inhibition de la recapture de la sérotonine alors que l'énantiomère (S) inhibe la recapture des deux monoamines sérotonine et noradrénaline (Preskorn et al., 2009; Veefkind et al., 2000).

La dernière classe d'ADs est la classe « des autres antidépresseurs » qui présentent une hétérogénéité très importante par rapport à leur cible thérapeutique et mécanisme

d'action. Il est donc impossible de proposer une classification chimique qui correspond à l'ensemble de ces ADs. Six molécules sont présentes dans cette classe d'ADs avec des compositions chimiques différentes et des mécanismes d'action différents. La tianéptine, la miansérine et la mirtazapine, l'agomélatine, le bupropion et plus récemment la vortioxétine (Tableau I) (Kasper and Hamon, 2009). La vortioxétine a un mécanisme d'action multimodal. Elle cible les récepteurs sérotoninergiques ainsi que le SERT. L'AMM a été obtenue en France en 2017. Des études cliniques montrent une supériorité dans l'efficacité de cet AD comparé à l'agomélatine (Tableau 1) (Colle and Corruble, 2016).

Tableau 1: Représentants de chaque classe d'ADs et leur DCI

Classe d'antidépresseurs	DCI	Mécanismes d'action
Inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAOs)	Iproniazide (IMAO non sélectif) Maclobémide (IMAO sélectif A)	Inhibent MAO
Antidépresseurs tricycliques (ATCs)	Amipriptyline Clomipramine Désipramine Doxépine Imipramine Maprotiline Nortriptyline Trimipramine	Inhibent SERT (++), NAT (+)
Inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine (ISRSs)	Citalopram Escitalopram Fluoxétine Fluvoxamine Paroxétine Sertraline	Inhibent SERT (+++)
Inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et noradrénaline (IRSNs)	Duloxétine Milnacipran Venlafaxine	Inhibent NAT (++), SERT (+)
Classe des "autres" ADs	Agomélatine Bupropion Mirtazapine Miansérine Tianéptine Vortioxétine	Active MT ₁ et MT ₂ Inhibe NAT (++), DAT (++) Inhibe NAT (+) Inhibe SERT (++), NAT (++) Active SERT Inhibe SERT (+++)

I.6 Généralités sur la pharmacogénétique

Pour mieux comprendre les études réalisées en pharmacogénétique et l'apport de cette dernière à la médecine personnalisée par la suite, quelques notions importantes doivent être précisées. Le polymorphisme génétique signifie la présence d'un ou plusieurs variants génétiques dans une population avec des fréquences importantes (Attia et al., 2009; Gardiner and Begg, 2006). Il existe des polymorphismes génétiques de type variation ponctuelle d'un nucléotide (SNP) et pour ceux-là il a été attribué un numéro unique d'identification dans le génome, appelé « rs » qui peut être ainsi trouvé dans les bases de données génétiques de référence (dBSNP, 2017; HapMap, 2017; NCBI, 2017).

D'autres mutations comme les insertions et les délétions (InDel) consistent dans l'insertion ou délétion d'une séquence d'acides nucléiques comparé à la séquence de référence, qui ne sont pas toujours annotés à ce jour avec un numéro unique d'identification « rs ». D'autres variations génétiques ont commencé à être étudiées récemment comme les Copy Number Variants (CNVs) ou variabilités du nombre de copies, qui désignent plusieurs répétitions d'acides nucléiques d'une séquence génétique répétée identique ou d'un gène entier. Les CNVs, découverts récemment constituent une part importante de variabilité individuelle au sein d'une espèce. Les CNVs représentent plus de 12% du génome humain (Redon et al., 2006).

Les nouvelles technologies de séquençage à haut débit ont permis de détecter plus facilement les variants génétiques « rares », avec une faible fréquence génétique (inférieure à 1%) au sein d'une population. Ces variants génétiques pourraient être plus délétères que les variants plus fréquents et pourraient agir indépendamment ou avec les variants plus fréquents dans les maladies complexes comme la dépression (Panoutsopoulou et al., 2013). Les effets observés en lien avec la réponse au traitement peuvent être décrits comme des effets pharmacocinétiques (influencent la concentration des métabolites) ou pharmacodynamiques (influencent l'effet du médicament). Les variants génétiques peuvent être présents sur les gènes qui codent pour des enzymes du métabolisme, des transporteurs, des récepteurs ou des canaux ioniques (Gardiner and Begg, 2006; Quaranta et al., 2017).

I.6.1 Pharmacogénétique des gènes impliqués dans la pharmacodynamie des antidépresseurs

Les études des gènes impliqués dans la pharmacodynamie des ADs ont apporté des résultats intéressants. Ces gènes regroupent principalement les récepteurs des monoamines. Les gènes des récepteurs de la voie sérotoninergique impliqués dans la réponse au traitement ont été beaucoup étudiés dans des études d'association. Par exemple, le récepteur de la sérotonine, le gène *HTR2A*, qui joue un rôle dans la réponse aux ADs, a été l'objet d'études importantes (Fabbri et al., 2013; Lin et al., 2014; Petit et al., 2014). Quelques polymorphismes du gène *HTR2A* ont été associés avec la réponse et la rémission aux ADs : *rs6313*, *rs6314*, *rs7997012* et *rs73333412* (Fabbri et al., 2013; Petit et al., 2014). Par exemple, les *rs6313* et *rs7997012* du gène du récepteur de la sérotonine ont été associés aux effets des ADs et ont été confirmés par une méta-analyse récente (Lin et al., 2014). D'autres polymorphismes génétiques des récepteurs de la sérotonine ont été associés à la réponse au traitement AD: *rs6298* et *rs130058* du gène *HTR1B* associé à la réponse aux ISRSs (Villafuerte et al., 2009), *rs1805054* associé à la réponse aux ADs, toute classe confondue (Lee et al., 2005).

Dans la voie dopaminergique beaucoup de gènes ont été étudiés mais pas dans la dépression. Parmi les études d'association, figure la répétition de 48 paires de bases en tandem dans le 3^{ème} exon qui a été associé à la réponse aux ADs, toute classe confondue, chez les patients déprimés (Garriock et al., 2006).

I.6.2 Pharmacogénétique des gènes impliqués dans la pharmacocinétique des antidépresseurs

I.6.2.1 Principaux enzymes impliqués dans le métabolisme des antidépresseurs et composés endogènes

Les cytochromes P450 (CYP) sont un groupe d'isoenzymes localisés majoritairement dans les hépatocytes, et l'intestin, et plus fréquemment exprimés dans les poumons, reins, mais aussi dans le cerveau (Adedoyin et al., 1998; Siegle et al., 2001). Ils catalysent l'oxydation ou la réduction des substances lipophiles endogènes (acides gras, acides biliaires) ou exogènes, comme les médicaments ADs. Cette réaction transforme ces substances en produits hydrophiles et facilite leur passage dans les urines. Cette superfamille d'isoenzymes

est divisée en familles (CYP2C ; CYP2D) et sous-familles (CYP2C19, CYP2D6) (Becquemont et al., 2011).

Les ADs sont majoritairement métabolisés par les CYP2D6 et CYP2C19 (Hicks et al., 2015). Certains ont une seule voie principale, celle des CYP2D6, comme la maprotiline, désipramine ou d'autres médicaments du groupe des ATCs (Kirchheiner et al., 2004) (Tableau 2).

Dans la classe des ISRSs, la fluoxétine, le chef de file de cette classe, est métabolisée via CYP2D6 en S-norfluoxétine, le métabolite le plus actif, et via CYP2D6 et CYP2C9 en R-norfluoxétine, mais aussi des voies mineures par le CYP2C9, 2C19 et 3A4 quand CYP2D6 est saturé (Fuller and Perry, 1992). Le citalopram, qui est une autre molécule qui fait partie de la classe ISRSs est métabolisé par les CYP2C19 (36%) et 3A4 (34%) et en S-desmethylcitalopram et par le CYP2D6 (30%) en S-didemethylcitalopram (Tsai et al., 2010). La paroxétine est majoritairement inactivée par le CYP2D6 (Bloomer et al., 1992).

Dans la classe des IRSNs, la venlafaxine, qui est le chef de file de cette classe, est métabolisée principalement par le CYP2D6 en un métabolite principal actif O-desmethylvenlafaxine (ODV) et par CYP2C19 et CYP3A4 en un métabolite secondaire moins actif N-desmethylvenlafaxine (NDV) (Sangkuhl et al., 2014) (Tableau 2). Plus de détails concernant le métabolisme des ADs par les différents CYP seront détaillés dans le Tableau 2.

Tableau 2: Métabolisme des antidépresseurs par les différents cytochromes

++, ++ : voie métabolique majeure ; +, + : voie métabolique mineure

Classe d'antidépresseur	Médicaments DCI	1A2	2B6	2C9	2C19	2D6	3A4/5	Références
IMAOs	Iproniazide	+		+				(Mansuy, 1995)
	Moclobémide				++			(Yu et al., 2001)
ATCs	Amipriptyline	+		+	+	++	+	(Steimer et al., 2004)
	Clomipramine	+		+	+	+	+	(Nielsen et al., 1996)
	Imipramine	+			++	+	+	(Brosen et al., 1986; Gillman, 2007)
	Maprotiline	+				++		(Brachtendorf et al., 2002)
	Trimipramine			+	+	++		(Kirchheiner et al., 2003)
	Desipramine					++		(Gillman, 2007)
	Doxépine	+				++	+	(Haritos et al., 2000)
	Nortriptyline	+			+	++	+	(Jornil et al., 2011)
ISRSs	Citalopram				++	+	+	(Mrazek et al., 2011; Zhou, 2009)
	Fluoxétine			++	+	++	+	(Scordo et al., 1999)
	Fluvoxamine	+				++		(Kato et al., 2010)
	Paroxétine					++		(Bloomer et al., 1992)
	Sertraline		++	+	+	+	+	(Obach et al., 2005)
	Escitalopram				++	+	+	(Tsai et al., 2010)
IRSNs	Duloxétine	++				++		(Lantz et al., 2003)
	Minalcipran							(Puozzo et al., 2005)
	Venlafaxine				+	++	+	(Sanguhl et al., 2014; Taranu et al., 2017b)
Autres	Agomélatine	++					++	(Liu et al., 2016)
	Bupropion		++			++		(Foley et al., 2006; Sager et al., 2017)
	Mirtazapine	+				++	++	(Okubo et al., 2015)
	Vortioxétine		+	+	+	++	+	(Chen et al., 2013; Hvenegaard et al., 2012)
	Tianéptine							(Grislain et al., 1990; Wagstaff et al., 2001; Zhou, 2009)
	Miansérine	++				++	+	(Koyama et al., 1996; Zhou, 2009)

I.6.2.1.1 Polymorphismes génétiques du CYP2D6

Le CYP2D6 représente une faible quantité dans le foie, approximativement 5% des CYPs, mais joue un rôle important dans l'élimination ou l'activation de beaucoup de médicaments (25%), parmi lesquels figurent les ADs (Zanger and Schwab, 2013) (Siegle et al., 2001; Zhou, 2009).

Les polymorphismes génétiques du *CYP2D6* sont parmi les plus étudiés dans la pharmacogénétique (Zhou, 2009). A ce jour, la description de près de 120 variants génétiques est disponible (Cypalleles, 2016b; Hicks et al., 2016).

Le *CYP2D6* est très polymorphe et présente une importante variabilité intra- et interethnique (Bradford, 2002; Marez et al., 1997). Dans la population caucasienne l'allèle déficient le plus fréquent est le *CYP2D6*4*. Il représente 20-25% de la population. L'allèle *CYP2D6*5* est le second allèle déficient le plus fréquent dans la population caucasienne avec une fréquence estimée à 3-6% (Zhou, 2009). Parmi les polymorphismes génétiques du *CYP2D6* qui conduisent à une diminution de l'activité de l'enzyme, le *CYP2D6*10* représente 2% de la population caucasienne, alors que le *CYP2D6*41* représente 7-8% de la population caucasienne (Rebsamen et al., 2009; Zanger and Schwab, 2013). La duplication du gène *CYP2D6* est présente en moyenne chez 3% des caucasiens, mais sa fréquence augmente du Nord au Sud de l'Europe : 1-2% dans la sous-population suédoise (Dahl et al., 1995), 3.6% dans la sous-population allemande (Sachse et al., 1997), 7-10% dans la sous-population espagnole (Bernal et al., 1999) et 10% dans la sous-population sicilienne (Scordo et al., 1999). Il a été observé une fréquence très importante dans la population éthiopienne où la duplication du *CYP2D6* représente 25% (Ciszkowski et al., 2009; Gasche et al., 2004). L'ensemble des variants génétiques d'un individu représente son génotype. Lorsqu'on combine différents génotypes, on obtient un haplotype (Kocabas et al., 2010).

Le phénotype *CYP2D6* représente l'ensemble des caractères observables d'un individu. Le génotype des cytochromes peut être traduit en phénotype lorsque l'on connaît l'effet du variant sur l'enzyme. Cette analyse des différents variants du *CYP2D6* en lien avec les traitements des patients pris en charge, permet la réalisation des études d'association du génotype du *CYP2D6* et du phénotype des patients dans le traitement de la dépression (Spina and de Leon, 2015). Le phénotype peut être aussi déterminé à l'aide d'un médicament « probe » spécifique du CYP2D6. Ainsi, le phénotype *CYP2D6* peut être déterminé à l'aide des ratios dextrométhorphan/dextrorphan (Tenneze et al., 1999) et venlafaxine (VEN)/ O-

desmethylvenlafaxine (ODV) (Preskorn, 2010). L'activité ainsi déterminée est l'activité de l'enzyme à un temps précis (Tenneze et al., 1999).

Les individus peuvent être distingués sur la base de leur phénotype *CYP2D6* en quatre groupes (Hicks et al., 2016). Les métaboliseurs ultrarapides (MURs) représentent des porteurs de duplications du génotype (*CYP2D6* en plusieurs copies), ont un métabolisme accéléré et représentent 1- 10% des caucasiens sains (Zanger and Schwab, 2013) et 4% chez les patients caucasiens déprimés (Preskorn et al., 2013). Les métaboliseurs normaux (MNs) ont une activité métabolique normale et représentent 65 à 80% des caucasiens. Les métaboliseurs intermédiaires (MIs) ont une activité enzymatique diminuée et représentent 10 à 15% des sujets caucasiens sains (Sachse et al., 1997) et 6.8% chez les patients caucasiens déprimés (Preskorn et al., 2013). Les métaboliseurs lents (MLs) sont porteurs de plusieurs variants délétères associés à une diminution de l'activité enzymatique et représentent 5 à 10% des sujets caucasiens sains (Sachse et al., 1997) et 5% chez les patients caucasiens déprimés (Hicks et al., 2016; Preskorn et al., 2013) (Tableau 3).

Tableau 3: La traduction du génotype en phénotype du *CYP2D6* d'après CPIC (Hicks et al., 2016).

Phénotype	Génotype	Exemples de génotypes
Métaboliseur ultrarapide (MUR)	Sujet porteur des duplications des allèles fonctionnels	$(*1/*1) \times N, (*1/*2) \times N, (*2/*2) \times N$
Métaboliseur normal (MN)	Sujet porteur des de 2 allèles de fonction normale de l'enzyme, ou 2 allèles de diminution de l'activité de l'enzyme, ou un allèle normal et un allèle d'absence d'activité de l'enzyme, ou un allèle normal et un allèle de diminution de l'activité de l'enzyme	$*1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*9, *1/*41, *41/*41, *1/*5, *1/*4$
Métaboliseur intermédiaire (MI)	Sujet porteur d'un allèle de diminution d'activité et d'un allèle d'absence d'activité	$*4/*41, *5/*9, *4/*10$
Métaboliseur lent (ML)	Sujet porteur uniquement d'allèles d'absence d'activité	$*4/*4, (*4/*4) \times N, *3/*4, *5/*5, *5/*6$

Cependant, le nombre de patients MLs est estimé plus important. Ceci est dû à un phénomène appelé la phénoconversion. Chez un patient avec un phénotype MN ou MI, du fait de l'influence de l'environnement, celui-ci peut devenir ponctuellement un ML. La réponse clinique de ce patient sera donc différente au cours de la période du traitement (Shah and Smith, 2015). Le phénomène de phénoconversion est dû à des facteurs non-génétiques comme la co-administration d'une molécule inhibitrice de l'enzyme *CYP2D6*. La phénoconversion peut être

induite sans co-administration d'une autre molécule, dans le cas où la molécule administrée et simultanément substrat et inhibiteur du CYP2D6. Ce phénomène est appelé autophénoconversion (Shah and Smith, 2015). La phénoconversion est souvent décrite dans la pharmacogénétique de la dépression car la plupart des ADs sont des substrats et inhibiteurs de l'enzyme CYP2D6, comme la fluoxétine ou paroxétine (Preskorn et al., 2013). De plus, la phénoconversion pourrait expliquer certains phénomènes de pharmacocinétique, comme la différence non-significative de concentration de produit actif entre les MLs et MNs ou MIs après un traitement chronique comparé à l'administration d'une dose unique (Preskorn et al., 2013).

Il est possible d'établir les groupes phénotypiques par la détermination du génotype ou du phénotype. Cependant quelle que soit la méthode, il n'existe pas une grande variation d'activité chez les sujets MI comparé aux MNs, quelle que soit la méthode (Rolla et al., 2014). Souvent dans les études cliniques, les MNs et les MIs représentent une classe unique du fait d'une mauvaise discrimination des activités enzymatiques (Funck-Brentano et al., 2005; Gressier et al., 2015). Néanmoins, la nouvelle nomenclature de CPIC conseille de prendre en compte les quatre classes des patients (Hicks et al., 2016).

I.6.2.1.2 CYP2D6 et métabolisme des composés endogènes

Les études *in vitro* ainsi que les études effectuées sur des échantillons de cerveau humain ont montré l'expression du CYP2D6 dans une faible quantité dans le cerveau (Siegle et al., 2001). Ces découvertes ont conduit à beaucoup de recherches des composés endogènes dans le cerveau qui seraient métabolisés par le CYP2D6 (Siegle et al., 2001).

En prenant en compte le fait que le CYP2D6 est un enzyme très polymorphe, celui-ci pourrait être un potentiel facteur impliqué dans la dépression, indépendamment de l'utilisation d'un AD. Ainsi, l'équipe de *Bertilsson et al.* a été la première à montrer une différence de personnalité entre les MNs et les MLs dans une étude de sujets suédois sains (Bertilsson et al., 1989). Les MLs exprimaient des traits qui sont caractéristiques d'une personne impulsive (Bertilsson et al., 1989). L'impulsivité est un comportement qui indique une diminution de la voie sérotoninergique (Coccaro, 1992). Dans une seconde étude de répliation chez des sujets espagnols sains, *Llerena et al.* montraient une anxiété plus prédominante chez les MLs comparés avec les MNs (Llerena et al., 1993). Une étude plus récente relève une impulsivité plus importante chez les MLs (Penas et al., 2009). Il est important de noter que l'impulsivité,

tout autant que l'anxiété est également un comportement caractéristique d'une diminution de la voie sérotoninergique (Coccaro, 1992). Plus récemment, deux études ont confirmé cette hypothèse (Gasser et al., 2006; Roberts et al., 2004a) et deux autres n'ont pas montré un résultat significatif (Kirchheiner et al., 2006; Suzuki et al., 2003). La personnalité humaine serait influencée par des facteurs génétiques, environnementaux et socio-culturels, il reste difficile de discerner la part de ces facteurs génétiques dans la prédisposition à la dépression. Néanmoins, un premier mécanisme a été proposé par *Yu et al.*, qui ont montré l'implication du CYP2D6 dans la régénération de la sérotonine à partir d'un composé endogène, le 5-méthoxytryptamine (5-MT) (Yu et al., 2003). Même à des taux assez bas, le 5-MT pourrait compléter le taux de sérotonine endogène. Chez les MLs la voie de régénération de la sérotonine via le 5-MT étant altérée, cela pourrait conduire à une diminution de cette voie, donc à la diminution du réservoir de sérotonine dans le cerveau. Par ailleurs, la modulation de la concentration de la sérotonine pourrait avoir un impact sur la neurotransmission dopaminergique et noradrénergique et donc conduire à une variation de l'homéostasie des monoamines dans le cerveau. En raison des interactions physiologiques entre les voies sérotoninergique et dopaminergique, la variation génétique chez *CYP2D6* MLs pourrait être un facteur génétique intéressant mais reste à explorer dans la prédisposition à la dépression (Drago et al., 2011; Ozdemir et al., 2006).

I.6.2.1.3 CYP2D6 et métabolisme des antidépresseurs

Les polymorphismes génétiques du *CYP2D6* ont été beaucoup étudiés dans la pharmacogénétique de la dépression. Les polymorphismes génétiques du *CYP2D6* ont été majoritairement étudiés dans des cohortes avec des différents ADs, mettant en évidence une incidence beaucoup plus importante des effets secondaires chez les MLs (Grasmader et al., 2004; Rau et al., 2004; Shams et al., 2006) ou une association entre le phénotype du *CYP2D6* et la concentration plasmatique du principe actif (Grasmader et al., 2004; Shams et al., 2006).

La classe des ATCs est la plus ancienne et ces médicaments ont un index thérapeutique étroit. *Bertilsson et al.* avaient montré en premier que pour les patients MLs la dose de nortriptyline devait être réduite de 50% par rapport à la dose normale, alors que pour les patients MURs la dose devait être augmentée jusqu'à 230% par rapport à la dose recommandée (Bertilsson et al., 1993). La clairance de l'imipramine chez les MLs est diminuée de 50% par rapport aux sujets MURs lorsque l'on mesure le métabolite principal. Une autre molécule de

cette classe, la désipramine avait une concentration 7 fois plus importante chez les MLs comparée aux MURs. La somme de concentration d'imipramine et désipramine était 5 fois plus importante chez les MLs comparé aux MURs. Les mesures des ATCs sont souvent réalisées par un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) et permet de surveiller le traitement par imipramine (Brosen et al., 1986). En général, il a été montré une association entre une mauvaise réponse aux ATCs, notamment à l'amitriptyline et le fait d'être porteur d'un génotype associé à un phénotype MUR (Bertilsson et al., 1985).

Beaucoup d'effets secondaires graves et connus sont notifiés par les prescripteurs des ATCs. Ces effets surviennent le plus souvent dans le cas d'un surdosage. Les principaux effets secondaires sont des effets neurologiques, des troubles du rythme cardiaque ou hypotension (Kirchheiner et al., 2003). Les patients *CYP2D6* MLs traités par des ATCs apparaissent dans des études d'analyse pharmacogénétique du *CYP2D6* comme des patients qui présentent le plus souvent des effets secondaires (Bertilsson et al., 1985; Bertilsson et al., 2002). *Chou et al.*, montrait que le pourcentage des effets secondaires ou le taux d'hospitalisation est souvent associé aux phénotypes extrêmes du *CYP2D6* (Chou et al., 2000). Une autre étude des patients caucasiens a mis en évidence le fait que 29% des patients avec des effets secondaires étaient des MLs, alors que seulement 19% étaient des MURs (Rau et al., 2004). Au contraire, une étude des patients dépressifs, toutes ethnicités confondues, n'a montré aucune association entre les effets secondaires à la nortriptyline et le phénotype du *CYP2D6* (Roberts et al., 2004b).

Parmi les médicaments ISRSs la fluoxétine est un des ADs métabolisés par le CYP2D. Lors de cette réaction enzymatique, le métabolite principal actif produit est la S-norfluoxétine. Une étude a montré que la concentration S-fluoxétine était 2.2 fois plus importante et la S-norfluoxétine 3.4 fois moins importante chez les MLs dans le sang (Eap et al., 2001). Cependant, il n'y a pas de relation entre la concentration et l'efficacité des ISRSs (Eap et al., 2001).

Concernant la paroxétine, l'équipe de *Sindrup et al.* a montré que l'aire sous la courbe (ASC) était 7 fois plus importante chez les MLs après une posologie de 30 mg mais elle diminuait jusqu'à 1.7 fois avec une administration chronique (Sindrup et al., 1992b). Une autre étude de la même équipe a montré que 12h après l'administration de la paroxétine, la concentration de la paroxétine dans le sang était 3.3 fois plus importante chez les MLs comparé aux MURs (Sindrup et al., 1992a). Cette différence de concentration dans le sang de paroxétine chez les MURs et MLs, après une dose unique, comparé à une administration chronique peut s'expliquer par une saturation du CYP2D6 qui induit une autophénoconversion (Lam et al., 2002; Shah and Smith, 2015). L'impact du génotype du *CYP2D6* est moins important pour les

patients traités par la paroxétine à cause de la phénoconversion. En outre, comparé aux autres molécules, notamment les ATCs, pour les molécules de la classe des ISRSs, le phénotype du *CYP2D6* n'est pas associé à la survenue des effets secondaires (Lam et al., 2002).

Des adaptations des doses en fonction du phénotype *CYP2D6* ont été proposées (Thurauf and Lunkenheimer, 2006). Une revue pharmacocinétique a mis en évidence le besoin d'adapter la dose en fonction du phénotype *CYP2D6* de certains ADs (Figure 3) (Kirchheiner et al., 2004).

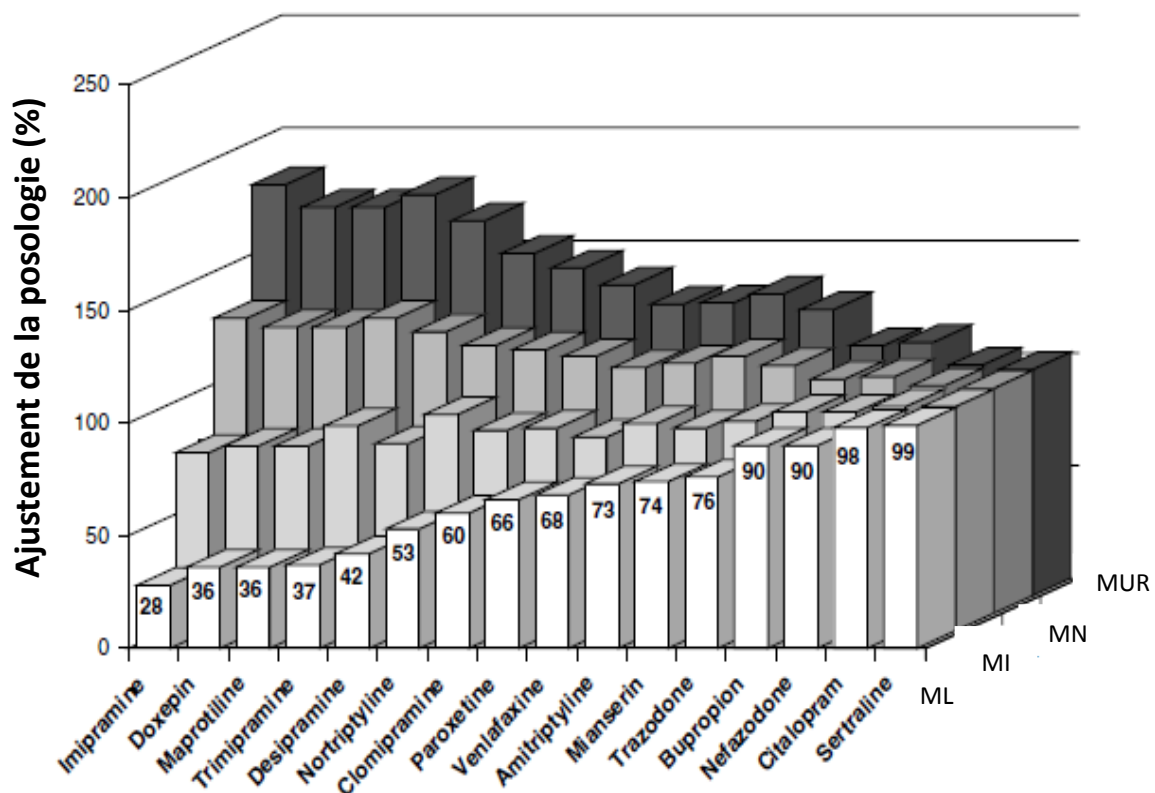


Figure 3: Recommandations d'ajustement de la posologie des ADs en fonction du phénotype *CYP2D6* d'après (Kirchheiner et al., 2004).

Les applications dans la routine clinique de la synthèse pharmacocinétique de Kirchheiner et al. ont été remises en question par le Groupe d'Evaluation Génomique des Applications en Pratique et Prévention (EGAPP), qui considère que le génotypage du *CYP2D6* ne doit pas être recommandé dans la pratique clinique (Evaluation of Genomic Applications in and Prevention Working, 2007). Le sujet des recommandations sur l'utilisation de la pharmacogénomique pour les ADs dans la dépression sera détaillé dans le chapitre I.8.

I.6.2.1.4 Polymorphismes génétiques du CYP2C19

Le CYP2C19 est impliqué dans le métabolisme de 10% des médicaments qui existent sur le marché parmi lesquels certains ADs (Zhou, 2009) (Tableau II). Le gène *CYP2C19* est très polymorphe. En effet, à ce jour il existe 30 variants qui ont été identifiés avec une conséquence sur l'activité de l'enzyme démontrée (Cypalleles, 2016a; Hicks et al., 2015; Hicks et al., 2016).

Il y a une importante variabilité interindividuelle déterminée par l'ethnie. Parmi les 30 variants déterminés, sept variants *CYP2C19* (*2-*8) associés à une non-fonctionnalité de l'enzyme ont été décrits jusqu'à présent. Parmi eux, le *CYP2C19**2 est le plus fréquent variant chez les caucasiens avec une fréquence de 15% comparé à 0.04% pour le *CYP2C19**3. Le *CYP2C19**2 est responsable de la diminution de l'activité de l'enzyme chez 93% des caucasiens (de Morais et al., 1994).

L'allèle *CYP2C19**1, augmente l'activité de l'enzyme, et elle est particulièrement fréquente chez les caucasiens. Elle représente 18% dans la sous-population suédoise (Sim et al., 2006), 19.61% dans la population grecque (Ragia et al., 2009) et 25.1% chez les femmes saines allemandes (Justenhoven et al., 2009). Chez les patients caucasiens dépressifs cet allèle a une fréquence de 22% (Rudberg et al., 2008).

Le phénotype du *CYP2C19* est déterminé à partir du génotype. Le phénotype peut être aussi déterminé à l'aide d'un médicament « probe » spécifique du CYP2C19. Ainsi, le phénotype *CYP2C19* peut être déterminé à l'aide du ratio chloroguanide/cycloguanil (Tenneze et al., 1999).

Les individus peuvent être distingués sur la base de leur génotype en cinq groupes phénotypiques. Les métaboliseurs ultrarapides (MURs) et les métaboliseurs rapides (MRs), ont un métabolisme accéléré et qui représentent 5 à 30% chez les sujets caucasiens sains (Hicks et al., 2016). Chez les sujets déprimés caucasiens, les MURs représentent 4% et les MRs représentent 25% de la population (Rudberg et al., 2008). Les métaboliseurs normaux (MNs) ont une activité normale et représentent 35% à 50% parmi les sujets caucasiens sains (Hicks et al., 2016) et 30% chez les sujets caucasiens déprimés (Rudberg et al., 2008). Les métaboliseurs intermédiaires (MIs) ont une activité enzymatique diminuée et représentent 18% à 55% chez les sujets caucasiens sains (Hicks et al., 2016) et 36% chez les sujets caucasiens déprimés (Rudberg et al., 2008). Les métaboliseurs lents (MLs) ont une déficience enzymatique complète et représentent 2% à 15% chez les sujets caucasiens sains (Hicks et al., 2016) et 4% chez les caucasiens déprimés (Rudberg et al., 2008) (Tableau 4).

Tableau 4: Traduction du génotype en phénotype du *CYP2C19* d'après CPIC (Hicks et al., 2016).

Phénotype	Génotype	Exemples de génotypes
Métaboliseur ultrarapide (MUR)	Sujet porteur de deux allèles d'augmentation d'activité	*17/*17
Métaboliseur rapide (MR)	Sujet porteur d'un allèle de fonction normale et d'un allèle d'augmentation d'activité	*1/*17
Métaboliseurs normal (MN)	Sujet porteur de deux allèles de fonction normale	*1/*1
Métaboliseur intermédiaire (MI)	Sujet porteur d'un allèle de fonction normale et d'un allèle d'absence d'activité, ou d'un allèle d'absence d'activité et d'un allèle d'augmentation d'activité	*1/2, *1/*3, *2/*17
Métaboliseur lent (ML)	Sujet porteur de deux allèles d'absence d'activité	*2/*2, *2/*3, *3/*3

I.6.2.1.5 CYP2C19 et métabolisme des composés endogènes

Aucun lien entre les traits de la personnalité et le CYP2C19 n'a été prouvé. Néanmoins, le *CYP2C19**2 a été associé à l'augmentation de l'inflammation chez les femmes de la cohorte Stanislas, une cohorte d'étude des biomarqueurs de l'inflammation dans les maladies cardiovasculaires chez 359 patients caucasiens. Parmi les biomarqueurs étudiés, le *CYP2C19**2 a été identifié comme un candidat du risque cardiovasculaire via l'inflammation (Bertrand-Thiebault et al., 2008). L'équipe de *Bertrand-Thiebault et al.* a expliqué ce résultat par le rôle du CYP2C19 dans le métabolisme d'un composé endogène, la progestérone (Bertrand-Thiebault et al., 2008).

A ce jour aucune étude n'a montré le lien entre le métabolisme des composés endogènes du CYP2C19 et la dépression. Néanmoins, cette étude qui met en évidence le *CYP2C19* comme gène candidat ainsi que le métabolisme de la progestérone par ce gène, pourrait contribuer à l'explication de la prédominance des femmes dans la dépression, avec un sex-ratio de 2 femmes pour 1 homme (Kupfer et al., 2012).

I.6.2.1.6 CYP2C19 et métabolisme des antidépresseurs

Certains ADs sont métabolisés par le CYP2C19 (Tableau II). L'AD qui a été le plus étudié dans les études pharmacogénétiques est le citalopram (Hicks et al., 2015). Le citalopram est un mélange racémique entre les énantiomères (R) et (S). L'énantiomère (S) est la molécule active pharmacologiquement, appelé également escitalopram. Les études pharmacocinétiques du citalopram montrent que les MLs ont une concentration du mélange racémique 1.7 fois plus importante que les autres groupes phénotypiques (Herrlin et al., 2003). *Rudberg et al.* ont montré une concentration d'escitalopram 42% moins importante chez les sujets porteurs du génotype *CYP2C19*17/*17* (MURs) comparé aux MNs et 5.7 fois plus importante chez les sujets MLs (Rudberg et al., 2008). Une autre étude de pharmacocinétique a mis en évidence l'association entre le phénotype *CYP2C19* et la concentration de l'escitalopram. En effet, les MLs avaient une concentration d'escitalopram dans le sérum moins importante que les MNs (Tsai et al., 2010).

La sertraline, un AD peu prescrit, est métabolisée majoritairement par le CYP2B6 et minoritairement par le CYP2C19 (Wang et al., 2001). Néanmoins, chez les patients *CYP2C19* MLs, la concentration de sertraline est 41% plus importante que celle des MNs et la concentration de la desmethylsertraline est 35% moins importante chez un ML comparé à un patient MN (Wang et al., 2001).

Le moclobémide est un AD qui fait partie de la classe des IMAOs, principalement métabolisé par le CYP2C19. Chez les patients MLs pour *CYP2C19*, la concentration plasmatique de cette molécule a été 3 fois plus importante comparée aux concentrations plasmatiques chez les patients dépressifs MNs (Gram et al., 1995; Yu et al., 2001).

La deméthylclomipramine, principe actif de la clomipramine, est métabolisée principalement par *CYP2C19*. Les patients MLs ont eu une concentration de principe actif 1.8 fois plus importante comparés aux MNs après une dose unique (Nielsen et al., 1994). Dans une autre étude, *Nielsen et al.* ont montré une concentration de desméthylclomipramine 40% plus importante chez les MNs comparés aux MLs (Nielsen et al., 1992).

Concernant les effets secondaires, les phénotypes *CYP2C19* sont cliniquement importants quand les autres voies de métabolisation sont inhibées. Par exemple pour la fluoxétine, majoritairement métabolisée par le CYP2D6, une étude a mis en évidence d'importants effets secondaires pour les patients MLs pour *CYP2D6* et *CYP2C19* (Roberts et al., 2004b). Le citalopram est également métabolisé par une voie mineure par le CYP2D6 et le CYP3A4 (Tableau II). Les patients traités par citalopram, qui sont des MLs pour *CYP2D6* ont

ces voies mineures de métabolisation diminuées, ce qui conduit a beaucoup d'effets secondaires pour un patient ML pour *CYP2C19* (Herrlin et al., 2003)

Comme pour le *CYP2D6*, l'équipe de *Kirchheiner et al.* a mis en évidence le besoin d'ajuster la posologie de certains ADs en fonction du phénotype *CYP2C19* (Kirchheiner et al., 2004) (Figure 4).

Cependant, l'application dans la routine clinique du génotypage du *CYP2C19* est discutée puisqu'elle n'est pas recommandée à ce jour dans la pratique clinique d'après l'évaluation par le Groupe d'Evaluation Génomique des Applications en Pratique et Prévention (EGAPP) (Evaluation of Genomic Applications in and Prevention Working, 2007). D'autres groupes d'experts en pharmacogénétique CPIC (Hicks et al., 2016), et le réseau National de Pharmacogénétique (Quaranta et al., 2017) ont des recommandations différentes qui seront détaillées dans le chapitre 1.8.

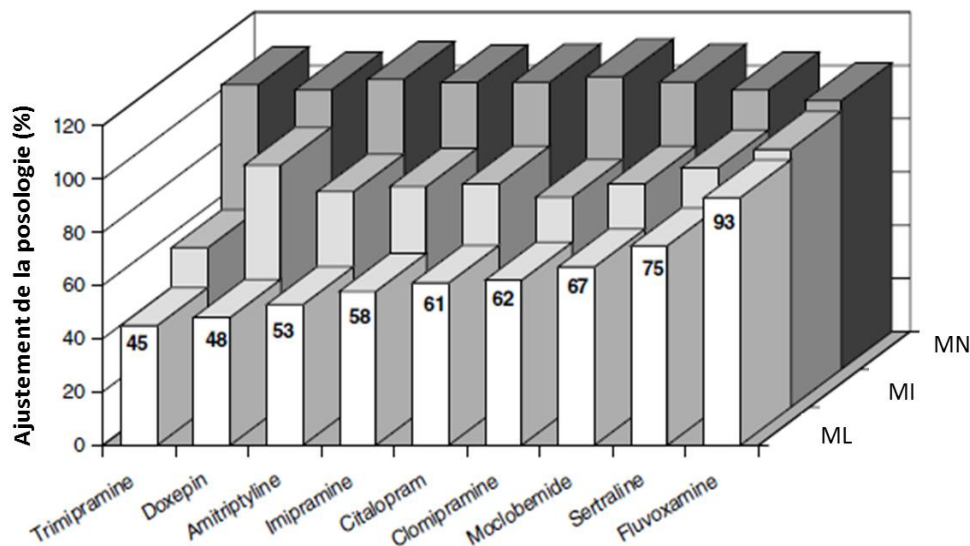


Figure 4: Recommandations d'ajustement de la posologie des ADs en fonction du phénotype *CYP2C19* (d'après (Kirchheiner et al., 2004)).

I.6.2.1.7 *CYP2D6*, *CYP2C19* et métabolisme de la venlafaxine

La venlafaxine (VEN) est principalement métabolisée par le *CYP2D6* en son métabolite actif principal l'O-desmethylvenlafaxine (ODV). L'ODV a la même activité biologique que la venlafaxine (Otton et al., 1996; Sangkuhl et al., 2014; Veeffkind et al., 2000).

Les études *in-vitro* ont montré également la participation minoritaire du *CYP2C19* dans la formation de la molécule active ODV dans les microsomes de foie (Fogelman et al., 1999).

La N-desmethylation de la venlafaxine est une voie minoritaire de métabolisme de la venlafaxine en N-desmethylvenlafaxine (NDV) qui est le métabolite mineur actif. Cette voie est catalysée par le *CYP2C19* et *CYP3A4* (Fogelman et al., 1999) (Figure 5).

Dans la plupart des études de pharmacogénétique de la littérature sur la venlafaxine, les phénotypes *CYP2D6* des patients ont été déterminés grâce au ratio ODV/VEN qui a été décrit comme un autre moyen de phénotyper les patients par *Preskorn et al.* (Preskorn, 2010). En effet, ceci permettrait d'inclure dans le groupe des MLs les patients chez lesquels on retrouve une phénoconversion des phénotypes MNs ou MIs déterminés par le génotypage vers le phénotype ML (Preskorn et al., 2013; Shah and Smith, 2015). Ainsi, les études d'association du phénotype du *CYP2D6* déterminé grâce au ratio ODV/VEN ont montré une validation du génotype du *CYP2D6* par ce ratio (Nichols et al., 2009; Shams et al., 2006; van der Weide et al., 2005; Veefkind et al., 2000).

Quelques études ont analysé la réponse clinique des patients traités par venlafaxine (Kawanishi et al., 2004; Lobello et al., 2010; Veefkind et al., 2000). Une étude avec un petit effectif de patients dépressifs a montré une tendance entre l'efficacité de la venlafaxine après 7 semaines de traitement et le phénotype *CYP2D6* déterminé par le ratio ODV/VEN. Ils ont décrit trois catégories de répondeurs : les répondeurs avec une diminution de plus de 50% sur l'échelle HDRS par rapport à l'inclusion, les non-répondeurs avec une diminution de moins de 30% et le groupe intermédiaire de répondeurs partiels. Dans cette étude un ratio ODV/VEN beaucoup plus important que 1, correspond aux MURs et sont associés à une efficacité plus importante de la venlafaxine (Veefkind et al., 2000). Dans une autre étude prospective, *Lobello et al.* ont mélangé 4 études prospectives en double-aveugle avec 464 patients dépressifs traités par la venlafaxine et 366 par le placebo qui ont été évalués à des différents temps entre 6 et 12 semaines (Lobello et al., 2010). Dans cette étude, le groupe des patients MNs ont mieux répondu au traitement. Les patients MNs sont les plus nombreux en rémission comparés aux MLs. Toutefois, d'autres études cliniques n'ont pas montré d'association entre le phénotype *CYP2D6* déterminé par le ratio ODV/VEN et la réponse à la venlafaxine, mais ont mis en évidence le nombre important d'effets secondaires enregistrés chez les patients MLs (Grasmader et al., 2004; Shams et al., 2006).

Une étude intéressante avec 108 patients caucasiens dépressifs traités par des divers ADs et évalués sur l'échelle HDRS durant 8 semaines a montré une incidence des patients avec le phénotype *CYP2D6* UM plus importante chez les patients dépressifs (Kawanishi et al., 2004). Cette découverte a mené à l'hypothèse que la duplication du gène *CYP2D6* pourrait être un facteur génétique qui influence la réponse clinique aux ADs (Kawanishi et al., 2004).

Jusqu'à présent seulement trois études ont examiné l'influence des polymorphismes génétiques du *CYP2D6* et *CYP2C19* de façon simultanée sur la réponse à la venlafaxine et la prédiction de l'efficacité de cette molécule chez les patients dépressifs dans un milieu clinique psychiatrique naturaliste (Grasmader et al., 2004; Ng et al., 2013; Rolla et al., 2014).

Ces études n'ont pas montré d'association entre le génotype *CYP2D6* et la réponse au traitement. Il est intéressant de mentionner l'évaluation sur l'échelle CGI (Clinical global impression) pendant une année par l'équipe de *Rolla et al.* a mis en évidence une meilleure réponse à la venlafaxine à une posologie plus importante comparé à la posologie thérapeutique classique chez les patients MURs. Cependant, aucune association n'a été montrée entre le phénotype ML et l'efficacité de la venlafaxine ou les effets secondaires (Rolla et al., 2014).

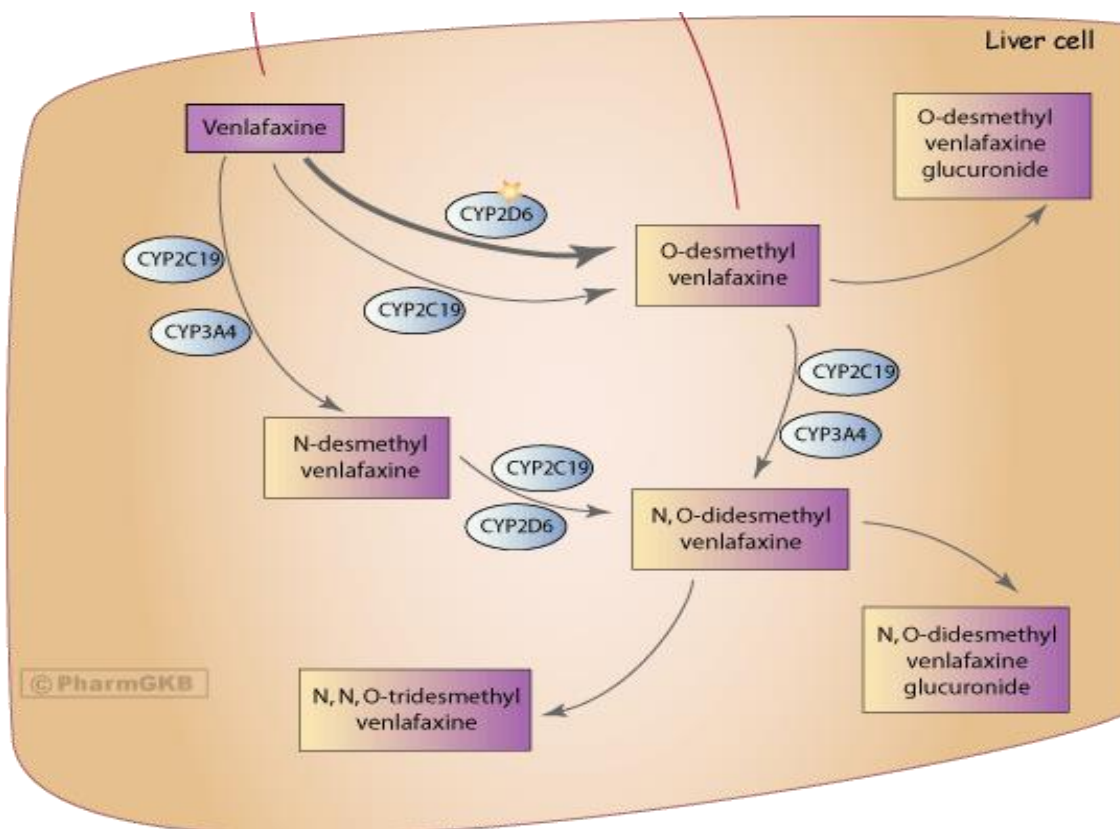


Figure 5: Métabolisme de la venlafaxine (d'après PharmGKB).

I.6.2.2 Pharmacogénétique des transporteurs impliqués dans le transport des antidépresseurs et des composés endogènes

La plupart des ADs dans la pratique clinique d'aujourd'hui inhibent la recapture de la sérotonine, noradrénaline et dopamine (Berton and Nestler, 2006; David and Gardier, 2016). Ce mécanisme inclut les transporteurs de ces monoamines endogènes, le transporteur de la noradrénaline (NAT), sérotonine (SERT) et dopamine (DAT), aussi connus dans la littérature comme les transporteurs « d'Uptake 1 » (Amara and Kuhar, 1993; Eisenhofer, 2001). En régulant les concentrations des monoamines dans la synapse, ces transporteurs contrôlent la transmission des monoamines et jouent un rôle important dans la dépression majeure.

Le transporteur le plus étudié parmi ces transporteurs associés à la réponse aux ADs jusqu'à présent est le transporteur de la sérotonine (*SLC6A4*). L'insertion/délétion fonctionnelle de 44 nucléotides situés dans le promoteur du gène du transporteur de la sérotonine, le *5-HTTLRP* (ou *SERT*). Des études précliniques et cliniques ont montré une prédisposition à la dépression et anxiété ainsi qu'une mauvaise réponse aux ADs, spécialement aux ISRSs chez les porteurs de la délétion de 44 nucléotides (Homberg and Lesch, 2011). Il existe plus de 900 références publiées jusqu'à ce jour, avec des populations très hétérogènes et très différentes en termes de la taille et de l'ethnie de la population étudiée. Enfin, une méta-analyse récente a confirmé l'association de ce variant à la dépression et la réponse aux ADs chez les porteurs caucasiens de la délétion (Porcelli et al., 2012). De plus, l'effet de *5-HTTLRP* sur la réponse et la rémission au citalopram semblerait être modulé par l'âge. Ceci a été démontré dans l'étude STAR*D, où les patients plus âgés porteurs de la délétion fonctionnelle de 44 nucléotides auraient une moins bonne réponse au citalopram (Shiroma et al., 2014). Grâce aux techniques d'imagerie cérébrale, il a été mis en évidence chez les patients mutés, traités par citalopram, une moins importante modulation du système sérotoninergique (Ma et al., 2015).

Récemment, les scientifiques ont commencé à étudier de manière plus importante le rôle des transporteurs des médicaments dans la réponse aux médicaments ADs, qui sont des facteurs déterminants de l'efficacité et de la tolérance des médicaments (Konig et al., 2013). Du point de vue fonctionnel les transporteurs sont classifiés en deux classes importantes : les transporteurs d'influx, qui assurent le transport des médicaments dans la cellule et les transports d'efflux, qui assurent l'export des médicaments à l'extérieur de la cellule. La plupart des transporteurs ont une expression ubiquitaire dans des organes comme le cerveau, les reins, le foie, l'intestin et les cellules du système immunitaire (Lee et al., 2009).

Ces transporteurs sont classifiés en quelques familles importantes et seront présentés comme gène/protéine plus loin : les transporteurs ATP-binding cassette *ABCB1/P-gp*, *ABCC1/MRP1*, *ABCC2/MRP2*, *ABCC3/MRP3*, *ABCC4/MRP4*, *ABCC5/MRP5*, *ABCG2/BCRP* (Dean et al., 2001); la famille des *SLCs* (solute carrier superfamily) qui est la plus grande famille des transporteurs qui comporte la famille des *SLC6* : *SLC6A4/SERT*, *SLC6A2/NET*, *SLC6A3/DAT*, la famille des *OCTs* (organic cation transporter) : *SLC22A1/OCT1*, *SLC22A2/OCT2*, *SLC22A3/OCT3*, Na⁺ carnitine cotransporter (OCTN): *SLC22A5/OCTN2*, OATs (organic anion transporters): *SLC22A6/OAT1*, *SLC26A7/OAT2*, *SLC22A8/OAT3*, *SLC22A11/OAT4* ; la famille plus récente des *MATEs* (multidrug and toxin extrusion organic cation/proton antiporters): *SLC47A1/MATE1*, *SLC77A2/MATE2*, les *SLCOs* (Solute Carrier Organic Anion): *SLCO1A2/OATP1A2*, *SLCO1B1/OATP1B1*, *SLC1B3/OCT1B3*, les *ENT* (Equilibrative Nucleoside Transporter) *SLC29A4/ENT4* (aussi appelés les *PMATs* (Plasma Monoamine Transporter)) (Geier et al., 2013; Lee et al., 2009; Uchida et al., 2011).

Nous détaillerons plus spécifiquement les transporteurs OCTs (OCT1, OCT2 et OCT3) la famille des *SLC22A* (*SLC22A1*, *SLC22A2*, *SLC22A3*) ainsi que le transporteur PMAT (*SLC29A4*) qui sont potentiellement impliqués dans la transmission monoaminergique dans le cerveau (Engel and Wang, 2005). Le transporteur OCT3 est le plus étudié dans la littérature, appelé aussi EMT (extraneuronal monoamine transporter). Comparé aux SERT, NAT et DAT qui sont des transporteurs avec une grande affinité pour les monoamines, les OCTs et le PMAT sont des transporteurs avec une basse affinité et grande capacité pour les monoamines aussi connus dans la littérature comme les transporteurs d « d'Uptake 2 » (Engel et al., 2004).

Deux mécanismes majeurs de transport des monoamines ont été décrits indépendamment dans la littérature : le SERT, le NAT et le DAT, appelés aussi les transporteurs « d'Uptake 1 », localisés dans le neurone présynaptique (Amara and Kuhar, 1993; Eisenhofer, 2001) et les OCTs et le PMAT, les transporteurs « d'Uptake 2 » principalement localisées dans les neurones présynaptiques et les astrocytes (Eisenhofer, 2001).

I.6.2.2.1 Transporteurs d'Uptake 2- voie alternative de clairance des monoamines dans le cerveau

Les transporteurs OCTs et PMATa appartiennent au groupe des transporteurs « d'Uptake 2 », qui ont une faible affinité mais grande capacité de transport des amines. Le

mécanisme des transporteurs « d'Uptake 2 » est impliqué dans la modulation des monoamines dans le cerveau (Hendley et al., 1970; Iversen et al., 1965; Russ et al., 1996).

Peu d'études ont été publiées depuis que cette hypothèse de réponse aux ADs a émergé dans les années 1970 jusqu'en 2004 (Schildkraut and Mooney, 2004). *Schildkraut et Monet* ont décrit cette hypothèse, basée sur la littérature, ainsi que sur des observations sur des patients. Suite à l'administration de médicaments qui bloquent le NAT chez des patients, ceci induirait une diminution graduelle de normétanéphrine, le métabolite O-méthylé de la noradrénaline (Schildkraut and Mooney, 2004). La normétanéphrine est un inhibiteur des transporteurs « d'Uptake 2 » (Iversen et al., 1965). En conséquence, la recapture de la noradrénaline par le mécanisme des transporteurs « d'Uptake 2 » peut être réduite par la normétanéphrine, augmentant ainsi la noradrénaline extracellulaire.

Une autre idée qui confirme l'importance des transporteurs « d'Uptake 2 » dans le transport des monoamines est la sélectivité des substrats entre les transporteurs de grande affinité pour les monoamines, les SERT, NAT et DAT. Il existerait un effet compensatoire entre ces transporteurs dans le cas où l'un d'entre eux est inhibé (Drago et al., 2011). Effectivement, des études ont analysé la recapture des monoamines extracellulaires par les transporteurs du mécanisme des transporteurs « d'Uptake 1 » en inhibant ces transporteurs un par un. Ces études ont mis en évidence une augmentation de la dopamine extracellulaire suite à un blocage du NAT. Par exemple, le blocage de NAT dans le cortex préfrontal induit une augmentation plus importante de la dopamine extracellulaire comparé à un blocage du DAT (Carboni et al., 2006). Dans une autre étude, sur des souris KO *slc6a3*, la nisoxétine, qui bloque le NAT, a inhibé la recapture de 40% de la dopamine dans les synaptosomes (Moron et al., 2002). La recapture de la dopamine par le SERT a été également mise en évidence chez la souris KO. Suite à une administration de la cocaïne, qui est un inhibiteur non-sélectif des transporteurs des monoamines, la dopamine extracellulaire a augmenté dans le striatum des souris KO *slc6a3*, mais pas dans el striatum des souris double KO *slc6a4/slc6a3*. Ces études montrent une recapture de la dopamine par le SERT (Shen et al., 2004).

Dans le but de montrer une sélectivité moins bien définie des transporteurs à haute affinité pour leur substrat, une étude a montré la recapture de noradrénaline par le SERT chez les souris KO *slc6a2*. *Vizi et al.* ont montré un retard de la recapture de [³H]noradrénaline chez les souris KO *slc6a2*. Cependant cette recapture a été mesurable par électrophysiologie, étant de 12.6% dans l'hippocampe et de 33.5% dans le cortex (Vizi et al., 2004). Le transporteur DAT a également un effet compensatoire pour la recapture de la sérotonine. Ceci a été mis en évidence chez les souris KO *slc6a4* (Pan et al., 2001).

Dans l'ensemble, ces études mettent en évidence les effets compensatoires des mécanismes de recapture des monoamines pour le SERT, le NAT et le DAT dans le cas où l'un d'entre eux est inhibé. De plus, des études ont montré une localisation des SERT, NAT et DAT en dehors de la fente synaptique, comme dans la région pérисynaptique tout au long des axones ou dendrites (Nirenberg et al., 1996; Sur et al., 1996). Ainsi, les neurotransmetteurs atteignent les transporteurs par une transmission paracrine (Fuxe et al., 2007). Une étude fonctionnelle apporte plus de preuves à ces découvertes anatomiques. En mesurant par voltamétrie cyclique la sérotonine ainsi que par des modèles mathématiques, cette étude montre une diffusion de la sérotonine de son site de libération jusqu'à d'autres éléments extra-synaptiques, comme le « Uptake 2 » (Clements, 1996). D'autres études utilisant les mêmes techniques ont montré la même diffusion pour d'autres neurotransmetteurs comme le glutamate ou la dopamine (Cragg and Rice, 2004).

Par ailleurs, les OCTs et le PMAT sont situés dans des régions clés au niveau du cerveau pour recevoir les projections aminérgiques (Amphoux et al., 2006; Vialou et al., 2008). Les transporteurs de haute affinité sont situés majoritairement dans des boutons synaptiques, alors que les transporteurs « d'Uptake 2 » sont situés majoritairement dans les projections neuronales ou les astrocytes (Busch et al., 1998) et sont impliqués dans la clairance des monoamines dans des conditions physiologiques. Ceci peut être confirmé dans les études des souris KO pour les transporteurs de « l'Uptake 1 » (SERT/NAT/DAT), où l'on remarque une diminution de la concentration des monoamines dans le cerveau qui pourrait être expliquée par la recapture des monoamines par les transporteurs « d'Uptake 2 » (OCTs/PMATs) par une transmission paracrine (Bacq et al., 2012).

L'ensemble de ces résultats montrent une plasticité non-négligeable des transporteurs « d'Uptake 1 » ainsi qu'une voie alternative de clairance des monoamines dans le cerveau par le mécanisme des transporteurs « d'Uptake 2 » (Figure 6).

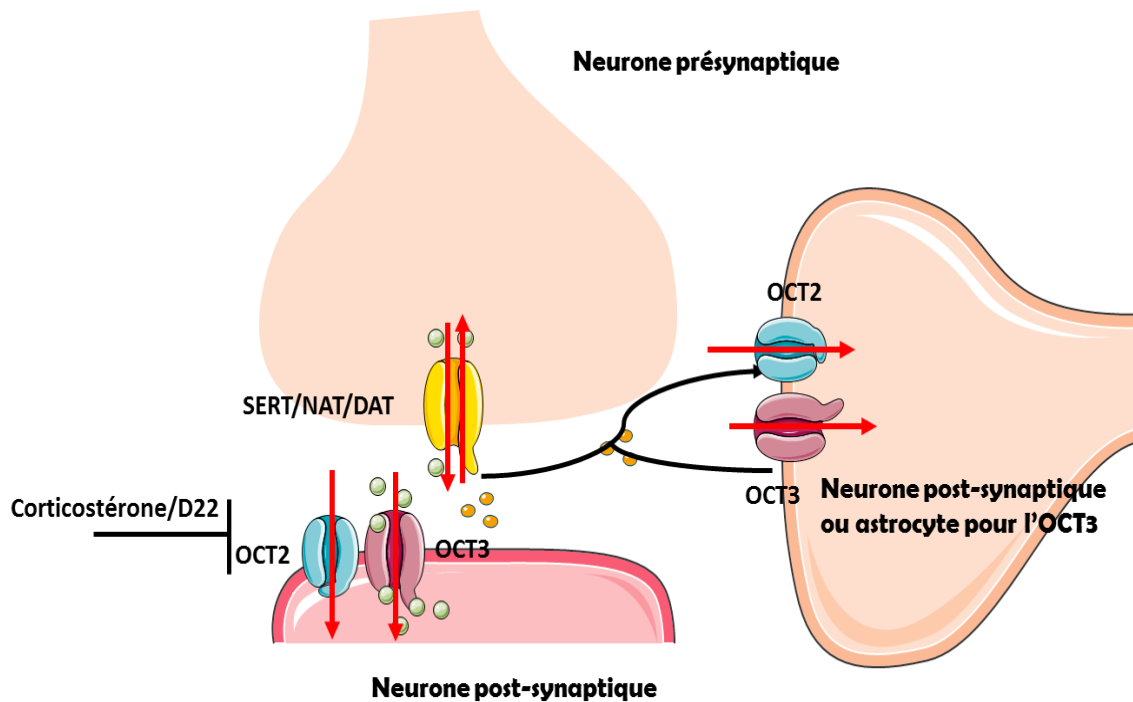


Figure 6: Rôle des OCTs dans le cerveau

I.6.2.2.2 Transporteurs d'Uptake 2 – une cible potentielle pour les médicaments antidépresseurs

Des molécules inhibitrices des transporteurs « d'Uptake 2 » pourraient être développées et administrées avec les médicaments ADs. Ceci pourrait avoir un impact intéressant sur l'efficacité thérapeutique des ADs. En prenant en compte les mécanismes des transporteurs « d'Uptake 1 » et « Uptake 2 », ceci constituerait une approche innovante dans le développement d'une nouvelle stratégie d'ADs (Daws et al., 2013).

I.6.3 Pharmacogénétique des autres gènes associés à la dépression

Quelques gènes candidats, n'étant pas directement les cibles des ADs, ont suscité l'intérêt par leur rôle clé dans la réponse aux ADs. Parmi les gènes les plus étudiés nous pouvons souligner le *FKBP5*, le *BDNF*, le *NTRK2* ou la *COMT*.

Le *FKBP5* (FK506-binding protein 52) module la sensibilité aux glucocorticoïdes, qui jouent un rôle clé dans la réponse au stress et l'activité de l'axe hypothalamo- hypophysaire. Le polymorphisme du *FKBP5*, le plus étudié dans l'association à la réponse aux ADs, est le

rs1360780. Les résultats ont été controversés, mais une méta-analyse récente a montré une association entre l'allèle T du *rs1360780* et une meilleure réponse aux ADs chez les patients caucasiens (Niitsu et al., 2013).

Le gène *BDNF* (brain-derived neurotrophic factor) code pour une neurotrophine impliquée dans la neurogenèse, qui détermine l'ensemble du processus de création d'un neurone fonctionnel du système nerveux (Colle et al., 2015). Le polymorphisme *BDNF Val66Met* a été associé à une réduction du volume de l'hippocampe et ainsi qu'à l'anxiété et la dépression. Cependant ces études n'ont pas été répliquées (Glatt and Lee, 2016). Des études pharmacogénétiques récentes, notamment une méta-analyse, ont mis en évidence une meilleure réponse chez les porteurs du génotype hétérozygote muté du *BDNF Val66Met*, particulièrement dans la population asiatique (Niitsu et al., 2013).

Le gène *NTRK2* est le récepteur principal du *BDNF* (Deflesselle et al., 2017). Une étude récente sur la cohorte METADAP des patients caucasiens n'a montré aucune association entre six polymorphismes de ce gène et la réponse au traitement antidépresseur (Deflesselle et al., 2017).

Les études d'association pharmacogénétique de la *COMT* (Catechol-O-methyltransferase) et la réponse aux ADs seront détaillées plus bas.

I.6.3.1 Catechol-O-methyltransferase (COMT)

L'enzyme catechol-O-methyltransferase (COMT) est un enzyme découvert dans les années 1950 qui dégrade les catécholamines comme la dopamine et la noradrénaline (Figure 7) (Craddock et al., 2006). Deux isoformes de protéines sont connues, la S-COMT, qui est l'isoforme cytoplasmique soluble de l'enzyme et la MB-COMT qui est l'isoforme membranaire. Les deux formes sont exprimées de façon ubiquitaire, mais dans le cerveau l'isoforme membranaire MB-COMT est majoritaire (Craddock et al., 2006).

Les études en psychiatrie montrent un rôle du genre dans l'activité de COMT. Les femmes ont une activité de l'enzyme moins importante comparée à celle des hommes. Ceci montre l'importance du genre dans les différents phénotypes du gène *COMT* en psychiatrie (Floderus et al., 1981; Klein et al., 2016).

L'enzyme COMT est codé par le gène *COMT* qui est situé dans le chromosome 22q11. Dans le cerveau la dégradation de la dopamine effectuée par COMT est majoritaire dans le cortex préfrontal, où l'expression du DAT est minoritaire (Craddock et al., 2006). Les

polymorphismes génétiques de la *COMT* sont parmi les plus étudiés dans la voie noradrénergique et la dopaminergique (Figure 7) (Lotta et al., 1995; Mannisto and Kaakkola, 1999).

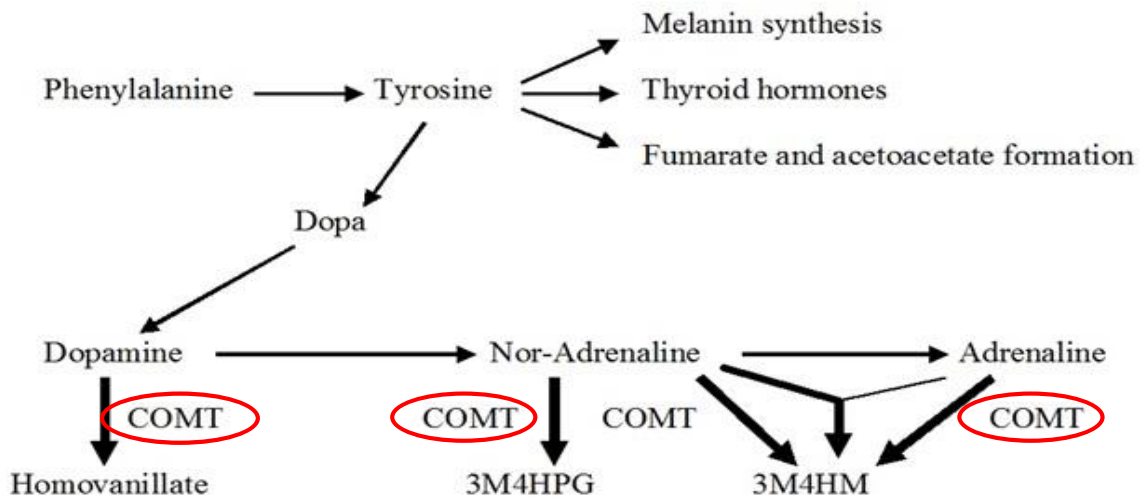


Figure 7: Physiologie de la COMT d'après (Craddock et al., 2006).

I.6.3.2 Polymorphismes génétiques de la COMT et l'épisode dépressif majeur

La plupart des études pharmacogénétiques d'association des gènes candidats et la réponse aux ADs se sont focalisées sur les gènes de la voie sérotoninergique détaillée plus haut. Peu d'études ont examiné les gènes de la voie dopaminergique et noradrénergique (Belmaker and Agam, 2008; Bosker et al., 2011). Des études plus récentes ont examiné l'association de la *COMT* à la prédisposition de la dépression ainsi qu'à la réponse aux ADs (Craddock et al., 2006).

Plusieurs polymorphismes génétiques de la *COMT* ont été étudiés chez des patients déprimés (Bosker et al., 2011; Houston et al., 2011; Huang et al., 2010; Perlis et al., 2009; Rietschel et al., 2010; Soronen et al., 2011). Deux études d'association récentes des gènes candidats et la réponse au traitement ont été effectuées. *Houston et al.* ont montré, dans une étude randomisée en double aveugle chez les patients dépressifs évaluant 200 polymorphismes

génétiques différents dans six gènes candidats, une association entre *COMT* (rs165737) et la réponse à la duloxétine (n=250, (Houston et al., 2011)). Une autre étude basée sur des patients déprimés a montré une association significative entre un seul gène, le *COMT*, parmi les 19 gènes étudiés et l'amélioration des symptômes dépressifs chez les patients traités par duloxétine (n=250, (Perlis et al., 2009)).

L'hétérogénéité des études est causée par divers facteurs comme la méthodologie, l'évaluation de la comorbidité, l'hétérogénéité de la population, un mauvais phénotypage de la maladie à l'inclusion ainsi que la difficulté de diagnostic de la dépression majeure (Bosker et al., 2011).

I.6.3.3 Polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* et la réponse au traitement antidépresseur

I.6.3.3.1 Fonctionnalité du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*

Un polymorphisme génétique non-synonyme, le *rs4680* (427G>A) induit un changement de l'acide aminé valine en méthionine dans le codon 158 (*Val158Met*) dans l'isoforme membranaire de COMT (MB-COMT). Ce même polymorphisme génétique induit le même changement d'acide aminé mais cette fois-ci dans le codon 108 (*Val108Met*) dans l'isoforme soluble de COMT (S-COMT) (Figure 8).

Les études *in vitro* ont montré l'impact de ce polymorphisme génétique sur la fonctionnalité de l'enzyme : les porteurs du génotype *Val/Val* ont une activité enzymatique élevée, les porteurs du génotype *Val/Met* ont une activité intermédiaire de l'enzyme COMT et les porteurs du génotype *Met/Met* ont une activité faible de COMT. Les porteurs de l'allèle *Met* ont une activité enzymatique trois à quatre fois moins importante comparée à celle des porteurs de l'allèle *Val* (Lachman et al., 1996). Du fait de son rôle dans les voies dopaminergique et noradrénergique, ce polymorphisme génétique a été étudié dans le cadre de quelques pathologies comme la schizophrénie (Fan et al., 2005) ou le trouble obsessionnel compulsif (Azzam and Mathews, 2003). Toutefois, ces méta-analyses n'ont pas apporté des résultats suffisants quant à l'association du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* à la schizophrénie ou au trouble obsessionnel compulsif.

Le génotype *COMT Val(108/158)Met, rs4680* a été associé au trouble obsessionnel compulsif chez les hommes (Pooley et al., 2007) et avec anxiété chez les femmes (Stein et al., 2005).

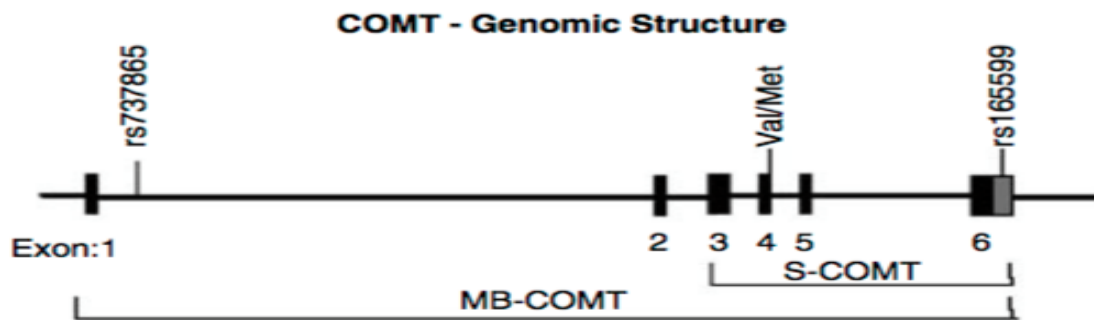


Figure 8: Polymorphisme génétique de la *COMT Val(108/158)Met, rs4680*

I.6.3.3.2 *COMT Val(108/158)Met*, facteur de risque dans la dépression

Quelques études ont examiné l'association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la dépression majeure (Garriock et al., 2006; Lopez-Leon et al., 2008; Massat et al., 2011; Massat et al., 2005; Ohara et al., 1998). Les résultats de ces études sont contradictoires : *Ohara et al.* n'ont montré aucune association entre l'allèle *Met* et l'EDM dans la population japonaise (Ohara et al., 1998), *Massat et al.* ont décrit une fréquence allélique plus importante de l'allèle *Val* dans la survenue précoce de l'EDM chez les patients européens (Massat et al., 2011; Massat et al., 2005).

Dans une méta-analyse de 1091 patients et 1722 contrôles dans une population mixte, *Lopez-Leon et al.* n'ont pas montré d'association entre *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et l'EDM (Lopez-Leon et al., 2008). Dans une autre étude *Klein et al.* n'ont pas montré d'association entre *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et l'EDM dans la population générale, ni dans la population stratifiée par sexe (Klein et al., 2016) et *Garriock et al.* n'ont mis en évidence aucune corrélation entre *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la prédisposition à la dépression (Garriock et al., 2006).

Au contraire, dans une méta-analyse dans une population européenne et asiatique Wang *et al.* ont mis en évidence un risque 23.1% plus important de survenue d'un évènement de dépression chez les porteurs de l'allèle *Val* dans la population européenne et 43.1% plus important dans la population asiatique (Wang *et al.*, 2016).

I.6.3.3.3 *COMT Val(108/158)Met* et réponse aux antidépresseurs

Des études cliniques se sont focalisées sur l'association du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* et la réponse aux ADs. Au nombre de dix-huit, elles ont montré des résultats discordants chez les patients dépressifs.

Huit études ont montré une association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* et la réponse aux ADs évaluée sur l'échelle HDRS (Atake *et al.*, 2015; Benedetti *et al.*, 2009; Benedetti *et al.*, 2010; Hopkins *et al.*, 2013; Spronk *et al.*, 2011; Szegedi *et al.*, 2005; Tsai *et al.*, 2009; Yoshida *et al.*, 2008). Trois études ont mis en évidence une meilleure réponse chez les porteurs de l'allèle *Val* (Atake *et al.*, 2015; Hopkins *et al.*, 2013; Szegedi *et al.*, 2005). Une étude randomisée a montré une meilleure amélioration du score HDRS chez les porteurs du génotype *Val/Val* comparé aux porteurs du génotype *Met/Met* après huit semaines de traitement avec la venlafaxine (n=126 patients, n=128 placebo, (Hopkins *et al.*, 2013)), une autre étude a mis en évidence une meilleure réponse à la mirtazapine chez les porteurs de l'allèle *Val* (n=53, (Szegedi *et al.*, 2005)). La troisième étude qui a évalué la réponse à la duloxétine ainsi que la concentration des métabolites plasmatiques a exposé une augmentation de la concentration du métabolite plasmatique de la voie des catécholamines, le 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol chez les patients japonais (n=64 patients and n=30 contrôles). Cette dernière étude a montré une sensibilité plus importante des neurones noradrénergiques à la duloxétine, mais pas sur la réponse évaluée par l'échelle HDRS (Atake *et al.*, 2015).

D'une autre manière, cinq études ont mis en évidence une meilleure réponse des porteurs *Met/Met* chez les patients caucasiens traités par minalcipran, pendant 6 semaines (n=81, (Yoshida *et al.*, 2008)) ; SSRIs : paroxétine, pendant 1 mois (n=55, (Benedetti *et al.*, 2009)), fluvoxamine, pendant 6 semaines (n=55, (Benedetti *et al.*, 2010)), traitement pas spécifié, pendant 8 semaines (n=25, (Spronk *et al.*, 2011)) chez les patients chinois traités par fluoxétine après 8 semaines de traitement (n=334, (Tsai *et al.*, 2009)).

D'autre part, dix études n'ont pas montré d'association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* et la réponse aux ADs évaluée par l'échelle HDRS

chez les patients déprimés (Arias et al., 2006; Baune et al., 2008; Chiesa et al., 2014; Gudayol-Ferre et al., 2010; Kautzky et al., 2015; Kocabas et al., 2010; McMahon et al., 2006; Szegedi et al., 2005), avec des divers traitements par l'échelle MADRS (Montgomery–Åsberg Depression Rating Scale), qui évalue la sévérité des épisodes dépressifs majeurs (Illi et al., 2010) et par l'échelle HAMA (Hamilton Anxiety Rating Scale) (Narasimhan et al., 2012) qui évalue la sévérité de l'anxiété. Aucune association n'a été montrée entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse à la venlafaxine et paroxétine chez les patients coréens (n=184 patients et n=200 contrôles sains, (Chiesa et al., 2014)); la venlafaxine et d'autres ADs (n=226 patients and n=557 contrôles (Baune et al., 2008); la venlafaxine (n=112, (Narasimhan et al., 2012)); le citalopram a été évalué dans l'étude STAR*D qui a analysé 68 gènes et 768 polymorphismes génétiques (n=1953, (McMahon et al., 2006) et (n=139, (Arias et al., 2006)).

Aucun effet du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* n'a été montré sur la réponse aux ADs dans une population homogène de patients caucasiens traités par tous les médicaments ADs évalués par l'échelle HDRS (n=225, (Kautzky et al., 2015)) et (n=396 patients et n=295 contrôles, (Kocabas et al., 2010); aux ISRSs chez les patients caucasiens à la paroxétine et fluvoxamine évalués par l'échelle HDRS (n=207, (Arias et al., 2006)), à la paroxétine, fluvoxamine et citalopram (n=86, (Illi et al., 2010)), la paroxétine (n=49, (Szegedi et al., 2005)), fluoxétine (n=64, (Gudayol-Ferre et al., 2010) évalués par l'échelle HDRS.

Une explication possible de ces résultats contradictoires pourrait être la définition assez large de la dépression ainsi que son diagnostic (Klein et al., 2016).

I.6.3.3.4 *COMT Val(108/158)Met* et la réponse à la venlafaxine

Parmi les études mentionnées plus haut, seulement quatre études ont examiné l'association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse à la venlafaxine : trois études évalués par l'échelle HDRS ((Hopkins et al., 2013), (Chiesa et al., 2014), (Baune et al., 2008)) et une étude avec une évaluation par l'échelle HAMA (Narasimhan et al., 2012). Parmi ces études, l'étude randomisée de *Hopkins et al.* a mis en évidence une meilleure amélioration chez les porteurs du génotype *Val/Val* comparé au génotype *Met/Met* après huit semaines de traitement dans une population 75% caucasienne et 25% afro-américaine (n=126 patients et n=128 placebo, (Hopkins et al., 2013).

Trois autres études n'ont pas montré d'association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* et la réponse à la venlafaxine (Baune et al., 2008; Chiesa et al., 2014; Narasimhan et al., 2012).

I.7 Etudes de GWAS et réponse aux antidépresseurs

De nombreuses études ont eu comme but d'analyser l'influence génétique dans les maladies psychiatriques, notamment les GWAS (genome-wide association studies) (Flint and Kendler, 2014). Cette technique (détaillée dans le chapitre : 1.9 Séquençage de l'ADN) a marqué un tournant majeur dans la recherche en psychiatrie grâce à la possibilité d'analyser des centaines de milliers jusqu'à même un million de SNP du génome humain et tendent de s'affranchir l'hypothèse *à priori*.

Jusqu'à présent trois études importantes de GWAS, avec une population déprimée majoritairement caucasienne ont été réalisés : MARS, STAR*D et GENDEP (Garriock et al., 2010; Ising et al., 2009; Uher et al., 2010). Récemment une méta-analyse basée sur ces trois études a été réalisée (Uher R et al., 2013). Les trois études ainsi que la méta-analyse n'ont pas montré d'association entre des variants génétiques et la réponse aux ADs. Cependant, les résultats ont montré la présence de quelques polymorphismes intéressants majoritairement situés dans les régions inter-géniques dans le chromosome 1, 10, dans le gène *UBEC3C* (Ubiquitin Ligase 3C), *BMP7* (Bone Morphogenetic Protein 7), *RORA* (RAR-Related Orphan Receptor A) et *CDH17* (Cadherin 17) ou encore *IL11* (Interleukin 11) (Garriock et al., 2010; Ising et al., 2009; Uher et al., 2010). La méta-analyse de ces trois études a mis en évidence un seul polymorphisme du gène de la myosine X (*MYO10*), situé dans une région intronique qui a été associé à l'amélioration du traitement AD (Uher R et al., 2013).

Ces résultats sont difficilement interprétables et il est impossible d'appliquer en clinique ces analyses car la plupart de ces variants ont été identifiés dans des régions non-codantes. Des travaux expérimentaux sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans la réponse aux ADs.

De plus, la taille de l'échantillon de la population dans GWAS, STAR*D et GENDEP n'est pas suffisante. Des études de réplification sont nécessaires pour pouvoir valider le rôle de ces polymorphismes génétiques dans la réponse aux ADs.

I.8 Recommandations sur l'utilisation de la pharmacogénomique pour les antidépresseurs dans la dépression : vers la personnalisation de traitement antidépresseur

Les seules grandes études en génétique ces 20 dernières années sont les GWAS. Toutefois, ceci n'a pas permis d'expliquer la mauvaise réponse des patients traités par des ADs et de mettre en place des biomarqueurs de prédiction de réponse au traitement AD validés. Jusqu'à présent il n'y a pas d'applications cliniques de la pharmacogénétique des ADs validées par des autorités réglementaires. Ce problème est attribué majoritairement à la difficulté d'interprétation des résultats génétiques ainsi que la difficulté de répliquer les résultats obtenus (Senn, 2016).

Néanmoins, the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) et le Réseau National de Pharmacologie (Quaranta et al., 2017) développe et suggère des recommandations pour appliquer les tests pharmacogénétiques en se basant notamment sur la survenue des effets secondaires des ADs. Ces derniers servent à ajuster les posologies de certains traitements ADs. En 2015, le CPIC recommandait des guidelines d'ajustement de la posologie des ISRSs en fonction des phénotypes *CYP2D6* et *CYP2C19* (Hicks et al., 2015). Par exemple, pour la paroxétine et le *CYP2D6*, CPIC recommande de commencer à la dose recommandée pour les patients MNs et MIs, et une réduction de 50% de la dose recommandée pour les patients ML. Pour les patients MURs *CYP2D6*, CPIC recommande de traiter les patients avec une autre molécule que la paroxétine. Pour la fluvoxamine, pour les MIs et MNs les recommandations restent les mêmes que pour la paroxétine, alors que pour les MLs *CYP2D6*, CPIC suggère une réduction de 25-50% de la posologie. CPIC ne met pas en évidence des recommandations pour les MURs pour la fluvoxamine (Hicks et al., 2015). Pour le *CYP2C19*, le CPIC recommande pour le citalopram et l'escitalopram d'initier avec la dose recommandée pour les MNs et MIs, de diminuer de 50% la posologie pour les MLs et d'éviter ces ADs pour les MURs. Les mêmes recommandations sont indiquées pour la sertraline, avec l'option de commencer à la dose recommandée pour les MURs comparé aux patients traités par citalopram ou l'escitalopram (Hicks et al., 2015).

En 2016, CPIC a publié les recommandations d'ajustement des posologies des ATCs (Hicks et al., 2016). Pour le *CYP2D6*, CPIC recommande d'éviter le traitement avec des ATCs pour les MURs, d'initier le traitement par la posologie recommandée pour les MNs, de diminuer de 25% la posologie des MIs et d'éviter le traitement pour les MLs. Pour le *CYP2C19*, CPIC recommande d'éviter les ATCs pour les porteurs du phénotype MRs et MURs, d'initier le

traitement à la posologie recommandée pour les MNs et les MIs et d'éviter les ATCs pour les porteurs du phénotype ML à cause de la survenue des effets secondaires (Hicks et al., 2016). Les ATCs sont à l'origine de beaucoup d'effets secondaires. Ceci a été confirmé par une étude qui a évalué toutes les études cliniques des effets secondaires depuis 1995 dans toutes les classes thérapeutiques de médicaments. Parmi ces études, 27 médicaments, 59% dont les ATCs et la fluoxétine, sont métabolisés par des variants des enzymes de métabolisme connus (Phillips et al., 2001)

Dans le même ordre d'idée, Mayo Clinic a publié ses guidelines concernant les phénotypes *CYP2D6* et *CYP2C19* en psychiatrie (Nassan et al., 2016). Par exemple à la Mayo Clinic, il existe une prise en charge du patient en appliquant la médecine personnalisée. En effet, si la prescription pour le patient ML ou MI comporte la fluoxétine, paroxétine ou venlafaxine, ou pour un patient ML ou MI *CYP2C19* comporte le citalopram ou l'escitalopram, ceci déclenche une alerte dans le système utilisé par le clinicien. A ce jour, la FDA recommande de plus en plus aux cliniciens de changer de molécule, en choisissant un AD qui est métabolisé par une autre voie métabolique si le patient comporte un phénotype délétère (Nassan et al., 2016).

Ces nombreuses études des effets secondaires des ATCs ont conduit à une étude plus récente d'évaluation du coût-efficacité dans une population allemande hospitalisée traitée par la nortriptyline. *Berm et al.* ont montré que le génotypage du *CYP2D6* serait intéressant au prix de 40 euros par test. Cependant, le génotypage serait rentable et pour 35 euros par test et le génotype serait le plus important facteur du choix de la posologie (Berm et al., 2016b). Une autre étude de coût-efficacité a montré que les patients traités par venlafaxine en monothérapie répondaient mieux, présentaient moins d'effets secondaires et coûtaient moins, comparés à des patients qui étaient traités par des bi- ou trithérapies qui étaient des substrats ou inhibiteurs du *CYP2D6* (Sicras-Mainar et al., 2014). Cette étude a mis en évidence l'importance du phénotype *CYP2D6*.

Quelques tests de pharmacogénétique sont commercialisés par des compagnies pharmaceutiques. Ces biomarqueurs sont basés sur des algorithmes de prédiction qui ne sont pas disponibles au public et qui ne sont pas testés par des investigateurs indépendants. Les gènes ont été choisis en se basant notamment sur des études de gène candidat (Tableau 5).

Le test GeneSight® a été validé et commercialisé par AssureRx Health® aux Etats Unis et comporte l'analyse des 50 allèles de des gènes : *SLC6A4*, *HTR2A*, *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP1A2*. Les allèles du *SLC6A4* et *HTR2A* sont les plus nombreux dans ce test, grâce à de

nombreuses études et méta-analyses présentées plus haut qui confirment leur pertinence clinique. Le test GeneSight® a été testé dans deux études prospectives, dont une étude randomisée en double-aveugle (Winner et al., 2015), deux études de coût-efficacité (Hall-Flavin et al., 2012) avec 44 et respectivement 165 patients. Ce test classe les patients en trois catégories avec des différents niveaux de risque. L'utilisation de ce test pour guider le choix d'AD a amélioré le taux de réponse et rémission comparé au traitement classique (Hall-Flavin et al., 2013) et réduit le coût total du traitement de 1035.6 \$ en une année (Winner et al., 2015).

Un autre test commercialisé par Genomind® est le Genecept®, qui comporte l'analyse des polymorphismes génétiques dans les gènes suivants : *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP3A4*, *SLC6A4*, *HTR2C*, *DRD2*, *ANK3*, *COMT*, *MTHFR*, *BDNF* et encore quelques gènes moins connus. Ce biomarqueur a été testé dans une étude naturaliste, cohorte prospective, avec 685 patients et a montré une diminution de la dépression et de l'anxiété ainsi que la diminution des effets secondaires (Brennan et al., 2015). Cependant, aucun traitement comparateur n'a été introduit (Brennan et al., 2015). Une étude rétrospective a testé les résultats obtenus par Brennan et al. dans deux cohortes indépendantes et a mis en évidence une augmentation de 6% dans l'adhésion aux médicaments chez les patients qui ont utilisé le test Genecept® et une diminution de 9% (562\$) chez les patients sur une durée de 4 mois (Fagerness et al., 2014). Mais les bénéfices cliniques de ce test ne sont pas encore validés par une étude randomisée.

Un troisième test de prédiction, le CNSDose®, comporte l'analyse des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19*, *ABCB1*, *ABCC1*, impliqués dans le métabolisme et le transport des ADs. Dans une étude randomisée, avec 148 patients caucasiens pendant 12 semaines, les patients qui ont reçu ce test pour guider le traitement AD ont eu une probabilité de rémission 2.52 fois plus importante (Singh, 2015). Cependant, cette étude a montré que ce test semble être plus cher que Genecept®. De plus, le nombre de patients dans cette étude n'était pas suffisant.

Cependant une validation indépendante de ces résultats est nécessaire, notamment par le biais d'études de coût-efficacité ainsi que des études de réplication pour valider l'utilité clinique avant leur application dans la pratique clinique.

Tableau 5: Principaux outils pharmacogénétiques disponibles à ce jour de prédiction de la réponse au traitement antidépresseur d'après (Bousman and Hopwood, 2016).

Test pharmacogénétique	Fabricant	Pays de Fabrication	Principaux gènes inclus	Médicaments destinés	Référence	Pays D'application
Brainchip	Progenika Biopharma®	Dero, Espagne	<i>CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4</i>	ADs, antipsychotiques	NA	Espagne, Mexique, Norvège, Suède, Finlande, Autriche, Turquie, Moyen Orient, Egypte
DNA4LIFE	DNA4LIFE®	Mandeville, Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, VKORC1, OPRM1, SLC6A4, SLCO1B1</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, anxiolytiques, analgésiques, antidiabétiques, stéroïdes, gastrointestinaux, antiviraux	NA	Amérique
CNSDose	Baycrest Biotechnology®	Albans Park, Australie	<i>ABCB1, ABCC1, CYP2C19, CYP2D6, UGT1A1</i>	ADs	(Singh, 2015)	Australie, Les Etats Unis
Genecept	Geomid®	King of Prussia, Les Etats Unis	<i>CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, AN3, CACNA1C, COMT, DRD2 HTRC2, MTHFR, SLC6A4</i>	ADs, antipsychotiques, anxiolytiques	(Brennan et al., 2015; Fagerness et al., 2014)	Les Etats Unis
GeneSight	Assurex Health®	Mason, Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, UGT1A4, UGT2B6, HLA-A, HLA-B, HTR2A, SLC6A4</i>	ADs, antipsychotiques, anxiolytiques,	(Hall-Flavin et al., 2013; Hall-Flavin et al., 2012; Hornberger et al., 2015; Winner et al., 2013a; Winner et al., 2013b; Winner et al., 2015)	Les Etats Unis
Healthsprek PGT	Healthspeak®	Nashville, Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, VKORC1, COMT, DRD2, OPRM1, SLCO1B1</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, anxiolytiques, analgésiques, antidiabétiques, antiviraux, anticoagulants	NA	Les Etats Unis
IGL Psychiatry	International Genetics Laboratoires®	Troy, Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, MTHFR, SLC6A4, SULTA1</i>	ADs, antipsychotiques, anxiolytiques, analgésiques, immunosuppresseurs	NA	Les Etats Unis
Millennium	Millenium Health®	San Diego, Les Etats Unis	<i>CYP2B6, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A5, UGT2B15, VKORC1, COT, MTHFR, OPRM1</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, analgésiques	NA	Les Etats Unis
MyDNA (formerly DNA-dose)	MyDNA (formerly GenesFX Health)®	Australie	<i>CYP2C19, CYP2C9, CYP26, VKORC1</i>	ADs, antipsychotiques, analgésiques, warfarine, clopidogrel, tamoxifen	NA	Australie
Neuropharmen	AB Biotics®	Barcelona, Espagne	<i>CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, EPHX1, BDNF, CACNG2, COMT, DRD3, GRIA3, HTR2A, LPHN3, AKT1,</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, addiction	NA	Espagne

			<i>DDIT4, FHSD1, RAPTOR</i>			
PGXL	PGXL Laboratories®	Louisville, Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, NAT2, VKORC1, COMT, F2, F5, HLA-B, MTHFR, OPRM1, SLC6A4, SLCO1B1</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, anxiolytiques, analgésiques, antidiabétiques, anticoagulants	NA	Les Etats Unis
PGxPredict	Transgenomic®	Omaha, Les Etats Unis	<i>ABCB1, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, VKORC1, F2, F5, MTHFR</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, anticoagulants	NA	Les Etats Unis
PGxOne	Admera Health®	Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, DYPD, TPMT, UGT1A1, VKORC1, F5, G6PD, HLA-B, IFNL3</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, anxiolytiques, analgésiques, anticoagulants, oncologique	NA	Les Etats Unis
Pharm D	DNA Stat®	Addinson, Les Etats Unis	<i>CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, VKORC1, F2, F5, MTHFR</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, analgésiques	NA	USA
PharmaQx 3.0	BiogeniQ®	Montréal, Canada	<i>CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, NAT2, TPMT, VKORC1, SLCO1B1</i>	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, anticoagulants	NA	Canada
Pharmaco Genet	GeneticHealth®	Londres, Angleterre	NA	NA	NA	Angleterre
PillCheck	GeneYouIn®	Toronto, Canada	<i>CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, DYPD, TMPT, UGT1A1</i>	ADs, antipsychotiques, anxiolytiques, anticoagulants, antiviraux	NA	Canada
PsychPanel	GeneAlign®	Greenville, Les Etats Unis	NA	ADs, antipsychotiques, anticonvulsifs, anxiolytiques	NA	Les Etats Unis
RenaissanceRX	RenaissanceRX®	New Orleans, Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, UGT1A1, UGT2B7, VKORC1, MTHFR, OPRM1</i>	ADs, analgésiques, anticoagulants	NA	Les Etats Unis
Script Letters	Life Letters®	Sydney, Australie	<i>CYP2D6, CYP2C19</i>	ADs	NA	Australie
TreatGx	GenXys®	Vancouver, Canada	<i>CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, VKORC1, G6PD, HLA-A, HLA-B, SLCO1B1</i>	ADs, analgésiques, anticoagulants	NA	Canada
YouScript	Genelex®	Seattle, Les Etats Unis	<i>CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, ADRA2A, COMT, GRIK4, HTR2A, HTR2C, MTHFR, SLC6A4</i>	ADs, analgésiques, anticoagulants	NA	Les Etats Unis

I.9 Séquençage de l'ADN : des méthodes classiques de séquençage jusqu'au séquençage à haut débit et leur application dans les études pharmacogénétiques de réponse aux antidépresseurs

Le séquençage de l'ADN a été inventé dans la deuxième moitié des années 1970. Un des pionniers du séquençage à haut débit a été F. Sanger qui a développé une méthode de synthèse enzymatique sur laquelle la recherche en génétique s'est basée pendant plus de 30 ans (Sanger et al., 1977).

I.9.1 Génotypage par séquençage direct selon la technique de Sanger

Le principe de la méthode de Sanger consiste à initier la polymérisation de l'ADN à l'aide d'un petit oligonucléotide appelé amorce qui est complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer. L'élongation est réalisée par une ADN polymérase en présence de quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) associés à un marqueur fluorescent différent. Une fois incorporés dans le nouveau brin, ces fragments empêchent l'élongation. Les fragments qui résultent de cette étape sont séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide, ce qui permet de lire les bases de chaque séquence. Une dernière étape de bioinformatique permet la reconstruction du fragment d'ADN initial à partir de petits fragments d'ADN séquencés (Sanger et al., 1977). Pour cette découverte, F. Sanger a été récompensé par le Prix Nobel de chimie en 1980. Cette méthode est automatisée et considérée comme une technologie de « première génération ». Cette approche a permis l'accomplissement d'un des plus importants projets en génétique, le décryptage du génome humain (Collins et al., 2003).

I.9.2 Technologie de génotypage par discrimination des sondes allèle spécifique « TaqMan »

Entre le moment de découverte de l'ADN jusqu'à son séquençage, il y a eu quelques étapes importantes. La technologie de génotypage par des sondes allèle spécifique, appelée TaqMan a été développée au début des années 1990 (Holland et al., 1991)(Holland et al., 1991).

Le principe de cette technique classique de génotypage consiste d'une PCR en temps réel. On peut suivre l'amplification de la séquence cible du brin d'ADN comportant ce SNP par des sondes fluorescentes spécifiques de l'allèle à détecter : allèle sauvage ou allèle muté (Verstuyft et al., 2003). Les sondes peuvent détecter seulement un nucléotide de différence et

cette technologie est dédiée à l'analyse des polymorphismes génétiques de type SNP déjà identifiés dans la littérature (rs number). Elle repose sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification « classique ». L'augmentation du signal d'émission fluorescente est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits durant la réaction en utilisant ABI PRISM® 7900H (Life Technology®, Forester City, Etats Unis). Cette technique utilise 2 sondes spécifiques TaqMan pour la discrimination allélique avec un fluorophore de type FAM ou VIC en 5' et un quencher en 3', sur un appareil PCR temps réel ABI Prism® 7900HT Sequence Detection System (Verstuyft et al., 2003).

I.9.3 Puces à ADN

Les puces à ADN est une technique qui a émergé et s'est développée à partir des années 1990 (Pease et al., 1994). Cette technologie s'est développée en parallèle avec le séquençage à haut débit. Une puce à ADN est un ensemble de molécules d'ADN fixées en rangées ordonnées sur une petite surface. Cette technique est capable de détecter un grand nombre de SNPs déjà répertoriés dans la littérature et fixés sur le kit. Cette technique n'identifie pas tous les variants comme les variants rares, ou les InDels d'où le besoin d'utiliser une technique plus performante comme le NGS, qui séquence le gène entier (Pease et al., 1994).

I.9.4 Technologies de séquençage à haut débit (NGS)

Vingt-cinq années après la mise en place de cette technique, l'évolution de la technologie nous permet aujourd'hui de séquencer le génome/exome humain pour seulement 1000 dollars au lieu des 2 milliards qui ont été nécessaires lors de la mise en place de cette méthode (Levy and Myers, 2016). Au début des années 2006, avec l'émergence des nouvelles technologies de « deuxième » et de « troisième » génération, le séquençage a évolué de manière exponentielle. Avec celles-ci sont arrivées de nouvelles méthodes, techniques et protocoles de séquençage.

Le principe des techniques de séquençage se déroule en 3 étapes. La première étape consiste dans la préparation et amplification de l'ADN à analyser. La seconde étape permet l'incorporation des bases complémentaires du brin à séquencer. La dernière étape comprend la

lecture de la séquence en elle-même. Trois technologies sont apparues de façon quasi-simultanées : le pyroséquençage, le séquençage par synthèse et le séquençage par ligation (Metzker, 2010). Nous ne détaillerons dans ce manuscrit que le séquençage par synthèse Illumina (Partie IV).

I.9.5 Applications du NGS dans la psychiatrie

Les études de GWAS qui ont été détaillées plus haut, n'ont pas pu mettre en évidence une association entre les facteurs génétiques et la dépression majeure (Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric et al., 2013). Les études de GWAS montrent que l'hypothèse d'un variant commun ne peut pas expliquer le rôle de la génétique dans la réponse au traitement. L'hétérogénéité génétique rend cette hypothèse peu probable (Uher R et al., 2013).

Les puces GWAS actuelles incluent d'autres variants génétiques que les polymorphismes génétiques comme les variations de nombre de copies, mais n'incluent pas les variants rares (single-nucleotide variants, SNVs). La détection et la détermination des variants rares est possible grâce à la technologie de séquençage à haut débit.

En psychiatrie, quelques études de séquençage à haut débit (NGS) ont été réalisées. Pour l'autisme, l'étude de *Krumm et al.* a montré l'association des gènes impliqués dans les voies du remodelage de la chromatine, de la voie de signalisation WNT et impliqués dans le fonctionnement des synapses à l'autisme (Krumm et al., 2014). De même, pour la schizophrénie, plusieurs études qui utilisent le NGS ont été réalisées. *Fromer et al.* ont mis en évidence dans une étude en 2014 l'implication de mutations *de novo* localisées dans les protéines post-synaptiques de la voie glutamate, impliquées dans la régulation du cytosquelette ou dans les complexes NMDAR (N-methyl-d-aspartate receptor) dans la schizophrénie (Fromer et al., 2014). La même équipe a montré l'association d'aucun gène en particulier à la schizophrénie, mais qu'un cluster de gènes des canaux ioniques Ca²⁺ voltage-dépendants ainsi que des protéines de régulation du cytosquelette sont associés à la schizophrénie (Purcell et al., 2014). D'autres études dans la dépression bipolaire ont mis en évidence l'association des variants rares avec cette maladie (Georgi et al., 2014). Ces résultats intéressants dans les maladies psychiatriques montrent l'exploration de façon plus exhaustive du séquençage à haut débit des maladies psychiatriques.

Pour la dépression majeure, deux études utilisant le séquençage à haut débit ont été publiées. Dans la première étude, *Tammiste et al.* ont utilisé une approche de patient extrême

(5 répondeurs et 5 non-répondeurs) aux ISRSs. Un SNP dans le gène *BMP5* (Bone Morphogenetic Protein) a été associé à la réponse au citalopram et c'est un biomarqueur pharmacogénétique intéressant de prédiction au traitement (Tammiste et al., 2013). La deuxième étude a séquencé le synaptôme qui consiste dans le séquençage des 1742 gènes synaptiques. Cette étude a montré une association entre les variants rares impliqués dans les 14 gènes qui interviennent dans la polymérisation de l'actine et la formation des dendrites. Cette étude montre l'impact de la signalisation du Ca^{2+} et la régulation dendritique dans l'étiologie de la dépression (Pirooznia et al., 2016). Ces deux études n'ont pas été répliquées à ce jour.

En conclusion, ces études suggèrent l'importance des variants rares même pour une pathologie aussi hétérogène que la dépression. L'échec inattendu des études GWAS dans les analyses d'association génétique oriente la recherche vers l'étude des variants rares qui ne peuvent être déterminés que par le séquençage à haut débit.

PLAN DES RESULTATS

Ce travail comporte quatre axes principaux de recherche de biomarqueurs de réponse à la venlafaxine. Ce travail repose sur la cohorte clinique METADAP (Corruble et al., 2015).

Pour la première étude nous nous sommes focalisés sur les enzymes du métabolisme de la venlafaxine, les CYP2D6 et CYP2C19. L'objectif principal de la première étude constatait montrer si un génotypage en routine de ces cytochromes pourrait expliquer en partie l'absence ou de mauvaise réponse à la venlafaxine chez les patients Caucasiens traités hospitalisés ou non.

Pour le deuxième axe de recherche, nous nous sommes basés sur un des enzymes les plus étudiés dans la psychiatrie, la cathecol-O-methyltransferase (COMT). L'objectif de ce projet visait à montrer si le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* devrait être un biomarqueur de prédisposition à la réponse à la venlafaxine chez les patients dépressifs traités en milieu psychiatrique après l'introduction d'un traitement AD.

Le troisième projet consistait en la réalisation d'analyses exhaustives par la technologie de séquençage à haut débit par une approche gène candidat et comportait un double objectif. Dans une première étape, ce projet comporte la validation des polymorphismes génétiques de gènes communément analysés et pharmacogénétique et précédemment identifiés par la technologie classique par discrimination allélique, le TaqMan. Dans une deuxième étape, l'objectif de ce troisième projet a été de valider notre nouvelle technique de séquençage par NGS appliquée aux gènes couramment analysés en pharmacogénétique.

Suite à la revue de la littérature en vue de la sélection du panel de gènes NGS, dans le quatrième chapitre de ce travail nous nous sommes intéressés à un autre axe d'étude génétique. Cet axe consiste dans une revue de la littérature des transporteurs impliqués dans la réponse au traitement AD. Les transporteurs *OCTs* (Organic Cation Transporter) et *PMATs* (Plasma Membrane Monoamine Transporter) ont été retenus pour le rôle qu'ils jouent dans le transport des monoamines et la réponse aux ADs.

DEUXIÈME PARTIE

Un génotypage systématique des polymorphismes génétiques CYP2D6 et CYP2C19 devrait-il être recommandé pour prédire l'efficacité de la venlafaxine chez les patients déprimés traités en milieu psychiatrique ?

Afin de mieux cerner l'aspect pharmacocinétique des ADs, dans cette nous nous sommes intéressés à l'étude de l'impact des polymorphismes génétiques du *CYP2D6* et du *CYP2C19* sur la réponse à la venlafaxine. Le choix de cette molécule est basé sur son importante fréquence de prescription en psychiatrie, ainsi que le nombre important de patients traités par venlafaxine dans notre cohorte.

II.1 Objectif de l'étude

Cette partie a pour objectif d'évaluer si un génotypage des polymorphismes génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* pourrait prédire l'efficacité de la venlafaxine chez les patients déprimés traités en milieu psychiatrique.

II.2 Patients, matériels et méthodes

II.2.1 Cohorte METDAP

II.2.1.1 METADAP : déroulement de l'étude

La cohorte METADAP est une cohorte prospective, naturaliste, en conditions réelles de prescription, d'une durée de 6 mois. Les patients sont évalués lors de l'introduction du traitement AD, à 1 mois, 3 mois et 6 mois plus tard. Le recrutement des patients au sein de la cohorte a été réalisé entre 2007 et 2013. Les données sont gelées depuis 2014. Cette cohorte est enregistrée auprès de l'Agence Française de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé et la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL). Son protocole a été approuvé par le CPP de Paris Boulogne et est conforme aux standards éthiques internationaux. L'assistance Publique des Hôpitaux de Paris (APHP) en est le promoteur. Ce projet de recherche a été financé par trois programmes hospitaliers de Recherche Clinique (PHRC) national et régional (2006, 2010, 2011).

II.2.1.2 Critères d'inclusion

Les sujets inclus dans cette étude sont âgés de 18-65 ans, et présentent un Episode Dépressif Majeur (EDM) dans le cadre d'un trouble dépressif unipolaire (DSM-IV-TR) basé sur l'entretien standardisé MINI (Mini International Neuropsychiatric Interview) (Sheehan et al., 1998). Une note d'au moins 18 sur l'échelle de dépression Hamilton (HDRS-17 items) était nécessaire pour l'inclusion dans cette étude (Guelfi et al., 1981; Hamilton, 1960). Les sujets nécessitent l'introduction d'un traitement AD aux posologies recommandées par l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) ou d'un traitement d'Electroconvulsivothérapie (ECT) ou Stimulation magnétique (rTSM). Les données cliniques et l'ADN de METADAP sont disponibles pour 574 patients Caucasiens parmi les 624 patients inclus dans cette étude. Ces sujets sont hospitalisés ou consultants dans les services de psychiatrie des CHU de Bicêtre, CHU Saint-Antoine (Paris), Hôpital Fernand Widal (Paris), CHU de Besançon, CHU de Lille et CHU de Grenoble. Les caractéristiques sociodémographiques (âge, sexe, situation familiale et professionnelle, niveau d'études), ainsi que l'histoire de la maladie (antécédents d'EDM, nombre d'EDM antérieurs, durée du trouble dépressif, antécédent de traitement AD, durée de traitement AD, nombre d'ADs reçus) sont collectées à l'inclusion. Les patients ont donné un consentement écrit, incluant la participation à l'étude et la réalisation d'analyses génétiques.

II.2.1.3 Critères d'exclusion

Les sujets présentant un trouble bipolaire (DSM-IV-TR), un trouble psychotique actuel (DSM-IV-TR), une dépendance à l'alcool, à l'héroïne ou aux psychostimulants (DSM-IV-TR) ne sont pas inclus dans cette étude. De même pour les patients recevant un traitement par thymorégulateurs (sels de lithium, valproate de sodium, acide valproïque, divalproate de sodium, carbamazépine) ou antipsychotiques n'ont pas été inclus. Avoir une pathologie psychiatrique d'origine organique, une pathologie médicale instable, une grossesse en cours, une mesure d'hospitalisation sous contrainte ou une mesure de tutelle ou de curatelle, constituait également un critère de non-inclusion dans cette cohorte.

II.2.1.4 Traitements de l'étude

La cohorte METADAP est une cohorte naturaliste, c'est à dire que le traitement AD était choisi selon la volonté du clinicien qui suit le patient, en monothérapie, aux posologies recommandées par l'AMM, prescrit de manière naturaliste, en conditions réelles de prescription. La prescription comporte les classes de molécules suivantes :

-ISRSs (inhibiteurs de la recapture de la sérotonine) : fluoxétine (20 à 60 mg/j), paroxétine (20 à 50 mg/j), sertraline (50 à 200 mg/j), citalopram (20 à 60 mg/j), escitalopram (10 à 20 mg/j), fluvoxamine (100 à 300 mg/j) ;

-IRSNS (inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline) : venlafaxine (75 à 375 mg/j), minalcipram (50 à 100 mg/j), duloxétine (60 à 120 mg/j) ;

-ATCs (imipraminiques) : clomipramine (50 à 150 mg/j), amitryptiline (50 à 150 mg/j) ;

-Autres : miansérine (30 à 90 mg/j), mirtazapine (15 à 45 mg/j), agomélatine (25 à 50 mg/j), tianeptine (25 à 37.5 mg/j), iproniazide (50 à 100 mg/j), moclobémide (300 à 600 mg/j).

Certains patients bénéficient d'une ECT ou d'une rTMS. Le changement de traitement AD entraîne une sortie de l'étude.

Les traitements tolérés dans cette étude sont les benzodiazépines. Elles sont prescrites à la dose minimale efficace pour une durée minimale. Les neuroleptiques (cyamémazine) et anti-histaminiques H1 (hydroxyzine) à visée anxiolytique/hypnotique sont tolérés aux doses minimales efficaces et pour des durées aussi brèves que possible. Leur prescription ne doit pas excéder 14 jours.

II.2.1.5 Critères d'évaluation

La sévérité des symptômes dépressifs est évaluée par l'échelle de Dépression de Hamilton (Hamilton Depression Rating Scale) 17 items (HDRS) (Hamilton, 1960). L'échelle d'hétéroévaluation de référence pour l'évaluation de l'intensité dépressive au cours de l'épisode dépressif et de la réponse/rémission sous AD. L'HDRS a permis d'évaluer la sévérité de l'épisode dépressif à l'inclusion, à M1, M3 et M6. La réponse aux ADs est définie par une amélioration de 50% de la note obtenue à l'HDRS (Chiesa et al., 2014). La rémission est définie par un score à l'échelle HDRS inférieur ou égal à 7 (Chiesa et al., 2014). La moyenne du pourcentage d'amélioration HDRS en fonction du phénotype *CYP2D6* et *CYP2C19* est l'analyse principale, alors que la réponse et la rémission aux ADs restent des critères

secondaires de cette étude. L'ensemble des évaluations cliniques est effectué par des cliniciens en aveugle.

II.2.2 Echantillon de l'étude ancillaire sur la venlafaxine

Nous avons réalisé une étude ancillaire à partir de la cohorte METADAP en prenant en compte que les 206 patients d'ethnie Caucasienne traités par la venlafaxine. Le choix de cette molécule s'explique par son importante utilisation actuellement pour le traitement des patients dépressifs et ses voies métaboliques intéressantes en pharmacogénétique. Parmi les 206 patients Caucasiens génotypés, 22 patients ont été ré-inclus dans l'étude et 184 patients ont été génotypés pour les polymorphismes génétiques du *CYP2D6* et 182 patients pour les polymorphismes génétiques du *CYP2C19*. Puisque l'ADN n'a pas été amplifié pour les 24 patients pour le *CYP2D6* et 22 patients pour le *CYP2C19*, leur génotypage n'est pas disponible.

II.2.3 Génotypage et le choix des polymorphismes

L'ADN génomique est extrait à partir du sang et des lymphocytes sanguins à l'aide d'un kit Puregene Kit (Gentra systems, Courtaboeuf, France) et conservé à -20°C. Les polymorphismes génétiques du type SNP sont génotypés au laboratoire de pharmacogénétique du CHU Bicêtre par la technique de discrimination allélique TaqMan en utilisant le système de détection de séquence ABI Prism® 7900HT (Pr L Becquemont et Dr C Verstuyft) (Coulbault et al., 2006) (Morin et al., 2004). Cette technique de discrimination allélique permet de distinguer les 3 génotypes pour chaque SNP.

Les patients ont été génotypés pour les allèles avec un impact majeur sur l'activité du *CYP2D6* et *CYP2C19* : les allèles de perte de fonction (loss of function, LOF) (*CYP2D6* *3 rs35742686, *4 rs3892097, *5 del, *6 rs5030655) ; (*CYP2C19* *2 rs4244285, *3 rs4986893, *4 rs28399504, *5 rs56337013) ; allèles de diminution d'activité (*CYP2D6* *10 rs1065852, *CYP2D6**41 rs28371725) et d'augmentation de l'activité (*CYP2D6* *2xN) ; (*CYP2C19* *17 rs12248560). La délétion du gène *CYP2D6* (*CYP2D6**5) et la duplication du gène *CYP2D6* (*CYP2D6* *2xN) ont été détectées grâce à la technique de PCR quantitative (Steen et al., 1995). Les analyses génotypiques sont effectuées en aveugle des évaluations cliniques. Les résultats donnent 100% de concordance entre le séquençage et le génotype déterminé par discrimination allélique. Les patients ont été génotypés dans le laboratoire de pharmacogénétique du CHU

Bicêtre, qui est accrédité selon les normes du COFRAC (Comité Français d'Accréditation). Le laboratoire participe bi-annuellement au contrôle externe des standards européens d'ECAT (European Committee for Clinical Laboratory Standards) depuis 2010.

II.2.4 Phénotypage des patients

Dans cette analyse, les patients ont été classifiés en 4 groupes de phénotypes pour les CYP2D6 et CYP2C19 selon leur génotype. Pour le *CYP2D6*, le groupe des métaboliseurs normaux (MN) correspond aux individus qui possèdent deux allèles avec une fonction normale (*1); ou deux allèles qui conduisent à une diminution de l'activité de l'enzyme (*10, *41) ; ou un allèle avec une fonction normale et un allèle de perte de fonction (LOF) (*3, *4, *5 del, *6) ou un allèle avec une fonction normale et un allèle de diminution d'activité ou alors une combinaison d'une duplication avec une perte de fonction ou un allèle de diminution d'activité. Les métaboliseurs lents (MLs) sont des individus porteurs de 2 allèles LOF.

Le groupe des métaboliseurs intermédiaires (MIs) est constitué des individus porteurs d'un allèle de diminution d'activité et un allèle d'augmentation d'activité. Les métaboliseurs ultrarapides (MURs) sont des porteurs de duplications du gène *CYP2D6* (*CYP2D6**2xN) (Hicks et al., 2016).

Pour le *CYP2C19*, les MNs sont porteurs de deux allèles avec une fonction normale (*1). Les MIs sont des porteurs d'un allèle *CYP2C19* LOF (*2, *3, *4, *5) et un allèle avec une fonction normale ; ou un allèle LOF et un allèle d'augmentation d'activité (*17). Les MLs sont des individus porteurs de deux LOF *CYP2C19* (*2, *3, *4, *5). Les *CYP2C19* MRs sont porteurs d'un allèle normal et d'un allèle d'augmentation d'activité *17. Les MURs sont porteurs hétérozygotes de l'allèle *17. Dans notre étude, un seul patient était porteur du génotype *17/*17. Ce patient a été inclus dans le groupe MR (Hicks et al., 2016).

II.2.5 Réponse clinique à la venlafaxine

Dans la cohorte METADAP, la réponse clinique à la venlafaxine a été évaluée sur l'échelle HDRS à l'inclusion des patients, après un mois, trois mois et six mois de traitement. Les génotypes *CYP2D6* et *CYP2C19* ont été les variables explicatives et les principales variables à expliquer étaient le score HDRS, le pourcentage d'amélioration HDRS. La réponse et la rémission étaient les variables secondaires à expliquer.

II.2.6 Analyses statistiques des données

Dans un premier temps, dans cette étude, les statistiques descriptives ont été présentées. Par la suite, les variables ont été analysées dans des modèles bi-variés. Les analyses bi-variées ont été réalisées par des tests statistiques non paramétriques étant donné l'absence de distribution 'normale' des données. Les variables quantitatives ont été analysées par des tests de Fischer en fonction des phénotypes *CYP2D6* et *CYP2C19*. Les variables qualitatives ont été analysées par des tests non-paramétriques de Kruskal-Wallis ($n > 2$ patients pour chaque groupe et des échantillons indépendants).

Dans un troisième temps, des analyses multi-variées ont été effectuées. Des régressions linéaires ont été effectuées pour les variables à expliquer quantitatives et des régressions logistiques pour les variables à expliquer qualitatives. L'effet de chacun des phénotypes sur le score HDRS, le pourcentage d'amélioration HDRS, la rémission et la réponse a été réalisé par des analyses multi-variées en contrôlant sur le sexe. Dans un quatrième temps, des tests MANOVA mesures répétées sur les quatre variables à expliquer, ont été effectués pour analyser l'évolution des symptômes de la dépression au cours du temps. Le seuil de significativité statistique retenu est de 0.05. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R 2.14.1. Le logiciel GraphPad Prism version 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) a été utilisé pour la constitution des figures.

II.3 Résultats

II.3.1 Description générale de la cohorte METADAP

La cohorte METADAP a été décrite dans un article publié par *Corruble et al.* (Corruble, et al., 2015). Elle est constituée de 624 patients. Leur âge moyen est 45,6 ($\pm 13,2$) ans, 68,7% sont des femmes et 566 patients (90,7%) sont caucasiens. A l'inclusion 87,5% étaient hospitalisés, 77,1% avaient déjà reçu un traitement AD, 74,5% avaient déjà présenté au moins un épisode dépressif caractérisé. Le nombre moyen d'EDM antérieurs était de 1.9 ($\pm 2,1$), 25,6% présentaient un premier EDM. La durée moyenne de la maladie dépressive sur la vie entière était de 11,5 ($\pm 12,2$) ans, 22,75% des patients n'étaient pas sous ADs avant l'inclusion. Les patients « drug free » sont des patients qui n'ont pas reçu de traitements ADs sur la dernière

année avant l'inclusion. Ils représentent 58% de la cohorte METADAP. La durée moyenne du traitement AD sur la vie entière était de 2,3 ($\pm 4,1$) ans.

La durée moyenne de suivi était de 4,9 (± 6) mois. 62% de patients sont sortis de l'étude prématurément : 25,9% avant M1, 21,8% entre M1 et M3, et 14,3% entre M3 et M6. Trente-neuf pourcent des patients recevaient des ISRSs (n=243), 38% des IRSNs (n=239), 9% des ATCs (n=55) et 14% d'autres ADs dont l'ECT et rTMS (n=30 ECT, n=2 rTMS) (Figure 9).

Concernant la réponse clinique, la note moyenne à l'HDRS à l'inclusion était de 24,7 ($\pm 5,0$). Elle était de 14,6 ($\pm 7,1$) à 1 mois, de 12,5 ($\pm 7,6$) à 3 mois et de 10,6 ($\pm 7,8$) après 6 mois de traitement. Après 6 mois de traitement, 67,7% des patients étaient répondeurs au traitement.

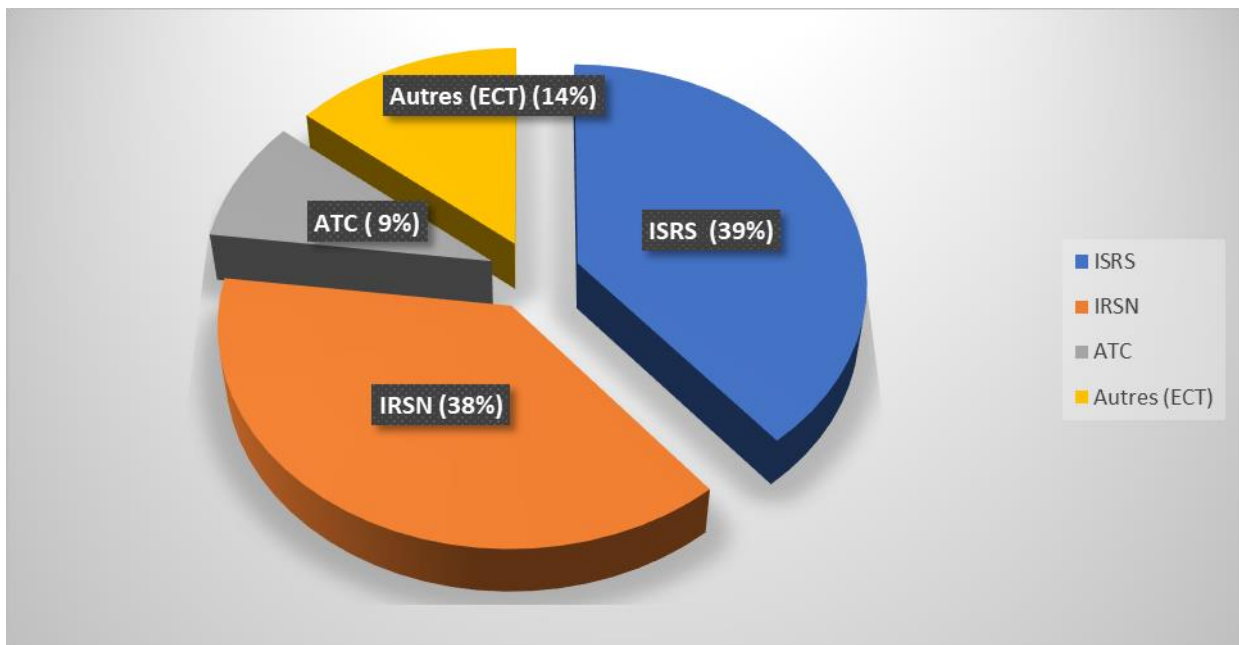


Figure 9: Traitements reçus des patients de la cohorte METADAP (Corruble et al., 2015)

II.3.2 Description des patients traités par venlafaxine

Pour cette étude, 206 patients caucasiens, traités par venlafaxine ont été sélectionnés de la cohorte METADAP. L'âge moyen de ces patients était de 48.33 (± 12.15) ans et 66.02% sont des femmes. A l'inclusion 88.83% étaient hospitalisés. Le score moyen HDRS à l'inclusion était de 25.23 (± 4.97). La durée moyenne de traitement AD sur la vie entière avant l'inclusion était de 9.98 (± 11.47) ans. Le nombre moyen d'EDM était de 1.75 (± 1.74). La durée sur la vie

entière du traitement AD avant l'inclusion était de 2.81 (± 4.56) ans. La posologie moyenne de la venlafaxine à l'inclusion était de 114.75 (± 60.2) mg/jour.

Quarante-sept patients (22.81%) sont sortis de l'étude entre M0 et M1, 55 (32.93%) sont sortis entre M1 et M3, et 26 (23%) patients sont sortis entre M3 et M6. Au total, 159 patients ont participé à cette étude au premier mois de traitement, 112 patients au troisième mois de traitement et 87 patients au sixième mois de traitement. Plus de détails concernant les variables démographiques et cliniques en fonction du phénotype *CYP2D6* et *CYP2C19* sont présentés respectivement dans le Tableau 7 et 8.

II.3.3 Génotypes *CYP2D6* et *CYP2C19*

La distribution des génotypes suit la loi du Hardy Weinberg. Les fréquences alléliques du *CYP2D6* ont été les suivantes : *CYP2D6*4* (16.57%), les duplications *CYP2D6*2xN* (3.8%), *CYP2D6*5* (2.17%), *CYP2D6*10* (20.10%), *CYP2D6*41* (10.32%), *CYP2D6*3* (0.54%) et *CYP2D6*6* (0.54%). Concernant les polymorphismes génétiques du *CYP2C19*, les allèles les plus fréquents ont été *CYP2C19*17* (18.4%) et *CYP2C19*2* (12.36%) ; *CYP2C19*3*, *4 qui présentaient une fréquence allélique de 0.3%, l'allèle *CYP2C19*5* n'a pas été détecté dans notre population (Tableau 6).

II.3.4 Phénotypes *CYP2D6* et *CYP2C19* et les données cliniques

Les patients ont été classifiés en quatre groupes de phénotypes traduits à partir des génotypes déterminés par les polymorphismes génétiques du *CYP2D6* et *CYP2C19*. Les données cliniques ont été présentées en fonction des phénotypes *CYP2D6* (Tableau 7) et *CYP2C19* (Tableau 8). La distribution des patients dans les quatre phénotypes *CYP2D6* a été la suivante : 8 (n=4.3%) patients étaient MLs, 51 (27.7%) patients étaient MIs, 114 (62%) patients étaient MNs et 11 (6%) patients étaient MURs. Pour le phénotype *CYP2C19* : 4 (2.2%) patients étaient PMs, 38 (29.87%) patients étaient MIs, 83 (45.6%) MNs et 57 (31.3%) patients étaient MRs (Figure 10, 11, Tableau 7, 8, 9).

À l'inclusion, le sexe était significativement associé au phénotype *CYP2D6* (MLs=50% femmes, MIs=68.6% femmes, MNs=64% femmes, MURs=100% femmes, $p=0.04$). L'attrition pour les patients *CYP2D6* après le troisième mois de traitement était plus importante pour les MLs (ML=75%) comparé aux patients MN, MI ou MUR (MN=30.43%, MI= 32.56%, et MUR=60%). Pour le *CYP2C19*, l'attrition était plus importante pour les MNs (48.88%) comparé aux MIs, MLs ou MRs (MI=42.10%, ML=33.33%, MR=26.31%). Dans les analyses bivariées le phénotype *CYP2D6* et *CYP2C19* n'était pas associé à l'attrition (Tableau 7, Tableau 8).

Tableau 6: Description et fréquence des principaux polymorphismes génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* dans cette étude.

allèle	changement du n cléotide (numéro rs)	Effet	prédiction de l'activité de l'enzyme	la fréquence dans cette population (%)	n
CYP2C19					
*2	19154G>A (rs4244285)	mutation au site d'épissage	inactive	12.36	45
*3	17948G>A (rs4986893)	W212X	inactive	0.3	1
*4	1A>G (rs28399504)	faux-sens	inactive	0.3	1
*5	1297>T (rs56337013)	faux-sens	inactive	0	0
*17	-806C>T (rs12248560)	région promotrice	augmente	18.4	67
CYP2D6					
*3A	2549delA (rs35742686)	frameshift variant	inactive	0.54	2
*4	1846G>A (rs3892097)	défaut d'épissage; a quelques sousva- riants	inactive	16.57	61
*5	CYP2D6 délétion du gène	CYP2D6 délétion du gène	inactive	2.17	8
*6	1707delT (rs5030655)	118 décalage du cadre de lecture	inactive	0.54	2
*10	100C>T (rs1065852)	P34S	diminue	20.10	74
*41	2988G>A (rs28371725)	erreur d'épissage	diminue	10.32	38
2xN	duplication du gene entier	variation du nombre de copies	augmente	3.8	14

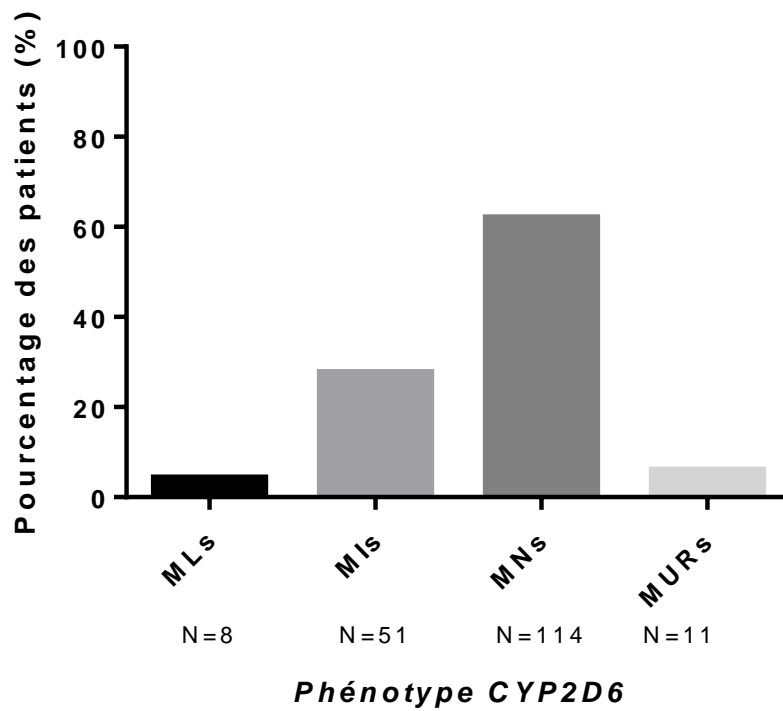


Figure 10: Répartition des phénotypes CYP2D6 dans l'échantillon étudié

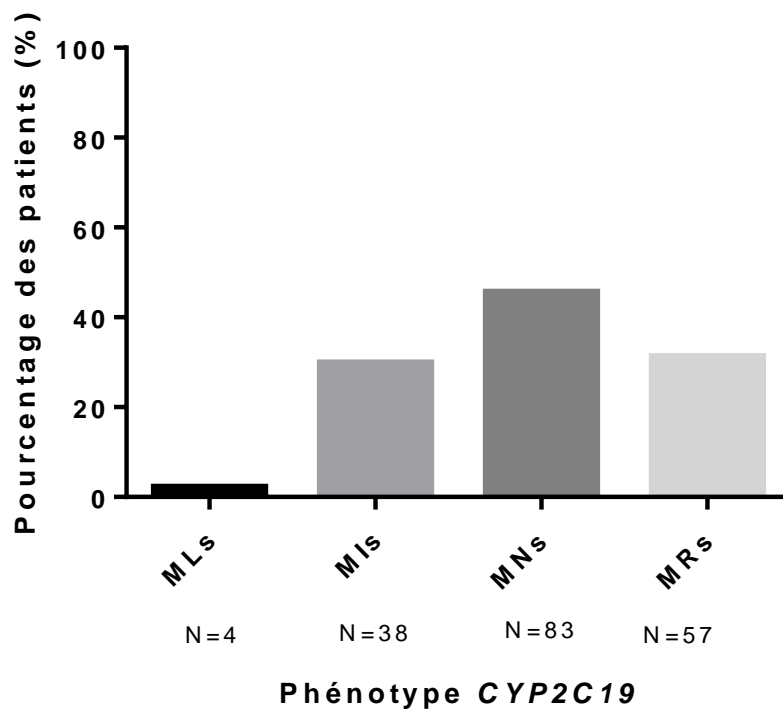


Figure 11: Répartition des phénotypes CYP2C19 dans l'échantillon étudié

II.3.5 CYP2D6 et réponse à la venlafaxine

Le phénotype *CYP2D6* n'était pas associé au pourcentage d'amélioration HDRS, mais une tendance vers la diminution du pourcentage d'amélioration des *CYP2D6* MURs a été observée, comparé aux MNs après un mois de traitement ($p=0.07$) par des analyses bi-variées (Figure 16 A). Les MURs tendent à avoir un score moins important que les MIs, MNs et MLs à M3 (MURs= 19 ± 11.55 , MIs= 11 ± 7.45 , MNs= 12.39 ± 6.21 , MLs= 6.25 ± 3.5 , $p=0.07$). De même, ils ont un taux de répondeurs moins important (MURs=20%, MIs=65.55%, MNs=50.72%, MLs=100%, $p=0.05$) (Tableau 7 ; Figure12 B, D).

Concernant le pourcentage d'amélioration, le phénotype *CYP2D6* y a été significativement associé à l'échelle HDRS à M3, montrant une amélioration moins importante pour les *CYP2D6* MURs, comparé aux MIs, MNs et MLs (MURs= $27.47 \pm 30.84\%$, MIs= 55.52 ± 29.22 , MNs= $50.96 \pm 23.41\%$, MLs= $75.88 \pm 11.64\%$, $p=0.04$) par des analyses bivariées. Le phénotype *CYP2D6* n'a pas été associé à la rémission après trois mois de traitement (Figure 12 C).

Dans les analyses multi-variées, le phénotype *CYP2D6* n'a pas été associé au pourcentage moyen d'amélioration en ajustant sur le sexe (Figure 16 A). Les analyses MANOVA mesures répétées n'ont pas montré une association entre le phénotype *CYP2D6* et le pourcentage moyen d'amélioration pour les patients qui ont complété les 6 mois d'étude ($F=1.312$, ddl=4, $p=0.26$) (Figure 12 E).

II.3.6 CYP2C19 et réponse à la venlafaxine

Une analyse de la réponse à la venlafaxine en fonction du phénotype *CYP2C19* à différents temps a été réalisée. Elle n'a montré aucun résultat significatif après un mois, trois mois ou six mois de traitement (Table 8). Le taux de répondeurs était plus important au troisième et sixième mois de traitement dans le groupe MLs ($n=66.67\%$, $n=100\%$), mais ce résultat n'était pas significatif (Table 8).

Tableau 7: Phénotype *CYP2D6* et efficacité de la venlafaxine

M0	Phénotype <i>CYP2D6</i>				p
	MLs	MIs	MNs	MURs	
Age (années), m (sd)	47.14 (±8.71)	50.55 (10.9)	48.11 (12.6)	45.89 (±12.29)	0.48
Nombre de femmes, n (%)	4 (50) *	35 (68.6)	73 (64)	11 (100) *	0.04*
Nombre d'EDM antérieurs, m (sd)	1.25 (±1.03)	1.85 (1.95)	1.76 (1.73)	1.91 (±1.57)	0.72
Durée de la dépression vie entière (années), m (sd)	11.5 (±11.58)	9.79 (11.42)	10.97 (11.86)	6.58 (±8.91)	0.6
La durée de traitement antidépresseur vie entière, m (sd)	7.16 (±8.47)	3.57 (4.91)	2.67 (4.38)	1.61 (±1.47)	0.13
HDRS					
HDRS M0 (m (sd))	26.75 (±6.84)	25.47 (±4.74)	24.73 (±4.71)	25.48 (±4.06)	0.72
HDRS M1 (m (sd))	12.42 (±4.75)	12.65 (±7.05)	14.04 (±6.52)	18 (±6.88)	0.18
HDRS M3 (m (sd))	6.25 (±3.5)	11 (±7.45)	12.39 (±6.21)	19 (±11.55)	0.07
HDRS M6 (m (sd))	4.5 (±2.38)	12.41 (±10.19)	10.4 (±8.02)	4 (±2.64)	0.17
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion					
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M1 (m (sd))	51.09 (±27.23)	50.16 (±25.64)	45.9 (±25.63)	27.56 (±18.85)	0.07
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M3 (m (sd))	75.88 (±11.64)	55.52 (±29.22)	50.96 (±23.41)	27.47 (±30.84)	0.04*
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M6 (m (sd))	82.17 (±9.75)	49.74 (±40.11)	58.91 (±31.12)	82.52 (±11.70)	0.19
Répondeurs HDRS					
Répondeurs M1 (n (%))	4 (57.14)	24 (55.81)	36 (40)	2 (25)	0.19
Répondeurs M3 (n (%))	4 (100)	19 (65.55)	35 (50.72)	1 (20)	0.05
Répondeurs M6 (n (%))	4 (100)	14 (58.33)	38 (73.1)	3 (100)	0.24
Patients en rémission échelle HDRS					
Patients en rémission M1 (n (%))	1 (14.28)	13 (30.23)	17 (18.88)	0 (0)	0.2
Patients en rémission M3 (n (%))	2 (50)	9 (31)	17 (24.63)	1 (20)	0.63
Patients en rémission M6 (n (%))	4 (100)	9 (37.5)	23 (44.23)	3 (100)	0.02*
Posologie venlafaxine					
Posologie M0 (m (sd))	106.25 (±37.2)	112.21 (±59.27)	112.42 (±59.29)	102.27 (±39.46)	0.99
Posologie M1 (m (sd))	178.57 (±71.33)	172.06 (±76.14)	163.15 (±73.99)	164 (±56.53)	0.87
Posologie M3 (m (sd))	200 (±93.54)	198.68 (±79.03)	187.78 (±68.57)	195 (±85.51)	0.86
Posologie M6 (m (sd))	178 (±35.86)	194.2 (±81.72)	183.86 (±70.56)	200 (±43.3)	0.82
Attrition					
Attrition (n (%))	1 (14.28)	8 (18.6)	24 (26.67)	8 (37.5)	0.71
Attrition (n (%))	3 (75)	14 (32.56)	21 (30.43)	3 (60)	0.51
Attrition (n (%))	0 (0)	5 (20.83)	17 (32.69)	2 (66.67)	0.21

Légende : m-moyenne, sd-déviat ion standard, EDM-épisodes dépressifs majeurs, HDRS-Hamilton Depression Rating Scale 17 items, M1-1^{er} mois, M3-3^{ème} mois, M6-6^{ème} mois ; MURs-métaboliseurs ultrarapides, MNs-métaboliseurs normaux, MIs-métaboliseurs intermédiaires, MLs-métaboliseurs lents, * test statistique significatif (p<0.05).

Tableau 8: Phénotype *CYP2C19* et efficacité de la venlafaxine

M0	Phénotype <i>CYP2C19</i>				p
	MLs	MIs	MNs	MRs	
Age (années), m (sd)	48.24 (\pm 5.58)	46.94 (\pm 12.39)	48.87 (\pm 11.87)	49.29 (\pm 12.49)	1
Nombre de femmes, n (%)	3 (75)	29 (76.31)	52 (62.65)	38 (66.7)	0.51
Nombre d'EDM antérieurs, m (sd)	3.25 (\pm 0.95)	1.61 (\pm 1.39)	1.9 (\pm 1.85)	1.61 (\pm 1.82)	0.11
Durée de la dépression vie entière (années), m (sd)	9.99 (\pm 4.63)	10.87 (\pm 12.47)	11.23 (\pm 11.79)	9.22 (\pm 11.06)	0.69
La durée de traitement antidépresseur vie entière, m (sd)	7.62 (\pm 5.78)	2.92 (\pm 4.61)	3.26 (\pm 5.11)	2.60 (\pm 4.09)	0.16
HDRS					
HDRS M0 (m (sd))	28 (\pm 1.41)	23.63 (\pm 3.8)	25.03 (\pm 4.49)	25.50 (\pm 5.62)	0.15
HDRS M1 (m (sd))	17 (\pm 3.16)	13.59 (6.77)	13.61 (\pm 7.05)	13.58 (\pm 5.92)	0.66
HDRS M3 (m (sd))	12.66 (\pm 7.5)	13.47 (7.32)	11.04 (\pm 6.71)	11.78 (\pm 6.03)	0.51
HDRS M6 (m (sd))	7.5 (\pm 7.78)	13.16 (9.10)	10.35 (\pm 8.93)	9.10 (\pm 7.55)	0.61
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion					
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M1 (m (sd))	38.87 (\pm 13.54)	42.5 (\pm 27.10)	44.67 (\pm 28.51)	46.47 (\pm 21.47)	0.93
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M3 (m (sd))	56.11 (\pm 25.56)	42.89 (\pm 30.59)	56.91 (\pm 24.03)	52.98 (\pm 23.22)	0.27
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M6 (m (sd))	73.74 (\pm 26.25)	41.48 (42.55)	59.83 (\pm 31.54)	64.90 (\pm 27.91)	0.41
Répondeurs HDRS					
Répondeurs M1 (n (%))	1 (25)	12 (44.44)	33 (49.25)	19 (39.58)	0.67
Répondeurs M3 (n (%))	2 (66.67)	7 (36.84)	29 (64.44)	21 (55.26)	0.22
Répondeurs M6 (n (%))	2 (100)	7 (58.33)	27 (69.23)	23 (79.31)	0.43
Patients en rémission échelle HDRS					
Patients en rémission M1 (n (%))	0 (0)	7 (25.92)	15 (22.38)	9 (18.75)	0.75
Patients en rémission M3 (n (%))	1 (33.33)	5 (26.31)	14 (31.11)	9 (23.68)	0.86
Patients en rémission M6 (n (%))	1 (50)	4 (33.33)	19 (48.71)	15 (51.72)	0.79
Posologie venlafaxine					
Posologie M0 (m (sd))	131.25 (\pm 37.5)	109.81 (\pm 50.9)	106.89 (\pm 50.27)	117.89 (\pm 71.17)	0.65
Posologie M1 (m (sd))	243.75 (\pm 37.5)	177.74 (\pm 72.59)	154.64 (\pm 71.35)	167.91 (\pm 75.25)	0.05
Posologie M3 (m (sd))	200 (\pm 43.30)	201.31 (\pm 78.38)	184.15 (\pm 69.96)	193.94 (\pm 76.64)	0.83
Posologie M6 (m (sd))	225 (\pm 0)	200 (\pm 66.57)	175.58 (\pm 65.41)	194.79 (\pm 83.37)	0.58
Attrition					
Attrition (n (%))	0 (0)	11 (40.27)	16 (23.88)	9 (18.75)	0.38
Attrition (n (%))	1 (33.33)	8 (42.10)	22 (48.88)	10 (26.31)	0.45
Attrition (n (%))	1 (50)	7 (58.33)	6 (15.38)	9 (31.03)	0.08

Légende : m-moyenne, sd-déviation standard, EDM-épisodes dépressifs majeurs, HDRS-Hamilton Depression Rating Scale 17 items, M1-1^{er} mois, M3-3^{ème} mois, M6-6^{ème} mois ; MRs-métaboliseurs rapides, MNs-métaboliseurs normaux, MI-métaboliseurs intermédiaires, MLs-métaboliseurs lents, * test statistique significatif (p<0.05).

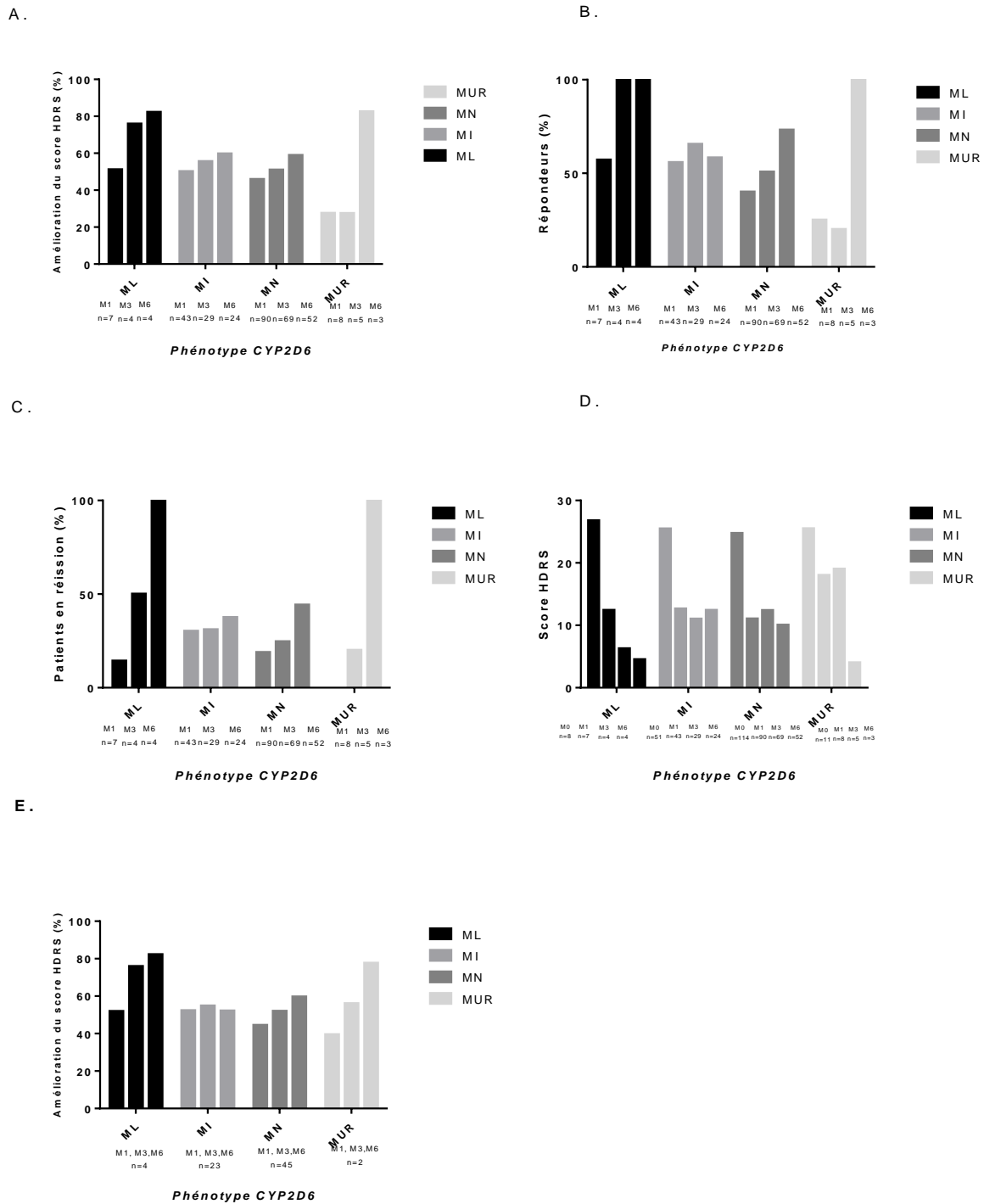


Figure 12: Présentation de l'amélioration du score HDRS (%), répondeurs (%), patients en rémission, score HDRS et l'amélioration HDRS en fonction du temps en fonction du phénotype ML, MI, MN et MUR.

M1- 1^{er} mois, M3-3^{ème} mois, M6-6^{ème} mois ; **A.** Amélioration HDRS (%); **B.** Répondeurs: amélioration de 50% de la note obtenue à l'HDRS de l'inclusion jusqu'à M1, M3, M6; **C.** Patients en rémission: un score à l'échelle HDRS inférieur ou égal à 7 à M1,M3,M6; **D.** Score HDRS score à l'inclusion, M1, M3, M6; **E.** Amélioration du score HDRS (%) des patients qui ont complété tout le traitement; Les variables : amélioration du score HDRS (%), répondeurs (%), patients en rémission, score HDRS ont été analysés dans des modèles multivariés ajustés sur le sexe.

Tableau 9: Distribution des phénotypes du *CYP2D6* et *CYP2C19***A :** Génotypes et phénotypes du *CYP2D6*

Génotype	Nombre d'individus	Fréquence (%)	Phénotype
*1/*1	78	42.39	MN
*1/*10	3	1.64	MN
*1/*41	23	12.51	MN
*1/*3	1	0.54	MN
*1/DEL	5	2.72	MN
*1/xN	11	5.98	MUR
*10/*41	1	0.54	MN
*3/*4/*10	1	0.54	ML
*4/*10	34	18.48	MI
*4/*10/*10	7	3.82	MI
*4/*10/*10/DEL	2	1.08	ML
*4/*10/*41	9	4.90	MI
*4/*4/*10/*10	2	1.08	ML
*4/*4/*10/*10/xN	1	0.54	ML
*4/*6/*10	2	1.08	ML
*41/*41	1	0.54	MN
*41/DEL	1	0.54	MI
*41/xN	2	1.08	MN

B : Génotypes et phénotypes du *CYP2C19*

Génotype	Nombre d'individus	Fréquence (%)	Phénotype
*1/*1	82	45.05	MN
*1/*17	56	30.77	MR
*1/*2	29	15.93	MI
*1/*3	1	0.55	MI
*17/*17	1	0.55	MR
*2/*17	8	4.40	MI
*2/*2	4	2.2	ML
*4/*17	1	0.55	MN

II.4 Discussion

À notre connaissance, notre étude est la première, avec un important effectif de patients qui a évalué l'association entre le phénotype *CYP2D6* et *CYP2C19* et l'efficacité de la venlafaxine dans des conditions naturalistes de traitement des patients dépressifs. Dans cet échantillon, il n'existe pas d'association entre l'évolution de la dépression sous venlafaxine et les SNPs que nous avons étudié du *CYP2D6* et du *CYP2C19*.

En ce qui concerne les fréquences du phénotype du *CYP2D6*, dans notre étude la fréquence des MLs représente 4.3%, ce qui correspond aux fréquences des patients caucasiens dépressifs MLs dans la littérature (Preskorn, 2010). Cette fréquence est moins importante chez les patients caucasiens sains (5-10%) (Sachse et al., 1997). La fréquence des MURs a été de 6% dans notre étude, ce qui correspond à un pourcentage plus important comparé aux caucasiens sains (1-2%) (Lundqvist et al., 1999) et plus important que les fréquences dans la population caucasienne déprimée (4-5%) (Preskorn, 2010). Ces résultats rejoignent les résultats de l'équipe de *Sanchez-Iglesias et al.* qui ont décrit dans une large étude psychiatrique, de 224 patients bipolaires prédominants caucasiens, que la fréquence des MURs *CYP2D6* était de 4.5%, alors que *Pietarinen et al.* ont montré dans une étude de patients caucasiens sains que la fréquence des MURs était de 7.2% (Pietarinen et al., 2016; Sanchez-Iglesias et al., 2016). La fréquence du phénotype MI dans notre étude a été de 27.7%, cette fréquence est plus importante comparée à l'étude de patients caucasiens dépressifs de l'étude de *Preskorn et al.* (6.8%) et plus importante comparée à l'étude la *Sachse et al.* dans la population caucasienne saine de 10-15% (Preskorn, 2010; Sachse et al., 1997). La différence entre la fréquence du phénotype *CYP2D6* dans la population caucasienne saine et la population déprimée pourrait être un facteur génétique potentiel qui influence le déclenchement de la dépression indépendamment de la prise d'ADs. *Bertilsson et al.* ont décrit pour la première fois la différence de personnalité entre les MNs et MLs dans une étude avec des patients suédois présentant une diminution du taux de sérotonine (Bertilsson et al., 1989).

La fréquence du phénotype *CYP2C19* ML dans notre étude était de 2.2% et la fréquence du phénotype *CYP2C19* MR était de 31.3%. Ces fréquences correspondent aux fréquences décrites dans la littérature : 2-4% pour les MLs et 30.1% pour les MNs dans la population dépressive caucasienne observées dans l'étude de *Rudberg et al.* (Rudberg et al., 2008). Dans notre étude le génotype *CYP2C19*17/*17* représente 0.55% parmi les patients dépressifs. Dans

leur étude, *Rudberg et al.* montraient que la fréquence des porteurs du génotype *CYP2C19*17/*17* chez les patients déprimés représente 4.22%. Dans notre étude la fréquence de *CYP2C19*17* représente 18.4%, ce qui correspond avec l'étude de *Rudberg et al.* où la fréquence du *CYP2C19*17* représente 22% (*Rudberg et al.*, 2008).

Notre étude ne montre aucune différence de réponse du traitement à la venlafaxine dans les 4 groupes de phénotypes *CYP2D6* (MLs, MIs, MNs, MURs), composés d'un effectif important de patients évalués sur 6 mois. Nos résultats sont en accord avec les 3 études qui ne montrent pas d'association avec le phénotype *CYP2D6* et l'efficacité de la venlafaxine (*Grasmader et al.*, 2004; *Ng et al.*, 2013; *Rolla et al.*, 2014). Dans la première étude *Grasmader et al.* n'ont pas montré d'association entre le génotype *CYP2D6* et la réponse au traitement, mais ils montrent un impact important du génotype *CYP2D6* sur la concentration des ADs de nouvelle génération dans les 17 patients traités par la venlafaxine parmi les 136 patients. La réponse au traitement a été évaluée sur l'échelle HDRS (*Grasmader et al.*, 2004). La seconde étude naturaliste sur 8 semaines a ciblé l'association entre le génotype *CYP2D6* et la réponse à la venlafaxine (*Ng et al.*, 2013). *Ng et al.* ont montré dans leur étude prospective non-randomisée, incluant 106 patients dépressifs caucasiens et chinois que les phénotypes *CYP2D6* et *CYP2C19* n'avaient pas d'impact sur la diminution de l'échelle HDRS. Dans cette étude seulement 44 patients étaient traités par la venlafaxine. Les autres patients ont été traités par citalopram. Cette étude n'a montré aucune différence dans la réponse des groupes phénotypiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* ML/MI comparé aux MN/MUR (*Ng et al.*, 2013). Mais l'étude de *Ng et al.* présente 3 limites : 1) un petit effectif de patients dépressifs caucasiens et celui de patients mixés traités par venlafaxine ; 2) une courte durée du traitement de 8 semaines ; 3) une évaluation de la réponse sur une échelle (UKU) qui n'est pas une échelle recommandée en psychiatrie pour évaluer la réponse aux ADs (*Ng et al.*, 2013).

Dans la troisième étude, *Rolla et al.* ont analysé si le génotype *CYP2D6* a eu un impact sur la durée du traitement et la réponse clinique parmi les 47 patients déprimés traités par venlafaxine (*Rolla et al.*, 2014). La réponse à la venlafaxine a été évaluée sur l'échelle CGI après 6 semaines, 6 mois et 1 année chez des patients dépressifs. Les auteurs ont mis en évidence le fait que les MURs ont répondu à une posologie de venlafaxine plus importante que la posologie thérapeutique recommandée sans effets secondaires. Aucune corrélation n'a été montrée entre l'efficacité, les effets secondaires et le génotype *CYP2D6* chez les MLs. La limite principale de ces 3 études a été le petit effectif de patients et une population hétérogène.

Dans notre étude nous avons observé une tendance de mauvaise réponse à la venlafaxine chez les MURs comparé aux MNs pour les patients déprimés évalués sur l'échelle HDRS à M1 et M3. La duplication du gène *CYP2D6* pourrait être un facteur qui modifie l'évolution clinique des patients dépressifs. En résumé, quand le métabolite ODV est actif, ceci devrait nous faire penser au fait que les *CYP2D6* MURs devraient avoir une meilleure efficacité. Néanmoins, nos résultats ne montrent pas une différence significative. Même si les modèles multivariés ne montrent pas un résultat significatif, nos observations suivent la logique de l'étude de l'équipe de *Kawanishi et al.* qui ont décrit le phénotype *CYP2D6* et la réponse aux divers ADs (*Kawanishi et al.*, 2004). Quelques études ont analysé l'influence du phénotype *CYP2D6* MUR sur la réponse à la venlafaxine (*Lobello et al.*, 2010). *Rolla et al.* ont montré la nécessité d'une posologie plus importante chez les MURs, alors que *Kirchheiner et al.* ont mis en évidence le fait que la duplication du *CYP2D6* pourrait expliquer le nombre peu élevé de cas de non-réponse chez les patients traités par la mirtazapine (*Kirchheiner et al.*, 2004). De plus, nos résultats négatifs pourraient être expliqués par le fait que le métabolite principal de la venlafaxine, le ODV, a la même activité pharmacologique que la molécule mère. En conséquence, les MLs ont une concentration de venlafaxine plus importante que celle d'ODV, alors que les EMs ont une concentration de venlafaxine moins importante que celle d'ODV. Ceci pourrait contribuer à l'explication de nos résultats négatifs, car la réponse thérapeutique est faite à la même dose de principe actif (ODV+venlafaxine) et cette somme ne varie pas entre les génotypes.

Une mauvaise amélioration du *CYP2D6* MURs pourrait être expliquée par la stéréosélectivité chez les humains (*Eap et al.*, 2003). Même si cette étude a un petit effectif, *Eap et al.* ont montré que chez 7 patients caucasiens MNs et 5 patients caucasiens MLs le *CYP2D6* catalysait les deux énantiomères de la venlafaxine vers l'ODV, mais avec une importante stéréosélectivité pour le (R)-venlafaxine. Auparavant il a été montré le fait que la clairance orale de la venlafaxine était plus importante pour le (R)-venlafaxine chez les MLs et le (S)-venlafaxine chez les MNs. Les études *in vitro* ont montré que le (S)-venlafaxine inhibe la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine, alors que le (R)-venlafaxine inhibe préférentiellement la recapture de la sérotonine (*Fogelman et al.*, 1999). A ce jour, aucune étude n'a cherché à identifier l'énantiomère était préférentiellement métabolisé chez les MURs. La stéréosélectivité pourrait apporter une explication à une moins bonne amélioration chez les MURs comparés aux MNs (*Eap et al.*, 2003).

Le CYP2C19 n'a pas prédit la réponse à la venlafaxine dans notre étude. Cependant les polymorphismes génétiques du *CYP2C19* n'ont pas été beaucoup étudiés (Pietarinen et al., 2016). Notre hypothèse stipule que le CYP2C19 et le CYP3A4 pourraient être impliqués dans la synthèse de métabolites secondaires comme le NDV chez les patients traités (Sangkuhl et al., 2014).

Notre étude est la première présentant un effectif important de patients déprimés, qui a analysé l'effet du CYP2D6 et CYP2C19 ensemble sur la réponse à la venlafaxine. Seulement une étude de patients japonais déprimés, basée sur les polymorphismes génétiques du *CYP2D6* et *CYP2C19* et la pharmacocinétique de la venlafaxine montre que chez les patients japonais le *CYP2D6*10*, *CYP2C19*2* et **3*, des polymorphismes génétiques communs dans la population asiatique, sont des facteurs génétiques qui déterminent la différence interindividuelle sur la pharmacocinétique de la venlafaxine et la NDV. Cette différence pourrait être expliquée non seulement par le CYP3A4 mais également par le CYP2C19 (Fukuda et al., 2000).

Quelques études ont décrit précédemment que les patients avec un phénotype MN ou MI sont en fait des patients ML quand ils recevaient comme co-prescription un inhibiteur du CYP2D6. Ce phénomène a été décrit dans la littérature comme la « phénoconversion » (Berm et al., 2016a; Nassan et al., 2016; Preskorn et al., 2013; Shah and Smith, 2015). Dans une étude multicentrique naturaliste s'étalant sur 8 semaines d'évaluation, *Preskorn et al.* ont montré que parmi les 865 patients de la cohorte 208 (24%) présentaient une phénoconversion (Preskorn et al., 2013). Dans la même logique, *Berm et al.* dans une analyse post-hoc de 81 patients âgés, dont 50% traités par la venlafaxine n'ont montré aucune phénoconversion de ML à MN ou vice-versa, mais qu'une phénoconversion d'MI vers MN a été enregistrée chez 36% de la population. De plus, les MLs présentaient un risque plus important de non-réponse sur l'échelle HDRS (Berm et al., 2016a).

Généralement la venlafaxine est une molécule bien tolérée (Sangkuhl et al., 2014). Cependant *Shams et al.* a montré un risque plus important d'effets secondaires chez les PMs comparé aux autres phénotypes (Berm et al., 2016a; Chua et al., 2013; Lamers et al., 2012; Shams et al., 2006; Vinetti et al., 2011). D'autres études ont mis en évidence une importante cardiotoxicité parmi les effets secondaires de la venlafaxine (Chua et al., 2013; Lamers et al., 2012; Vinetti et al., 2011).

Quelques points forts de notre étude devraient être mentionnés. Notre étude est basée sur des conditions de prescriptions de la « vraie vie » et ceci permet d'évaluer l'efficacité des traitements d'une manière plus proche de la réalité. De plus, cette étude vient compléter les différents travaux de recherche menés dans ce domaine et qui avaient comme faiblesse le nombre peu élevé de patients. Deuxièmement, aucun des psychiatres ne connaissait le génotype *CYP2D6* et *CYP2C19*, ce qui aurait pu influencer l'ajustement de la posologie. Les prescriptions étaient basées uniquement sur le score HDRS et la réponse clinique aux quatre temps d'évaluation. Troisièmement, tous les patients analysés dans notre étude ont été traités exclusivement par venlafaxine et bien phénotypés.

A notre connaissance, notre étude est la première qui a eu comme but d'évaluer si les polymorphismes génétiques *CYP2D6* et *CYP2C19* pourraient prédire la réponse à la venlafaxine (Taranu et al., 2017a). D'autres études prospectives en pharmacogénétique seront nécessaires pour évaluer l'impact du *CYP2D6* et *CYP2C19* dans la réponse au traitement de la venlafaxine, principalement grâce aux techniques de séquençage à haut débit pour identifier les variants rares comme le NGS.

II.5 Conclusion

Dans cet échantillon, il n'existe pas d'association entre l'évolution de la dépression sous venlafaxine et les SNPs que nous avons étudiés du *CYP2D6* et du *CYP2C19*. Le génotypage systématique des polymorphismes génétiques du *CYP2D6* et *CYP2C19* ne pourrait pas être recommandé pour prédire l'efficacité de la venlafaxine chez les patients déprimés traités en pratique clinique dans la cohorte des patients METADAP avec un temps d'évaluation de six mois.

TROISIÈME PARTIE

Le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* ne peut pas être recommandé comme biomarqueur de réponse à la venlafaxine chez les patients dépressifs traités en milieu psychiatrique

Dans cette troisième partie nous nous sommes intéressés à l'aspect pharmacodynamique des ADs, notamment l'enzyme COMT qui métabolise les monoamines. Cette partie est consacrée à l'étude de l'impact du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* sur la réponse à la venlafaxine chez les patients déprimés de la cohorte METADAP.

III.1 Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude consistait à déterminer si le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* devrait être un biomarqueur de prédisposition à la réponse à la venlafaxine chez les patients dépressifs traités en milieu psychiatrique après l'introduction d'un traitement AD.

III.2 Matériels et méthodes

III.2.1 Echantillon étudié

Un sous-groupe de 206 patients de la cohorte METADAP traités par venlafaxine a été sélectionné pour cette étude. Parmi eux, seulement 180 patients ont été génotypés pour le polymorphisme génétique *COMT (Val108/158Met, rs4680)*. Les 26 patients qui restent n'ont pas pu être génotypés du fait d'une absence suffisante de matériel génétique, l'ADN n'ayant pas pu être amplifié. Les patients qui sont sortis de l'étude entre le moment de l'inclusion et le premier mois de traitement, entre le premier et le troisième mois de traitement et entre le troisième et le sixième mois de traitement ont été exclus des analyses. Les raisons pour lesquelles les patients sont sortis de l'étude ont été l'arrêt du traitement, la prescription des médicaments qui n'ont pas été autorisés pour cette étude, le changement de diagnostic, la décision du clinicien ou celle des patients.

III.2.2 Génotypage

L'ADN génomique a été extrait des leucocytes circulants du sang. L'extraction a été réalisée grâce aux Genra Puregene Blood Kits en suivant le protocole recommandé par le fournisseur (Qiagen, S.A., Courtaboeuf, France). Les échantillons ont été conservés à -20 °C. Le génotypage du polymorphisme génétique *Val(108/158)Met, rs4680*) a été réalisé en utilisant le Fluidigm SNP type Assays en suivant les recommandations du producteur. Les analyses ont été basées sur des PCR SNP allèles spécifiques en utilisant le BioMark® HD System (Fluidigm, San Francisco). Le signal pour les SNPs a été de 99%. Les génotypes *COMT* ont été évalués en aveugle. Pour chaque analyse des contrôles positifs et négatifs ont été inclus pour évaluer l'assurance qualité. Par la suite, les patients ont été classifiés en 3 groupes de génotypes : *Val/Val*, *Val/Met* et *Met/Met*.

III.2.3 Réponse à la venlafaxine

La réponse clinique a été évaluée grâce au score HDRS. Le génotype *COMT Val(108/158)Met, rs4680* a été la variable explicative et le score HDRS, le pourcentage d'amélioration HDRS au cours du temps, la réponse et la rémission ont été les variables à expliquer. La réponse a été définie par la diminution d'au moins 50% du score HDRS au moment de l'inclusion jusqu'au moment du suivi (M1, M3 ou M6). La rémission a été définie, au moment du suivi, par un score HDRS inférieur ou égal à 7.

III.2.4 Méthodes statistiques

Les statistiques descriptives avaient été réalisées pour les trois groupes génotypiques : *Val/Val*, *Val/Met* et *Met/Met*. Premièrement, les analyses bi-variées ont été effectuées en utilisant des tests paramétriques pour comparer les effets de chaque génotype sur le score HDRS, le pourcentage d'amélioration du score HDRS, la réponse et la rémission. Les variables qualitatives ont été analysées par des tests paramétriques Chi-2. La distribution du score HDRS et du pourcentage d'amélioration du score HDRS suivaient une loi normale. Par conséquent, les variables qualitatives ont été analysés par des tests paramétriques ANOVA (n>2 catégories). Des modèles mixtes contrôlés par l'âge, le sexe et la posologie de la venlafaxine ont été utilisés pour comparer l'association du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et

le score HDRS ou le pourcentage d'amélioration du score HDRS au cours du temps entre les trois génotypes, ainsi que pour chaque génotype individuellement. Les logiciels R version 2.14.1 et GraphPad Prism version 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) ont été utilisés pour les analyses statistiques et respectivement pour la constitution des figures. Le seuil de significativité statistique retenu est de 0.05.

III.3 Résultats

III.3.1 Description de l'échantillon étudié

L'âge moyen des 180 patients génotypés pour *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et traités par venlafaxine a été de 48.54 ± 11.97 ans. Tous les patients étaient de type caucasien et parmi eux 66.22% étaient des femmes. Le score HDRS à l'inclusion a été de 24.92 ± 4.77 , à M1 ce score était de 13.72 ± 6.67 , à M3 de 12 ± 6.97 et à M6 le score HDRS était de 10.14 ± 8.22 . La durée de l'EDM sur une vie entière parmi ces patients a été de 10.35 ± 11.32 ans. La moyenne des EDM antérieurs était de 1.77 ± 1.75 . Trente-quatre (23.28%) patients sont sortis de l'étude entre M0 et M1, 41 (39.04%) patients sont sortis entre M1 et M3 et 24 (29.63%) patients sont sortis de l'étude entre M3 et M6. L'attrition n'était pas significative parmi les trois groupes de génotypes (Tableau 10).

Dans notre étude, la distribution des trois génotypes respecte l'équilibre Hardy-Weinberg ($p=0.17$). Les fréquences alléliques du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* ont été de 55.6% pour l'allèle *Val* et de 44.4% pour l'allèle *Met*. À l'inclusion, dans le groupe *Val/Val* il y avait 51 (28.3%) patients, dans le groupe *Val/Met* il y avait 98 (54.5%) patients et dans le groupe *Met/Met* il y avait 31 (17.2%) patients. Vingt-sept patients étaient des patients naïfs, qui n'ont jamais été traités par un AD auparavant. Parmi eux, 6 (22.2%) patients étaient des porteurs du génotype *Val/Val*, 14 (51.8%) patients étaient porteurs du génotype *Val/Met* et 7 (26%) patients étaient porteurs du génotype *Met/Met*. Les caractéristiques cliniques et sociodémographiques en fonction du génotype *COMT Val(108/158)Met, rs4680* sont représentés dans le Tableau 10. À l'inclusion il n'y avait aucune différence au niveau du score HDRS parmi les trois groupes de phénotypes de l'échantillon total ($p=0.93$) ou parmi le sous-groupe de patients naïfs.

III.3.2 Polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met* et réponse à la venlafaxine

Après le premier mois de traitement le score HDRS tend d'être moins important dans le groupe *Val/Val* et *Val/Met* comparé à *Met/Met* dans les analyses bi-variées ($p=0.09$). Après trois et six mois de traitement cette association est significative dans les analyses bi-variées ($p=0.04$ et $p=0.02$). Aucune association n'a été montrée entre le *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* et le score HDRS dans les groupes *Val/Met* et *Met/Met* comparés au groupe *Val/Val* dans les modèles mixtes. Cependant, l'analyse de l'évolution du score HDRS au cours du temps, réalisée de manière indépendante pour chaque génotype dans des modèles mixtes, montrait une diminution significative du score HDRS dans les groupes *Val/Val*, *Val/Met* et *Met/Met* ($p=0.002$, $p<0.001$ et $p<0.001$) excepté dans le groupe *Met/Met*.

Au niveau des analyses bi-variées, le pourcentage d'amélioration du score HDRS après le premier mois de traitement montrait une tendance vers une meilleure amélioration dans les groupes *Val/Val* et *Val/Met* mais pas dans le groupe *Met/Met* ($p=0.06$). Les groupes génotypiques *Val/Val* et *Val/Met* se sont significativement améliorés après trois mois de traitement ($p=0.01$) et six mois de traitement ($p=0.009$). Aucune association significative du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* et le pourcentage d'amélioration du score HDRS n'a pas été montrée dans les analyses mixtes. Cependant, quand l'évolution du pourcentage d'amélioration du score HDRS a été analysé indépendamment dans chaque groupe génotypique dans les modèles mixtes, le pourcentage d'amélioration du score HDRS a augmenté significativement au cours du temps dans les groupes *Val/Val*, *Val/Met* et *Met/Met* ($p<0.001$, $p<0.001$ et $p<0.001$) (Figure 13).

En ce qui concerne la réponse sur l'échelle HDRS, le nombre de réponders était plus élevé dans le groupe *Val/Val* et *Val/Met* dans les analyses bi-variées à M3 ($p=0.03$). Dans les analyses mixtes, le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* n'a plus été associé à la réponse. Aucune association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680* et la rémission sur l'échelle HDRS n'a été montrée dans les analyses bi-variées et les modèles mixtes (Tableau 10).

Tableau 10: Génotype du *COMT* et efficacité de la venlafaxine

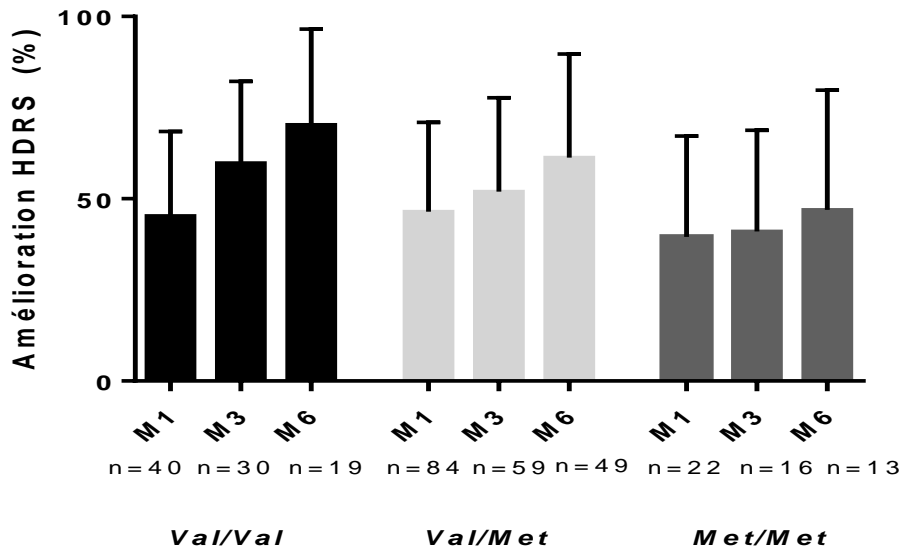
M0	Génotype <i>COMT</i>			p
	<i>Val/Val</i>	<i>Val/Met</i>	<i>Met/Met</i>	
Age (années), m (sd)	47.66 (±11.25)	48.55 (±12.44)	47.66 (±11.96)	0.68
Nombre de femmes, n (%)	38 (74.50)	65 (65.32)	18 (58.06)	0.09
Nombre d'EDM antérieurs, m (sd)	2.16 (±1.82)	1.69 (±1.76)	1.43 (±1.50)	0.15
Durée de la dépression vie entière (années), m (sd)	9.53 (±9.07)	11.06 (±12.20)	9.48 (±11.97)	0.26
La durée de traitement antidépresseur vie entière, m (sd)	3.22 (±4.76)	2.99 (±4.81)	2.7 (±4.38)	0.50
HDRS				
HDRS M0 (m (sd))	25.31 (±4.11)	25 (±5.18)	24.03 (±4.41)	0.93
HDRS M1 (m (sd))	13.75 (±5.9)	13.32 (±6.6)	15.22 (±8)	0.09
HDRS M3 (m (sd))	10.03 (±5.2)	12.25 (±7.37)	14.81 (±7.63)	0.04*
HDRS M6 (m (sd))	7.63 (±6.68)	10.10 (±8.12)	14 (±9.65)	0.02*
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion				
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M1 (m (sd))	45.27(±23.2)	45.77 (±25.8)	39.43 (±30.1)	0.06
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M3 (m (sd))	59.78 (±22.46)	51.64 (±26.37)	39.52 (±27.66)	0.01*
Pourcentage d'amélioration de la note HDRS depuis l'inclusion à M6 (m (sd))	70.28 (±26.27)	59.13 (±32.74)	42.08 (±39.34)	0.009*
Répondeurs HDRS				
Répondeurs M1 (n (%))	18 (45)	39 (46.5)	8 (36.5)	0.18
Répondeurs M3 (n (%))	22 (73.33)	30 (50.84)	6 (37.5)	0.03
Répondeurs M6 (n (%))	15 (78.95)	36 (73.46)	7 (53.84)	0.16
Patients en rémission échelle HDRS				
Patients en rémission M1 (n (%))	7 (21.2)	18 (21.4)	6 (27.3)	0.73
Patients en rémission M3 (n (%))	9 (30)	16 (27.11)	4 (25)	0.67
Patients en rémission M6 (n (%))	13 (68.42)	21 (42.85)	5 (38.46)	0.11
Attrition				
Attrition (n (%))	11 (27.5)	14 (16.66)	9 (40.9)	0.16
Attrition (n (%))	10 (33.33)	25 (42.37)	6 (37.5)	0.16
Attrition (n (%))	11 (57.89)	10 (20.40)	3 (23.07)	0.26
Posologie de la venlafaxine				
Posologie M0 (m (sd))	117.62 (±72.56)	107.31 (±49.26)	102.38 (±37.99)	0.49
Posologie M1 (m (sd))	177.15 (±74.6)	161.13 (±74.26)	157.90 (±61.28)	0.87
Posologie M3 (m (sd))	200 (±76.7)	184.66 (±72.8)	194.5 (±66)	0.83
Posologie M6 (m (sd))	186.73 (±72.64)	181.1 (±76.17)	204.76 (±54.38)	0.60

Légende : la statistique descriptive et les analyses bivariées. Les variables quantitatives ont été analysées par des tests paramétriques d'ANOVA et les variables qualitatives par des tests paramétriques de Chi2.

* test statistique significatif (p<0.05).

m-moyenne, sd-déviatation standard, EDM-épisodes dépressifs majeurs, HDRS-Hamilton Depression Rating Scale 17 items, M1-1^{er} mois, M3-3^{ème} mois, M6-6^{ème} mois.

A.



B.

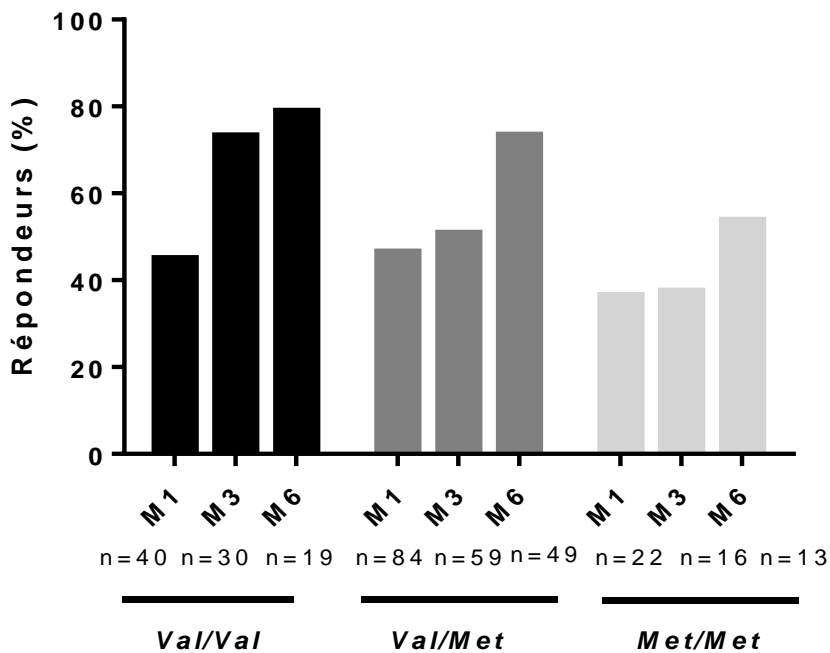


Figure 13: Pourcentage d'amélioration du score HDRS et la réponse à la venlafaxine au cours du temps en fonction du génotype *COMT Val(108/158)Met, rs4680*

A. Le pourcentage d'amélioration du score HDRS a été analysé par des modèles mixtes ajustés sur l'âge, le sexe et la posologie de la venlafaxine en comparant les génotypes *Val/Met* et *Met/Met* au génotype *Val/Val*. Le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* n'a pas été statistiquement associé au cours du temps avec le pourcentage d'amélioration du score HDRS dans des modèles mixtes.

Le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* n'a pas été associé au pourcentage d'amélioration du score HDRS pour les porteurs du génotype *Met/Met* (p=0.7).

B. La réponse a été analysée indépendamment dans chaque groupe de génotypes par des modèles mixtes ajustés sur l'âge et le sexe. Le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* n'a pas été statistiquement associé au cours du temps avec la réponse à la venlafaxine

M1-1^{er} mois de traitement, M3-3^{ème} mois de traitement, M6-6^{ème} mois de traitement.

III.4 Discussion

Notre étude a montré que le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* ne pourrait pas être recommandé comme un biomarqueur de prédiction de l'efficacité de la venlafaxine chez les patients caucasiens traités en milieu psychiatrique. Cependant, lorsque les génotypes ont été analysés indépendamment, les porteurs du génotype *Val/Val, Val/Met et Met/Met* ont montré une amélioration à la venlafaxine au cours du temps.

La fréquence du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* a été concordante avec la plupart des données qui existent dans la littérature pour la population caucasienne déprimée (52.6% pour les porteurs de l'allèle *Val*). Dans la population caucasienne saine, la fréquence de l'allèle *Val* a été estimée à 49.6% (Arias et al., 2006; Wang et al., 2016). *Hopkins et al.* ont montré dans leur étude que la fréquence de l'allèle *Val*, dans la population caucasienne saine et déprimée, était de 51.42%. (Hopkins et al., 2013). La fréquence du polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* est différente dans chaque ethnie (Wang et al., 2016). En effet, chez la population asiatique déprimée, l'allèle *Val* a une fréquence de 60.5% et chez la population asiatique saine cette fréquence est de 65.9% (Palmatier et al., 1999; Wang et al., 2016). *Hopkins et al.* ont montré dans leur étude que la fréquence de l'allèle *Val* dans la population saine caucasienne et afro-américaine réunies était de 68.69% (Hopkins et al., 2013).

Nous avons montré dans notre étude une amélioration des symptômes dépressifs au cours du temps après le traitement de la venlafaxine chez tous les génotypes : *Val/Val, Val/Met et Met/Met*. L'équipe de *Hopkins et al.* a montré dans son étude randomisée en double-aveugle

de 8 semaines avec les patients traités par la venlafaxine des résultats différents. Son étude a montré que l'amélioration clinique des patients porteurs du génotype *Val/Val* traités par venlafaxine versus les patients placebo était meilleure que les patients porteurs du génotype *Met/Met* (Hopkins et al., 2013). Par ailleurs, le nombre de patients traités par venlafaxine inclus dans l'étude de *Hopkins et al.* a été moins important que le nombre de patients inclus dans notre étude. De plus, cette étude a inclus 25% de patients afro-américains et 75% de patients caucasiens. Le choix de rajouter des patients afro-américains dans cette étude a été pour augmenter la différence de patients qui existe entre chaque génotype, car la fréquence de l'allèle *Val* dans la population afro-américaine est plus importante (Hopkins et al., 2013).

En accord avec trois autres études incluant des patients traités par venlafaxine, nos résultats n'ont pas montré d'association entre le *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse à la venlafaxine. Dans la première étude, incluant 112 patients traités par venlafaxine, *Narasimah et al.* n'ont montré aucune association entre le *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse à la venlafaxine après 6 mois de traitement. Cependant, les patients de l'étude *Narasimah et al.* étaient des patients diagnostiqués avec des troubles d'anxiété évalués par le score HAMA, et non pas des patients déprimés évalués par le score HDRS (Narasimhan et al., 2012). Dans la deuxième étude *Baune et al.* n'ont pas montré d'association entre le *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse à la venlafaxine. Un nombre important de patients avaient pu être inclus dans cette étude naturaliste : 225 patients caucasiens déprimés et 557 patients caucasiens sains qui ont été traités pendant six semaines par des divers ADs. Néanmoins, seulement 45 patients étaient traités par venlafaxine (Baune et al., 2008). Dans la troisième étude *Chiesa et al.* n'ont pas montré d'association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse à la venlafaxine. Toutefois, les patients qui ont participé à cette étude étaient des patients d'ethnie coréenne, avec 184 patients déprimés et 200 contrôles traités en moyenne pendant 7.42 semaines avec 52 patients traités par venlafaxine (Chiesa et al., 2014).

Dans notre étude le score HDRS à l'inclusion était très proche parmi les trois groupes génotypiques à l'inclusion. Dans le groupe de patients qui n'a jamais reçu un traitement AD auparavant, les patients porteurs du génotype *Val/Val* ont eu une dépression plus sévère à l'inclusion. La différence de score entre les groupes génotypiques *Val/Val* et *Met/Met* était de 4 points. Malgré une différence de score non significative, *Wang et al.* ont obtenu les mêmes résultats dans leur étude : les porteurs de l'allèle *Val* dans la population caucasienne ont

tendance d'avoir une prédisposition à la dépression comparés aux porteurs de l'allèle *Met*. Dans la population asiatique cette tendance est inversée : l'allèle *Met* est associé à la prédisposition à la dépression (Wang et al., 2016). Par ailleurs, une étude multicentrique européenne a retrouvé les mêmes résultats, montrant une association entre l'allèle *Val* et la dépression dans une population caucasienne. Les patients porteurs du génotype *Val/Val* ont un taux de catécholamines trans-synaptiques plus important, dû à une activité enzymatique plus élevée du COMT. Cet effet mène à une augmentation de la dégradation de la norépinephrine et de la dopamine (Massat et al., 2005). *Massat et al.* ont montré une prédisposition à la dépression chez le génotype *Val/Val* dans une cohorte de population caucasienne (Massat et al., 2011; Massat et al., 2005).

Notre étude n'a montré aucune différence significative d'amélioration des symptômes dépressifs au cours des six mois de traitement dans les groupes génotypiques *Val/Val*, *Val/Met* et *Met/Met* après un traitement par la venlafaxine, même si les porteurs du génotype *Val/Val* ont la plus importante activité enzymatique parmi les trois génotypes (Lachman et al., 1996). La venlafaxine et son métabolite principal, la O-desmethylvenlafaxine, sont pharmacologiquement actifs et inhibent la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, avec une inhibition plus importante de la recapture de la sérotonine à des doses jusqu'à 150 mg et la noradrénaline à des doses supérieures à 225 mg (Takano et al., 2013). Ces deux principes actifs inhibent moins efficacement la recapture de la dopamine (Holliday and Benfield, 1995). En inhibant la norépinephrine et la dopamine, COMT ne devrait pas avoir un impact sur la réponse à la venlafaxine (Lachman et al., 1996). Cependant, la réponse clinique est un phénomène complexe et il existe une interaction constante entre les systèmes dopaminergiques, sérotoninergique et noradrénergique. Ceci mène à une implication indirecte de la dopamine dans la réponse à la venlafaxine (Drago et al., 2011). Étant donné que COMT inactive la norépinephrine et la dopamine, il devrait donc avoir un impact sur l'efficacité de la venlafaxine à des doses plus importantes (Lachman et al., 1996). Dans notre étude, la posologie de la venlafaxine a un impact important sur la réponse à la venlafaxine, car c'est un important facteur de confusion. Par ailleurs, l'activité importante de la COMT chez les patients portant le génotype *Val/Val*, lorsque le transporteur de la noradrénaline (NAT) est inhibé par la venlafaxine, pourrait diminuer la biodisponibilité de la noradrénaline et dopamine comparé aux porteurs *Met/Met* qui ont un réservoir de noradrénaline diminué (Drago et al., 2011; Hopkins et al., 2013). Cependant, la diminution de biodisponibilité de la noradrénaline et de la dopamine dans la fente synaptique pourrait conduire à une augmentation de la sérotonine. Ce phénomène

pourrait expliquer les résultats de notre étude qui ne montrent aucune association entre *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse à la venlafaxine.

Autre étude, ayant évalué l'association entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et la réponse au minalcipran, qui est une molécule qui a le même mécanisme que la venlafaxine. Les deux molécules inhibent la recapture de la sérotonine et de la norépinephrine. Cette étude a montré une association entre ce polymorphisme et la réponse au minalcipran, avec une réponse plus importante chez les porteurs de l'allèle *Val* (Szegedi et al., 2005). Le bupropion est un autre AD qui inhibe la recapture de la noradrénaline et de la dopamine par leurs transporteurs. Les analyses de deux études réunies sur plus de 700 patients européens montrent dans leurs résultats respectifs la modulation de l'arrêt de la cigarette par le bupropion. L'équipe de *David et al.* ont montré l'impact de *COMT Val(108/158)Met, rs4680* avec autres trois variants dans la transmission dopaminergique dans la diminution de l'efficacité de bupropion (vs placebo) (David et al., 2013).

La venlafaxine est métabolisée par les CYP2D6 et CYP2C19 et donne son métabolite principal, la O-desmethylvenlafaxine. Jusqu'à présent, à notre connaissance, uniquement 3 études ont évalué l'impact des polymorphismes génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* sur l'efficacité de la venlafaxine chez les patients déprimés (Grasmader et al., 2004; Ng et al., 2013; Rolla et al., 2014). Dans toutes ces études, aucun impact du génotype sur la réponse à la venlafaxine n'a pas été mis en évidence. De plus, dans une étude récente sur les mêmes patients traités par venlafaxine dans la cohorte METADAP, aucune relation entre le génotype *CYP2D6* et *CYP2C19* et l'efficacité de la venlafaxine (Taranu et al., 2017b). Sans montrer de corrélation, nous n'avons pas inclu les CYP2D6 et CYP2C19 comme facteurs de confusion dans nos analyses.

Pour aller plus loin, l'interaction gène-gène entre différents gènes qui codent des protéines des systèmes sérotoninergique, noradrénergique et dopaminergique, devrait être étudiée pour des maladies complexes comme la dépression (Chiesa et al., 2014). Trois études ont examiné l'interaction gène-gène entre *COMT* et d'autres gènes impliqués dans la dépression. Les deux premières ont montré une association entre *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et le gène du transporteur de la sérotonine dans l'anxiété et les troubles de personnalité (Benjamin et al., 2000; Olsson et al., 2007). La troisième, au contraire n'a montré aucune association entre *COMT* et le récepteur 2 de la dopamine (*DRD2*) et la dépression (Chiesa et al., 2014).

Notre étude a quelques points forts. Premièrement, c'est une étude naturaliste, qui représente les patients dans la « vraie vie » et diminue le décalage entre la recherche et la pratique clinique. Deuxièmement, l'évaluation de cette étude est basée sur six mois de traitement, ce qui représente une durée supérieure aux trois autres études de patients dépressifs traités par venlafaxine et suivis seulement sur une durée de 6-8 semaines de traitement et évalués par le score HDRS (Baune et al., 2008; Chiesa et al., 2014; Hopkins et al., 2013). La seule étude affichant la même durée de traitement que la nôtre, s'étalant sur six mois, est celle de *Narasimhan et al.* Dans cette étude, les patients diagnostiqués avec un trouble d'anxiété généralisé, et évalués par l'échelle HAMA, ont été traités par venlafaxine (Narasimhan et al., 2012). Cependant, l'équipe de *Tsai et al.* dans une étude de 334 patients appartenant à une ethnie chinoise, a mis en évidence le fait qu'une évaluation d'au moins huit semaines était nécessaire afin que l'influence du polymorphisme génétique, *COMT Val(108/158)Met, rs4680* sur la réponse au traitement soit mise en évidence (Tsai et al., 2009). Troisièmement, les patients de notre étude ont des caractéristiques cliniques homogènes de la dépression et notamment le score HDRS. Tous nos patients sont d'ethnie caucasienne, majoritairement des femmes, ce qui représente la population déprimée. De plus, tous nos patients sont traités par la même molécule, la venlafaxine. Quatrièmement, le nombre de patients dans notre étude est plus important comparé aux autres trois études, qui évaluent la réponse à la venlafaxine (Baune et al., 2008; Hopkins et al., 2013; Narasimhan et al., 2012) et a un échantillon de patients déprimés comparable à celui de l'étude des patients coréens de *Chiesa et al.* (n=184, (Chiesa et al., 2014).

En conclusion, notre étude ne montre aucun effet entre le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* et l'amélioration des symptômes dépressifs chez les patients caucasiens déprimés traités par venlafaxine. Nos études confirment l'hypothèse que les polymorphismes génétiques qui influencent la transmission catécholaminergique, comme le *COMT Val(108/158)Met, rs4680* ne peuvent pas être recommandés en tant que biomarqueurs de prédiction de la réponse à la venlafaxine chez les patients traités en milieu psychiatrique.

D'autres études cliniques sont nécessaires pour confirmer notre résultat et explorer ce marqueur dans un panel de gènes avec d'autres gènes des voies dopaminergiques, sérotoninergiques et noradrénergiques dans une population de patients déprimés.

III.5 Conclusion

Notre étude a montré que le polymorphisme génétique *COMT Val(108/158)Met, rs4680* ne pourrait pas être recommandé comme un biomarqueur de prédiction à la venlafaxine dans la population caucasienne en milieu psychiatrique. Les porteurs de l'allèle *Val/Val* ont eu un meilleur pourcentage d'amélioration du score HDRS comparé aux porteurs du génotype *Met/Met*, mais ce résultat n'était pas significatif en modèles mixtes. Toutefois, le pourcentage de répondeurs et de patients en rémission n'a pas été significativement différent entre les trois génotypes.

QUATRIÈME PARTIE

L'apport du séquençage de nouvelle génération (NGS) aux études de pharmacogénétique

Ce projet consiste dans la réalisation des analyses exhaustives par la technologie de séquençage à haut débit (NGS) par une approche gène candidat. Le panel de gènes pertinents sélectionné dans la littérature comporte les gènes des principaux axes étudiés dans la dépression, comme les transporteurs neuronaux, les enzymes du métabolisme, les clock gènes, l'inflammation, ainsi que les gènes de différentes voies de signalisation.

IV.1 Objectif de l'étude

D'une part, l'objectif de notre étude a été de comparer deux techniques de génotypage. L'une d'entre elles a été utilisée pour la détection des polymorphismes génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* des patients de la cohorte METADAP traités par venlafaxine génotypés précédemment par discrimination allélique par TaqMan, l'autre est une nouvelle méthode de séquençage haut débit (NGS) avec un panel ciblé. D'autre part, le but de cette étude a été d'explorer la présence d'autres variants génétiques qui pourront par la suite nous aider à mieux définir les phénotypes *CYP2D6* et *CYP2C19* de ces patients.

IV.2 Matériels et Méthodes

IV.2.1 Technologie Illumina MiSeq

Dans le service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie (GMPH) de l'hôpital Kremlin Bicêtre, nous disposons de la technologie Illumina MiSeq. Cette technologie de séquençage à haut débit permet de séquencer l'ADN de façon plus exhaustive sur différents gènes simultanément (panel ciblé), mais elle nécessite différentes étapes (Figure 14).

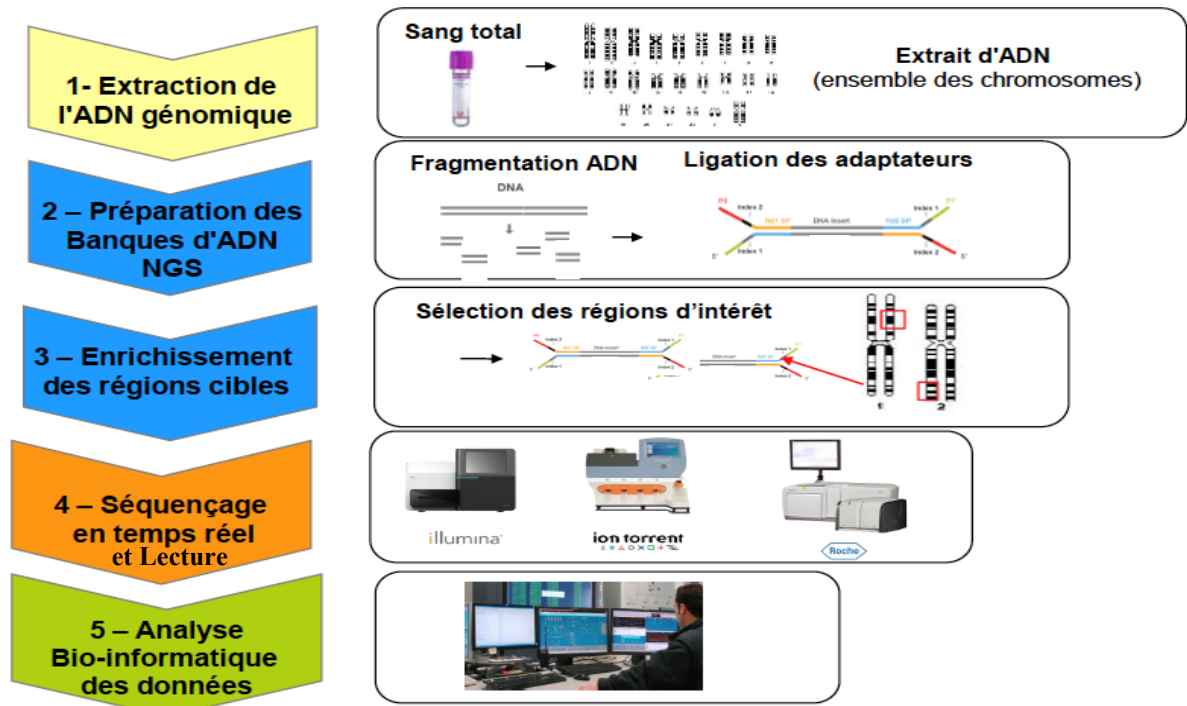


Figure 14: Principales étapes analytiques du séquençage NGS dans notre laboratoire

La technologie Illumina fait partie de la catégorie de séquençage par synthèse (Figure 15). Le but de ce chapitre est de détailler la technologie de séquençage Illumina MiSeq disponible dans notre laboratoire :

- Préparation de la librairie** – La librairie est spécifique à un panel donné. Un panel de gènes se définit comme des régions d'intérêt de plusieurs gènes. On peut les analyser en fixant des amorces. En vue du séquençage, la librairie est préparée en fragmentant l'ADN d'un patient X de manière aléatoire. Aux fragments d'ADN générés sont rajoutés des adaptateurs universels qui vont se fixer par la suite sur une plaque (FlowCell).
- Amplification par PCR** – Des amorces sont ajoutées dans les différents puits de la FlowCell. Ces amorces sont complémentaires aux adaptateurs, et un cycle de PCR va permettre l'extension de ces petits fragments sélectionnés pour les patients à amplifier. Les adaptateurs posséderont un index, qui représente un code de barre caractéristique pour chaque fragment d'ADN et ce afin de pouvoir identifier chaque fragment d'ADN. Cette étape est très importante pour la qualité du séquençage (Figure 15).

- C. Génération et amplification du cluster** – Pour la génération d'un cluster (amas de fragments), la librairie est chargée dans la FlowCell, où les fragments sont capturés en fonction de la complémentarité avec les adaptateurs. Cette étape est suivie d'une polymérisation 5' → 3' grâce à l'ADN polymérase (étape B). Ainsi chaque fragment est amplifié dans des clusters clonaux distincts grâce à une amplification par bridge (Illumina, 2014). Une fois la génération du cluster achevée, la FlowCell est prête pour le séquençage (Figure 15).
- D. Séquençage** – Après l'étape de « clusterisation », les séquences d'ADN sont linéarisées et les extrêmes 3' des séquences sont bloquées. Le séquençage par synthèse débute par l'incorporation des bases dNTP fluorescentes et une capture par image s'effectue en temps réel (Illumina, 2014). Le séquençage peut s'effectuer en « single-end » (dans un seul sens du brin d'ADN) ou « paired-end » (dans les deux sens du brin d'ADN). Dans notre laboratoire, la technique de « paired-end » est utilisée. En utilisant cette approche lors du séquençage, le brin d'ADN est retourné et forme un pont double brin complémentaire (Figure 15).
- E. Lecture** – La lecture en temps réel se fait à chaque incorporation d'une base nucléotidique par l'ADN polymérase. Ces bases sont des dNTP fluorescentes réversibles. Elles permettent de bloquer l'addition de nouvelles bases et de capturer les images en temps réel. Une excitation par laser est ensuite réalisée (à 530 et 660 nm) et des images sont capturées par deux caméras (Illumina, 2014) (Figure 15). Pendant la réaction de séquençage, le logiciel d'exploitation MiSeq (© 2016 Illumina, Inc. San Diego, US) capture des images des clusters. L'analyse des images et la définition de la base est effectuée grâce à un logiciel d'analyse primaire en temps réel (Figure 15).

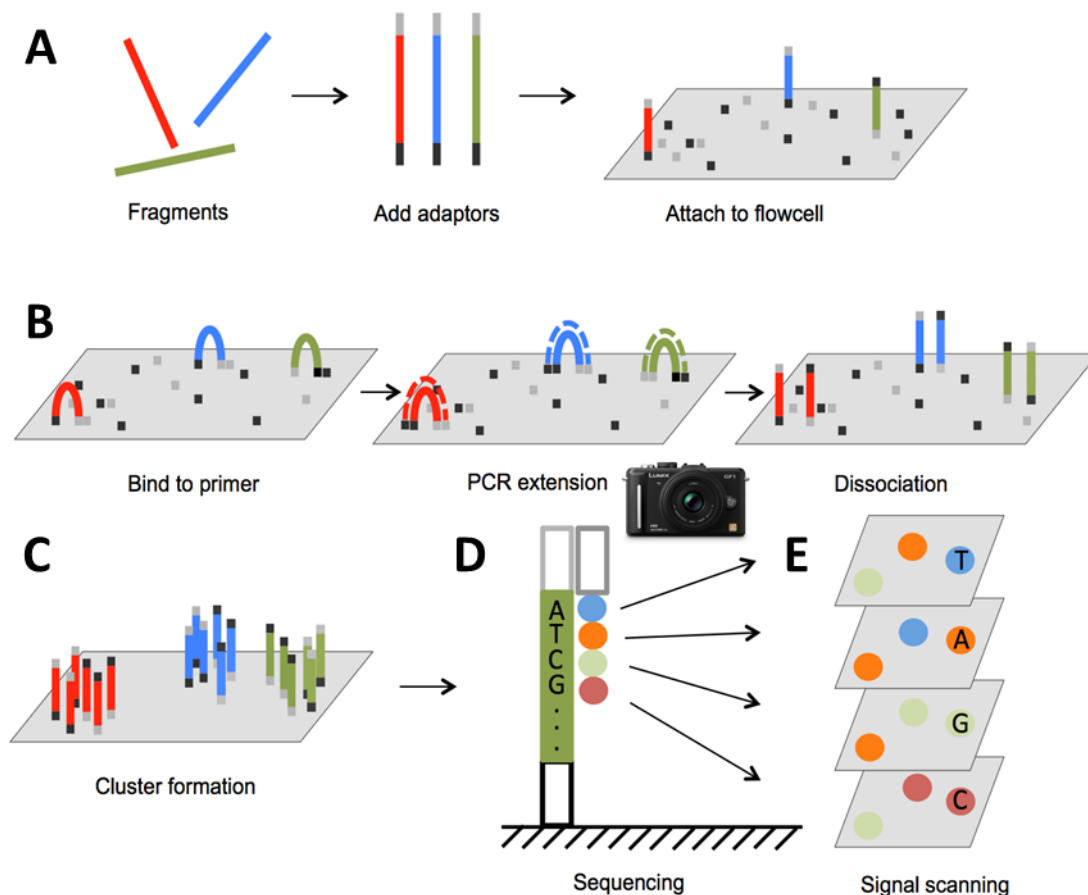


Figure 15: Principe de séquençage par synthèse, Illumina ® (Illumina, 2014)

A. Les clusters des brins créés par des ponts d'amplification de l'ADN sont amorcés et les quatre bases fluorescentes sont marquées. Les 3-OH des brins sont bloqués et les nucléotides sont rajoutés à la FlowCell (plaque permettant la *clusterisation* des banques) avec de l'ADN polymérase.

B. Les brins de clusters sont prolongés par des nucléotides par des PCR. Après cette étape d'incorporation, un lavage est réalisé ou les molécules d'ADN polymérase sont éliminées.

C. Un cluster avec des fragments d'ADN est formé

D. A partir des clusters, le séquençage s'effectue

E. Un système optique balaie chaque ligne de FlowCell et prend une image. Chaque base d'ADN (A, T, C, G) est marquée par des fluorescences différentes

IV.2.2 Analyse bioinformatique des données génétiques

La bio-informatique est une interface entre la biologie et l'informatique. C'est un nouveau domaine de recherche analysant et interprétant les données génétiques par les moyens bio-informatiques. Les logiciels de bio-informatique permettent d'annoter et de stocker les données analysées dans des bases de données. En effet, lors du séquençage par NGS un nombre exponentiellement croissant de séquences d'ADN est généré et la première difficulté consiste dans l'organisation de cette masse d'information pour qu'elle puisse être disponible et visible. L'apparition de cette quantité de données a rendu obsolète la technique d'analyse des résultats

par alignement de séquence. Le développement et l'utilisation d'outils bio-informatiques était donc nécessaire. Les analyses bio-informatiques se divisent en trois étapes principales :

1/ L'analyse primaire, qui consiste dans le séquençage en lui-même et l'obtention des séquences ainsi que l'attribution d'un score de qualité aux séquences générées

2/ L'analyse secondaire détermine le pourcentage des bases GC et identifie les scores de faible qualité des séquences d'ADN

3/ L'analyse tertiaire consiste dans le nettoyage des données brutes, dans l'alignement, l'annotation et l'analyse des données. Cette étape est réalisée sous forme d'un « *workflow* » sur la plateforme MiSeq du service de GMPH de l'hôpital Bicêtre. La stratégie d'analyse et le workflow choisi seront présentés plus loin dans cette partie. Cependant, la mise en place de l'analyse NGS en pharmacogénétique n'existait pas avant ce projet. Plusieurs workflows ont été constitués pour affiner l'analyse bio-informatique du panel NGS METADAP des gènes et pharmacogènes en particulier.

IV.2.2.1 Outil bio-informatique – Galaxy

La plateforme Galaxy est une application codée dans le langage python utilisant une interface Web permettant d'analyser, manipuler et visualiser des données génomiques et d'utiliser des outils bio-informatiques individuellement ou sous forme de « Workflow » sans avoir des connaissances approfondies en programmation. Elle a été développée depuis 2005 dans le cadre du projet Generic Model Organisation Database (GMOD), par différentes équipes composées de membres de l'Université d'Etat de Pennsylvanie et de l'Université Emory. GMOD est une collection d'applications et de bases de données « open source » à destination des biologistes, orientée communauté, partage, reproductibilité et transparence (Goecks et al., 2010).

Galaxy est un système accessible via intranet qui fournit une interface unifiée d'obtention et d'analyse des données génomiques. Il est parfaitement adapté aux biologistes qui n'ont pas besoin de programmer ou d'apprendre à manier la ligne de commande ou les détails d'implémentation d'un outil (Goecks et al., 2010). Le système Galaxy est une page web

permettant la documentation complète d'une analyse (Goecks et al., 2010). Il a été mis en place au GMPH Paris Sud par le Dr Jérôme Bouligand en 2015.

Galaxy est un outil bio-informatique transparent qui permet le partage des jeux de données, historiques d'analyses et « *workflows* » entre utilisateurs. Il capture automatiquement la multitude de séquences d'ADN générées chez différents patients en même temps dans une courte durée de temps, enregistre les jeux de données et les résultats intermédiaires et fournit des outils de documentation (annotations, « tags ») et le partage d'analyses. Chaque analyse peut être « rejouée », extraite sous forme de « workflow » et partagée en réseau avec d'autres utilisateurs de Galaxy. Le « workflow » consiste en un enchaînement d'outils où le résultat d'un outil sert d'entrée à l'outil suivant. Le même « workflow » peut être utilisé sur des données différentes ou sur les mêmes données pour ajuster les paramètres (Nekrutenko and Taylor, 2012). Les « workflows » peuvent et doivent également être annotés pour faciliter leur utilisation ultérieure par d'autres scientifiques qui font les mêmes analyses.

L'espace d'analyse de Galaxy est composé de 3 parties (Figure 16) : la liste d'outils (Partie 1), la barre de navigation et l'interface de changement d'outils (Partie 2), l'historique (Partie 3). La liste d'outils indique les outils d'analyse et les data sources qui sont à disposition de l'utilisateur, la barre de navigation fournit des liens vers les composants majeurs de Galaxy : les « workflows », l'espace d'analyse et les données génétiques qui ont été fournies à Galaxy. L'interface de changement d'outils affiche les outils sélectionnés par l'utilisateur. L'historique indique les résultats des analyses qui ont été déjà réalisées par l'utilisateur ainsi que les annotations (Figure 16). L'historique facilite la reproductibilité des données en montrant leur provenance ainsi que la possibilité de retourner à chaque étape de « workflow ».

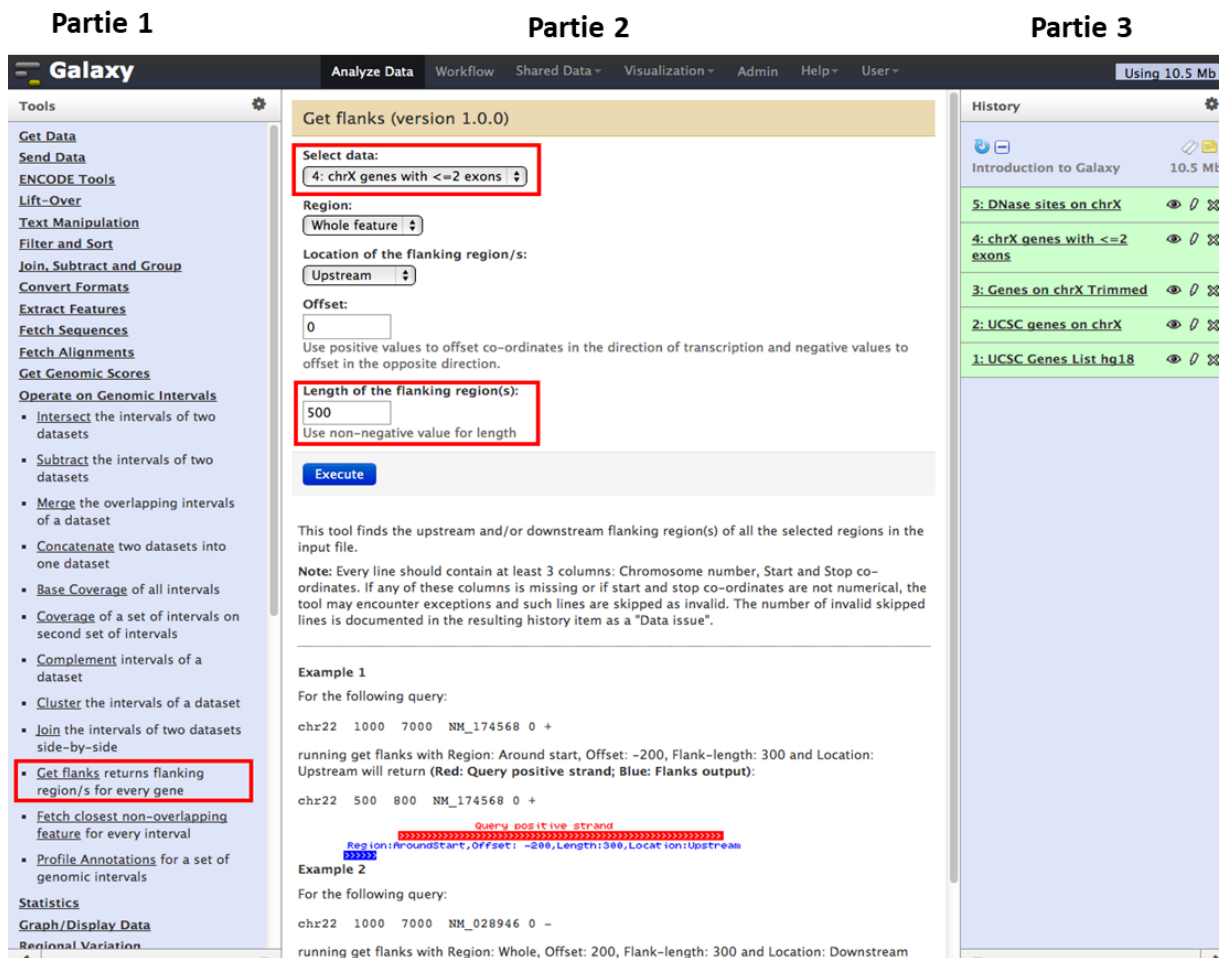


Figure 16: Interface Galaxy

Dans la Partie 1, les « Tools » représentent les outils Galaxy.

Une fois l'outil sélectionné, dans la Partie 2, (la barre de navigation) les différentes options modifiables s'affichent. L'utilisateur sélectionne les paramètres à modifier. En appuyant sur « Execute » un nouvel historique (Partie 3) s'affiche à droite de l'écran dans la liste des historiques. Ce dernier pourra ensuite être partagé en réseau.

IV.2.2.2

Workflow d'analyse bio-informatique des données NGS

La plateforme NGS de l'hôpital Kremlin Bicêtre a été mise en place au sein du service de génétique moléculaire et pharmacogénétique par le Dr Jérôme Bouligand, ainsi que l'ingénieur bio-informatique de la plateforme maladie rare, Christophe Habib.

La plateforme NGS de l'hôpital Kremlin Bicêtre a mis en place son propre « workflow » d'analyse bio-informatique sur Galaxy qui suit le « GATK best practice », de Broad Institute (GATK, 2017) (Figure 17). Ce « workflow » comporte 4 grandes étapes pour l'analyse des données de séquence cible :

- La manipulation de fichier de sortie de l'appareil séquenceur « MiSeq » : conversion de format et filtres
- Analyse des données NGS :
 1. Premier niveau : nettoyage des séquences, contrôle qualité, assemblage
 2. Deuxième niveau : indels (insertion/délétion), SNPs (single nucleotide polymorphisme), CNVs (Copy Number Variant) et analyse statistique
- Alignement sur un génome de référence (hg19) (UCSCgenomeBrowser, 2017)
- Détection de variants

La manipulation de fichier de sortie de l'appareil « Illumina Miseq » consiste dans le traitement du format « Fastq », qui est un format de stockage des séquences nucléotidiques avec des scores de qualité. C'est un format qui fournit 4 lignes par séquence, doté d'une importante capacité informatique. Ces séquences « paired end » (« Fastq *Read1* » et « *Read2* ») seront alignées avec le génome de référence (UCSC, hg19) avec le logiciel libre d'accès BWA-MEM 0.7.9a-r786 (Li and Durbin, 2009).

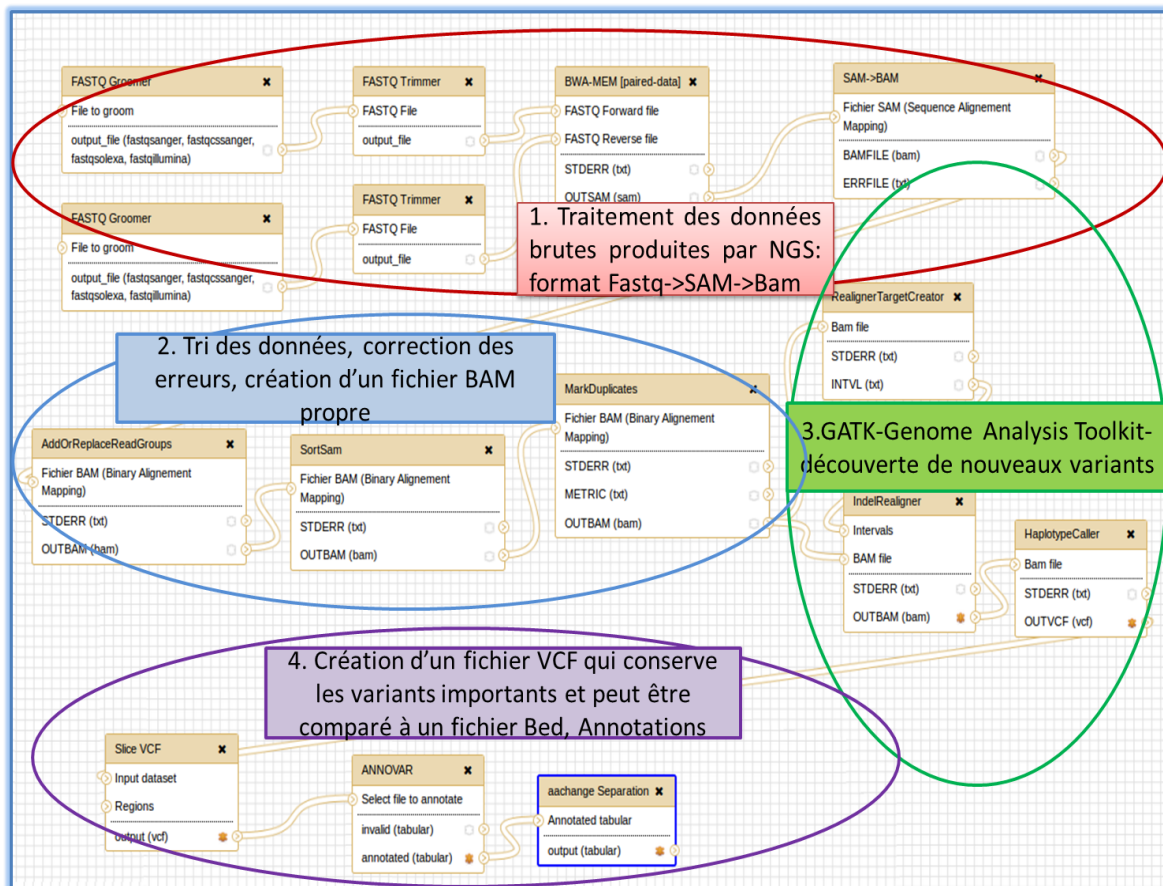


Figure 17: « Workflow » Galaxy

Des traitements intermédiaires seront réalisés avec les logiciels libres SAM Tools® 0.1.19 et Picard Tools® 1.115 du *Massachusetts Institute of Technology*. Ces traitements consistent dans l'enlèvement des séquences qui n'ont pas un bon score de qualité, dans l'alignement avec le génome de référence ainsi que dans la constitution d'un fichier SAM (Sequence Alignment Map). Ce dernier est un fichier en format texte qui a une grande capacité de stockage des nucléotides, mais qui a toujours une grande capacité informatique. L'étape suivante du « workflow » est la transformation du fichier SAM en un fichier BAM (Binary alignment Map), qui est un fichier avec une version binaire. La recherche des variants sera ensuite réalisée à l'aide du logiciel GATK 3.1.1 du *BroadInstitute*. Le GATK ou le Genome Analysis Toolkit est un outil bio-informatique qui offre une grande variété de packages qui se focalisent sur la découverte de variants et génotypes avec des données d'une grande qualité. GATK fournit un fichier au format VCF (Variant calling format) qui est compressé et qui contient des informations de chaque variant : position sur le chromosome, la fréquence dans différentes bases de données ainsi que les annotations. Les variants seront annotés avec le

logiciel Annovar (Wang et al., 2010). Les séquences sont visualisées avec le logiciel « Integrative Genome Viewer » du *BroadInstitute* qui permet de localiser sur une interface graphique les différents variants.

IV.2.3 Patients, matériels et méthodes

IV.2.3.1 Construction in silico du panel de gènes pertinents pour la réponse aux antidépresseurs

L'objectif de ce travail a été de construire le panel de gènes de réponse aux ADs prescrits dans notre cohorte, ainsi que de valider les polymorphismes génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* du travail précédent. Ce travail a été ensuite appliqué sur tous les ADs des patients de la clinique METADAP (Corruble et al., 2015). Le design de l'étude, ainsi que les critères d'inclusion et d'exclusion ont été présentés dans la deuxième partie de ce travail.

L'analyse génétique a nécessité la construction d'une librairie de gènes à analyser. Les gènes d'intérêt pour la construction du panel pharmacogénétique ont été sélectionnés par une analyse bibliographique dans la base de données PubMed avec les mots clés suivants : « Depression », « Major Depressive Disorder », « Pharmacogenetics », « Metabolism », « Transporter », « Inflammation », « Genetics », « GWAS » et classifiés en fonction des différentes hypothèses de la dépression qui existent : l'hypothèse monoaminergique, l'axe hypothalamo- hypophysaire, les clock genes, l'inflammation, les neurotrophines et certaines voies de signalisation comme la GSK3beta ou Wnt.

La première hypothèse explicative de la physiopathologie de la dépression propose comme principe de base la déficience monoaminergique des monoamines dans le cerveau : la sérotonine, la noradrénaline et la dopamine (Belmaker and Agam, 2008). Elle comporte les gènes des transporteurs SERT, NAT et DAT, ainsi que les OCTs et PMAT. Nous avons inclus également les gènes des différents récepteurs comme les récepteurs de la sérotonine *5-HT_{1A}*, *5-HT_{4A}*, *5-HT_{5A}*, les récepteurs de la dopamine comme le *DRD2*, et les récepteurs du glutamate comme *GRIK1-GRIK4*. Dans ce groupe de gènes nous avons inclus certains gènes qui codent pour des transporteurs de la barrière hémato-encéphalique ou des gènes enzymes de métabolisme des monoamines comme *COMT* ou des médicaments comme *CYP2D6* et *CYP2C19*.

Une autre hypothèse de la dépression est le stress et l'axe hypothalamo-hypophysaire. Lorsqu'une personne subit un événement stressant, son taux de glucocorticoïdes sanguin augmente. Le stress entraîne une activation de l'hypothalamus qui sécrète alors l'hormone CRH (corticotropin-releasing hormone). Cette hormone amène à son tour l'hypophyse à produire l'hormone ACTH (adrénocorticotropine) qui circule dans le système sanguin et atteint les glandes surrénales où elle provoque une libération de cortisol. Ce processus forme une boucle de rétroaction négative où l'excès de cortisol active les récepteurs aux glucocorticoïdes du cerveau et supprime la production de CRH. Cependant, chez les patients déprimés, cette boucle ne fonctionne plus, ce qui explique qu'une production excessive de CRH, et donc de cortisol. Plusieurs patients sérieusement déprimés ont un taux de cortisol sanguin élevé provoqué par un stress chronique. C'est pour ceci que nous avons inclus dans notre panel les gènes de l'axe hypothalamo- hypophysaire (Belmaker and Agam, 2008).

Une autre hypothèse de la dépression est la diminution des neurotrophines, qui sont des facteurs de croissance chez les patients déprimés. Le facteur neurotrophique issu du cerveau, Brain-Derived Neurotrophic Factor, aussi connu sous le nom de BDNF, active la voie de signalisation GSK3beta. BDNF est une neurotrophine qui semble avoir un impact sur la réponse aux ADs (Colle et al., 2015). Le gène *BDNF* et les gènes de la voie GSK3beta ont été inclus dans notre panel de gènes.

On peut également citer comme autres hypothèses de la dépression l'impact des « clock genes » dans la dérégulation du rythme circadien (Bunney et al., 2015), l'inflammation (INSERM, 2014; Valkanova et al., 2013) ou la voie Wnt du fait de son implication dans la neurogénèse (Lie et al., 2005). Des gènes décrits dans la littérature et appartenant à chaque hypothèse ont été inclus dans notre panel de gènes.

Nous avons classifié ces clusters de gènes en deux catégories importantes en fonction de leur implication dans le métabolisme ou la réponse au traitement : les pharmacogènes ou les autres gènes (Figure 18).

Pharmacogènes:

- Cytochromes: *CYP2D6, CYP2C19*
- Transporteurs:
 - ✓ Uptake 1: *DRD2, SLC1A1, SLC1A4, SLC6A3, SLC6A2, ABCC2, SLC1B1, SLC1B3*
 - ✓ Uptake 2: *SLC22A1, SLC22A2, SLC22A3, SLC29A4*
 - ✓ Efflux: *ABCC1, ABCG2, SLCO1A2, SLC22A6*
- Enzymes du métabolisme: *IDO1, IDO2, GADL, COMT*
- Récepteurs: *GRIK 2, GRIK3, GRIK4, GRIK5, GRIA1, GRIA2, GRIA 3, GRIA4, GRIN2B, 5HT1A, 5HT4A, 5HT5A*

Autres gènes

- Métabolisme: *LEP, ELPR, ADIPOR2, INS*
- Inflammation: *TNF α , IL6, IL1 β , IL18, IL8*
- Neurotrophines et β -arrestines: *BDNF, NTRK2, GSK3 β , ARRB1, ARRB2, CREB1, NGFR*
- WNT pathway: *AKT1, FZD3, WNT1, WNT2, WNT3A*
- Autres: \approx 10 gènes

Figure 18: Classification des clusters des gènes du panel METADAP en 2 catégories : les pharmacogènes qui interviennent dans la pharmacocinétique et pharmacodynamie des médicaments ADs

IV.2.3.2 Construction de la librairie des gènes du panel METADAP

Avant de séquencer le panel de gènes que nous avons sélectionné dans la littérature, une étape importante doit être validée. Cette étape consiste dans une simulation de la couverture des gènes sur le site « SureDesign Agilent » (SureDesign Agilent, Santa Clara, USA). Certaines régions des gènes sont difficiles à séquencer, notamment à cause des séquences répétées. Pour ceci, avant de séquencer le panel de gènes, nous devons nous assurer que chaque gène aura une couverture correcte. Il est possible de construire un design « customisé » des sondes en ciblant seulement les zones d'intérêt à partir d'une liste de gènes ou de coordonnées chromosomiques selon l'assemblage hg19.

Le panel de gènes METADAP a été testé par différentes simulations sur le site de « SureDesign Agilent » afin de vérifier la couverture globale des gènes. Chaque design inclut des sondes témoins qui permettent d'analyser les régions polymorphes qui serviront de témoins pour la détection des variants (polymorphismes génétiques, substitutions, InDel, CNV). Une

analyse préalable *in silico* des couvertures nous a permis d'identifier des régions qui sont mal couvertes. Le paramétrage a été optimisé pour ces régions.

Dans notre panel, en fonction du gène ciblé, nous avons choisi des stratégies différentes : séquencer juste les exons, les introns et les exons, ou juste quelques régions cibles d'un gène en particulier en fonction de la littérature. En fonction de la stratégie, j'ai créé un « probegroup » sur le site Agilent ou j'ai combiné un cluster de gènes pour lesquels j'ai appliqué la même stratégie. Cette étape est très importante et nécessite beaucoup de réflexion pour la stratégie de séquençage en fonction des zones d'intérêt. Pour la plupart des gènes j'ai choisi de ne séquencer que les régions codantes. Ceci s'explique notamment par les publications scientifiques qui mettent en évidence des variants génétiques dans ces régions (probegroup 1). Dans la littérature, dans certains gènes de notre panel, des variants génétiques se trouvant dans les introns ont été décrits. Pour cette raison, j'ai choisi de séquencer l'intégralité de certains gènes comme les *ARRB1* et *ARRB2* et d'optimiser le séquençage en activant différents paramètres sur Agilent, en vue de séquencer le maximum de région dans les introns (probegroup 2, 3). De même, pour certains gènes nous avons séquencé la partie codante ainsi que les 3' ou 5' UTR (probegroup 4, 5). En me basant sur la littérature, j'ai rajouté certaines régions introniques de certains gènes qui semblent être intéressantes du point de vue de la présence des variants pertinents dans ces régions (probegroup 6, 7, 8, 9). J'ai fini par assembler les probegroups pour créer la configuration finale du design du panel (Figure 19).

J'ai procédé à la construction des probegroups différents :

1/ un probegroup où j'ai sélectionné seulement les régions codantes qui comportent les gènes suivants : *ABCC1*, *ABCG2*, *BDNF*, *CLOCK*, *CREB1*, *CHRH1*, *CRY2*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *DRD2*, *SLC1A1*, *SLC22A1*, *SLC22A2*, *SLC22A3*, *SLC22A6*, *SLC29A4*, *SLC6A2*, *SLC6A3*, *SLC6A4*, *SLCO1A2*, *SLCO1B1*, *SLCO1B3*

2/ un probegroup qui comporte les exons et introns des gènes suivants : *ARRB1*, *ARRB2*

3/ un autre probegroup qui comporte un complément optimisé pour les gènes suivants : *ARRB1*, *ARRB2*

4/ un probegroup qui comporte les exons et la partie 3'UTR : *CRY1*, *IDO2*

5/ un probegroup qui comporte les exons et la partie 5' UTR : *ABCC2*


6/ un probegroup qui comporte des variants introniques ciblés du gène *ARNTL*

7/ un probegroup qui comporte différentes régions ciblées de certains gènes, la plupart étant introniques : *PER2*, *CRY2*, *CLOCK*, *IDO2*

8/ un autre probegroup qui comporte différentes régions ciblées de certains gènes, la plupart étant introniques : *GRIK2*, *SLCA2*, *GADL1*, *GRIK4*, *GRIA4*

9/ un autre probegroup qui comporte différentes régions ciblées de certains gènes, la plupart étant introniques : *BDNF*, *AKT*, *GADL1*, *TNF*, *FKBP5*, *FZD3*

La validation du panel sur Agilent® a permis la construction in silico de la librairie et la commande du panel a été livrée.



General Information

User: adela.taranu@u-psud.fr	File Type: SureSelect DNA Design Report
Workgroup: APHP et Université Paris Sud-11	Created By: SureSelect DNA Advanced Design Wizard
Folder: APHP et Université Paris Sud-11	Date: 11-Jun-2015

Design Information

Design Name: PG METADAP 11062015
Species: H. sapiens (H. sapiens, hg19, GRCh37, February 2009)

Probegroup Summary
Number of Probegroups: 9

- Probegroup 1 : different gene variants
- Probegroup 2 : ABCC2_5UTR_08062015
- Probegroup 3 : ARNTL_intron variants 08062015
- Probegroup 4 : CRY1_IDO2_3UTR_PG08062015
- Probegroup 5 : ARBB_complement
- Probegroup 6 : Different gene variants 1
- Probegroup 7 : PG panel exons final 11062015
- Probegroup 8 : gene variants 2
- Probegroup 9 : ARRB

Probe Summary
Total Probes: 9352
Total Probes Size: 379.808 kbp
Recommended Minimum Sequencing per Sample: 75.961 Mbp
Pricing: Tier 1 (Probe Region Size = 0 - 499 kbp; up to 57.5K probes)

Figure 19: Panel de gènes pour la cohorte METADAP avec les probegroups Agilent®

IV.2.3.3 Sélection des patients éligibles pour le séquençage à haut débit

La sélection des patients de METADAP éligibles pour le séquençage à haut débit par NGS a été réalisée. Des patients extrêmes, bons répondeurs au traitement de la venlafaxine d'une part (qui présentent un score inférieur ou égal à 7 à l'échelle de dépression Hamilton au 3^{ème} mois de traitement) et mauvais répondeurs au traitement de la venlafaxine d'autre part (qui présentent une amélioration inférieure ou égale à 20% au 1^{er} mois de traitement et inférieur ou égale à 50% au 3^{ème} mois de traitement) ont été sélectionnés. Nous avons sélectionné les patients mauvais répondeurs traités par venlafaxine. Ces 24 patients ont été appariés en fonction de 4 variables (l'âge, le sexe, la durée du trouble dépressif majeur et du traitement AD au cours de la vie) avec des patients « bons répondeurs ».

En priorité, le séquençage a été réalisé sur les ADNs des patients qui ont des données à M1, M3, M6 pour l'HDRS, réponse et non-réponse, traités par venlafaxine. À ce jour, nous avons 70 patients avec différents phénotypes traités par venlafaxine qui ont été séquencés pour un panel de 70 gènes. Les 206 autres patients traités par venlafaxine seront séquencés en priorité. Par la suite, tous les patients ayant suffisamment d'ADN seront séquencés.

IV.3 Résultats des analyses préliminaires NGS

IV.3.1 Validation des SNPs du CYP2D6 et CYP2C19 par NGS

La méthodologie de validation de la technique a été réalisée lors d'une première analyse d'un panel de 24 sujets, afin d'identifier si tous les gènes du panel étaient bien séquencés. La qualité de chaque séquence a été analysée et a montré que tous les gènes étaient séquencés avec différentes qualités de profondeur en fonction des régions amplifiées. Les régions codantes ont une couverture et une profondeur plus importante que les régions introniques. Pour pouvoir détecter ces régions nous avons validé les régions à séquencer grâce aux probegroups. Pour une des étapes de validation, pour certains gènes nous avons utilisé des données de génotypage, par exemple ceux des polymorphismes génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* de la cohorte METADAP, réalisés par la technique de discrimination allélique par TaqMan. Parmi les SNPs génotypés au laboratoire du *CYP2D6* et du *CYP2C19* : allèles défectueux entraînant une déficience enzymatique complète (*CYP2D6* *3 *rs35742686*, *4 *rs3892097*, *6 *rs5030655*, délétion du gène *5); (*CYP2C19* *2 *rs4244285*, *3 *rs4986893*, *4 *rs28399504*, *5 *rs56337013*),

allèles entraînant une diminution de l'activité enzymatique (*CYP2D6* *10 *rs1065852*, *CYP2D6**41 *rs28371725*), allèles associés à un métabolisme accéléré (duplication du gène *CYP2D6**2xN) ; (*CYP2C19* *17 *rs12248560*), la détection des allèles des polymorphismes génétiques *CYP2D6* * 10, *41 et *CYP2C19* *4 a été retrouvée chez tous les patients possédant ces allèles sur les données de séquences issues du NGS. Les autres allèles n'ont pas été retrouvés car ils se trouvent dans des introns ou des régions qui n'ont pas été inclus dans les régions couvertes du panel. Ceci permet de conclure que la technique NGS détecte correctement ces allèles si elles sont dans la région sélectionnée validée par les probegroups.

IV.3.2 Autres variants des *CYP2D6* et *CYP2C19* détectés par le séquençage par NGS

Cent treize nouveaux variants génétiques des *CYP2D6* et *CYP2C19* ont été détectés grâce à la technique de séquençage NGS chez les 70 patients. Une analyse des bases génétiques a été réalisée pour chaque variant séquencé et ceci nous a permis de déterminer l'impact de ces variants sur l'activité de l'enzyme en le classifiant sur 3 niveaux : aucun effet, augmentation ou diminution de l'activité des CYP. Cette analyse bibliographique a permis de mieux décrire les phénotypes des patients, de trouver les variants rares, calculer la fréquence de ces variants dans la population METADAP ainsi que comparer le génotype des patients extrêmes avec les autres patients traités par venlafaxine.

La fréquence des nouveaux variants (113) détectés dans la sous-population METADAP est équivalente avec celle de la population caucasienne décrite dans la base de données « 1000genomes » (1000Genomes, 2017), « dbSNP » (dbSNP, 2017) ou « HapMap » (HapMap, 2017).

Pour le *CYP2C19*, 35 variants ont été retrouvés chez 70 patients. Parmi eux, 2 SNPs introniques ne sont pas décrits dans la littérature ou dans les bases de données et ont une fréquence dans la sous-population METADAP inférieure à 0.1. Parmi les 35 SNPs, 9 (25.7%) sont localisés dans les exons dont 4 (11.5%) SNPs sont non-synonymes qui induisent un changement du codon et de la protéine. Parmi les 4 SNPs non synonymes, 2 (50%) sont présents chez les patients extrêmes.

Pour le *CYP2D6*, 78 SNPs ont été détectés chez 70 patients : 35 (44.87%) sont situés dans les exons et 1 dans la partie 5' UTR (1.28%). Parmi tous les SNPs 6 (7.7%) sont localisés dans

des introns qui n'ont pas été décrits dans la littérature ou dans les bases de données génétiques et 5 (6.41%) ont une fréquence dans la population METADAP inférieure à 0.1. Parmi les 78 variants détectés, 24 (30.76%) sont des SNP non-synonymes localisés dans les exons et une délétion qui conduisent à un changement de la protéine. Parmi les 24 SNPs non-synonymes, 7 (29.16%) ont des fréquences supérieures à 0.1. Quelques SNPs séquencés permettent d'expliquer mieux les phénotypes de notre étude précédente d'après CPIC (Hicks et al., 2016). Par exemple, pour l'allèle *9 avec une fréquence de 0.02 dans la population METADAP a été détectée chez les 70 patients. Cet allèle diminue l'activité de l'enzyme CYP2D6. Cependant, chez les patients porteurs de cet allèle, les classant dans une catégorie MI, le phénotype déterminé par le génotypage par discrimination allélique ne change pas.

IV.4 Discussion

Parmi la totalité des variants détectés par le NGS, les SNPs d'intérêt des *CYP2C19* et *CYP2D6* sont les SNPs qui sont localisés dans les exons, 5'UTR, 3'UTR ou les promoteurs qui sont non-synonymes et ont une fréquence allélique supérieure à 0.1. Ces SNPs peuvent contribuer à la variabilité de l'expression et /ou d'activité de ces enzymes. Cette technique permet d'enrichir l'étude de génotype/phénotype qui est basée sur les variants décrits dans la pharmacogénétique des CYP. Dans notre étude, nous avons pu enrichir la détection des génotypes des *CYP2D6* avec l'allèle de diminution d'activité décrite dans la littérature *CYP2D6**9 (Tableau 3) (Hicks et al., 2016). Cependant, cette nouvelle information n'a pas changé la traduction et le classement de ces patients dans un groupe phénotypique. De plus, nous n'avons pas pu détecter les SNPs des *CYP2D6* et *CYP2C19* situés dans les introns ou d'autres régions que nous n'avons décidé de ne pas inclure dans les probegroups.

Ces résultats mettent en évidence les limites de la technologie du NGS exome. En effet, avec cette technologie, qui reste encore assez coûteuse comparée à des technologies classiques de génotypage comme le PCR ou la discrimination allélique par TaqMan, nous n'obtenons pas les résultats escomptés en pharmacogénétique. De plus, le séquençage de l'exome ne peut pas valider les SNPs situés dans les introns. D'ailleurs, la détection des délétions ou duplications de certains gènes comme le *CYP2D6* reste compliquée à visualiser sur les outils du NGS (Ji et al., 2016).

Dans un esprit équivalent à nos travaux, une étude récente a eu comme but le séquençage des gènes ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination) dans 21 populations par le séquençage de l'exome. Cette étude a montré un taux de 50% de variations non-synonymes plus important dans les gènes ADME comparés aux non-ADME gènes. Ceci met en évidence l'importance des pharmacogènes et leur variabilité génétique dans différentes populations et leur étude dans la réponse aux traitements. De plus, cette étude a mis en évidence, à l'aide d'un algorithme, quarante variants avec une MAF>2% qui pourraient être des variants candidats pour les prochaines études de pharmacogénétique. Nous avons validé dans notre population caucasienne les mêmes variants retrouvés dans des gènes comme *CYP2C19*, *SLC22A1*, *SLCO1B1* (Hovelson et al., 2017).

Ces études de séquençage à haut débit des pharmacogènes sont prometteuses, car elles permettent de détecter des gènes candidats pour l'étude des biomarqueurs en psychiatrie (Hovelson et al., 2017).

IV.5 Conclusion

Parmi les SNPs séquencés au laboratoire par la technique de TaqMan : *CYP2D6* (*6, *5, *10, *41, *4, *3) et *CYP2C19* (*17, *2, *3, *4), nous avons réussi à détecter des allèles des polymorphismes génétiques *CYP2D6* *10, *41 et *CYP2C19* *4 (Tableau 3 page 25, Tableau 4 page 31). Cependant, nous n'avons pas pu valider la présence de polymorphismes génétiques supplémentaires, ceux-ci se trouvant dans des introns, des régions non codantes ou des régions pas été ciblées dans notre choix stratégique par notre panel de gènes.

CINQUIÈME PARTIE

Les transporteurs du système nerveux central OCTs et PMAT et leur implication dans la modulation de la dépression majeure

Suite à la revue de la littérature pour la sélection du panel de gènes NGS, dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à un autre axe génétique d'étude qui consiste en une revue de la littérature des transporteurs qui pourraient être impliqués dans la réponse au traitement AD dans le cerveau. Les transporteurs OCTs (Organic Cation Transporter) et PMAT (Plasma Membrane Monoamine Transporter) ont un rôle intéressant dans le transport des monoamines et la réponse aux ADs.

V.1 Introduction

V.1.1 Organic cation transporter (OCT)

Les 3 gènes codant les protéines OCT1, OCT2 et OCT3, famille des Solute Carrier Transporter dont les gènes sont respectivement les *SLC22A1*, *SLC22A2*, *SLC22A3* sont situés dans le chromosome 6q26-q27 (Verhaagh et al., 1999). Les études pharmacologiques *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence l'appartenance de ces transporteurs au groupe de transporteurs d'influx des différents composés endogènes, ainsi que ces xénobiotiques, par exemple la metformine ou MPP⁺ comme substrat « test » des OCT1 et OCT2 (Koepsell, 1998; Koepsell and Endou, 2004; Schmitt et al., 2003) (Amphoux et al., 2006) (Tableau 11, page 111).

L'OCT1 est exprimé principalement dans le foie, l'OCT2 dans le rein et le cerveau et l'OCT3 dans le foie, faiblement dans le muscle squelettique, placenta, reins, cœur, poumons et dans le cerveau (Koepsell and Endou, 2004). Les OCT2 et OCT3 sont exprimés dans les neurones (Bacq et al., 2012) (Vialou et al., 2008) et astrocytes (Inazu et al., 1999).

V.1.2 OCTs – propriétés pharmacologiques

Parmi les composés endogènes, les OCTs transportent l'acétylcholine et son métabolite, la choline (Gorboulev et al., 1997). Les OCTs transportent aussi des neurotransmetteurs comme

la sérotonine, la noradrénaline, la dopamine et l'histamine (Amphoux et al., 2006; Grundemann et al., 1998; Haenisch et al., 2012; Massmann et al., 2014; Vialou et al., 2008), ainsi que certaines hormones stéroïdiennes comme la corticostérone, la progestérone ou le β -estradiol (Grundemann et al., 1994; Grundemann et al., 1998) (Tableau 11).

Parmi les médicaments, les antiparkinsoniens, les agonistes NMDA, l'amantidine et la mémantine sont des substrats des OCTs (Busch et al., 1998), la cimétidine (Jonker and Schinkel, 2004), les antiviraux tels que l'acyclovir (Takeda et al., 2002). Quelques médicaments inhibent les OCTs comme les antirétroviraux : ritonavir (Zhang et al., 2000), certains psychostimulants comme l'amphétamine et méthamphétamine (Amphoux et al., 2006; Koepsell and Endou, 2004).

Certains ADs comme la fluoxétine, le citalopram ou la désipramine, comparé au MPP⁺ qui est le substrat de référence des OCTs, sont également parmi les molécules qui inhibent les OCTs (Haenisch et al., 2012; Schmitt et al., 2003; Wang et al., 2014) (Tableau 11). Il semblerait que les ADs ne sont pas des substrats des OCTs (Wang et al., 2014).

Dans une étude *in vitro*, 9 ADs ont été étudiés, y compris les ATCs (amitriptyline, imipramine et desipramine), ISRSs (fluoxétine, sertraline et paroxétine), IMAOs (moclobémide) et IRSNs (venlafaxine) (Wang et al., 2014). Tous les 9 ADs ont montré des effets inhibiteurs modérés sur la recapture de la sérotonine et la norépinéphrine médiée par l'OCT2 (Wang et al., 2014). Dans le même ordre d'idée, une équipe a testé un large éventail de molécules, dont les ADs (Haenisch et al., 2012). Les résultats ont montré que l'OCT2 était mieux inhibé par le bupropion et l'OCT3 par la néfazodone, qui est un ADs commercialisé principalement aux Etats Unis (Haenisch et al., 2012). Quelques études ont comparé les paramètres pharmacologiques des ADs et des antipsychotiques. Ces études ont montré un IC₅₀ plus élevé pour les antipsychotiques comparé aux ADs (Amphoux et al., 2006; Haenisch et al., 2012; Massmann et al., 2014) (Tableau 12).

Tableau 11: Rôle des OCTs dans le transport des composés endogènes et des médicaments

Composés endogènes		Km (or Ki) microM						Références
		hOCT1	hOCT2	hOCT3	rOCT1	rOCT2	rOCT3	
Neurotransmetteurs	Sérotinine		80-290	988		760	500	Grundermann et al., 1994 ; Grundermann et al., 1998 ; Wu et al., 1998 ; Amphoux et al., 2006 ; Bruschi et al., 1998 ; Inazou et al., 1999 ; Zhou et al., 2013, Massmann et al., 2014, Haen-sich et al., 2012
	Norépinephrine		1500-1900	510-2600		2100	1900	
	Épinéphrine		400	240		1370	1500	
	Dopamine		390-1400	1200		2100	1500	
	Histamine		940	180-220		890	540	
	Acétylcholine	580	117	10490				
Hormones stéroïdiennes	Corticostérone	7-22	34	0,12-0,29	151	4	4,9	Grundermann et al., 1994 ; Grundermann et al., 1998
	Progestérone	3,1	27	4,3		1,6	10,5	
Métabolites	Choline		210		620			Gorboulev et al., 2005
Composés exogènes								
Antidépresseurs	Citalopram	13,2	115	188				Koepsell et al., 2004, Haenisch et al., 2012, Wang et al., 2014, Massmann et al., 2014
	Fluoxétine	2,8	28,5	37,8				
	Désipramine	2	74,5	72,1	2,8	10	68	
Antiviraux	Acyclovir	151						Takeda et al., 2002, Zhang et al., 2000,
	Lamivudine	38	46					
	Ritonavir	5,2						
	Saquinavir	8,3						
	Abacavir	0,072	0,041	0,053				
Anticancéreux	Cisplatine	>100	11					Pan et al., 1999
Antagonistes NMDA	Memantine		34	236				Busch et al., 1998
Anti-malaria	Quinine	13-23	23-34	37	0,93			Jonker and Schinkel, 2004
Antihistaminiques	Cimetidine		8,6-73					Jonker and Schinkel, 2004
Psychostimulants	Amphetamine	202	11	460	3,9	4,7	4,5	Amphoux et al., 2006, Koepsell and Endou, 2004
	Methamphetamine	24	1,6	74				
Molécules de référence								
Substrats	MPP+	15-32	19-78	46-166	9,6-21,1	17-43,7	4,5	Massmann et al., 2014, Grundermann et al., 1997, Zhang et al., 1997, Russ et al., 1996
	TEA	229	76	921	95	213	2500	
Inhibiteurs	D22	2,7-4,7	0,10-1,1	0,09-0,010	0,36	0,58	0,12	
	D24	7-22	34	0,12-0,29	0,04	0,33	0,015	

hOCT (human OCT)-cellules transfectées avec des gènes *SLC22A* des transporteurs humains, rOCT (rat OCT) - cellules transfectées avec des gènes *SLC22A* des transporteurs de rat

Tableau 12: Inhibition des hOCT2 and hOCT3 par les ADs (Haenisch et al., 2012; Massmann et al., 2014)

Antidépresseur	Classe d'antidépresseur	hOCT2 (IC50 (microM))	hOCT3 (IC50 (microM))	Concentration plasmatique (microM)
Amitriptyline	ATCs	9.10	30.3	0.721
Bupropion	Autre	28.6	738.0	6.257
Citalopram	ISRSs	115.0	188.0	0.339
Desipramine	ISRSs	74.5	72.1	1.126
Fluoxétine	ISRSs	28.5	37.8	1.616
Fluvoxamine	ISRSs	69.8	68.2	0.723
Imipramine	ATCs	14.6	54.2	1.070
Maprotiline	Autre	32.7	38.8	0.469
Miansérine	Autre	183.0	49.8	0.265
Mirtazapine	Autre	221.0	61.4	0.301
Nefazodone	Autre	102.0	22.9	~6.383
Paroxétine	ISRSs	121.0	21.2	0.364
Réboxétine	IRSNs	129.0	64.1	1.117
Sertaline	ISRSs	25.8	25.7	0.490
Vanlafaxine	IRSNs	971.0	>1000	1.442

hOCT(human OCT)-cellules transfectées avec des gènes *SLC22A* des transporteurs humains

V.1.3 Rôle des OCTs dans le cerveau

Les découvertes importantes *in vitro* ont mis en évidence le rôle physiologique et pharmacologique des OCTs dans le cerveau. Cependant, une meilleure compréhension de ces mécanismes *in vivo* est nécessaire. Pour ceci, des souris KO pour *slc22a* et *slc29a* ont été générées (Bacq et al., 2012; Vialou et al., 2008).

Les OCTs du cerveau semblent participer à la modulation de la réponse au stress chez les animaux, mais ce mécanisme est peu connu (Bacq et al., 2012; Courousse and Gautron, 2014; Vialou et al., 2008). Les études comportementales, fonctionnelles et neurochimiques chez les souris KO ont montré une disposition complexe dans le cerveau (Amphoux et al., 2006). Pour évaluer la sélectivité et spécificité des monoamines chez les animaux *slc22a2* KO, les chercheurs ont effectué des études de clairance des monoamines par électrophysiologie. Bacq et al. ont montré des conséquences importantes sur la clairance de

la sérotonine et norépinéphrine chez les souris *slc22a2* KO (Bacq et al., 2012), alors que *Vialou et al.* ont mis en évidence l'impact du transporteur OCT3 sur la recapture de la dopamine (Vialou et al., 2008). Cette sélectivité de recapture des monoamines mise en évidence par des études chez les souris KO pourrait mieux expliquer l'impact de chaque transporteur sur chacune des monoamines.

L'impact des OCTs dans la recapture des monoamines a conduit à des études comportementales sur l'anxiété chez les souris KO précédemment citées (Courousse and Gautron, 2014). *Wulsch et al.* ont montré une augmentation de l'anxiété chez la souris *slc22a3* KO (Wulsch et al., 2009). Ces résultats vont dans le même sens avec l'étude de *Vialou et al.* qui ont mis en évidence une augmentation de l'anxiété chez les souris *slc22a3* KO (Vialou et al., 2008). L'OCT2 est un modulateur important de la réponse au stress. Les souris *slc22a2* KO ont montré une importante vulnérabilité, un déficit de la mémoire spatiale, une diminution d'interaction spontanée (Courousse et al., 2014).

Ces résultats sur des souris KO mettent en évidence le rôle potentiel des OCTs en neurologie et psychiatrie chez l'homme et particulièrement dans les phénomènes d'anxiété et dépression mais des études complémentaires sont nécessaires.

V.1.4 Polymorphismes génétiques des *SLC22A* (OCTs)

Les gènes codant les OCTs, les *SLC22A*, présentent des polymorphismes génétiques qui pourraient avoir des conséquences physiologiques et cliniques. Dans un échantillon de 247 patients d'ethnies différentes, 28 polymorphismes génétiques ont été détectés dans le gène du transporteur OCT2, le *SLC22A2*. Parmi eux, huit polymorphismes ont été non-synonymes, avec une MAF>1% (Leabman et al., 2002). Deux variants génétiques : (*p.Met165Ile*), c.400C>T (*p.Arg400Cys*), ont montré une diminution de l'activité du transporteur de 12.7% (Leabman et al., 2002).

D'autres études ont examiné le polymorphisme *Ala270Ser*, montrant une diminution du transport de la metformine, substrat test utilisé, et cisplatine (Iwata et al., 2012; Song et al., 2008). D'autres polymorphismes génétiques du *SLC22A2* ont été analysés pour évaluer leur impact sur la pharmacocinétique de la metformine. Les polymorphismes génétiques du *SLC22A2* comme les c.596C>T (*p.Thr199Ile*), c.602C>T (*p.Thr201Met*) et c.808G>T (*p.Ala270Ser*) ont montré des variations dans la pharmacocinétique de la metformine comparé aux contrôles (Song et al., 2008).

Une étude a été publiée en psychiatrie pour les polymorphismes génétiques du *SLC22A3* (OCT3). Chez 84 enfants caucasiens, avec des troubles obsessionnels-compulsifs, deux variants rares ont été identifiés exclusivement chez les enfants malades : *106/107delAG* et *c.1110G>T (p.Met370Ile)*. Chez ces enfants, une diminution de 40% du transport de la norépinephrine a été identifiée (Lazar et al., 2008). Aucune étude d'association pharmacogénétique du *SLC22A3* et la réponse aux ADs n'a été publiée jusqu'à présent.

V.1.5 PMAT- Plasma membrane monoamine transporter (*SLC29A4*)

Récemment, en 2004, un nouveau transporteur a été identifié, appartenant à la famille des *SLC29* (*SLC29A4*), le PMAT (plasma membrane monoamine transporter). PMAT localisé sur le chromosome 7p22.1. (Engel et al., 2004). Chez l'homme, PMAT est exprimé dans le foie, les reins, le muscle squelettique le cœur (Engel et al., 2004), ainsi que dans le cerveau mais son rôle dans ce dernier n'est pas connu (Dahlin et al., 2007). PMAT transporte des composés endogènes, comme les neurotransmetteurs dopamine et sérotonine (Zhou et al., 2007a).

Les premiers modèles murins KO ont été générés en 2013, ce qui permettra une meilleure exploration de la pharmacogénétique de ce transporteur (Duan and Wang, 2013). La découverte récente de ce transporteur n'a pas encore permis de bien comprendre sa fonction. Aucune publication basée sur les souris KO n'a encore été publiée dans la littérature. Cependant, en tenant compte de sa fonctionnalité de transport des monoamines, il a été inclus, comme les OCTs, dans le groupe des transporteurs « d'Uptake 2 » (Paragraphes : I.6.2.2.1 et I.6.2.2.2) (Wright and Dantzer, 2004).

V.1.6 PMAT- propriétés pharmacologiques

PMAT a été étudié majoritairement dans des études cliniques, car ce transporteur transporte la metformine (Engel and Wang, 2005). PMAT transporte également des composés endogènes comme certaines amines (Engel and Wang, 2005; Zhou et al., 2007b). Parmi les monoamines, PMAT a une importante affinité pour la sérotonine, comparé à la dopamine ou à la noradrénaline (Engel et al., 2004) (Tableau 13).

Tableau 13: Constantes cinétiques du transport des composés endogènes du transport du PMAT (Engel and Wang, 2005; Engel et al., 2004)

Substrat	Km (microM)	Vmax/Km
MPP+	33	1
Sérotonine	114	0.67
Dopamine	329	0.65
Norépinephrine	2.606	0.09
Epinéphrine	15.323	0.03

Une étude intéressante s'est concentrée sur l'évaluation de la puissance inhibitrice de onze ADs, qui font partie de quatre classes différentes, sur PMAT : ISRSs (sertraline, fluoxétine, paroxétine), ATCs (imipramine, désipramine, amitriptyline), IRSNs (venlafaxine), et d'autres mécanismes (tianeptine, trimipramine, bupropion, réboxétine) (Haenisch and Bonisch, 2010) (Tableau 14). L'affinité apparente pour le hPMAT des onze ADs a été examinée en déterminant leurs valeurs IC₅₀ (Haenisch and Bonisch, 2010). La capacité des ADs à inhiber PMAT est d'environ 100 à 1000 fois moins importante par rapport au NET, SERT (Engel et al., 2004; Zhou et al., 2007a) (Tableau 14).

Tableau 14: Inhibition du PMAT par les ADs (Haenisch and Bonisch, 2010)

Antidépresseurs	Classe d'antidépresseurs	IC ₅₀ (microM)	Plasma concentration (microM)
Venlafaxine	IRSNs	216.0	0.757
Bupropion	Autre	115.0	0.026
Réboxétine	IRSNs	76.7	0.031
Amitriptyline	ATCs	22.9	0.055
Imipramine	ATCs	21.1	0.098
Désipramine	ATCs	15.0	0.085
Paroxétine	ISRSs	13.7	0.040
Fluoxétine	ISRSs	10.5	0.124
Sertraline	ISRSs	5.13	0.005

V.1.7 Rôle des PMATs dans le cerveau

Des études récentes ont mis en évidence l'abondance d'expression de PMAT dans le cerveau (Zhou et al., 2007a). Ceci a conduit à de nombreuses études fonctionnelles et pharmacologiques pour déterminer l'impact de PMAT dans la clairance des monoamines au sein du cerveau par électrophysiologie (Zhou et al., 2007a). Les PMATs et OCTs transportent la sérotonine, la dopamine et la noradrénaline. Le transport médié par PMAT est basé sur le même principe que le transport médié par OCT (Wright and Dantzer, 2004). Suite à ces études, PMAT a été inclus dans la catégorie des « Uptake 2 » (Hendley et al., 1970; Schildkraut and Mooney, 2004) (Iversen et al., 1965; Trendelenburg, 1991).

V.1.8 Polymorphismes génétiques du *SCL29A4*

À notre connaissance, il n'y a pas eu d'études d'association entre les polymorphismes génétiques du *SCL29A4* et la réponse aux ADs. Une étude pharmacogénétique datant de 2011 a analysé les polymorphismes génétiques des différents transporteurs rénaux, dont le PMAT et a détecté 11 polymorphismes génétiques. Parmi eux, cinq polymorphismes génétiques fréquents (MAF>1%) (*rs2685753*, *rs3889348*, *rs4720572*, *rs4299914*, et *rs6971788*) et leur haplotype ont eu un impact sur la concentration plasmatique de la metformine mais pas sur l'hémoglobine glyquée (Christensen et al., 2011).

V.2 Discussion

Les études comportementales *in vivo* effectuées sur différents modèles de souris KO ont montré un rôle important des OCTs dans les comportements liés à l'humeur tels que l'anxiété, le désespoir comportemental, la réponse anti-immobilité ou le stress (Bacq et al., 2012; Courousse et al., 2014; Vialou et al., 2008; Wulsch et al., 2009).

L'administration de différentes molécules psychoactives dans la plupart des études chez la souris KO et non KO a mis en évidence une amélioration des phénotypes comportementaux dépressifs dans différents tests (Bacq et al., 2012; Vialou et al., 2008). Généralement dans les études *in vitro*, les paramètres pharmacocinétiques ont été évalués, ce qui a permis une meilleure compréhension du potentiel inhibiteur des ADs sur les OCTs et PMAT. La majorité des médicaments ADs examinés présentent une puissance inhibitrice

négligeable sur hOCTs exprimés dans le cerveau (Haenisch et al., 2012). À des doses cliniquement pertinentes, seule la néfazodone et le bupropion pourraient interférer légèrement avec OCT2 et OCT3 (Haenisch et al., 2012; Massmann et al., 2014).

Par contre, en ce qui concerne le PMAT, *Haenisch et al.* n'ont révélé aucune influence des ADs sur l'inhibition de hPMAT à des doses cliniquement utilisées. Leurs résultats suggèrent que l'inhibition de la hPMAT cérébrale peut contribuer aux effets connus de ces médicaments sur l'homéostasie des monoamines. En outre, si cette hypothèse est correcte, le transport dans le cerveau pourrait induire un dérèglement de l'homéostasie des monoamines dans certaines zones où l'expression de PMAT est plus importante, comme l'hippocampe, le cervelet et les cellules épithéliales du plexus choroïde (Dahlin et al., 2007).

Néanmoins, une puissance inhibitrice négligeable de la plupart des ADs et l'impact des OCTs et PMAT dans la recapture de sérotonine, même à faible affinité, pourrait conduire à l'hypothèse de mauvaise réponse aux ADs à cause de la diminution de la concentration des monoamines dans la fente synaptique. Une étude a relevé une augmentation des taux de sérotonine dans le cerveau de 250-600%, selon la dose administrée pour l'inhibition de l'OCT/PMAT par le décynium 22, un inhibiteur des OCTs chez les rats. Cet effet était semblable à celui rapporté pour des doses équivalentes de fluoxétine administrée par la même voie à l'hypothalamus (400% d'augmentation) (Feng et al., 2010). Ces données suggèrent qu'à des niveaux anormalement bas de sérotonine, le blocage de ces transporteurs de « l'Uptake 2 » pourrait augmenter la concentration de la sérotonine et ceci conduirait à une meilleure réponse aux ADs (Daws et al., 2013). Les résultats de ces études ont révélé une nouvelle hypothèse d'implication des transporteurs OCTs et PMAT dans la réponse aux ADs. Les stratégies émergentes devraient considérer l'inhibition des OCT2 et PMAT consécutivement à un traitement AD.

Les variants génétiques des *SLC22A* et *SLC29A4* pourraient conduire à un changement de l'activité de ces transporteurs. Ceci pourrait se traduire par une vulnérabilité aux troubles liés à l'humeur et une réponse aux ADs prolongée. Les études de variants fréquents comme les polymorphismes génétiques ou les variants rares identifiés par les technologies de séquençage à haut débit permettront une meilleure compréhension des variantes génétiques et leur impact sur la fonctionnalité de ces transporteurs.

Pour cette raison, nous avons inclus ces gènes dans notre panel et nous pourrions ainsi analyser de façon complémentaire l'impact des enzymes de métabolisme et transport.

V.3 Conclusion

Les études fonctionnelles ont mis en évidence le transport à faible affinité des monoamines par les OCTs et PMAT. Chez une personne saine sans déséquilibre de monoamines, la recapture des monoamines par ces transporteurs semble négligeable. Ce mécanisme de recapture des monoamines par les OCTs et PMAT devient important pendant les traitements ADs. La plupart d'ADs ont une puissance inhibitrice faible sur OCTs et PMAT.

En conclusion, la recapture des monoamines, même à faible affinité, par les « Uptake 2 » pendant un traitement AD, pourrait influencer la réponse aux ADs chez les patients déprimés à cause de la diminution de la concentration des monoamines dans la fente synaptique. Des études complémentaires sont nécessaires chez l'homme.

CONCLUSION et DISCUSSION

VI.1 Discussion

De nos jours, la pharmacogénétique et la médecine personnalisée sont des outils qui s'appliquent notamment pour la diminution de l'incidence des effets secondaires. A ce jour la médecine personnalisée est utilisée dans des différentes aires thérapeutiques. La FDA a mis en ligne des recommandation cliniques pour une centaine de médicaments (FDA, 2017). Quelques exemples de biomarqueurs recommandés par la FDA sont : *CYP2C19* pour clopidogrel, *CYP2C9* et *VKORC1* pour la warfarine, *SLCO1B1* pour la simvastatine, *CYPD6* pour la codéine, tramadol et tamoxifène, *SLCO1B1* pour la simvastatine, *TMPT* pour les thiopurines, *CYP3A5* pour tacrolimus, *HLA* pour l'abacavir (Ji et al., 2016). Dans un avenir proche, de nombreux espoirs existent pour d'autres traitements et prises en charge thérapeutiques.

Nos résultats confirment que l'approche gène candidat dans la pharmacogénétique n'est pas suffisante pour identifier un biomarqueur de réponse à la venlafaxine. A partir des années 1990, lorsque les études de gènes candidats ont commencé à être publiées, des découvertes importantes ont été effectuées. Cependant, depuis plus de 20 ans ces études de pharmacogénétique n'ont pas apporté de clarté concernant la réponse aux ADs. Une des raisons qui pourrait expliquer ces résultats a été les études d'association des polymorphismes individuels dans des petits échantillons de patients (Uher R et al., 2013). De plus, les trois études de GWAS publiées dans la littérature n'ont pas mis en évidence d'association de polymorphismes génétiques à la réponse aux ADs (Garriock et al., 2010; Ising et al., 2009; Uher et al., 2010). Ces études sont critiquées du point de vue méthodologique, ce qui réduit leur application à la médecine personnalisée, notamment en psychiatrie (Senn, 2016).

La nécessité de mettre en œuvre les tests pharmacogénétiques est régulièrement appuyée par des résultats de recherches scientifiques. Cependant, malgré les recommandations de la FDA, le rythme de la mise en œuvre clinique de la pharmacogénétique a été lent. Le déploiement des tests préventifs de la

pharmacogénétique en routine clinique comporte de nombreux obstacles. Ces obstacles consistent notamment dans le manque de directives cliniques professionnelles en médecine dans différentes pathologies. Par ailleurs, dans certaines pathologies il y a eu des avancées du fait d'une meilleure centralisation des données, notamment en cancérologie où le choix du traitement est basé sur des données oncogénétiques (ex : mélanome) (INSERM, 2013).

Cependant, en pharmacogénétique ceci s'avère plus difficile du fait de la nécessité d'avoir un phénotypage et une centralisation des données, la capacité de rendre les résultats et des dossiers médicaux électroniques. En effet, par exemple, la littérature sur le génotypage et phénotypage du *CYP2D6* et *CYP2C19* est difficile à être interprétée par un clinicien qui n'a pas de formation en pharmacogénétique. Les informations qui sont publiées peuvent être difficiles à être interprétées ou contradictoires. Le phénotype du *CYP2D6* constitue un parfait exemple pour illustrer cela. La plupart d'études regroupent les MNs et MIs dans la même classe de phénotype, car, du point de vue de la pharmacocinétique, les concentrations des métabolites ne varient pas beaucoup entre ces deux phénotypes. Pour cette raison, seulement trois classes de phénotypes sont traités dans la plupart des études : MLs, MNs et MURs (Rolla et al., 2014). Cependant, le CPIC, 2015 recommande la classification des patients en quatre groupes phénotypiques : MLs, MRs (métaboliseur rapide, ou MNs), MIs et MURs pour les *CYP2D6* (Hicks et al., 2015). De même, la Mayo Clinic publie régulièrement des données et recommandations cliniques qu'ils utilisent en classifiant les phénotypes des *CYP2D6* en sept classes phénotypiques : MURs, MNs vers MURs, MNs, IMs, IMs vers MNs, MLs, MLs vers IMs (Ji et al., 2016). À cette complexité de données s'ajoutent en psychiatrie, entre autres, les phénomènes de phénoconversion ou autophénoconversion qui ont été expliqués dans la première partie, qui consistent dans l'inhibition des CYP par d'autres médicaments co-administrés ou par le médicament même (Preskorn et al., 2013).

A cette difficulté s'ajoute également le fait que certains articles dans la littérature recommandent le phénotypage par dosage de métabolites, comme dans le cas de la venlafaxine. Ceci pourrait aider le clinicien à s'affranchir de certains biais comme la phénoconversion où le patient phénotypé par la traduction du génotype en phénotype en tant que MN se transforme en ML lors de la co-administration des médicaments

inhibiteurs du CYP (Preskorn, 2010). Cependant, le phénotypage par dosage des métabolites n'est valable qu'à un moment précis. Ceci complète les données génétiques. La complexité des données rend difficile l'application de la pharmacogénétique dans la routine clinique, notamment en psychiatrie.

C'est pour ceci, que Mayo Clinic a mis en place des outils de soutien de décision, afin d'aider les cliniciens à comprendre, interpréter et mieux utiliser les données provenant de la pharmacogénétique. La lenteur dans l'adoption des tests pharmacogénétiques provient également d'une limitation liée au manque d'expertise des prestataires de soins de santé en raison d'un manque de formation en pharmacologie clinique, moléculaire et génétique (Ji et al., 2016; Nassan et al., 2016).

Les tests pharmacogénétiques sont souvent sujet de débat, notamment sur leur validité et utilité clinique. Au sein de la Mayo Clinic, dans le cadre d'une étude preuve de concept (RIGHT), visant à individualiser le protocole de traitement des patients, la méthode : le bon médicament, la bonne dose, au bon moment et l'utilisation des données génomiques, a été mise en place (Ji et al., 2016). Dans cette étude RIGHT la mise en œuvre des tests pharmacogénétiques a été effectuée pour 1013 patients qui ont été séquencés en NGS pour 84 gènes. Parmi ces gènes, 5 gènes recommandés par la FDA en tant que biomarqueurs ont été sélectionnés : *CYP2C19* pour le clopidogrel, *CYP2C9* et *VKORC1* pour la warfarine, *SLCO1B1* pour la simvastatine, *CYPD6* pour la codéine, le tramadol et le tamoxifène (Ji et al., 2016). Lorsqu'un patient présente au moins un de ces variants, une alerte se déclenche. Cette étude a mis en évidence le fait que parmi les 1013 patients, 99% présentaient au moins un variant génétique pour ces 5 gènes, seulement 10 patients n'avaient aucun variant parmi les 5 gènes et 3% des patients présentaient des variants dans les 5 gènes. Cette information est très importante car elle met en évidence l'importance des tests pharmacogénétiques et de la médecine personnalisée chez les patients traités par un médicament. Ces tests deviennent et d'autant plus importants chez les patients en multi-thérapie (Ji et al., 2016).

Dans le même ordre d'idée, une autre étude s'est proposée de montrer l'importance de la pharmacogénétique (Van Driest et al., 2014). Comme dans l'étude RIGHT, les chercheurs ont tenté de mettre en évidence la fréquence des variants recommandés par la FDA au sein de la population. En séquençant 184 variants dans 34 gènes provenant de 10000 patients, 5 gènes recommandés par la FDA en tant que biomarqueurs ont été sélectionnés : *CYP2C19* pour le clopidogrel, *CYP2C9* et *VKORC1* pour la warfarine, *SLCO1B1* pour le simvastatine, *TMPT* pour les thiopurines, *CYP3A5* pour le tacrolimus. Cette étude montre la présence d'au moins un variant parmi les 5 variants génotypés chez 91% de la totalité des patients et chez 96% des patients afro-américains (Van Driest et al., 2014). Cette étude met en évidence l'importance d'appliquer les recommandations de la FDA pour la pharmacogénétique et médecine personnalisée ainsi que l'apport du NGS dans la pharmacogénétique.

Par conséquent, une interprétation des données et un rapport précis des variants pharmacogénétiques constituent un défi pour le diagnostic clinique. En France, les laboratoires mettent en œuvre des tests pharmacogénétiques et se regroupent au sein du Réseau National de Pharmacogénétique (RNPGx) (Becquemont et al., 2017).

Une autre étude récente, basée sur l'analyse des réponses de 156 cliniciens avec des spécialités différentes (dont la cardiologie), a mis en évidence le fait que 94% des cliniciens ont appliqué des tests pharmacogénétiques pour les patients traités par la simvastatine, le clopidogrel ou la warfarine au moins une fois. Presque tous les cliniciens (99%) étaient d'accord avec l'importance des tests pharmacogénétiques et 19% n'ont pas de connaissances quant à l'application de la pharmacogénétique (Peterson et al., 2016).

Ces études montrent le fait qu'il existe une fréquence importante des variants très délétères dans la prédiction à la réponse aux traitements. L'application des tests pharmacogénétiques dans la pratique clinique pourrait contribuer à abaisser les effets secondaires des traitements et améliorer la réponse des patients, notamment ceux étant traités par des multi-thérapies. Ceci sera un important enjeu de Santé Publique dans les années à venir, à la vue de l'augmentation des multi-thérapies dans le traitement des maladies chroniques chez les patients plus âgés. Le vieillissement est un

phénomène planétaire. La population des soixante ans ou plus est celle qui augmente le plus vite : entre 2015 et 2050, la proportion des 60 ans et plus dans la population mondiale va presque doubler, passant de 12% à 22%. D'ici à 2020, le nombre de personnes âgées de 60 ans et plus va dépasser celui des enfants de moins de 5 ans. Le vieillissement reflète une amélioration de la santé et des conditions socio-économiques mais il s'accompagne aussi de difficultés particulières auxquelles tous les pays devront faire face. Il est essentiel de préparer les soignants et les sociétés à répondre aux besoins des personnes âgées (OMS, 2017b).

La technologie de séquençage à haut débit, comme le montrent ces études, pourrait faciliter la prise en charge du patient (Ji et al., 2016). En psychiatrie, ceci pourrait apporter une diminution des effets secondaires chez les patients déprimés ainsi qu'une meilleure réponse aux traitements ADs.

VI.2 Limites

VI.2.1 Limites de l'étude

La principale limite et difficulté de notre étude a été le projet NGS. La première limite de ce projet est le panel de gènes. Du fait de l'utilisation du MiSeq Illumina qui est plus adapté à du séquençage de panel de gènes que de l'exome, nous avons été limités en nombre de gènes. En effet, la limite fixée par panel a été inférieure à 500Kb. Ceci nous permettait d'avoir une meilleure couverture de gènes. Pour respecter cette consigne, nous avons dû limiter le nombre de gènes inclus et séquencer seulement certaines parties de gènes qui étaient décrits dans la littérature et qui présentaient un intérêt. Pour cette raison nous avons créé 9 probegroups avec des stratégies individuelles pour pouvoir respecter cette taille de 500Kb. Les parties codantes ont été les parties majoritaires de ce panel qui à être séquencées.

Le but principal que nous nous sommes fixés a été de réaliser une approche « sujet extrême » et de séquencer les bons et mauvais répondeurs à la venlafaxine dans la cohorte METADAP. Après une analyse de la cohorte, nous avons choisi une approche sujet

« extrême ». Pour commencer, nous avons sélectionné parmi les 206 patients traités par venlafaxine, 12 patients étaient des bons répondeurs et 12 patients étaient des mauvais répondeurs. Malheureusement, les 24 patients extrêmes n'étaient pas suffisants pour pouvoir effectuer une analyse d'association du panel de gènes et réponse à la venlafaxine.

Etant donné que les patients traités par venlafaxine étaient aussi les plus nombreux dans la cohorte METADAP, nous nous sommes proposés de séquencer en priorité la totalité de ces 206 patients pour le panel de gènes METADAP. Nous avons rencontré un autre problème lors de cette approche. Le « workflow » de l'hôpital Kremlin Bicêtre appliqué au séquenceur NGS était adapté pour une approche de maladies rares. Un « workflow » adapté aux pharmacogènes n'a pas été mis en place avant le séquençage de panel METADAP. Plusieurs « workflows » ont été créés à l'hôpital Kremlin Bicêtre dans le but d'affiner les résultats et apporter un fichier « vcf » propre et analysable adapté à la pharmacogénétique. Malheureusement, ce travail a pris plus de temps que prévu, notamment à cause des difficultés bio-informatiques retrouvées. A ce jour un « workflow » adapté à la pharmacogénétique existe et nous avons effectué toutes les analyses bio-informatiques en utilisant ce « workflow ». De plus, au début de la mise en place du « workflow » l'analyse d'un seul patient prenait entre 2 et 3 heures. Le dernier « workflow » mis en place à l'hôpital Kremlin Bicêtre par le bio-informaticien en avril 2016 analyse tous les patients en même temps dans une très courte durée de temps.

Le nombre limité de patients séquencés par expérience a été une autre difficulté rencontrée lors de la mise en place de ce projet. En effet, un séquençage incluant toutes les étapes expliquées dans la première partie prend en moyenne une semaine. A chaque expérience un nombre maximum de 23 patients peut être séquencés. La plateforme de séquençage de l'hôpital Kremlin Bicêtre est utilisée en priorité en routine pour les maladies rares et en tant qu'approche exploratoire par les différents services de l'hôpital. Malheureusement nous n'avons pas pu séquencer tous les patients prévus dans la durée de temps définie. Ceci a retardé notre projet NGS. Cependant, nous avons pu avancer entre temps sur les autres parties et valider le panel de gènes METADAP par la discrimination allélique par TaqMan ainsi que par la qualité de couverture de gènes. Nous avons également réussi à re-séquencer certains patients qui n'avaient pas une bonne

couverture de gènes ainsi que les patients avec un panel de gènes bien couvert afin de confirmer certains résultats.

Pour les projets des études d'association du COMT, du CYP2D6 et du CYP2C19 les principales limites sont celles de la cohorte METADAP qui seront détaillés plus bas. Il est important de mentionner que des études coût-efficacité pour ces deux études auraient pu apporter plus d'informations pour les recommandations cliniques de génotypage.

VI.2.2 Limites de la cohorte METADAP

Parmi les principales limites de la cohorte METADAP, la première est un taux important d'attrition au sixième mois de traitement. Néanmoins, l'attrition est un phénomène classique dans toutes les études épidémiologiques longitudinales avec les conditions de la « vraie vie » (Lamers et al., 2012). Par exemple, le taux d'attrition dans notre étude était similaire à celui de la cohorte STAR*D, qui est l'étude naturaliste principale à ce jour de réponse aux ADs. Comme cité précédemment, dans l'étude STAR*D, ce taux représente 58.2% au troisième mois de traitement (Trivedi et al., 2006).

Deuxièmement, notre étude n'est pas une étude randomisée. Ceci pourrait conduire à des biais liés aux caractéristiques individuelles des patients ainsi qu'à leur réponse au traitement. Cette étude est basée sur des conditions de la vraie vie au niveau du choix des prescriptions. La posologie de la venlafaxine a été adaptée par le clinicien non-formé dans les données génétiques ou phénotypiques du *CYP2D6* et *CYP2C19*. Une adaptation empirique de la dose par le clinicien en fonction de la réponse clinique des patients ne peut pas être exclue. Ceci diminue la probabilité de trouver une influence importante du génotype.

Troisièmement, l'absence des concentrations plasmatiques qui aident à adapter et suivre l'observance de la venlafaxine et ses majeurs métabolites est un autre biais, car il aurait pu mieux expliquer la différence de réponse clinique et la compliance.

VI.3 Conclusion

Les résultats des différentes parties que nous avons menées sont synthétisés dans la Figure 20. Les deux approches gènes candidats qui ont été effectuées ont eu des résultats négatifs. La première étude d'association des polymorphismes génétiques des enzymes de métabolismes de la venlafaxine, les CYP2D6 et CYP2C19 et la réponse à la venlafaxine. Tenant compte du fait que les principaux polymorphismes génétiques ont été étudiés, les phénotypes déterminés n'ont pas montré de rôle prédictif dans la réponse clinique à la venlafaxine.

La deuxième étude basée sur l'analyse des patients traités par venlafaxine n'a pas mis en évidence une association entre l'enzyme de métabolisme des catécholamines, la COMT et l'efficacité de la venlafaxine. Aucun des polymorphismes génétiques les plus fréquents dans la population caucasienne étudiés ne peut pas être recommandé en tant que biomarqueur de réponse à la venlafaxine en pratique clinique.

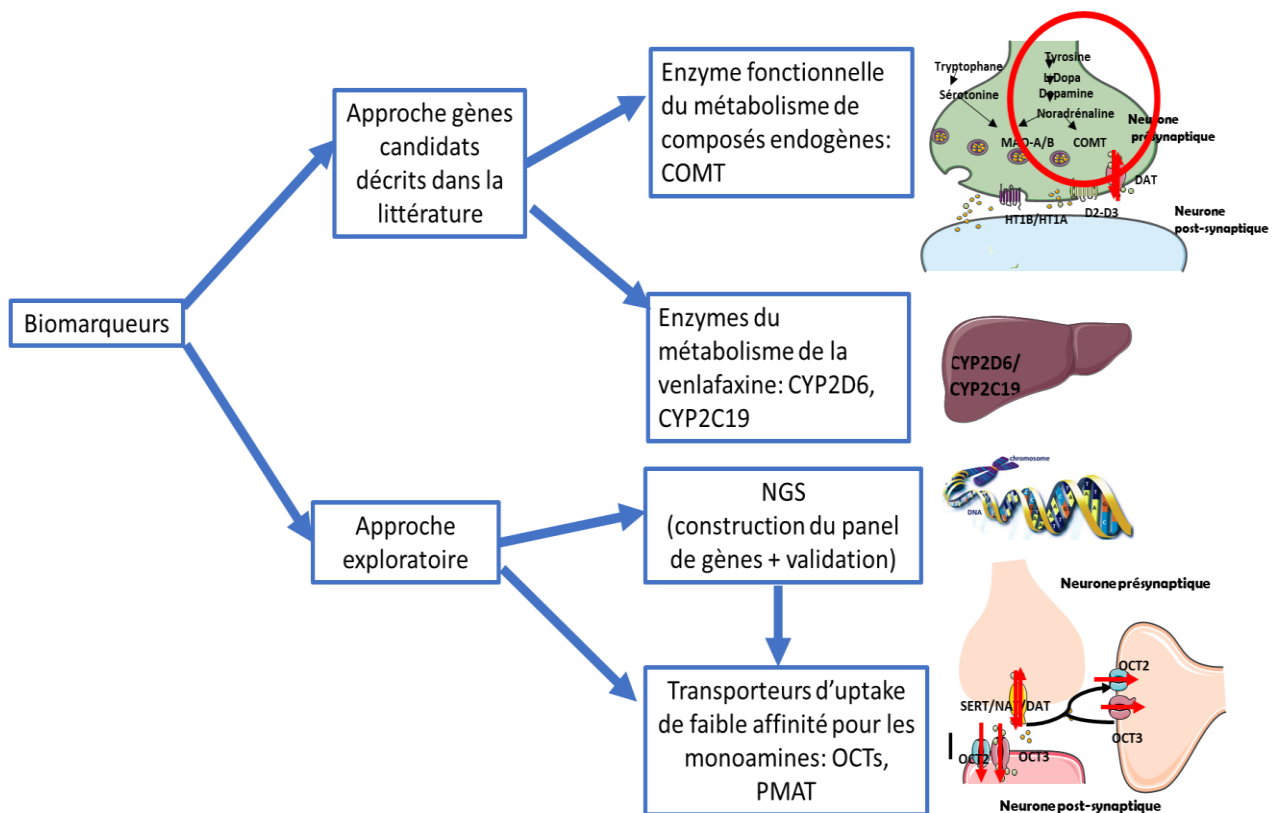


Figure 20: Résumé des principaux résultats de thèse

Ainsi, la mise en place du projet de séquençage à haut débit avec un panel ciblé est une nouvelle stratégie que nous avons choisie. Pour adapter notre analyse, ou nous avons sélectionné des gènes dans la littérature qui ont été soit déjà étudiés, soit jamais encore dans un contexte de dépression majeure. Nous avons validé cette technique par la technique de discrimination allélique TaqMan pour les polymorphismes génétiques les plus couramment étudiés dans la population caucasienne dans le premier projet. Ce travail a mené à une revue de la littérature des transporteurs des monoamines.

VI.4 Perspectives

Les résultats des gènes candidats *CYP2D6*, *CYP2C19* et *COMT* nécessitent d'être répliqués dans d'autres études pour confirmer nos résultats.

Les résultats de l'approche gène candidat montrent la nécessité d'explorer la technologie de séquençage à haut débit. Cette technologie permettra d'identifier, en plus des variants communs déjà beaucoup étudiés, des variants rares ou ultra-rares ou des insertions, délétions ou des copy number variants qui pourront apporter une meilleure compréhension de ces mécanismes. De plus, si l'exploration du génome ou exome entier n'est pas possible à cause des coûts élevés et la difficulté d'analyser les données génétiques, il est nécessaire d'inclure dans les panels de gènes des variants des gènes qui n'ont pas encore été étudiés dans la dépression majeure. Dans notre étude, les transporteurs OCTs et PMAT dans le cerveau constituent un bon exemple, même si ces transporteurs ont une faible affinité pour les ADs, le fait qu'ils transportent des monoamines pourrait être intéressant. Ces transporteurs pourraient retarder la réponse aux ADs.

Cependant, jusqu'à présent il n'existe que des études *in vitro* avec des cellules transfectées avec ces transporteurs ou des études *in vivo* chez les souris KO où les chercheurs ont observé la clairance des monoamines par électrophysiologie ou la réponse aux ADs par des études comportementales. A notre connaissance, il n'existe aucune

étude clinique pour montrer le rôle potentiel de ces polymorphismes génétiques dans la dépression.

Jusqu'à présent, les études de GWAS n'ont pas apporté une réponse concernant la mauvaise réponse aux traitements. L'exploration des données génétiques par des nouvelles approches de séquençage à haut débit pourrait contribuer à l'identification de biomarqueurs génétiques de réponse à un traitement AD. Pour une meilleure couverture des variants rares ou ultra-rares qui peuvent être situés dans des zones non-codantes, la meilleure approche est le génome entier. Mais cette technique reste très coûteuse et la quantité de données séquencées serait difficilement analysable.

L'approche panel de gènes ou exome est moins coûteuse mais permet de séquencer qu'une petite partie du génome. Ainsi, des variants rares ou ultra-rares intéressants dans les introns ne seront pas analysés. En effet, cette technologie, dont le prix reste élevé, comparé au TaqMan ou PCR, ne permet pas de valider les SNPs situés dans les introns. De plus, la visibilité des délétions ou duplications de certains gènes comme *CYP2D6* reste difficile à visualiser avec des outils du NGS. Pour des gènes qui sont compliqués à être séquencés, un génotypage classique par discrimination allélique par TaqMan ou PCR quantitative pour les duplications est nécessaire. Dans les études actuelles qui utilisent le NGS pour séquencer un panel de gènes en pharmacogénétique utilisent en complément la discrimination allélique par TaqMan pour le *CYP2D6*.

Une autre perspective pour le NGS serait la mise en place des outils bio-informatiques plus facilement exploitables. En effet, le Galaxy reste l'outil le plus simple dans l'analyse des données NGS, mais il est plus applicable pour un panel de gènes que pour tout l'exome ou génome. Pour ces deux derniers, l'application des outils plus lourds du point de vue bio-informatique sont nécessaires. Ceci aiderait à l'exploit rapide des données et leur application à la clinique.

A ce jour, le NGS à lui seul ne peut pas encore être utilisé en clinique. L'apport des technologies plus anciennes est nécessaire pour certains gènes comme le *CYP2D6*. Une

amélioration du séquençage pour ces gènes est nécessaire pour utiliser cette technologie de séquençage en clinique sans la validation par discrimination allélique par TaqMan ou PCR quantitative pour les duplications. De plus, un important travail bio-informatique devrait être réalisé pour faciliter l'analyse des données. Le NGS devient un outil plus important pour des panels de gènes où l'analyse bioinformatique et la quantité de données n'est pas aussi difficile à gérer. Les exomes ou génomes sont des données plus difficilement explorables et restent intéressants pour une approche exploratoire. Pour l'approche appliquée à la routine clinique, à ce jour, nous pouvons utiliser un panel NGS accompagné de la discrimination allélique par TaqMan ou PCR quantitative pour valider et compléter les données.

REFERENCES

- 1000Genomes (2017) The International Genome Sample Resource and 1000 Genomes Project Data. <http://www.internationalgenome.org/>.
- Adedoyin A, Arns PA, Richards WO, Wilkinson GR and Branch RA (1998) Selective effect of liver disease on the activities of specific metabolizing enzymes: investigation of cytochromes P450 2C19 and 2D6. *Clin Pharmacol Ther* **64**:8-17.
- Amara SG and Kuhar MJ (1993) Neurotransmitter transporters: recent progress. *Annu Rev Neurosci* **16**:73-93.
- Amphoux A, Vialou V, Drescher E, Bruss M, Mannoury La Cour C, Rochat C, Millan MJ, Giros B, Bonisch H and Gautron S (2006) Differential pharmacological in vitro properties of organic cation transporters and regional distribution in rat brain. *Neuropharmacology* **50**:941-952.
- ANSM (2006) Traitement par antidépresseurs. Recommandations de bonne pratique. [http://ansm.sante.fr/Dossiers/Traitements-par-antidépresseurs/Traitement-par-antidépresseurs/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/Dossiers/Traitements-par-antidépresseurs/Traitement-par-antidépresseurs/(offset)/0).
- ANSM (2008) Efficacité des antidépresseurs. <http://ansm.sante.fr/S-informer/Presse-Communiqués-Points-presse/Efficacité-des-antidépresseurs>.
- Arias B, Serretti A, Lorenzi C, Gasto C, Catalan R and Fananas L (2006) Analysis of COMT gene (Val 158 Met polymorphism) in the clinical response to SSRIs in depressive patients of European origin. *J Affect Disord* **90**:251-256.
- Atake K, Yoshimura R, Hori H, Katsuki A and Nakamura J (2015) Catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and the clinical responses to duloxetine treatment or plasma levels of 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol and homovanillic acid in Japanese patients with major depressive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat* **11**:967-974.
- Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstian A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, Thompson J, Infante-Rivard C and Guyatt G (2009) How to use an article about genetic association: A: Background concepts. *JAMA* **301**:74-81.
- Azzam A and Mathews CA (2003) Meta-analysis of the association between the catecholamine-O-methyl-transferase gene and obsessive-compulsive disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **123B**:64-69.
- Bacq A, Balasse L, Biala G, Guiard B, Gardier AM, Schinkel A, Louis F, Vialou V, Martres MP, Chevarin C, Hamon M, Giros B and Gautron S (2012) Organic cation transporter 2 controls brain norepinephrine and serotonin clearance and antidepressant response. *Mol Psychiatry* **17**:926-939.
- Bauer M, Bschor T, Pfennig A, Whybrow PC, Angst J, Versiani M, Moller HJ and Disorders WtFoUD (2007) World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for Biological Treatment of Unipolar Depressive Disorders in Primary Care. *World J Biol Psychiatry* **8**:67-104.
- Baune BT, Hohoff C, Berger K, Neumann A, Mortensen S, Roehrs T, Deckert J, Arolt V and Domschke K (2008) Association of the COMT val158met variant with antidepressant treatment response in major depression. *Neuropsychopharmacology* **33**:924-932.
- Becquemont L, Alfirevic A, Amstutz U, Brauch H, Jacqz-Aigrain E, Laurent-Puig P, Molina MA, Niemi M, Schwab M, Somogyi AA, Thervet E, Maitland-van der Zee AH, van Kuilenburg AB, van Schaik RH, Verstuyft C, Wadelius M and Daly AK (2011) Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* **12**:113-124.

- Becquemont L, Picard N and Verstuyft C (2017) Editorial. *Therapie* **72**:173-174.
- Becquemont L, Verstuyft C and Jaillon P (2006) [Pharmacogenetics and interindividual variability in drug response: cytochrome P-450 2C9 and coumarin anticoagulants]. *Bull Acad Natl Med* **190**:37-49; discussion 50-33.
- Belmaker RH and Agam G (2008) Major depressive disorder. *N Engl J Med* **358**:55-68.
- Benedetti F, Colombo C, Pirovano A, Marino E and Smeraldi E (2009) The catechol-O-methyltransferase Val(108/158)Met polymorphism affects antidepressant response to paroxetine in a naturalistic setting. *Psychopharmacology (Berl)* **203**:155-160.
- Benedetti F, Dallaspezia S, Colombo C, Lorenzi C, Pirovano A and Smeraldi E (2010) Effect of catechol-O-methyltransferase Val(108/158)Met polymorphism on antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Eur Psychiatry* **25**:476-478.
- Benjamin J, Osher Y, Kotler M, Gritsenko I, Nemanov L, Belmaker RH and Ebstein RP (2000) Association between tridimensional personality questionnaire (TPQ) traits and three functional polymorphisms: dopamine receptor D4 (DRD4), serotonin transporter promoter region (5-HTTLPR) and catechol O-methyltransferase (COMT). *Mol Psychiatry* **5**:96-100.
- Berm E, Kok R, Hak E and Wilffert B (2016a) Relation between CYP2D6 Genotype, Phenotype and Therapeutic Drug Concentrations among Nortriptyline and Venlafaxine Users in Old Age Psychiatry. *Pharmacopsychiatry* **49**:186-190.
- Berm EJ, Gout-Zwart JJ, Luttjeboer J, Wilffert B and Postma MJ (2016b) A Model Based Cost-Effectiveness Analysis of Routine Genotyping for CYP2D6 among Older, Depressed Inpatients Starting Nortriptyline Pharmacotherapy. *PLoS One* **11**:e0169065.
- Bernal ML, Sinues B, Johansson I, McLellan RA, Wennerholm A, Dahl ML, Ingelman-Sundberg M and Bertilsson L (1999) Ten percent of North Spanish individuals carry duplicated or triplicated CYP2D6 genes associated with ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Pharmacogenetics* **9**:657-660.
- Bertilsson L, Aberg-Wistedt A, Gustafsson LL and Nordin C (1985) Extremely rapid hydroxylation of debrisoquine: a case report with implication for treatment with nortriptyline and other tricyclic antidepressants. *Ther Drug Monit* **7**:478-480.
- Bertilsson L, Alm C, De Las Carreras C, Widen J, Edman G and Schalling D (1989) Debrisoquine hydroxylation polymorphism and personality. *Lancet* **1**:555.
- Bertilsson L, Dahl ML, Dalen P and Al-Shurbaji A (2002) Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol* **53**:111-122.
- Bertilsson L, Dahl ML, Sjoqvist F, Aberg-Wistedt A, Humble M, Johansson I, Lundqvist E and Ingelman-Sundberg M (1993) Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. *Lancet* **341**:63.
- Berton O and Nestler EJ (2006) New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci* **7**:137-151.
- Bertrand-Thiebault C, Berrahmoune H, Thompson A, Marie B, Droesch S, Siest G, Foernzler D and Visvikis-Siest S (2008) Genetic Polymorphism of CYP2C19 gene in the Stanislas cohort. A link with inflammation. *Ann Hum Genet* **72**:178-183.
- Bloomer JC, Woods FR, Haddock RE, Lennard MS and Tucker GT (1992) The role of cytochrome P4502D6 in the metabolism of paroxetine by human liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol* **33**:521-523.
- Bosker FJ, Hartman CA, Nolte IM, Prins BP, Terpstra P, Posthuma D, van Veen T, Willemsen G, DeRijk RH, de Geus EJ, Hoogendijk WJ, Sullivan PF, Penninx BW, Boomsma DI, Snieder H and Nolen WA (2011) Poor replication of candidate genes

- for major depressive disorder using genome-wide association data. *Mol Psychiatry* **16**:516-532.
- Bradford LD (2002) CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics* **3**:229-243.
- Brennan FX, Gardner KR, Lombard J, Perlis RH, Fava M, Harris HW and Scott R (2015) A Naturalistic Study of the Effectiveness of Pharmacogenetic Testing to Guide Treatment in Psychiatric Patients With Mood and Anxiety Disorders. *Prim Care Companion CNS Disord* **17**.
- Brosen K, Klysner R, Gram LF, Otton SV, Bech P and Bertilsson L (1986) Steady-state concentrations of imipramine and its metabolites in relation to the sparteine/debrisoquine polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol* **30**:679-684.
- Bunney BG, Li JZ, Walsh DM, Stein R, Vawter MP, Cartagena P, Barchas JD, Schatzberg AF, Myers RM, Watson SJ, Akil H and Bunney WE (2015) Circadian dysregulation of clock genes: clues to rapid treatments in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* **20**:48-55.
- Busch AE, Karbach U, Miska D, Gorboulev V, Akhoundova A, Volk C, Arndt P, Ulzheimer JC, Sonders MS, Baumann C, Waldegger S, Lang F and Koepsell H (1998) Human neurons express the polyspecific cation transporter hOCT2, which translocates monoamine neurotransmitters, amantadine, and memantine. *Mol Pharmacol* **54**:342-352.
- Carboni E, Silvagni A, Vacca C and Di Chiara G (2006) Cumulative effect of norepinephrine and dopamine carrier blockade on extracellular dopamine increase in the nucleus accumbens shell, bed nucleus of stria terminalis and prefrontal cortex. *J Neurochem* **96**:473-481.
- Chessin M, Kramer ER and Scott CC (1957) Modifications of the pharmacology of reserpine and serotonin by iproniazid. *J Pharmacol Exp Ther* **119**:453-460.
- Chiesa A, Lia L, Alberti S, Lee SJ, Han C, Patkar AA, Pae CU and Serretti A (2014) Lack of influence of rs4680 (COMT) and rs6276 (DRD2) on diagnosis and clinical outcomes in patients with major depression. *Int J Psychiatry Clin Pract* **18**:97-102.
- Chou WH, Yan FX, de Leon J, Barnhill J, Rogers T, Cronin M, Pho M, Xiao V, Ryder TB, Liu WW, Teiling C and Wedlund PJ (2000) Extension of a pilot study: impact from the cytochrome P450 2D6 polymorphism on outcome and costs associated with severe mental illness. *J Clin Psychopharmacol* **20**:246-251.
- Christensen MM, Brasch-Andersen C, Green H, Nielsen F, Damkier P, Beck-Nielsen H and Brosen K (2011) The pharmacogenetics of metformin and its impact on plasma metformin steady-state levels and glycosylated hemoglobin A1c. *Pharmacogenet Genomics* **21**:837-850.
- Chua EW, Foulds J, Miller AL and Kennedy MA (2013) Novel CYP2D6 and CYP2C19 variants identified in a patient with adverse reactions towards venlafaxine monotherapy and dual therapy with nortriptyline and fluoxetine. *Pharmacogenet Genomics* **23**:494-497.
- Ciszkowski C, Madadi P, Phillips MS, Lauwers AE and Koren G (2009) Codeine, ultrarapid-metabolism genotype, and postoperative death. *N Engl J Med* **361**:827-828.
- Clements JD (1996) Transmitter timecourse in the synaptic cleft: its role in central synaptic function. *Trends Neurosci* **19**:163-171.
- Coccaro EF (1992) Impulsive aggression and central serotonergic system function in humans: an example of a dimensional brain-behavior relationship. *Int Clin Psychopharmacol* **7**:3-12.

- Colle R and Corruble E (2016) [Vortioxetine: a new antidepressant to treat depressive episodes]. *Encephale* **42**:48-58.
- Colle R, Gressier F, Verstuyft C, Deflesselle E, Lepine JP, Ferreri F, Hardy P, Guilloux JP, Petit AC, Feve B, Falissard B, Becquemont L and Corruble E (2015) Brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and 6-month antidepressant remission in depressed Caucasian patients. *J Affect Disord* **175**:233-240.
- Collins FS, Morgan M and Patrinos A (2003) The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science* **300**:286-290.
- Coppen A (1967) The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry* **113**:1237-1264.
- Corruble E, El Asmar K, Trabado S, Verstuyft C, Falissard B, Colle R, Petit AC, Gressier F, Brailly-Tabard S, Ferreri F, Lepine JP, Haffen E, Polosan M, Bourrier C, Perlemuter G, Chanson P, Feve B and Becquemont L (2015) Treating major depressive episodes with antidepressants can induce or worsen metabolic syndrome: results of the METADAP cohort. *World Psychiatry* **14**:366-367.
- Coulbault L, Beaussier M, Verstuyft C, Weickmans H, Dubert L, Tregouet D, Descot C, Parc Y, Lienhart A, Jaillon P and Becquemont L (2006) Environmental and genetic factors associated with morphine response in the postoperative period. *Clin Pharmacol Ther* **79**:316-324.
- Courousse T, Bacq A, Belzung C, Guiard B, Balasse L, Louis F, Le Guisquet AM, Gardier AM, Schinkel AH, Giros B and Gautron S (2014) Brain organic cation transporter 2 controls response and vulnerability to stress and GSK3beta signaling. *Mol Psychiatry*.
- Courousse T and Gautron S (2014) Role of organic cation transporters (OCTs) in the brain. *Pharmacol Ther* **146C**:94-103.
- Craddock N, Owen MJ and O'Donovan MC (2006) The catechol-O-methyl transferase (COMT) gene as a candidate for psychiatric phenotypes: evidence and lessons. *Mol Psychiatry* **11**:446-458.
- Cragg SJ and Rice ME (2004) DANCING past the DAT at a DA synapse. *Trends Neurosci* **27**:270-277.
- Cypalleles (2016a) Cypalleles, CYP2C19, <http://www.cypalleles.ki.se/CYP2C19.htm>.
- Cypalleles CD (2016b) Cypalleles, CYP2D6, <http://www.cypalleles.ki.se/CYP2D6.htm>.
- Dahl ML, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M and Sjoqvist F (1995) Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther* **274**:516-520.
- Dahlin A, Xia L, Kong W, Hevner R and Wang J (2007) Expression and immunolocalization of the plasma membrane monoamine transporter in the brain. *Neuroscience* **146**:1193-1211.
- David DJ and Gardier AM (2016) [The pharmacological basis of the serotonin system: Application to antidepressant response]. *Encephale* **42**:255-263.
- David SP, Strong DR, Leventhal AM, Lancaster MA, McGeary JE, Munafo MR, Bergen AW, Swan GE, Benowitz NL, Tyndale RF, Conti DV, Brown RA, Lerman C and Niaura R (2013) Influence of a dopamine pathway additive genetic efficacy score on smoking cessation: results from two randomized clinical trials of bupropion. *Addiction* **108**:2202-2211.
- Daws LC, Koek W and Mitchell NC (2013) Revisiting serotonin reuptake inhibitors and the therapeutic potential of "uptake-2" in psychiatric disorders. *ACS Chem Neurosci* **4**:16-21.
- dbSNP (2017) dbSNP, Short Genetic Variations, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>.

- de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA and Goldstein JA (1994) The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* **269**:15419-15422.
- Dean M, Hamon Y and Chimini G (2001) The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res* **42**:1007-1017.
- Deflesselle E, Verstuyft C, Petit AC, Hardy P, David DJ, Falissard B, Feve B, Rigal L, Becquemont L, Corruble E and Colle R (2017) No impact of eight NTRK2 genetic polymorphisms on 6-month antidepressant efficacy in depressed patients. *Pharmacogenomics* **18**:349-357.
- Demyttenaere K, Bruffaerts R, Posada-Villa J, Gasquet I, Kovess V, Lepine JP, Angermeyer MC, Bernert S, de Girolamo G, Morosini P, Polidori G, Kikkawa T, Kawakami N, Ono Y, Takeshima T, Uda H, Karam EG, Fayyad JA, Karam AN, Mneimneh ZN, Medina-Mora ME, Borges G, Lara C, de Graaf R, Ormel J, Gureje O, Shen Y, Huang Y, Zhang M, Alonso J, Haro JM, Vilagut G, Bromet EJ, Gluzman S, Webb C, Kessler RC, Merikangas KR, Anthony JC, Von Korff MR, Wang PS, Brugha TS, Aguilar-Gaxiola S, Lee S, Heeringa S, Pennell BE, Zaslavsky AM, Ustun TB, Chatterji S and Consortium WHOWMHS (2004) Prevalence, severity, and unmet need for treatment of mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *JAMA* **291**:2581-2590.
- Drago A, Crisafulli C, Sidoti A and Serretti A (2011) The molecular interaction between the glutamatergic, noradrenergic, dopaminergic and serotonergic systems informs a detailed genetic perspective on depressive phenotypes. *Prog Neurobiol* **94**:418-460.
- Duan H and Wang J (2013) Impaired monoamine and organic cation uptake in choroid plexus in mice with targeted disruption of the plasma membrane monoamine transporter (Slc29a4) gene. *J Biol Chem* **288**:3535-3544.
- Eap CB, Bondolfi G, Zullino D, Savary-Cosendai L, Powell-Golay K, Kosel M and Baumann P (2001) Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. *J Clin Psychopharmacol* **21**:330-334.
- Eap CB, Lessard E, Baumann P, Brawand-Amey M, Yessine MA, O'Hara G and Turgeon J (2003) Role of CYP2D6 in the stereoselective disposition of venlafaxine in humans. *Pharmacogenetics* **13**:39-47.
- Eisenhofer G (2001) The role of neuronal and extraneuronal plasma membrane transporters in the inactivation of peripheral catecholamines. *Pharmacol Ther* **91**:35-62.
- Engel K and Wang J (2005) Interaction of organic cations with a newly identified plasma membrane monoamine transporter. *Mol Pharmacol* **68**:1397-1407.
- Engel K, Zhou M and Wang J (2004) Identification and characterization of a novel monoamine transporter in the human brain. *J Biol Chem* **279**:50042-50049.
- Entsuah AR, Huang H and Thase ME (2001) Response and remission rates in different subpopulations with major depressive disorder administered venlafaxine, selective serotonin reuptake inhibitors, or placebo. *J Clin Psychiatry* **62**:869-877.
- Evaluation of Genomic Applications in P and Prevention Working G (2007) Recommendations from the EGAPP Working Group: testing for cytochrome P450 polymorphisms in adults with nonpsychotic depression treated with selective serotonin reuptake inhibitors. *Genet Med* **9**:819-825.
- Fabbri C, Di Girolamo G and Serretti A (2013) Pharmacogenetics of antidepressant drugs: an update after almost 20 years of research. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **162B**:487-520.

- Fagerness J, Fonseca E, Hess GP, Scott R, Gardner KR, Koffler M, Fava M, Perlis R, Brennan FX and Lombard J (2014) Pharmacogenetic-guided psychiatric intervention associated with increased adherence and cost savings. *Am J Manag Care* **20**:e146-156.
- Fan JB, Zhang CS, Gu NF, Li XW, Sun WW, Wang HY, Feng GY, St Clair D and He L (2005) Catechol-O-methyltransferase gene Val/Met functional polymorphism and risk of schizophrenia: a large-scale association study plus meta-analysis. *Biol Psychiatry* **57**:139-144.
- FDA (2017) U.S. Food and Drug Administration. Table of pharmacogenomic biomarkers in drug labeling. Available at <https://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm>.
- Feng N, Lowry CA, Lukkes JL, Orchinik M, Forster GL and Renner KJ (2010) Organic cation transporter inhibition increases medial hypothalamic serotonin under basal conditions and during mild restraint. *Brain Res* **1326**:105-113.
- Flint J and Kendler KS (2014) The genetics of major depression. *Neuron* **81**:484-503.
- Floderus Y, Ross SB and Wetterberg L (1981) Erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity in a Swedish population. *Clin Genet* **19**:389-392.
- Fogelman SM, Schmitter J, Venkatakrishnan K, von Moltke LL, Harmatz JS, Shader RI and Greenblatt DJ (1999) O- and N-demethylation of venlafaxine in vitro by human liver microsomes and by microsomes from cDNA-transfected cells: effect of metabolic inhibitors and SSRI antidepressants. *Neuropsychopharmacology* **20**:480-490.
- Fromer M, Pocklington AJ, Kavanagh DH, Williams HJ, Dwyer S, Gormley P, Georgieva L, Rees E, Palta P, Ruderfer DM, Carrera N, Humphreys I, Johnson JS, Roussos P, Barker DD, Banks E, Milanova V, Grant SG, Hannon E, Rose SA, Chambert K, Mahajan M, Scolnick EM, Moran JL, Kirov G, Palotie A, McCarroll SA, Holmans P, Sklar P, Owen MJ, Purcell SM and O'Donovan MC (2014) De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. *Nature* **506**:179-184.
- Fukuda T, Nishida Y, Zhou Q, Yamamoto I, Kondo S and Azuma J (2000) The impact of the CYP2D6 and CYP2C19 genotypes on venlafaxine pharmacokinetics in a Japanese population. *Eur J Clin Pharmacol* **56**:175-180.
- Fuller RW and Perry KW (1992) Comparison of fluoxetine and norfluoxetine enantiomers as inhibitors of hexobarbitone metabolism in mice. *J Pharm Pharmacol* **44**:1041-1042.
- Funck-Brentano C, Boelle PY, Verstuyft C, Bornert C, Becquemont L and Poirier JM (2005) Measurement of CYP2D6 and CYP3A4 activity in vivo with dextromethorphan: sources of variability and predictors of adverse effects in 419 healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* **61**:821-829.
- Fuxe K, Dahlstrom A, Hoistad M, Marcellino D, Jansson A, Rivera A, Diaz-Cabiale Z, Jacobsen K, Tinner-Staines B, Hagman B, Leo G, Staines W, Guidolin D, Kehr J, Genedani S, Belluardo N and Agnati LF (2007) From the Golgi-Cajal mapping to the transmitter-based characterization of the neuronal networks leading to two modes of brain communication: wiring and volume transmission. *Brain Res Rev* **55**:17-54.
- Gardiner SJ and Begg EJ (2006) Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol Rev* **58**:521-590.
- Garriock HA, Delgado P, Kling MA, Carpenter LL, Burke M, Burke WJ, Schwartz T, Marangell LB, Husain M, Erickson RP and Moreno FA (2006) Number of risk genotypes is a risk factor for major depressive disorder: a case control study. *Behav Brain Funct* **2**:24.

- Garriock HA, Kraft JB, Shyn SI, Peters EJ, Yokoyama JS, Jenkins GD, Reinalda MS, Slager SL, McGrath PJ and Hamilton SP (2010) A genomewide association study of citalopram response in major depressive disorder. *Biol Psychiatry* **67**:133-138.
- Gasche Y, Daali Y, Fathi M, Chiappe A, Cottini S, Dayer P and Desmeules J (2004) Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *N Engl J Med* **351**:2827-2831.
- Gasser PJ, Lowry CA and Orchinik M (2006) Corticosterone-sensitive monoamine transport in the rat dorsomedial hypothalamus: potential role for organic cation transporter 3 in stress-induced modulation of monoaminergic neurotransmission. *J Neurosci* **26**:8758-8766.
- GATK B (2017) GATK best practice. <https://software.broadinstitute.org/gatk/best-practices/>.
- Geier EG, Chen EC, Webb A, Papp AC, Yee SW, Sadee W and Giacomini KM (2013) Profiling solute carrier transporters in the human blood-brain barrier. *Clin Pharmacol Ther* **94**:636-639.
- Georgi B, Craig D, Kember RL, Liu W, Lindquist I, Nasser S, Brown C, Egeland JA, Paul SM and Bucan M (2014) Genomic view of bipolar disorder revealed by whole genome sequencing in a genetic isolate. *PLoS Genet* **10**:e1004229.
- Gillman PK (2007) Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *Br J Pharmacol* **151**:737-748.
- Glatt CE and Lee FS (2016) Common Polymorphisms in the Age of Research Domain Criteria (RDoC): Integration and Translation. *Biol Psychiatry* **79**:25-31.
- Global Burden of Disease Study C (2015) Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* **386**:743-800.
- Goecks J, Nekrutenko A, Taylor J and Galaxy T (2010) Galaxy: a comprehensive approach for supporting accessible, reproducible, and transparent computational research in the life sciences. *Genome Biol* **11**:R86.
- Gorboulev V, Ulzheimer JC, Akhoundova A, Ulzheimer-Teuber I, Karbach U, Quester S, Baumann C, Lang F, Busch AE and Koepsell H (1997) Cloning and characterization of two human polyspecific organic cation transporters. *DNA Cell Biol* **16**:871-881.
- Gram LF, Guentert TW, Grange S, Vistisen K and Brosen K (1995) Moclobemide, a substrate of CYP2C19 and an inhibitor of CYP2C19, CYP2D6, and CYP1A2: a panel study. *Clin Pharmacol Ther* **57**:670-677.
- Grasmader K, Verwohlt PL, Rietschel M, Dragicevic A, Muller M, Hiemke C, Freymann N, Zobel A, Maier W and Rao ML (2004) Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasma concentrations and clinical effects of antidepressants in a naturalistic clinical setting. *Eur J Clin Pharmacol* **60**:329-336.
- Gressier F, Verstuyft C, Hardy P, Becquemont L and Corruble E (2015) Response to CYP2D6 substrate antidepressants is predicted by a CYP2D6 composite phenotype based on genotype and comedications with CYP2D6 inhibitors. *J Neural Transm (Vienna)* **122**:35-42.
- Grundemann D, Gorboulev V, Gambaryan S, Veyhl M and Koepsell H (1994) Drug excretion mediated by a new prototype of polyspecific transporter. *Nature* **372**:549-552.
- Grundemann D, Koster S, Kiefer N, Breidert T, Engelhardt M, Spitzenberger F, Obermuller N and Schomig E (1998) Transport of monoamine transmitters by the organic cation transporter type 2, OCT2. *J Biol Chem* **273**:30915-30920.

- Gudayol-Ferre E, Herrera-Guzman I, Camarena B, Cortes-Penagos C, Herrera-Abarca JE, Martinez-Medina P, Cruz D, Hernandez S, Genis A, Carrillo-Guerrero MY, Aviles Reyes R and Guardia-Olmos J (2010) The role of clinical variables, neuropsychological performance and SLC6A4 and COMT gene polymorphisms on the prediction of early response to fluoxetine in major depressive disorder. *J Affect Disord* **127**:343-351.
- Guelfi JD, Dreyfus JF, Ruschel S, Blanchard C and Pichot P (1981) [Factorial structure of the Hamilton depression scale. I]. *Ann Med Psychol (Paris)* **139**:199-214.
- Haenisch B and Bonisch H (2010) Interaction of the human plasma membrane monoamine transporter (hPMAT) with antidepressants and antipsychotics. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **381**:33-39.
- Haenisch B, Drescher E, Thiemer L, Xin H, Giros B, Gautron S and Bonisch H (2012) Interaction of antidepressant and antipsychotic drugs with the human organic cation transporters hOCT1, hOCT2 and hOCT3. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **385**:1017-1023.
- Hall-Flavin DK, Winner JG, Allen JD, Carhart JM, Proctor B, Snyder KA, Drews MS, Eisterhold LL, Geske J and Mrazek DA (2013) Utility of integrated pharmacogenomic testing to support the treatment of major depressive disorder in a psychiatric outpatient setting. *Pharmacogenet Genomics* **23**:535-548.
- Hall-Flavin DK, Winner JG, Allen JD, Jordan JJ, Nesheim RS, Snyder KA, Drews MS, Eisterhold LL, Biernacka JM and Mrazek DA (2012) Using a pharmacogenomic algorithm to guide the treatment of depression. *Transl Psychiatry* **2**:e172.
- Hamilton M (1960) A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **23**:56-62.
- HapMap (2017) International HapMap Project. <https://www.genome.gov/10001688/international-hapmap-project/>.
- Hendley ED, Taylor KM and Snyder SH (1970) 3H-normetanephrine uptake in rat brain slices. Relationship to extraneuronal accumulation of norepinephrine. *Eur J Pharmacol* **12**:167-179.
- Herrlin K, Yasui-Furukori N, Tybring G, Widen J, Gustafsson LL and Bertilsson L (2003) Metabolism of citalopram enantiomers in CYP2C19/CYP2D6 phenotyped panels of healthy Swedes. *Br J Clin Pharmacol* **56**:415-421.
- Hicks JK, Bishop JR, Sangkuhl K, Muller DJ, Ji Y, Leckband SG, Leeder JS, Graham RL, Chiulli DL, A LL, Skaar TC, Scott SA, Stingl JC, Klein TE, Caudle KE, Gaedigk A and Clinical Pharmacogenetics Implementation C (2015) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and CYP2C19 Genotypes and Dosing of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. *Clin Pharmacol Ther* **98**:127-134.
- Hicks JK, Sangkuhl K, Swen JJ, Ellingrod VL, Muller DJ, Shimoda K, Bishop JR, Kharasch ED, Skaar TC, Gaedigk A, Dunnenberger HM, Klein TE, Caudle KE and Stingl JC (2016) Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 update. *Clin Pharmacol Ther*.
- Holland PM, Abramson RD, Watson R and Gelfand DH (1991) Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**:7276-7280.
- Holliday SM and Benfield P (1995) Venlafaxine. A review of its pharmacology and therapeutic potential in depression. *Drugs* **49**:280-294.
- Homberg JR and Lesch KP (2011) Looking on the bright side of serotonin transporter gene variation. *Biol Psychiatry* **69**:513-519.

- Hopkins SC, Reasner DS and Koblan KS (2013) Catechol-O-methyltransferase genotype as modifier of superior responses to venlafaxine treatment in major depressive disorder. *Psychiatry Res* **208**:285-287.
- Hornberger J, Li Q and Quinn B (2015) Cost-effectiveness of combinatorial pharmacogenomic testing for treatment-resistant major depressive disorder patients. *Am J Manag Care* **21**:e357-365.
- Houston JP, Kohler J, Ostbye KM, Heinloth A and Perlis RH (2011) Association of catechol-O-methyltransferase variants with duloxetine response in major depressive disorder. *Psychiatry Res* **189**:475-477.
- Hovelson DH, Xue Z, Zawistowski M, Ehm MG, Harris EC, Stocker SL, Gross AS, Jang JJ, Ieiri I, Lee JE, Cardon LR, Chissoe SL, Abecasis G and Nelson MR (2017) Characterization of ADME gene variation in 21 populations by exome sequencing. *Pharmacogenet Genomics* **27**:89-100.
- Huang J, Perlis RH, Lee PH, Rush AJ, Fava M, Sachs GS, Lieberman J, Hamilton SP, Sullivan P, Sklar P, Purcell S and Smoller JW (2010) Cross-disorder genomewide analysis of schizophrenia, bipolar disorder, and depression. *Am J Psychiatry* **167**:1254-1263.
- Illi A, Setälä-Soikkeli E, Kampman O, Viikki M, Nuolivirta T, Poutanen O, Huhtala H, Mononen N, Lehtimäki T and Leinonen E (2010) Catechol-O-methyltransferase val108/158met genotype, major depressive disorder and response to selective serotonin reuptake inhibitors in major depressive disorder. *Psychiatry Res* **176**:85-87.
- Illumina (2014) An introduction to Illumina Sequencing. https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/illumina_sequencing_introduction.pdf.
- Inazu M, Kubota N, Takeda H, Zhang J, Kiuchi Y, Oguchi K and Matsumiya T (1999) Pharmacological characterization of dopamine transport in cultured rat astrocytes. *Life Sci* **64**:2239-2245.
- INSERM (2013) Médecine personnalisée et cancer, <https://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/medecine-personnalisee-du-cancer>.
- INSERM (2014) Dépression. <https://www.inserm.fr/thematiques/neurosciences-sciences-cognitives-neurologie-psychiatrie/dossiers-d-information/depression>.
- Ising M, Lucae S, Binder EB, Bettecken T, Uhr M, Ripke S, Kohli MA, Hennings JM, Horstmann S, Kloiber S, Menke A, Bondy B, Rupperecht R, Domschke K, Baune BT, Arolt V, Rush AJ, Holsboer F and Müller-Myhsok B (2009) A genomewide association study points to multiple loci that predict antidepressant drug treatment outcome in depression. *Arch Gen Psychiatry* **66**:966-975.
- Iversen LL, Glowinski J and Axelrod J (1965) The uptake and storage of H³-norepinephrine in the reserpine-pretreated rat heart. *J Pharmacol Exp Ther* **150**:173-183.
- Iwata K, Aizawa K, Kamitsu S, Jingami S, Fukunaga E, Yoshida M, Yoshimura M, Hamada A and Saito H (2012) Effects of genetic variants in SLC22A2 organic cation transporter 2 and SLC47A1 multidrug and toxin extrusion 1 transporter on cisplatin-induced adverse events. *Clin Exp Nephrol* **16**:843-851.
- Ji Y, Skierka JM, Blommel JH, Moore BE, VanCuyk DL, Bruflat JK, Peterson LM, Veldhuizen TL, Fadra N, Peterson SE, Lagerstedt SA, Train LJ, Baudhuin LM, Klee EW, Ferber MJ, Bielinski SJ, Caraballo PJ, Weinshilboum RM and Black JL, 3rd (2016) Preemptive Pharmacogenomic Testing for Precision Medicine: A Comprehensive Analysis of Five Actionable Pharmacogenomic Genes Using Next-

- Generation DNA Sequencing and a Customized CYP2D6 Genotyping Cascade. *J Mol Diagn* **18**:438-445.
- Jonker JW and Schinkel AH (2004) Pharmacological and physiological functions of the polyspecific organic cation transporters: OCT1, 2, and 3 (SLC22A1-3). *J Pharmacol Exp Ther* **308**:2-9.
- Justenhoven C, Hamann U, Pierl CB, Baisch C, Harth V, Rabstein S, Spickenheuer A, Pesch B, Bruning T, Winter S, Ko YD and Brauch H (2009) CYP2C19*17 is associated with decreased breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* **115**:391-396.
- Kasper S and Hamon M (2009) Beyond the monoaminergic hypothesis: agomelatine, a new antidepressant with an innovative mechanism of action. *World J Biol Psychiatry* **10**:117-126.
- Kautzky A, Baldinger P, Souery D, Montgomery S, Mendlewicz J, Zohar J, Serretti A, Lanzenberger R and Kasper S (2015) The combined effect of genetic polymorphisms and clinical parameters on treatment outcome in treatment-resistant depression. *Eur Neuropsychopharmacol* **25**:441-453.
- Kawanishi C, Lundgren S, Agren H and Bertilsson L (2004) Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders: ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study. *Eur J Clin Pharmacol* **59**:803-807.
- Kessler RC, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Chatterji S, Lee S, Ormel J, Ustun TB and Wang PS (2009) The global burden of mental disorders: an update from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. *Epidemiol Psychiatr Soc* **18**:23-33.
- Kirchheiner J, Lang U, Stamm T, Sander T and Gallinat J (2006) Association of CYP2D6 genotypes and personality traits in healthy individuals. *J Clin Psychopharmacol* **26**:440-442.
- Kirchheiner J, Muller G, Meineke I, Wernecke KD, Roots I and Brockmoller J (2003) Effects of polymorphisms in CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 on trimipramine pharmacokinetics. *J Clin Psychopharmacol* **23**:459-466.
- Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Wong ML, Licinio J, Roots I and Brockmoller J (2004) Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* **9**:442-473.
- Klein M, Schmoeger M, Kasper S and Schosser A (2016) Meta-analysis of the COMT Val158Met polymorphism in major depressive disorder: the role of gender. *World J Biol Psychiatry* **17**:147-158.
- Kocabas NA, Faghel C, Barreto M, Kasper S, Linotte S, Mendlewicz J, Noro M, Oswald P, Souery D, Zohar J and Massat I (2010) The impact of catechol-O-methyltransferase SNPs and haplotypes on treatment response phenotypes in major depressive disorder: a case-control association study. *Int Clin Psychopharmacol* **25**:218-227.
- Koenig AM and Thase ME (2009) First-line pharmacotherapies for depression - what is the best choice? *Pol Arch Med Wewn* **119**:478-486.
- Koepsell H (1998) Organic cation transporters in intestine, kidney, liver, and brain. *Annu Rev Physiol* **60**:243-266.
- Koepsell H and Endou H (2004) The SLC22 drug transporter family. *Pflugers Arch* **447**:666-676.
- Konig J, Muller F and Fromm MF (2013) Transporters and drug-drug interactions: important determinants of drug disposition and effects. *Pharmacol Rev* **65**:944-966.
- Krumm N, O'Roak BJ, Shendure J and Eichler EE (2014) A de novo convergence of autism genetics and molecular neuroscience. *Trends Neurosci* **37**:95-105.

- Kupfer DJ, Frank E and Phillips ML (2012) Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. *Lancet* **379**:1045-1055.
- Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL and Weinshilboum RM (1996) Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* **6**:243-250.
- Lam YW, Gaedigk A, Ereshefsky L, Alfaro CL and Simpson J (2002) CYP2D6 inhibition by selective serotonin reuptake inhibitors: analysis of achievable steady-state plasma concentrations and the effect of ultrarapid metabolism at CYP2D6. *Pharmacotherapy* **22**:1001-1006.
- Lamers F, Hoogendoorn AW, Smit JH, van Dyck R, Zitman FG, Nolen WA and Penninx BW (2012) Sociodemographic and psychiatric determinants of attrition in the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *Compr Psychiatry* **53**:63-70.
- Lazar A, Walitza S, Jetter A, Gerlach M, Warnke A, Herpertz-Dahlmann B, Grundemann D, Grimberg G, Schulz E, Remschmidt H, Wewetzer C and Schomig E (2008) Novel mutations of the extraneuronal monoamine transporter gene in children and adolescents with obsessive-compulsive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* **11**:35-48.
- Leabman MK, Huang CC, Kawamoto M, Johns SJ, Stryke D, Ferrin TE, DeYoung J, Taylor T, Clark AG, Herskowitz I and Giacomini KM (2002) Polymorphisms in a human kidney xenobiotic transporter, OCT2, exhibit altered function. *Pharmacogenetics* **12**:395-405.
- Lee SH, Lee KJ, Lee HJ, Ham BJ, Ryu SH and Lee MS (2005) Association between the 5-HT₆ receptor C267T polymorphism and response to antidepressant treatment in major depressive disorder. *Psychiatry Clin Neurosci* **59**:140-145.
- Lee WK, Reichold M, Edemir B, Ciarimboli G, Warth R, Koepsell H and Thevenod F (2009) Organic cation transporters OCT1, 2, and 3 mediate high-affinity transport of the mutagenic vital dye ethidium in the kidney proximal tubule. *American journal of physiology Renal physiology* **296**:F1504-1513.
- Leonard BE (2000) Evidence for a biochemical lesion in depression. *J Clin Psychiatry* **61 Suppl 6**:12-17.
- Li H and Durbin R (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* **25**:1754-1760.
- Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, Desire L, Mira H, Consiglio A, Lein ES, Jessberger S, Lansford H, Dearie AR and Gage FH (2005) Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature* **437**:1370-1375.
- Lin JY, Jiang MY, Kan ZM and Chu Y (2014) Influence of 5-HT_{2A} genetic polymorphisms on the efficacy of antidepressants in the treatment of major depressive disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord* **168**:430-438.
- Llerena A, Edman G, Cobaleda J, Benitez J, Schalling D and Bertilsson L (1993) Relationship between personality and debrisoquine hydroxylation capacity. Suggestion of an endogenous neuroactive substrate or product of the cytochrome P4502D6. *Acta Psychiatr Scand* **87**:23-28.
- Lobello KW, Preskorn SH, Guico-Pabia CJ, Jiang Q, Paul J, Nichols AI, Patroneva A and Ninan PT (2010) Cytochrome P450 2D6 phenotype predicts antidepressant efficacy of venlafaxine: a secondary analysis of 4 studies in major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* **71**:1482-1487.

- Lopez-Leon S, Janssens AC, Gonzalez-Zuloeta Ladd AM, Del-Favero J, Claes SJ, Oostra BA and van Duijn CM (2008) Meta-analyses of genetic studies on major depressive disorder. *Mol Psychiatry* **13**:772-785.
- Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melen K, Julkunen I and Taskinen J (1995) Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* **34**:4202-4210.
- Lundqvist E, Johansson I and Ingelman-Sundberg M (1999) Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the human CYP2D6 gene and methods for detection of duplicated CYP2D6 genes. *Gene* **226**:327-338.
- Ma Y, Li B, Wang C, Zhang W, Rao Y and Han S (2015) Allelic variation in 5-HTTLPR and the effects of citalopram on the emotional neural network. *Br J Psychiatry* **206**:385-392.
- Mannisto PT and Kaakkola S (1999) Catechol-O-methyltransferase (COMT): biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. *Pharmacol Rev* **51**:593-628.
- Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Lo Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, Meyer UA and Broly F (1997) Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics* **7**:193-202.
- Marquet P, Longerey PH, Barlesi F, participants of round table NdoGXXX, Ameze V, Auge P, Cazeneuve B, Chatelut E, Diaz I, Divine M, Froguel P, Goni S, Gueyffier F, Hoog-Labouret N, Mourah S, Morin-Surroca M, Perche O, Perin-Dureau F, Pigeon M, Tisseau A and Verstuyft C (2015) Translational research: precision medicine, personalized medicine, targeted therapies: marketing or science? *Therapie* **70**:1-19.
- Massat I, Kocabas NA, Crisafulli C, Chiesa A, Calati R, Linotte S, Kasper S, Fink M, Antonijevic I, Forray C, Snyder L, Bollen J, Zohar J, De Ronchi D, Souery D, Serretti A and Mendlewicz J (2011) COMT and age at onset in mood disorders: a replication and extension study. *Neurosci Lett* **498**:218-221.
- Massat I, Souery D, Del-Favero J, Nothen M, Blackwood D, Muir W, Kaneva R, Serretti A, Lorenzi C, Rietschel M, Milanova V, Papadimitriou GN, Dikeos D, Van Broekhoven C and Mendlewicz J (2005) Association between COMT (Val158Met) functional polymorphism and early onset in patients with major depressive disorder in a European multicenter genetic association study. *Mol Psychiatry* **10**:598-605.
- Massmann V, Edemir B, Schlatter E, Al-Monajjed R, Harrach S, Klassen P, Holle SK, Sindic A, Dobrivojevic M, Pavenstadt H and Ciarimboli G (2014) The organic cation transporter 3 (OCT3) as molecular target of psychotropic drugs: transport characteristics and acute regulation of cloned murine OCT3. *Pflugers Arch* **466**:517-527.
- McMahon FJ, Buervenich S, Charney D, Lipsky R, Rush AJ, Wilson AF, Sorant AJ, Papanicolaou GJ, Laje G, Fava M, Trivedi MH, Wisniewski SR and Manji H (2006) Variation in the gene encoding the serotonin 2A receptor is associated with outcome of antidepressant treatment. *Am J Hum Genet* **78**:804-814.
- Metzker ML (2010) Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet* **11**:31-46.
- Morin S, Bodin L, Lorient MA, Thijssen HH, Robert A, Strabach S, Verstuyft C, Tregouet DA, Dubert L, Laurent-Puig P, Funck-Brentano C, Jaillon P, Beaune PH and Becquemont L (2004) Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* **75**:403-414.

- Moron JA, Brockington A, Wise RA, Rocha BA and Hope BT (2002) Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. *J Neurosci* **22**:389-395.
- Murray CJ and Lopez AD (1996) Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science* **274**:740-743.
- Narasimhan S, Aquino TD, Multani PK, Rickels K and Lohoff FW (2012) Variation in the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and treatment response to venlafaxine XR in generalized anxiety disorder. *Psychiatry Res* **198**:112-115.
- Nassan M, Nicholson WT, Elliott MA, Rohrer Vitek CR, Black JL and Frye MA (2016) Pharmacokinetic Pharmacogenetic Prescribing Guidelines for Antidepressants: A Template for Psychiatric Precision Medicine. *Mayo Clin Proc* **91**:897-907.
- NCBI (2017) The National Center for Biotechnology Information, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- Nekrutenko A and Taylor J (2012) Next-generation sequencing data interpretation: enhancing reproducibility and accessibility. *Nat Rev Genet* **13**:667-672.
- Ng C, Sarris J, Singh A, Bousman C, Byron K, Peh LH, Smith DJ, Tan CH and Schweitzer I (2013) Pharmacogenetic polymorphisms and response to escitalopram and venlafaxine over 8 weeks in major depression. *Hum Psychopharmacol* **28**:516-522.
- Nichols AI, Lobello K, Guico-Pabia CJ, Paul J and Preskorn SH (2009) Venlafaxine metabolism as a marker of cytochrome P450 enzyme 2D6 metabolizer status. *J Clin Psychopharmacol* **29**:383-386.
- Nielsen KK, Broesen K and Gram LF (1992) Steady-state plasma levels of clomipramine and its metabolites: impact of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism. Danish University Antidepressant Group. *Eur J Clin Pharmacol* **43**:405-411.
- Nielsen KK, Broesen K, Hansen MG and Gram LF (1994) Single-dose kinetics of clomipramine: relationship to the sparteine and S-mephenytoin oxidation polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* **55**:518-527.
- Niitsu T, Fabbri C, Bentini F and Serretti A (2013) Pharmacogenetics in major depression: a comprehensive meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **45**:183-194.
- Nirenberg MJ, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ and Pickel VM (1996) The dopamine transporter is localized to dendritic and axonal plasma membranes of nigrostriatal dopaminergic neurons. *J Neurosci* **16**:436-447.
- Ohara K, Nagai M, Suzuki Y and Ohara K (1998) Low activity allele of catechol-o-methyltransferase gene and Japanese unipolar depression. *Neuroreport* **9**:1305-1308.
- Olfson M, Marcus SC, Druss B, Elinson L, Tanielian T and Pincus HA (2002) National trends in the outpatient treatment of depression. *JAMA* **287**:203-209.
- Olsson CA, Byrnes GB, Anney RJ, Collins V, Hemphill SA, Williamson R and Patton GC (2007) COMT Val(158)Met and 5HTTLPR functional loci interact to predict persistence of anxiety across adolescence: results from the Victorian Adolescent Health Cohort Study. *Genes Brain Behav* **6**:647-652.
- OMS (2012) La dépression: faits et chiffres. <http://www.euro.who.int/fr/health-topics/noncommunicable-diseases/mental-health/news/news/2012/10/depression-in-europe/depression-in-europe-facts-and-figures>.
- OMS (2017a) Dépression: parlons-en. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/world-health-day/fr/>.
- OMS (2017b) Vieillesse et santé, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs404/fr/>.
- Ottov SV, Ball SE, Cheung SW, Inaba T, Rudolph RL and Sellers EM (1996) Venlafaxine oxidation in vitro is catalysed by CYP2D6. *Br J Clin Pharmacol* **41**:149-156.

- Ozdemir V, Gunes A, Dahl ML, Scordo MG, Williams-Jones B and Someya T (2006) Could endogenous substrates of drug-metabolizing enzymes influence constitutive physiology and drug target responsiveness? *Pharmacogenomics* **7**:1199-1210.
- Palmatier MA, Kang AM and Kidd KK (1999) Global variation in the frequencies of functionally different catechol-O-methyltransferase alleles. *Biol Psychiatry* **46**:557-567.
- Pan Y, Gembom E, Peng W, Lesch KP, Mossner R and Simantov R (2001) Plasticity in serotonin uptake in primary neuronal cultures of serotonin transporter knockout mice. *Brain Res Dev Brain Res* **126**:125-129.
- Panoutsopoulou K, Tachmazidou I and Zeggini E (2013) In search of low-frequency and rare variants affecting complex traits. *Hum Mol Genet* **22**:R16-21.
- Pease AC, Solas D, Sullivan EJ, Cronin MT, Holmes CP and Fodor SP (1994) Light-generated oligonucleotide arrays for rapid DNA sequence analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**:5022-5026.
- Penas LEM, Dorado P, Pacheco R, Gonzalez I and A LL (2009) Relation between CYP2D6 genotype, personality, neurocognition and overall psychopathology in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* **10**:1111-1120.
- Perlis RH, Fijal B, Adams DH, Sutton VK, Trivedi MH and Houston JP (2009) Variation in catechol-O-methyltransferase is associated with duloxetine response in a clinical trial for major depressive disorder. *Biol Psychiatry* **65**:785-791.
- Peterson JF, Field JR, Shi Y, Schildcrout JS, Denny JC, McGregor TL, Van Driest SL, Pulley JM, Lubin IM, Laposata M, Roden DM and Clayton EW (2016) Attitudes of clinicians following large-scale pharmacogenomics implementation. *Pharmacogenomics J* **16**:393-398.
- Petit AC, Quesseveur G, Gressier F, Colle R, David DJ, Gardier AM, Ferreri F, Lepine JP, Falissard B, Verstyft C, Guiard BP and Corruble E (2014) Converging translational evidence for the involvement of the serotonin 2A receptor gene in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **54**:76-82.
- Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK and Sadee W (2001) Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* **286**:2270-2279.
- Pietarinen P, Tornio A and Niemi M (2016) High Frequency of CYP2D6 Ultrarapid Metabolizer Genotype in the Finnish Population. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **119**:291-296.
- Pirooznia M, Wang T, Avramopoulos D, Potash JB, Zandi PP and Goes FS (2016) High-throughput sequencing of the synaptome in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* **21**:650-655.
- Pooley EC, Fineberg N and Harrison PJ (2007) The met(158) allele of catechol-O-methyltransferase (COMT) is associated with obsessive-compulsive disorder in men: case-control study and meta-analysis. *Mol Psychiatry* **12**:556-561.
- Porcelli S, Fabbri C and Serretti A (2012) Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with antidepressant efficacy. *Eur Neuropsychopharmacol* **22**:239-258.
- Preskorn S, Patroneva A, Silman H, Jiang Q, Isler JA, Burczynski ME, Ahmed S, Paul J and Nichols AI (2009) Comparison of the pharmacokinetics of venlafaxine extended release and desvenlafaxine in extensive and poor cytochrome P450 2D6 metabolizers. *J Clin Psychopharmacol* **29**:39-43.

- Preskorn SH (1997) Clinically relevant pharmacology of selective serotonin reuptake inhibitors. An overview with emphasis on pharmacokinetics and effects on oxidative drug metabolism. *Clin Pharmacokinet* **32 Suppl 1**:1-21.
- Preskorn SH (2010) Understanding outliers on the usual dose-response curve: venlafaxine as a way to phenotype patients in terms of their CYP 2D6 status and why it matters. *J Psychiatr Pract* **16**:46-49.
- Preskorn SH, Kane CP, Lobello K, Nichols AI, Fayyad R, Buckley G, Focht K and Guico-Pabia CJ (2013) Cytochrome P450 2D6 phenoconversion is common in patients being treated for depression: implications for personalized medicine. *J Clin Psychiatry* **74**:614-621.
- Purcell SM, Moran JL, Fromer M, Ruderfer D, Solovieff N, Roussos P, O'Dushlaine C, Chambert K, Bergen SE, Kahler A, Duncan L, Stahl E, Genovese G, Fernandez E, Collins MO, Komiyama NH, Choudhary JS, Magnusson PK, Banks E, Shakir K, Garimella K, Fennell T, DePristo M, Grant SG, Haggarty SJ, Gabriel S, Scolnick EM, Lander ES, Hultman CM, Sullivan PF, McCarroll SA and Sklar P (2014) A polygenic burden of rare disruptive mutations in schizophrenia. *Nature* **506**:185-190.
- Quaranta S, Dupouey J, Colle R and Verstuyft C (2017) Pharmacogenetics of antidepressant drugs: State of the art and clinical implementation - recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics. *Therapie* **72**:311-318.
- Ragia G, Arvanitidis KI, Tavridou A and Manolopoulos VG (2009) Need for reassessment of reported CYP2C19 allele frequencies in various populations in view of CYP2C19*17 discovery: the case of Greece. *Pharmacogenomics* **10**:43-49.
- Rau T, Wohlleben G, Wuttke H, Thuerauf N, Lunkenheimer J, Lanczik M and Eschenhagen T (2004) CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants-a pilot study. *Clin Pharmacol Ther* **75**:386-393.
- Rebsamen MC, Desmeules J, Daali Y, Chiappe A, Diemand A, Rey C, Chabert J, Dayer P, Hochstrasser D and Rossier MF (2009) The AmpliChip CYP450 test: cytochrome P450 2D6 genotype assessment and phenotype prediction. *Pharmacogenomics J* **9**:34-41.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, Gonzalez JR, Gratacos M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW and Hurles ME (2006) Global variation in copy number in the human genome. *Nature* **444**:444-454.
- Rietschel M, Mattheisen M, Frank J, Treutlein J, Degenhardt F, Breuer R, Steffens M, Mier D, Esslinger C, Walter H, Kirsch P, Erk S, Schnell K, Herms S, Wichmann HE, Schreiber S, Jockel KH, Strohmaier J, Roeske D, Haenisch B, Gross M, Hoefels S, Lucae S, Binder EB, Wienker TF, Schulze TG, Schmal C, Zimmer A, Juraeva D, Brors B, Bettecken T, Meyer-Lindenberg A, Muller-Myhsok B, Maier W, Nothen MM and Cichon S (2010) Genome-wide association-, replication-, and neuroimaging study implicates HOMER1 in the etiology of major depression. *Biol Psychiatry* **68**:578-585.
- Roberts RL, Luty SE, Mulder RT, Joyce PR and Kennedy MA (2004a) Association between cytochrome P450 2D6 genotype and harm avoidance. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **127B**:90-93.

- Roberts RL, Mulder RT, Joyce PR, Luty SE and Kennedy MA (2004b) No evidence of increased adverse drug reactions in cytochrome P450 CYP2D6 poor metabolizers treated with fluoxetine or nortriptyline. *Hum Psychopharmacol* **19**:17-23.
- Robinson OJ and Sahakian BJ (2008) Recurrence in major depressive disorder: a neurocognitive perspective. *Psychol Med* **38**:315-318.
- Rolla R, Gramaglia C, Dalo V, Ressico F, Prosperini P, Vidali M, Meola S, Pollarolo P, Bellomo G, Torre E and Zeppegno P (2014) An observational study of Venlafaxine and CYP2D6 in clinical practice. *Clin Lab* **60**:225-231.
- Rudberg I, Mohebi B, Hermann M, Refsum H and Molden E (2008) Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther* **83**:322-327.
- Russ H, Staust K, Martel F, Gliese M and Schomig E (1996) The extraneuronal transporter for monoamine transmitters exists in cells derived from human central nervous system glia. *Eur J Neurosci* **8**:1256-1264.
- Sachse C, Brockmoller J, Bauer S and Roots I (1997) Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* **60**:284-295.
- Sanchez-Iglesias S, Garcia-Solaesa V, Garcia-Berrocal B, Sanchez-Martin A, Lorenzo-Romo C, Martin-Pinto T, Gaedigk A, Gonzalez-Buitrago JM and Isidoro-Garcia M (2016) Role of Pharmacogenetics in Improving the Safety of Psychiatric Care by Predicting the Potential Risks of Mania in CYP2D6 Poor Metabolizers Diagnosed With Bipolar Disorder. *Medicine (Baltimore)* **95**:e2473.
- Sanger F, Nicklen S and Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **74**:5463-5467.
- Sangkuhl K, Stingl JC, Turpeinen M, Altman RB and Klein TE (2014) PharmGKB summary: venlafaxine pathway. *Pharmacogenet Genomics* **24**:62-72.
- Schildkraut JJ and Mooney JJ (2004) Toward a rapidly acting antidepressant: the normetanephrine and extraneuronal monoamine transporter (uptake 2) hypothesis. *Am J Psychiatry* **161**:909-911.
- Schmitt A, Mossner R, Gossmann A, Fischer IG, Gorboulev V, Murphy DL, Koepsell H and Lesch KP (2003) Organic cation transporter capable of transporting serotonin is up-regulated in serotonin transporter-deficient mice. *J Neurosci Res* **71**:701-709.
- Scordo MG, Spina E, Facciola G, Avenoso A, Johansson I and Dahl ML (1999) Cytochrome P450 2D6 genotype and steady state plasma levels of risperidone and 9-hydroxyrisperidone. *Psychopharmacology (Berl)* **147**:300-305.
- Senn S (2016) Mastering variation: variance components and personalised medicine. *Stat Med* **35**:966-977.
- Shah RR and Smith RL (2015) Addressing phenoconversion: the Achilles' heel of personalized medicine. *Br J Clin Pharmacol* **79**:222-240.
- Shams ME, Arneth B, Hiemke C, Dragicevic A, Muller MJ, Kaiser R, Lackner K and Hartter S (2006) CYP2D6 polymorphism and clinical effect of the antidepressant venlafaxine. *J Clin Pharm Ther* **31**:493-502.
- Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, Hergueta T, Baker R and Dunbar GC (1998) The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* **59 Suppl 20**:22-33;quiz 34-57.
- Shen HW, Hagino Y, Kobayashi H, Shinohara-Tanaka K, Ikeda K, Yamamoto H, Yamamoto T, Lesch KP, Murphy DL, Hall FS, Uhl GR and Sora I (2004) Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by in vivo microdialysis in mice

- lacking dopamine and/or serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology* **29**:1790-1799.
- Shiroma PR, Drews MS, Geske JR and Mrazek DA (2014) SLC6A4 polymorphisms and age of onset in late-life depression on treatment outcomes with citalopram: a Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression (STAR*D) report. *Am J Geriatr Psychiatry* **22**:1140-1148.
- Sicras-Mainar A, Guijarro P, Armada B, Blanca-Tamayo M and Navarro-Artieda R (2014) Influence of the CYP2D6 isoenzyme in patients treated with venlafaxine for major depressive disorder: clinical and economic consequences. *PLoS One* **9**:e90453.
- Siegle I, Fritz P, Eckhardt K, Zanger UM and Eichelbaum M (2001) Cellular localization and regional distribution of CYP2D6 mRNA and protein expression in human brain. *Pharmacogenetics* **11**:237-245.
- Sim SC, Risinger C, Dahl ML, Aklillu E, Christensen M, Bertilsson L and Ingelman-Sundberg M (2006) A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin Pharmacol Ther* **79**:103-113.
- Sindrup SH, Brosen K and Gram LF (1992a) Pharmacokinetics of the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine: nonlinearity and relation to the sparteine oxidation polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* **51**:288-295.
- Sindrup SH, Brosen K, Gram LF, Hallas J, Skjelbo E, Allen A, Allen GD, Cooper SM, Mellows G, Tasker TC and et al. (1992b) The relationship between paroxetine and the sparteine oxidation polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* **51**:278-287.
- Singh AB (2015) Improved Antidepressant Remission in Major Depression via a Pharmacokinetic Pathway Polygene Pharmacogenetic Report. *Clin Psychopharmacol Neurosci* **13**:150-156.
- Song IS, Shin HJ, Shim EJ, Jung IS, Kim WY, Shon JH and Shin JG (2008) Genetic variants of the organic cation transporter 2 influence the disposition of metformin. *Clin Pharmacol Ther* **84**:559-562.
- Soronen P, Mantere O, Melartin T, Suominen K, Vuorilehto M, Rytsala H, Arvilommi P, Holma I, Holma M, Jylha P, Valtonen HM, Haukka J, Isometsa E and Paunio T (2011) P2RX7 gene is associated consistently with mood disorders and predicts clinical outcome in three clinical cohorts. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **156B**:435-447.
- Spina E and de Leon J (2015) Clinical applications of CYP genotyping in psychiatry. *J Neural Transm (Vienna)* **122**:5-28.
- Spronk D, Arns M, Barnett KJ, Cooper NJ and Gordon E (2011) An investigation of EEG, genetic and cognitive markers of treatment response to antidepressant medication in patients with major depressive disorder: a pilot study. *J Affect Disord* **128**:41-48.
- Steen VM, Andreassen OA, Daly AK, Tefre T, Borresen AL, Idle JR and Gulbrandsen AK (1995) Detection of the poor metabolizer-associated CYP2D6(D) gene deletion allele by long-PCR technology. *Pharmacogenetics* **5**:215-223.
- Stein MB, Fallin MD, Schork NJ and Gelernter J (2005) COMT polymorphisms and anxiety-related personality traits. *Neuropsychopharmacology* **30**:2092-2102.
- Sullivan PF, Neale MC and Kendler KS (2000) Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* **157**:1552-1562.
- Sur C, Betz H and Schloss P (1996) Localization of the serotonin transporter in rat spinal cord. *Eur J Neurosci* **8**:2753-2757.
- Suzuki E, Kitao Y, Ono Y, Iijima Y and Inada T (2003) Cytochrome P450 2D6 polymorphism and character traits. *Psychiatr Genet* **13**:111-113.

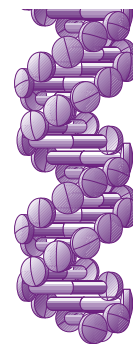
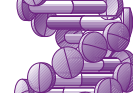
- Szegedi A, Rujescu D, Tadic A, Muller MJ, Kohnen R, Stassen HH and Dahmen N (2005) The catechol-O-methyltransferase Val108/158Met polymorphism affects short-term treatment response to mirtazapine, but not to paroxetine in major depression. *Pharmacogenomics J* **5**:49-53.
- Takano A, Halldin C and Farde L (2013) SERT and NET occupancy by venlafaxine and milnacipran in nonhuman primates: a PET study. *Psychopharmacology (Berl)* **226**:147-153.
- Takeda M, Khamdang S, Narikawa S, Kimura H, Kobayashi Y, Yamamoto T, Cha SH, Sekine T and Endou H (2002) Human organic anion transporters and human organic cation transporters mediate renal antiviral transport. *J Pharmacol Exp Ther* **300**:918-924.
- Tammiste A, Jiang T, Fischer K, Magi R, Krjutskov K, Pettai K, Esko T, Li Y, Tansey KE, Carroll LS, Uher R, McGuffin P, Vosa U, Tsernikova N, Saria A, Ng PC, Eller T, Vasar V, Nutt DJ, Maron E, Wang J and Metspalu A (2013) Whole-exome sequencing identifies a polymorphism in the BMP5 gene associated with SSRI treatment response in major depression. *J Psychopharmacol* **27**:915-920.
- Taranu A, Asmar KE, Colle R, Ferreri F, Polosan M, David D, Becquemont L, Corruble E and Verstuyft C (2017a) The COMT Val(108/158)Met Genetic Polymorphism can not be Recommended as a Biomarker of Prediction of Venlafaxine Efficacy in Patients treated in Psychiatric settings. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*.
- Taranu A, Colle R, Gressier F, El Asmar K, Becquemont L, Corruble E and Verstuyft C (2017b) Should a routine genotyping of CYP2D6 and CYP2C19 genetic polymorphisms be recommended to predict venlafaxine efficacy in depressed patients treated in psychiatric settings? *Pharmacogenomics*.
- Tenneze L, Verstuyft C, Becquemont L, Poirier JM, Wilkinson GR and Funck-Brentano C (1999) Assessment of CYP2D6 and CYP2C19 activity in vivo in humans: a cocktail study with dextromethorphan and chloroguanide alone and in combination. *Clin Pharmacol Ther* **66**:582-588.
- Thuerauf N and Lunkenheimer J (2006) The impact of the CYP2D6-polymorphism on dose recommendations for current antidepressants. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* **256**:287-293.
- Trendelenburg U (1991) The TiPS lecture: functional aspects of the neuronal uptake of noradrenaline. *Trends Pharmacol Sci* **12**:334-337.
- Trivedi MH, Rush AJ, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Warden D, Ritz L, Norquist G, Howland RH, Lebowitz B, McGrath PJ, Shores-Wilson K, Biggs MM, Balasubramani GK, Fava M and Team SDS (2006) Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry* **163**:28-40.
- Tsai MH, Lin KM, Hsiao MC, Shen WW, Lu ML, Tang HS, Fang CK, Wu CS, Lu SC, Liu SC, Chen CY and Liu YL (2010) Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes influence metabolism of the antidepressant escitalopram and treatment response. *Pharmacogenomics* **11**:537-546.
- Tsai SJ, Gau YT, Hong CJ, Liou YJ, Yu YW and Chen TJ (2009) Sexually dimorphic effect of catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on clinical response to fluoxetine in major depressive patients. *J Affect Disord* **113**:183-187.
- Uchida Y, Ohtsuki S, Katsukura Y, Ikeda C, Suzuki T, Kamiie J and Terasaki T (2011) Quantitative targeted absolute proteomics of human blood-brain barrier transporters and receptors. *J Neurochem* **117**:333-345.

- UCSCgenomeBrowser (2017) hg19, <http://hgdownload.cse.ucsc.edu/downloads.html#human>.
- Uher R, Payne JL, Pavlova B and Perlis RH (2014) Major depressive disorder in DSM-5: implications for clinical practice and research of changes from DSM-IV. *Depress Anxiety* **31**:459-471.
- Uher R, Perroud N, Ng MY, Hauser J, Henigsberg N, Maier W, Mors O, Placentino A, Rietschel M, Souery D, Zagar T, Czerski PM, Jerman B, Larsen ER, Schulze TG, Zobel A, Cohen-Woods S, Pirlo K, Butler AW, Muglia P, Barnes MR, Lathrop M, Farmer A, Breen G, Aitchison KJ, Craig I, Lewis CM and McGuffin P (2010) Genome-wide pharmacogenetics of antidepressant response in the GENDEP project. *Am J Psychiatry* **167**:555-564.
- Uher R TK, Rietschel M, Henigsberg N, Maier W, Mors O, Hauser J, Placentino A, Souery D, Farmer A, Aitchison KJ, Craig I, McGuffin P, Lewis CM, Ising M, Lucae S, Binder EB, Kloiber S, Holsboer F, Müller-Myhsok B, Ripke S, Hamilton SP, Soundy J, Laje G, McMahon FJ, Fava M, Rush A, Perlis RH., Investigators G, Investigators M and Investigators SD (2013) Common genetic variation and antidepressant efficacy in major depressive disorder: a meta-analysis of three genome-wide pharmacogenetic studies. *Am J Psychiatry* **170**:207-217.
- Valkanova V, Ebmeier KP and Allan CL (2013) CRP, IL-6 and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Affect Disord* **150**:736-744.
- van der Weide J, van Baalen-Benedek EH and Kootstra-Ros JE (2005) Metabolic ratios of psychotropics as indication of cytochrome P450 2D6/2C19 genotype. *Ther Drug Monit* **27**:478-483.
- Van Driest SL, Shi Y, Bowton EA, Schildcrout JS, Peterson JF, Pulley J, Denny JC and Roden DM (2014) Clinically actionable genotypes among 10,000 patients with preemptive pharmacogenomic testing. *Clin Pharmacol Ther* **95**:423-431.
- Veefkind AH, Haffmans PM and Hoencamp E (2000) Venlafaxine serum levels and CYP2D6 genotype. *Ther Drug Monit* **22**:202-208.
- Verhaagh S, Schweifer N, Barlow DP and Zwart R (1999) Cloning of the mouse and human solute carrier 22a3 (Slc22a3/SLC22A3) identifies a conserved cluster of three organic cation transporters on mouse chromosome 17 and human 6q26-q27. *Genomics* **55**:209-218.
- Verstuyft C, Morin S, Yang J, Loriot MA, Barbu V, Kerb R, Brinkmann U, Beaune P, Jaillon P and Becquemont L (2003) [A new, rapid and robust genotyping method for CYP2C9 and MDR1]. *Ann Biol Clin (Paris)* **61**:305-309.
- Vialou V, Balasse L, Callebert J, Launay JM, Giros B and Gautron S (2008) Altered aminergic neurotransmission in the brain of organic cation transporter 3-deficient mice. *J Neurochem* **106**:1471-1482.
- Villafuerte SM, Vallabhaneni K, Sliwerska E, McMahon FJ, Young EA and Burmeister M (2009) SSRI response in depression may be influenced by SNPs in HTR1B and HTR1A. *Psychiatr Genet* **19**:281-291.
- Vinetti M, Haufroid V, Capron A, Classen JF, Marchandise S and Hantson P (2011) Severe acute cardiomyopathy associated with venlafaxine overdose and possible role of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms. *Clin Toxicol (Phila)* **49**:865-869.
- Vizi ES, Zsilla G, Caron MG and Kiss JP (2004) Uptake and release of norepinephrine by serotonergic terminals in norepinephrine transporter knock-out mice: implications for the action of selective serotonin reuptake inhibitors. *J Neurosci* **24**:7888-7894.

- Wang JH, Liu ZQ, Wang W, Chen XP, Shu Y, He N and Zhou HH (2001) Pharmacokinetics of sertraline in relation to genetic polymorphism of CYP2C19. *Clin Pharmacol Ther* **70**:42-47.
- Wang K, Sun S, Li L, Tu M and Jiang H (2014) Involvement of organic cation transporter 2 inhibition in potential mechanisms of antidepressant action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **53**:90-98.
- Wang M, Ma Y, Yuan W, Su K and Li MD (2016) Meta-Analysis of the COMT Val158Met Polymorphism in Major Depressive Disorder: Effect of Ethnicity. *J Neuroimmune Pharmacol* **11**:434-445.
- Wilke RA, Ramsey LB, Johnson SG, Maxwell WD, McLeod HL, Voora D, Krauss RM, Roden DM, Feng Q, Cooper-Dehoff RM, Gong L, Klein TE, Wadelius M, Niemi M and Clinical Pharmacogenomics Implementation C (2012) The clinical pharmacogenomics implementation consortium: CPIC guideline for SLCO1B1 and simvastatin-induced myopathy. *Clin Pharmacol Ther* **92**:112-117.
- Willner P (1997) Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)* **134**:319-329.
- Winner J, Allen JD, Altar CA and Spahic-Mihajlovic A (2013a) Psychiatric pharmacogenomics predicts health resource utilization of outpatients with anxiety and depression. *Transl Psychiatry* **3**:e242.
- Winner JG, Carhart JM, Altar CA, Allen JD and Dechairo BM (2013b) A prospective, randomized, double-blind study assessing the clinical impact of integrated pharmacogenomic testing for major depressive disorder. *Discov Med* **16**:219-227.
- Winner JG, Carhart JM, Altar CA, Goldfarb S, Allen JD, Lavezzari G, Parsons KK, Marshak AG, Garavaglia S and Dechairo BM (2015) Combinatorial pharmacogenomic guidance for psychiatric medications reduces overall pharmacy costs in a 1 year prospective evaluation. *Curr Med Res Opin* **31**:1633-1643.
- Woolley DW and Shaw E (1954) A Biochemical and Pharmacological Suggestion About Certain Mental Disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* **40**:228-231.
- Wright SH and Dantzler WH (2004) Molecular and cellular physiology of renal organic cation and anion transport. *Physiol Rev* **84**:987-1049.
- Wulsch T, Grimberg G, Schmitt A, Painsipp E, Wetzstein H, Breitenkamp AF, Grundemann D, Schomig E, Lesch KP, Gerlach M and Reif A (2009) Decreased anxiety in mice lacking the organic cation transporter 3. *J Neural Transm* **116**:689-697.
- Yip VL, Hawcutt DB and Pirmohamed M (2015) Pharmacogenetic Markers of Drug Efficacy and Toxicity. *Clin Pharmacol Ther* **98**:61-70.
- Yoshida K, Higuchi H, Takahashi H, Kamata M, Sato K, Inoue K, Suzuki T, Itoh K and Ozaki N (2008) Influence of the tyrosine hydroxylase val81met polymorphism and catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on the antidepressant effect of milnacipran. *Hum Psychopharmacol* **23**:121-128.
- Yu AM, Idle JR, Byrd LG, Krausz KW, Kupfer A and Gonzalez FJ (2003) Regeneration of serotonin from 5-methoxytryptamine by polymorphic human CYP2D6. *Pharmacogenetics* **13**:173-181.
- Yu KS, Yim DS, Cho JY, Park SS, Park JY, Lee KH, Jang IJ, Yi SY, Bae KS and Shin SG (2001) Effect of omeprazole on the pharmacokinetics of moclobemide according to the genetic polymorphism of CYP2C19. *Clin Pharmacol Ther* **69**:266-273.
- Zanger UM and Schwab M (2013) Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther* **138**:103-141.

- Zhang L, Gorset W, Washington CB, Blaschke TF, Kroetz DL and Giacomini KM (2000) Interactions of HIV protease inhibitors with a human organic cation transporter in a mammalian expression system. *Drug Metab Dispos* **28**:329-334.
- Zhou M, Engel K and Wang J (2007a) Evidence for significant contribution of a newly identified monoamine transporter (PMAT) to serotonin uptake in the human brain. *Biochem Pharmacol* **73**:147-154.
- Zhou M, Xia L, Engel K and Wang J (2007b) Molecular determinants of substrate selectivity of a novel organic cation transporter (PMAT) in the SLC29 family. *J Biol Chem* **282**:3188-3195.
- Zhou SF (2009) Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clin Pharmacokinet* **48**:689-723.

ANNEXE



For reprint orders, please contact: reprints@futuremedicine.com

Should a routine genotyping of *CYP2D6* and *CYP2C19* genetic polymorphisms be recommended to predict venlafaxine efficacy in depressed patients treated in psychiatric settings?

Aim: The antidepressant venlafaxine (VEN) is metabolized by *CYP2D6* and *CYP2C19*. The aim of this study was to assess the relevance of generalizing to daily practice the genotyping of *CYP2D6* and *CYP2C19* to predict VEN efficacy in depressed patients treated in psychiatric settings. **Patients & Methods:** This study was nested in a naturalistic cohort, with 206 patients requiring a new antidepressant treatment and genotyped for *CYP2D6* *3, *4, *5 del, *6, *2xN, *10, *41 and *CYP2C19* *2, *3, *4, *5, *17 alleles. **Results:** *CYP2D6* and *CYP2C19* phenotypes were associated neither with the Hamilton depression rating scale score improvement, nor with response and remission. **Conclusion:** Routine *CYP2D6* and *CYP2C19* genotyping cannot be recommended to predict VEN efficacy in depressed patients treated in psychiatry settings.

First draft submitted: 8 January 2017; Accepted for publication: 6 March 2017; Published online: 8 May 2017

Keywords: antidepressants • pharmacogenetics • venlafaxine

The antidepressants play a central role in the pharmacotherapy of depression [1]. Venlafaxine (VEN) is a combined serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor and is one of the most prescribed antidepressants in clinical practice worldwide [2,3]. *CYP2D6* is the main enzyme involved in the synthesis of its major metabolite, O-desmethyl-VEN (ODV). The ODV has the same biological activity as the parent compound [4,5]. *In vitro* experiments described the involvement of the *CYP2C19* in the synthesis of ODV as well [6]. N-demethylation of VEN to N-desmethyl-VEN (NDV) is a minor metabolic pathway catalyzed by *CYP2C19* and *CYP3A4* [6,7].

The *CYP2D6* and *CYP2C19* are highly polymorphic with over 100 allelic variants identified for *CYP2D6* and over 30 allelic variants for *CYP2C19* [8–11]. Phenotypes of the *CYP2D6* activity, resulting from the

analyses of these polymorphisms, are classified into normal metabolizer (NM), intermediate metabolizer (IM), poor metabolizer (PM) and ultrarapid metabolizer (UM) accordingly to the enzymatic activities [12–15]. The frequency of these polymorphisms differs among various ethnic populations. The incidence of UM phenotype ranges between 0.8 and 10% in Caucasian population and the PM phenotype ranges from 5 to 10% of Caucasians [13].

CYP2D6 was mostly studied in cohorts with different antidepressants, the majority of them described the higher incidence of relevant side effects in *CYP2D6* PM [16–18] and some of them with antidepressants plasma concentrations [16,18]. In other studies, the *CYP2D6* NM and PM phenotypes were determined based on the ratio of ODV/VEN concentrations and some of them have shown that the ratio is correlated with

Adela Taranu¹, Romain Colle^{1,2}, Florence Gressier^{1,2}, Khalil El Asmar¹, Laurent Becquemont^{1,3}, Emmanuelle Corruble^{1,2} & Céline Verstuyft^{*1,4,5}

¹INSERM UMR1178, Team (Depression & Antidepressants), Faculté de Médecine Paris-Sud, Univ. Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre, France

²Service de Psychiatrie, Hôpital Bicêtre, Groupe Hospitalier Paris Sud, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France

³Centre de Recherche Clinique (CRC), Hôpital Bicêtre, Groupe Hospitalier Paris Sud, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France

⁴Service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Bicêtre, Groupe Hospitalier Paris Sud, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France

⁵Centre de Ressources Biologiques, CRB Paris-Sud, Hôpital Bicêtre, Groupe Hospitalier Paris Sud, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France

*Author for correspondence:

Tel.: +33 145 213 588

Fax: +33 0 145 212 751

celine.verstuyft@aphp.fr

the *CYP2D6* genotype [4,16,19–20]. Few studies analyzed the impact of *CYP2D6* phenotype on clinical outcome [4,21–22]. One small study has reported a trend between the efficacy of VEN in major depressive disorder (MDD) patients evaluated after 7 weeks and the *CYP2D6* phenotype, determined by *CYP2D6* genotyping and by the ratio of ODV/VEN. They described three categories of response: responders with a reduction of more than 50% from baseline, nonresponders with a reduction of less than 30% and the intermediate group of partial responders, and showed that a higher ratio corresponding to *CYP2D6* UM phenotype seems to be associated with a greater efficacy [4]. In another prospective study, Lobello *et al.* pooled four double-blind, placebo controlled studies with MDD patients, 464 received VEN, 366 received placebo and were evaluated at different time (6–12 weeks) [21]. They observed a significantly greater improvement for *CYP2D6* NMs; they have a higher response and remission rate than PMs. However, other clinical studies are not convinced about the clinical impact of the ODV/VEN although specifying that the PM patients increase the risk of side effects [16,18]. Interestingly, in the study of Kawanishi *et al.*, they analyzed 108 Caucasian patients treated with different antidepressants, and evaluated based on the HDRS scale for over 8 weeks. They showed that the incidence of *CYP2D6* UM phenotype is higher in patients with persistent depression. They hypothesized that *CYP2D6* gene duplication might be a factor that influences the clinical outcome [22].

Until now, only three studies have examined the influence of *CYP2D6* and *CYP2C19* genetic polymorphisms on VEN treatment response and prediction of VEN efficacy in depressed patients treated in natural psychiatric clinical settings [18,23–24]. In all of them, no relationship between genotype and treatment response was shown. Interestingly, Rolla *et al.* assessed response with the CGI (clinical global impression) scale over 1 year in a clinical outpatient setting, and showed that *CYP2D6* UM patients have responded to a dosage higher than the usual therapeutic range. No significant correlation between efficacy, adverse effects and genotype was found in PMs [24].

Our study aimed to investigate whether genetic polymorphisms in *CYP2D6* and *CYP2C19* predict VEN efficacy in a large and homogenous sample of Caucasian depressed patients treated in psychiatric settings for 6 months.

Materials & methods

Study population

The METADAP (Do Antidepressants Induce Metabolic Syndromes) cohort is a 6-month prospective, multicenter, real-world setting, treatment study,

including 624 in- or out-patients of various ethnicities, mostly Caucasian suffering from a unipolar major depressive episode (MDE) (DSM-IV-TR [Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition]) and requiring a new antidepressant treatment. The antidepressant treatment had to be a monotherapy. The drug and its dose were left to the treating psychiatrist, using “real world” treatment options [25,26]. Data were collected from November 2009 to March 2013 in six university psychiatry departments in France. Written informed consent was obtained from all patients participating in this study.

Patients were included based on the following criteria: aged 18–65 years, with a current MDE (with a minimum score of 18 at the Hamilton depression rating scale-17, HDRS-17) [27] in a context of MDD. Patients with psychotic symptoms, bipolar disorders, psychotic disorders, eating disorders, current substance abuse or dependence, pregnancy, organic brain syndromes or severe unstable medical conditions were not included. Patients receiving antipsychotics or mood stabilizers before inclusion and/or for 4 months or more during the last year were not included. They were evaluated for depression symptoms at the start of the treatment (M0), and 1 month (M1), 3 months (M3) and 6 months (M6) later.

Our sample is the subgroup of 206 Caucasian patients treated with VEN. Among the 206 genotyped Caucasians patients, 184 patients were genotyped for *CYP2D6* and 182 patients for *CYP2C19* genetic polymorphisms because DNA was not amplified for 22 patients for *CYP2D6* and 24 patients for *CYP2C19*, respectively (Tables 2 & 3). The patients who prematurely dropped out from the study after the first, third and sixth months were excluded from the analyses. The dropout reasons were: stop of the antidepressant, prescription of unauthorized drugs, change of diagnosis, investigator’s decision, patient’s decision or other reason.

Genotyping

Genomic DNA was extracted from circulating blood leukocytes by using Gentra Puregene Blood Kits according to the manufacturer’s protocol (Qiagen, SA, Courtaboeuf, France) and was stored at -20°C. Patients were genotyped for the major alleles *CYP2D6* and *CYP2C19*: LOF alleles (*CYP2D6* *3 rs35742686, *4 rs3892097, *6 rs5030655); (*CYP2C19* *2 rs4244285, *3 rs4986893, *4 rs28399504, *5 rs56337013); increased function (*CYP2C19* *17 rs12248560); and decreased function alleles (*CYP2D6* *10 rs1065852, *CYP2D6**41 rs28371725) using TaqMan allelic discrimination [28] with the ABI Prism® 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France). The complete deletion (*CYP2D6**5) and gene duplication (*CYP2D6**2xN)

were detected by quantitative PCR according to the methods of [29]. The *CYP2D6* and *CYP2C19* genotypes were evaluated as blind samples. Each analysis included positive and negative control for quality assurance. The patients were genotyped in our laboratory that is accredited according to COFRAC (Comité Français d'Accréditation) and participate to the external international standards control ECAT (European Committee for Clinical Laboratory Standards).

Phenotyping

Patients were classified into four groups of *CYP2D6* and *CYP2C19* phenotypes according to inherited genotypes. For *CYP2D6*, NMs are individuals with two normal functional alleles (*1) or two decreased function alleles (*41, *10) or one normal functional and one LOF (loss of function; *3, *4, *5 del, *6) allele or one normal function and decreased function or combinations of duplicated alleles with one LOF allele or decreased function alleles. PMs are individuals carrying only LOF alleles. IMs are individuals carrying one LOF allele and one decreased function allele [15]. The *CYP2D6* UMs refer to carriers of duplications of functional alleles (*CYP2D6**2xN). For the *CYP2C19* NM, patients are carriers of two normal function alleles (*1). IMs are carriers of one LOF allele *CYP2C19* (*2, *3, *4, *5) and one normal function allele (*1) or one LOF and one increased function allele (*17) [15]. PMs refer to individuals carrying two LOF alleles *CYP2C19* (*2, *3, *4, *5). The *CYP2C19* RMs refer to heterozygous carriers of one normal function (*1) and one increased function allele (*17). Only one patient had an UM *CYP2C19* phenotype that refers to homozygous carriers of *17 allele. This patient was included in the RM group [15] (Table 1).

VEN efficacy

Clinical response was assessed using the HDRS scale at baseline, 1, 3 and 6 months following the antidepressant treatment. The HDRS score improvement was the primary outcome criterion. Response and remission rates were the secondary outcome criteria. Response was defined as a decrease in the HDRS score of at least 50% from baseline to follow-up (M1, M3 or M6). Remission was defined by a HDRS score of seven or less at follow-up (M1, M3 or M6).

Statistical methods

Descriptive statistics were initially performed. In a second step, bivariate analyses were performed using nonparametric statistics to compare the effects of each phenotype on HDRS improvement score and response and remission rates. Categorical variables were compared by nonparametric Fisher's tests. Since the distribution data were not normal, continuous variables

were compared by nonparametric Kruskal-Wallis tests ($n > 2$ patients for each group and independent samples). In a third step, multivariate linear and logistic regressions controlling for associated baseline values with a $p < 0.05$ were performed. Finally, MANOVAs (multivariate analysis of variance) for repeated measures were also performed to assess the subgroup of patients that completed the full course of treatment. The R Software version 2.14.1 and GraphPad Prism version 6 (GraphPad Software Inc., CA, USA) were used. All tests were two-tailed. A p -value of 0.05 was considered significant.

Results

Sample characteristics

Two hundred and six Caucasian patients with a mean age of 48.33 ± 12.15 years were analyzed. A total of 66.02% were females, 88.83% were inpatients at baseline. Their HDRS-17 score at baseline was 25.23 ± 4.97 , 14.23 ± 6.87 at M1, 12.28 ± 7.12 at M3, 10.66 ± 8.51 at M6. Their mean number of previous MDE was 1.75 ± 1.74 years. The average lifetime duration of MDD before inclusion was 9.98 ± 11.47 years. The mean VEN dose at baseline was 114.75 ± 60.20 mg/day.

A total of 47 patients (22.81%) dropped out from the study between M0 and M1, 55 (32.93%) between M1 and M3 and 26 (23%) later. Therefore 159 patients participated at this study at the first month of treatment, 112 patients at the third and 87 patients at the sixth month. More detailed demographic and clinical features of 206 patients according to *CYP2D6* and *CYP2C19* phenotype are shown in Tables 2 & 3, respectively.

CYP2D6 & *CYP2C19* genotypes

Genotype distribution was in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium. The *CYP2D6* allele frequencies were: *CYP2D6**4 (16.57%), duplications *CYP2D6**2xN (3.8%), *CYP2D6**5 (2.17%), *CYP2D6**10 (20.10%), *CYP2D6**41 (10.32%), *CYP2D6**3 (0.54%) and *CYP2D6**6 (0.54%). For *CYP2C19* genetic polymorphisms, the two more frequent allelic variants were *CYP2C19**17 (18.4%) and *CYP2C19**2 (12.36%), and *CYP2C19**3, *4 had allele frequencies of only 0.3%, *CYP2C19**5 was not found (Table 1).

CYP2D6 and *CYP2C19* phenotypes & clinical data

Patients were classified into four groups of phenotypes according to the *CYP2D6* and *CYP2C19* genetic polymorphisms. Clinical data were described according to *CYP2D6* (Table 2) and *CYP2C19* (Table 3) phenotypes. Patients were distributed between the various *CYP2D6* phenotype subgroups as follows: 8 ($n = 4.3\%$) subjects were PMs, 51 (27.7%) subjects were IMs,

Table 1. Description and frequency of major human *CYP2D6* and *CYP2C19* gene polymorphisms in this sample (*CYP2D6*: n = 184, *CYP2C19*: n = 182).

Allele	Nucleotide changes (rs number)	Effect	Predicted activity	Allele frequency in this study (%)	n
<i>CYP2C19</i>					
*2	19154G > A (rs4244285)	Splice-site mutation	Inactive	12.36	45
*3	17948G > A (rs4986893)	W212X	Inactive	0.3	1
*4	1A > G (rs28399504)	Missense	Inactive	0.3	1
*5	1297 > T (rs56337013)	Missense	Inactive	0	0
*17	-806C > T (rs12248560)	Promoter region	Increase	18.4	67
<i>CYP2D6</i>					
*3A	2549delA (rs35742686)	Frameshift variant	None	0.54	2
*4	1846G > A (rs3892097)	Splicing defect has several subvariants	None	16.57	61
*5	whole enzyme deletion	<i>CYP2D6</i> gene deleted	None	2.17	8
*6	1707delT (rs5030655)	118 frameshift	None	0.54	2
*10	100C > T (rs1065852)	P34S	Decrease	20.10	74
*41	2988G > A (rs28371725)	Aberrant splicing	Decrease	10.32	38
Duplication	Whole-gene duplication	Copy number variations	Increase	3.8	14

114 subjects were NMs (62%) and 11 (6%) subjects were UMs. For the *CYP2C19* phenotype: 4 (2.2%) were PMs, 38 (29.87%) were IMs, 83 (45.6%) NMs and 57 (31.3%) were UMs (Tables 1 & 2). At baseline, sex was significantly associated with *CYP2D6* phenotype (PMs: 50% female, IMs: 68.6% female, NMs: 64% female, UMs: 100% female, $p = 0.04$).

Regarding the attrition rate after the third month of treatment, for *CYP2D6* it was more important for the PM patients (PM:75%) than for the NM, IM or UM patients (NM: 30.43%, IM: 32.56%, UM:60%). Concerning *CYP2C19*, the attrition rate was more important for NMs (48.88%) than IMs, PMs or UMs (IM: 42.10%, PM: 33.33%, UM: 26.31%). The attrition rate according to the different phenotype was not significant in bivariate analysis (Tables 2 & 3).

CYP2D6 & response to VEN

According to *CYP2D6* phenotype and HDRS score based response criterion, we observed a trend toward lower improvement for the *CYP2D6* UMs than for the NMs after 1 month of treatment ($p = 0.07$) in bivariate analyses (Figure 1A). UMs tended to have a worse HDRS score than IMs, NMs and PMs at M3 (UMs: 19 ± 11.55 , IMs: 11 ± 7.45 , NMs: 12.39 ± 6.21 , PMs: 6.25 ± 3.5 , $p = 0.07$) and a worse response (UMs: 20%, IMs: 65.55%, NMs: 50.72%, PMs: 100%, $p = 0.05$) (Table 1 & Figure 1B & D). The *CYP2D6* phenotype was significantly associated with the

average HDRS score improvement at M3 with a worse HDRS improvement for *CYP2D6* UMs, compared with IMs, NMs and PMs (UMs: $27.47 \pm 30.84\%$, IMs: 55.52 ± 29.22 , NMs: $50.96 \pm 23.41\%$, PMs: $75.88 \pm 11.64\%$, $p = 0.04$) in bivariate analyses. The *CYP2D6* phenotype was not associated with remission at the third month of treatment (Figure 1C). The *CYP2D6* phenotype was no more significantly associated with the average HDRS score improvement in multivariate analyses controlling for sex (Figure 1A). The repeated measures MANOVA failed to show an association between the *CYP2D6* phenotype and the HDRS score improvement for the patients that completed the full course of treatment (F: 1.312; ddl: 4; $p = 0.26$) (Figure 1E).

CYP2C19 & response to VEN

The treatment response estimated by HDRS score showed no difference between the *CYP2C19* phenotype groups at M1, M3 and M6 (Table 2). The ratio of responders was higher in the PM *CYP2C19* group at the third and sixth month of treatment ($n = 66.67\%$, $n = 100\%$) but was not statistically significant (Table 2).

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first large study evaluating the association between VEN efficacy and phenotype according to the genotype of *CYP2D6* and *CYP2C19* in daily practice for depression.

We were not able to show that a routine genotyping of the most frequent *CYP2D6* and *CYP2C19* genetic polymorphisms could be useful and recommended to predict VEN efficacy in depressed patients treated in psychiatric settings.

As far as for the frequency of the *CYP2D6* phenotype, in this sample, the PMs frequency was 4.3%, it was in the same range as observed by Preskorn *et al.* in depressed Caucasian patients [30] and lower as expected in Caucasians healthy volunteers (5–10%) [31]. Interestingly in our study, the *CYP2D6* UMs frequency was 6%, which is higher than the Caucasian healthy volunteers (1–2%) [32] and higher than the frequency (4%) described in the study of Preskorn *et al.* who genotyped a large population for depressed Caucasian patients [30]. More recently Sanchez-Iglesias *et al.* described in a large psychiatric cohort of bipolar disorder of predominantly Caucasian patients (n = 224), a frequency of 4.5% for carriers of *CYP2D6* UM phenotype, whereas Pietarinen *et al.* showed in another large cohort with healthy Caucasian subjects a frequency of 7.2% for *CYP2D6* UM phenotype [33,34]. Concerning the frequency of IM phenotype, in our study it was 27.7%, which is higher than in the study of Caucasian depressed population of Preskorn *et al.* (6.8%) and higher as described by Sachse *et al.* in healthy Caucasian population (10–15%) [30,31]. The difference between the frequency of *CYP2D6* phenotypes in healthy Caucasian population and depressed Caucasian population could be a potential genetic factor influencing the disease onset independently of any drug use. Bertilsson *et al.* described for the first time a personality difference between NMs and PMs, showing in a Swedish sample that PMs are more impulsive [35]. Moreover, another replication study conducted in healthy Spanish volunteers showed that PMs are more anxiety-prone than NMs [36]. Both, impulsivity and anxiety are behavioral characteristics of a diminished serotonergic tone [37]. Yu *et al.* proposed a mechanistic basis for involvement of *CYP2D6* in regeneration of serotonin from an endogenous compound, a metabolite and precursor of melatonin, the 5-methoxytryptamine, and by extension, in serotonergic physiology and neuropsychiatry disorders [38]. It is important to note that in most of the other previously published studies in depressed patients, the UM phenotype was not determined according to the genotype but based on the (ODV/VEN) ratio and patients were only classified in two phenotype groups (NM and PM). The frequency of *CYP2C19* PM phenotype was 2.2% and the frequency of *CYP2C19* UM was 31.3%, those being consistent with the data from the literature: 2–4% for PMs and 30.1% for NMs in Caucasian depressed

patients observed in the Rudberg *et al.* study [39]. In our study *CYP2C19*17/*17* genotype represents 0.55% among depressed patients, whereas in the study of Rudberg *et al.* this genotype represents 4.22%. The frequency of *CYP2C19*17* allele in our study is 18.4%. These data are in line with the study of Rudberg *et al.* *CYP2C19*17* representing 22% [39].

The major findings presented in our study demonstrate no efficacy differences between the four *CYP2D6* phenotype groups (PMs, IMs, NMs and UMs) in a large prospective study during 6 months of evaluation. Our results are in agreement with the three studies that have reported a lack of relationship between *CYP2D6* phenotype, based on genotype and efficacy measures. In the first study, Grasmader *et al.* failed to show a relationship between *CYP2D6* genotype and treatment response but a significant influence of *CYP2D6* genotype on plasma concentrations of new generation antidepressants, but only 17 among 136 patients were treated by VEN. Treatment response was defined according to the 17-item HDRS and at least 3-weekly visit [18]. The second study focused on the association between the *CYP2D6* genotype and response to VEN in an 8-week study in naturalistic settings [23]. Ng *et al.* published a nonrandomized prospective study in mixed Caucasian and Han Chinese ethnicities of depressed patients, who were evaluated during 8 weeks. Among 106 patients they found that *CYP2C19* and *CYP2D6* phenotypes, had no impact on the HDRS reduction. Only 44 patients among the 106 were treated with VEN in this study, the others received escitalopram. This study showed no significant difference in response to PM/IM group compared with NM/UM according to the *CYP2D6* and *CYP2C19* phenotype [23]. This last study has three major limitations: the small sample size of Caucasian depressed patients; the small sample of mixed patients treated by VEN (44); the short time of treatment (8 weeks); and the evaluation of the response by a scale (UKU: [Udvalg for kliniske Undersøgelser] side effects rating scale) which is not the recommended scale to evaluate an antidepressant response. In the third study, Rolla *et al.* analyzed whether the *CYP2D6* genotype had an impact on the duration of treatment and the clinical outcome among 47 patients MDD treated with VEN [24]. The VEN response was assessed with the CGI scale at 6 weeks, 6 months and 1 year in a clinical outpatient setting. The authors observed that UM patients have responded to a dosage higher than usual therapeutic range and did not develop any adverse effects. No significant correlation between efficacy, adverse events and genotype was found in PMs. The main limitations of those three studies were the small sample and heterogeneous population.

Table 2. CYP2D6 phenotype and efficacy of venlafaxine.

M0	CYP2D6 phenotype				p
	PM	IM	NM	UM	
Age; m (SD)	47.14 (± 8.71)	50.55 (10.9)	48.11 (12.6)	45.89 (± 12.29)	0.48
Female; n (%)	4 (50)*	35 (68.6)	73 (64)	11 (100)*	0.04*
Number of previous MDE; m (SD)	1.25 (± 1.03)	1.85 (1.95)	1.76 (1.73)	1.91 (± 1.57)	0.72
MDD duration; m (SD)	11.5 (± 11.58)	9.79 (11.42)	10.97 (11.86)	6.58 (± 8.91)	0.6
Antidepressant previous duration; m (SD)	7.16 (± 8.47)	3.57 (4.91)	2.67 (4.38)	1.61 (± 1.47)	0.13
HDRS					
HDRS M0; m (SD)	26.75 (± 6.84)	25.47 (± 4.74)	24.73 (± 4.71)	25.48 (± 4.06)	0.72
HDRS M1; m (SD)	12.42 (± 4.75)	12.65 (± 7.05)	14.04 (± 6.52)	18 (± 6.88)	0.18
HDRS M3; m (SD)	6.25 (± 3.5)	11 (± 7.45)	12.39 (± 6.21)	19 (± 11.55)	0.07
HDRS M6; m (SD)	4.5 (± 2.38)	12.41 (± 10.19)	10.4 (± 8.02)	4 (± 2.64)	0.17
HDRS% improvement					
HDRS% improvement M1; m (SD)	51.09 (± 27.23)	50.16 (± 25.64)	45.9 (± 25.63)	27.56 (± 18.85)	0.07
HDRS% improvement M3; m (SD)	75.88 (± 11.64)	55.52 (± 29.22)	50.96 (± 23.41)	27.47 (± 30.84)	0.04*
HDRS% improvement M6; m (SD)	82.17 (± 9.75)	49.74 (± 40.11)	58.91 (± 31.12)	82.52 (± 11.70)	0.19
HDRS response					
Responders M1; n (%)	4 (57.14)	24 (55.81)	36 (40)	2 (25)	0.19
Responders M3; n (%)	4 (100)	19 (65.55)	35 (50.72)	1 (20)	0.05
Responders M6; n (%)	4 (100)	14 (58.33)	38 (73.1)	3 (100)	0.24
HDRS remission					
Remitters M1; n (%)	1 (14.28)	13 (30.23)	17 (18.88)	0 (0)	0.2
Remitters M3; n (%)	2 (50)	9 (31)	17 (24.63)	1 (20)	0.63
Remitters M6; n (%)	4 (100)	9 (37.5)	23 (44.23)	3 (100)	0.02*
VEN dose					
Dose M0; m (%)	106.25 (± 37.2)	112.21 (± 59.27)	112.42 (± 59.29)	102.27 (± 39.46)	0.99
Dose M1; m (%)	178.57 (± 71.33)	172.06 (± 76.14)	163.15 (± 73.99)	164 (± 56.53)	0.87
Dose M3; m (%)	200 (± 93.54)	198.68 (± 79.03)	187.78 (± 68.57)	195 (± 85.51)	0.86
Dose M6; m (%)	178 (± 35.86)	194.2 (± 81.72)	183.86 (± 70.56)	200 (± 43.3)	0.82
Attrition					
M1; n (%)	1 (14.28)	8 (18.6)	24 (26.67)	8 (37.5)	0.71
M3; n (%)	3 (75)	14 (32.56)	21 (30.43)	3 (60)	0.51
M6; n (%)	0 (0)	5 (20.83)	17 (32.69)	2 (66.67)	0.21

*Test statistically significant (p < 0.05).
HDRS: Hamilton depression rating scale 17 items; IM: Intermediate metabolizer; m: mean; M0: Month of treatment; M1: First month; M3: Third month; M6: Sixth month; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; NM: Normal metabolizer; PM: Poor metabolizer; SD: Standard deviation; UM: Ultrarapid metabolizer.

In the present study, we observed that *CYP2D6* UMs tend to have a worse response according to HDRS score than the NMs at M1 and M3 of treatment. As we

hypothesized, *CYP2D6* gene duplication might be a factor that modifies the clinical course of depressed patients. In summary, when considering the active metabolite

ODV, it should make us think that UMs for *CYP2D6* should have a better drug efficacy. Our results do not bring out an important difference. Even if our results are not statistically significant in multivariate models, our observations are in agreement with the study of Kawanishi *et al.* who described the *CYP2D6* phenotype and response to different antidepressants [22]. Interestingly, few studies analyzed the influence of *CYP2D6* UM phenotype and the response to treatment with VEN [21]. Rolla *et al.* showed that UMs patients needed a higher dose to have a response but with mirtazapine, Kirchheiner *et al.* have shown that *CYP2D6* duplication may only explain a very small fraction of the cases with therapeutic nonresponse to treatment [40]. Moreover, our negative results could be explained by the fact that ODV, the main VEN metabolite, is pharmacologically active, as is VEN the mother drug. The PMs have high VEN concentration and low ODV concentration and the EM have low VEN concentration and high ODV concentration. This could contribute to the negative results between genotypes/phenotypes and therapeutic response as the sum (active moiety) would not vary to a large extent between genotypes.

A low improvement of *CYP2D6* UMs could be also explained by the stereo-selective disposition in humans [41]. Although the study of Eap *et al.* showed that in seven NMs and five PMs Caucasian patients, and any UM, *CYP2D6* catalyzes both enantiomers of VEN toward ODV but displays an important stereoselectivity toward the (R)-enantiomer. Previously the oral clearance of VEN was shown higher for the (R)-enantiomer in PMs and for the (S)-enantiomer in NMs. *In vitro* studies showed that (S)-VEN inhibits noradrenaline and serotonin presynaptic reuptake, while (R)-VEN inhibits serotonin uptake [6]. To the best of our knowledge, no studies have examined the VEN stereoselectivity in the disposition of VEN for UMs. Therefore, this may be an explanation for an improvement of UMs compared with NMs [41]. Although *CYP2C19* genetic polymorphisms did not predict the response in our study, the *CYP2C19* genetic polymorphisms were not often studied [34]. Our hypothesis is that *CYP2C19* and *CYP3A4* may be involved in the synthesis of secondary active metabolites such as NDV in these patients. This result could be explained by the fact that the largest impact of the *CYP2D6* phenotype on the pharmacokinetics of VEN was on the *CYP3A4* NDV metabolite [5]. Our study is the first largest study investigating *CYP2C19* with *CYP2D6*. Only one association study based on the *CYP2C19* and *CYP2D6* polymorphisms and VEN pharmacokinetics shows that in Japanese population, *CYP2D6**10 and *CYP2C19**2 and *3, common in Asian individuals, are genetic factors to be used in determining inter-

individual differences in pharmacokinetics of VEN and the NDV. The interindividual difference could also be explained by the *CYP3A4* [42].

A few studies described that patients with the NM or UM genotype are in fact PM when they received a concomitant inhibitor, phenomenon called 'phenoconversion' [43–46]. Moreover, Preskorn *et al.* showed in a multicentered naturalistic study of VEN treatment up to 8 weeks a phenoconversion to *CYP2D6* PM in 208 of 865 (24%) individuals with a *CYP2D6* non-PM genotype [46]. In addition, Berm *et al.* in a *post hoc* analysis of a clinical trial with 81 elderly patients (50% among them treated with VEN) showed no phenoconversion from PM to NM or *vice versa*, but a phenoconversion from IM to NM in 36% of population. Additionally, PMs were found to have higher risk of nonresponse on HDRS scale [45].

Generally, VEN is a molecule that is well-tolerated [5]. Nevertheless, Shams *et al.* showed that a PM phenotype is at higher risk of side effects compared with others phenotypes [16,45,47–49]. Other studies showed an important cardiotoxicity among the mentioned side effects [47–49].

Among the three main limitations of the study, the first one is an important attrition rate at the sixth month of treatment. But, attrition is faced by all longitudinal epidemiological studies with 'real-world' treatment options [48]. For example, our attrition rate was similar to the attrition rate of the STAR*D (Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression) cohort, the main naturalistic study of antidepressant drugs with MDD patients of the STAR*D cohort in which 58.2% of patients stopped their antidepressant or dropped-out from the study before 3 months of treatment [50]. Second, the lack of randomization may lead to biases related to individual characteristics and their respective treatment response. This study is based on real-life clinical conditions. This study is based on real-life clinical conditions. The dose of VEN was freely adapted by the clinician who was not aware about the genotype/phenotype of *CYP2D6* and *CYP2C19*. It cannot be excluded that the doses of prescribed VEN were empirically adapted by the clinician in function of the clinical response of patients. Indeed, this decreases the likelihood to find significant influence of the genotype. Third, the lack of plasma concentration monitoring of VEN and its major metabolites might have explained better the differences in clinical response, as well as compliance.

Despite the limitations described above, some strengths of our research can be underlined. Our study provides information about patients treated in a real world that can provide valuable information. Moreover, this study broadens the limited number

of studies performed in clinical setting, which have lower sample sizes. Second, none of the treating psychiatrists was aware of the *CYP2D6* and *CYP2C19* genotype prior to drug prescription and dosages

adjustments. Therefore, the prescriptions were based exclusively on the HDRS score and clinical response at different time until 6 months. Third, all patients analyzed in this study were selected because they

Table 3. *CYP2C19* phenotype and efficacy of venlafaxine.

M0	<i>CYP2C19</i> phenotype				p
	PM	IM	NM	RM	
Age; m (SD)	48.24 (± 5.58)	46.94 (± 12.39)	48.87 (± 11.87)	49.29 (± 12.49)	1
Female; n (%)	3 (75)	29 (76.31)	52 (62.65)	38 (66.7)	0.51
Number of previous MDE; m (SD)	3.25 (± 0.95)	1.61 (± 1.39)	1.9 (± 1.85)	1.61 (± 1.82)	0.11
MDD duration; m (SD)	9.99 (± 4.63)	10.87 (± 12.47)	11.23 (± 11.79)	9.22 (± 11.06)	0.69
Antidepressant previous duration; m (SD)	7.62 (± 5.78)	2.92 (± 4.61)	3.26 (± 5.11)	2.60 (± 4.09)	0.16
HDRS					
HDRS M0; m (SD)	28 (± 1.41)	23.63 (± 3.8)	25.03 (± 4.49)	25.50 (± 5.62)	0.15
HDRS M1; m (SD)	17 (± 3.16)	13.59 (6.77)	13.61 (± 7.05)	13.58 (± 5.92)	0.66
HDRS M3; m (SD)	12.66 (± 7.5)	13.47 (7.32)	11.04 (± 6.71)	11.78 (± 6.03)	0.51
HDRS M6; m (SD)	7.5 (± 7.78)	13.16 (9.10)	10.35 (± 8.93)	9.10 (± 7.55)	0.61
HDRS% improvement					
HDRS% improvement M1; m (SD)	38.87 (± 13.54)	42.5 (± 27.10)	44.67 (± 28.51)	46.47 (± 21.47)	0.93
HDRS% improvement M3; m (SD)	56.11 (± 25.56)	42.89 (± 30.59)	56.91 (± 24.03)	52.98 (± 23.22)	0.27
HDRS% improvement M6; m (SD)	73.74 (± 26.25)	41.48 (42.55)	59.83 (± 31.54)	64.90 (± 27.91)	0.41
HDRS response					
Responders M1; n (%)	1 (25)	12 (44.44)	33 (49.25)	19 (39.58)	0.67
Responders M3; n (%)	2 (66.67)	7 (36.84)	29 (64.44)	21 (55.26)	0.22
Responders M6; n (%)	2 (100)	7 (58.33)	27 (69.23)	23 (79.31)	0.43
HDRS remission					
Remitters M1; n (%)	0 (0)	7 (25.92)	15 (22.38)	9 (18.75)	0.75
Remitters M3; n (%)	1 (33.33)	5 (26.31)	14 (31.11)	9 (23.68)	0.86
Remitters M6; n (%)	1 (50)	4 (33.33)	19 (48.71)	15 (51.72)	0.79
VEN dose					
Dose M0; % (SD)	131.25 (± 37.5)	109.81 (± 50.9)	106.89 (± 50.27)	117.89 (± 71.17)	0.65
Dose M1; % (SD)	243.75 (± 37.5)	177.74 (± 72.59)	154.64 (± 71.35)	167.91 (± 75.25)	0.05
Dose M3; % (SD)	200 (± 43.30)	201.31 (± 78.38)	184.15 (± 69.96)	193.94 (± 76.64)	0.83
Dose M6; % (SD)	225 (± 0)	200 (± 66.57)	175.58 (± 65.41)	194.79 (± 83.37)	0.58
Attrition					
M1; n (%)	0 (0)	11 (40.27)	16 (23.88)	9 (18.75)	0.38
M3; n (%)	1 (33.33)	8 (42.10)	22 (48.88)	10 (26.31)	0.45
M6; n (%)	1 (50)	7 (58.33)	6 (15.38)	9 (31.03)	0.08

*test statistically significant (p < 0.05).
 HDRS: Hamilton depression rating scale 17 items; IM: Intermediate metabolizer; M: mean; M1: First month; M3: Third month; M6: Sixth month; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; NM: Normal metabolizer; PM: Poor metabolizer; RM: Rapid metabolizer; SD: Standard deviation.

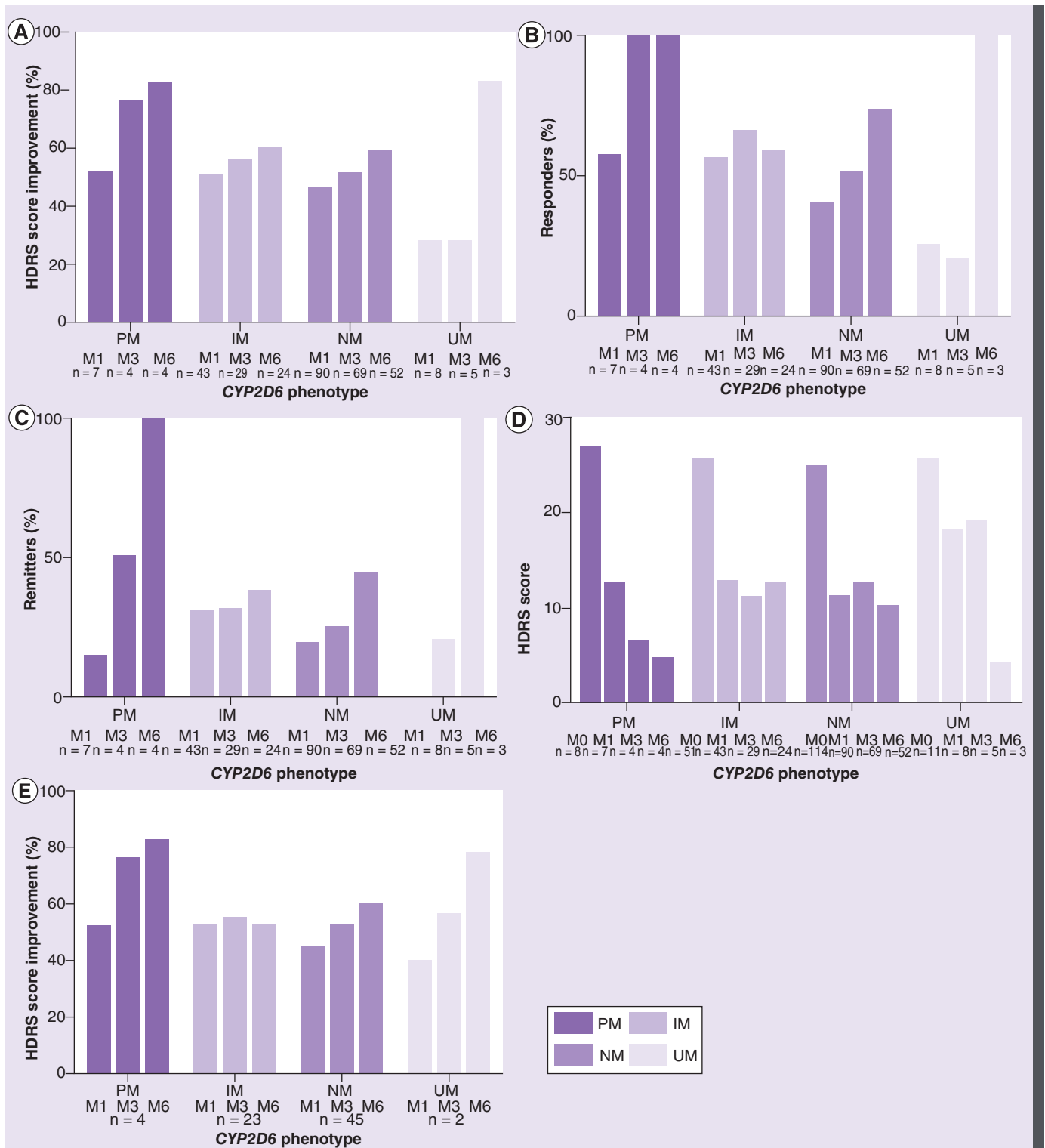


Figure 1. Hamilton depression rating scale score improvement, responders, remitters and Hamilton depression rating scale score over time depending on CYP2D6 phenotype: poor metabolizer; intermediate metabolizer, normal metabolizer and ultrarapid metabolizer. M1 – the first month of treatment, M3 – the third month of treatment, M6 – the sixth month of treatment; (A) Hamilton depression rating scale (HDRS) score improvement; (B) Responders: HDRS score decrease at least 50% from baseline to 1, 3 and 6 months; (C) Remitters: HDRS score of 7 or less after 1, 3 and 6 months of treatment; (D) HDRS score at baseline, 1, 3 and 6 months; (E) HDRS score improvement of patients that completed the full course of treatment; HDRS score improvement, response, remission and HDRS score were analyzed using multivariate model adjusted for sex.

were treated only with VEN according to the criteria of the well-characterized METADAP cohort.

To the best of our knowledge our study is the first one that aimed to investigate whether genetic polymorphisms in *CYP2D6* and *CYP2C19* predict VEN efficacy. Another similar study with two virtual cohorts of 1000 depressive patients has been done to determine the costs and effects of routine genotyping of *CYP2D6* for Dutch patients treated with nortriptyline and showed that *CYP2D6* genotyping was not cost-effective at current genotyping costs, but it could be effective at test costs below €40 [51]. Further prospective pharmacogenetics studies are needed to evaluate in psychiatric settings, the part of *CYP2D6* and *CYP2C19* genetic polymorphisms, mainly by identifying new rare variants of these cytochromes using the new technologies as next-generation sequencing.

Conclusion

In a large cohort of depressed patients and a long-term follow-up, we were not able to recommend a routine genotyping of *CYP2D6* and *CYP2C19* polymorphisms to predict VEN efficacy in depressed patients treated in psychiatric settings.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Center of Biological Resources (CRB) Paris South for the management of the biological samples. Authors sincerely thank all patients who participated in this study.

Financial & competing interests disclosure

Funding for this study was provided by the Programme Hospitalier de Recherche Clinique National of the French Ministry of Health (AOM06022 – E Corruble). Funder had no further role in study design, in the collection, analysis and interpretation of data, in the writing of the report and in the decision to submit the paper for publication. A Taranu was supported by a grant from the University Paris Sud. L Becquemont: Antisens Therapeutics, Alnylam Pharmaceuticals, PregLem SA, ISIS Pharmaceutical, Novartis, Pharma, Auris Medical, Medday Pharmaceuticals, Gilead, Sanofi-Aventis, Pfizer, Servier, Genzyme, GlaxoSmithKline, Bristol-Myers Squibb, Merck Sharp and Dohme. The authors have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript apart from those disclosed.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

Summary points

Background

- The antidepressant venlafaxine (VEN) is metabolized by *CYP2D6* and *CYP2C19* in the liver.
- The aim of this study was to assess the relevance of generalizing to daily practice the genotyping of *CYP2D6* and *CYP2C19* to predict VEN efficacy in depressed in-patients treated in psychiatric settings.
- This study was nested in the METADAP cohort, a 6-month prospective, multicenter, real-world setting and treatment study, including patients suffering from a unipolar Major Depressive Episode (DSM-IVTR) and requiring a new antidepressant treatment.
- Two hundred and six Caucasian depressed patients were systematically genotyped for the major *CYP2D6* *3, *4, *5 del, *6, 2xN, *10, *41 and *CYP2C19* *2, *3, *4, *5, *17 alleles.

Results

- The *CYP2D6* and *CYP2C19* phenotypes were associated neither with the HDRS score improvement, nor with response and remission.

Conclusion

- Routine *CYP2D6* and *CYP2C19* genotyping cannot be recommended to predict VEN efficacy in depressed patients treated in psychiatry settings.

References

Papers of special note have been highlighted as: • of interest; •• of considerable interest

- 1 Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat. Rev. Neurosci.* 7(2), 137–151 (2006).
- 2 Entsuah AR, Huang H, Thase ME. Response and remission rates in different subpopulations with major depressive disorder administered venlafaxine, selective serotonin reuptake inhibitors, or placebo. *J. Clin. Psychiatry* 62(11), 869–877 (2001).
- 3 Preskorn S, Patroneva A, Silman H *et al.* Comparison of the pharmacokinetics of venlafaxine extended release and desvenlafaxine in extensive and poor cytochrome P450 2D6 metabolizers. *J. Clin. Psychopharmacol.* 29(1), 39–43 (2009).
- 4 Veefkind AH, Haffmans PM, Hoencamp E. Venlafaxine serum levels and *CYP2D6* genotype. *Ther. Drug Monit.* 22(2), 202–208 (2000).
- 5 Sangkuhl K, Stingl JC, Turpeinen M, Altman RB, Klein TE. PharmGKB summary: venlafaxine pathway. *Pharmacogenet. Genomics* 24(1), 62–72 (2014).
- 6 Fogelman SM, Schmider J, Venkatakrisnan K *et al.* O- and N-demethylation of venlafaxine *in vitro* by

- human liver microsomes and by microsomes from cDNA-transfected cells: effect of metabolic inhibitors and SSRI antidepressants. *Neuropsychopharmacology* 20(5), 480–490 (1999).
- 7 Otton SV, Ball SE, Cheung SW, Inaba T, Rudolph RL, Sellers EM. Venlafaxine oxidation *in vitro* is catalysed by CYP2D6. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 41(2), 149–156 (1996).
 - 8 Hicks JK, Bishop JR, Sangkuhl K *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin. Pharmacol. Ther.* 98(2), 127–134 (2015).
 - 9 Marez D, Legrand M, Sabbagh N *et al.* Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics* 7(3), 193–202 (1997).
 - 10 CYP2D6 allele nomenclature. www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm
 - 11 CYP2C19 allele nomenclature. www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm
 - 12 Spina E, De Leon J. Clinical applications of CYP genotyping in psychiatry. *J. Neural Transm. (Vienna)* 122(1), 5–28 (2015).
 - 13 Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol. Ther.* 138(1), 103–141 (2013).
 - 14 Bertilsson L, Dahl ML, Dalen P, Al-Shurbaji A. Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 53(2), 111–122 (2002).
 - 15 Hicks JK, Sangkuhl K, Swen JJ *et al.* Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 update. *Clin. Pharmacol. Ther.* doi:10.1002/cpt.597 (2016) (Epub ahead of print).
 - 16 Shams ME, Arneth B, Hiemke C *et al.* CYP2D6 polymorphism and clinical effect of the antidepressant venlafaxine. *J. Clin. Pharm. Ther.* 31(5), 493–502 (2006).
 - 17 Rau T, Wohlleben G, Wuttke H *et al.* CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants – a pilot study. *Clin. Pharmacol. Ther.* 75(5), 386–393 (2004).
 - 18 Grasmader K, Verwohlt PL, Rietschel M *et al.* Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasma concentrations and clinical effects of antidepressants in a naturalistic clinical setting. *Eur J. Clin. Pharmacol.* 60(5), 329–336 (2004).
 - 19 Van Der Weide J, Van Baalen-Benedek EH, Kootstra-Ros JE. Metabolic ratios of psychotropics as indication of cytochrome P450 2D6/2C19 genotype. *Ther. Drug Monit.* 27(4), 478–483 (2005).
 - 20 Nichols AI, Lobello K, Guico-Pabia CJ, Paul J, Preskorn SH. Venlafaxine metabolism as a marker of cytochrome P450 enzyme 2D6 metabolizer status. *J. Clin. Psychopharmacol.* 29(4), 383–386 (2009).
 - 21 Lobello KW, Preskorn SH, Guico-Pabia CJ *et al.* Cytochrome P450 2D6 phenotype predicts antidepressant efficacy of venlafaxine: a secondary analysis of 4 studies in major depressive disorder. *J. Clin. Psychiatry* 71(11), 1482–1487 (2010).
 - 22 Kawanishi C, Lundgren S, Agren H, Bertilsson L. Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders: ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 59(11), 803–807 (2004).
 - 23 Ng C, Sarris J, Singh A *et al.* Pharmacogenetic polymorphisms and response to escitalopram and venlafaxine over 8 weeks in major depression. *Hum. Psychopharmacol.* 28(5), 516–522 (2013).
 - 24 Rolla R, Gramaglia C, Dalo V *et al.* An observational study of Venlafaxine and CYP2D6 in clinical practice. *Clin. Lab.* 60(2), 225–231 (2014).
 - 25 Corruble E, El Asmar K, Trabado S *et al.* Treating major depressive episodes with antidepressants can induce or worsen metabolic syndrome: results of the METADAP cohort. *World Psychiatry* 14(3), 366–367 (2015).
 - 26 Colle R, De Larminat D, Rotenberg S *et al.* Pioglitazone could induce remission in major depression: a meta-analysis. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 13, 9–16 (2017).
 - 27 Hamilton M. A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 23, 56–62 (1960).
 - 28 Coulbault L, Beaussier M, Verstuyft C *et al.* Environmental and genetic factors associated with morphine response in the postoperative period. *Clin. Pharmacol. Ther.* 79(4), 316–324 (2006).
 - 29 Steen VM, Andreassen OA, Daly AK *et al.* Detection of the poor metabolizer-associated CYP2D6(D) gene deletion allele by long-PCR technology. *Pharmacogenetics* 5(4), 215–223 (1995).
 - 30 Preskorn SH. Understanding outliers on the usual dose-response curve: venlafaxine as a way to phenotype patients in terms of their CYP 2D6 status and why it matters. *J. Psychiatr. Pract.* 16(1), 46–49 (2010).
 - 31 Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am. J. Hum. Genet.* 60(2), 284–295 (1997).
 - 32 Lundqvist E, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the human CYP2D6 gene and methods for detection of duplicated CYP2D6 genes. *Gene* 226(2), 327–338 (1999).
 - 33 Sanchez-Iglesias S, Garcia-Solaesa V, Garcia-Berrocal B *et al.* Role of pharmacogenetics in improving the safety of psychiatric care by predicting the potential risks of mania in cyp2d6 poor metabolizers diagnosed with bipolar disorder. *Medicine (Baltimore)* 95(6), e2473 (2016).
 - 34 Pietarinen P, Tornio A, Niemi M. High frequency of CYP2D6 ultrarapid metabolizer genotype in the Finnish population. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 119(3), 291–296 (2016).
 - 35 Bertilsson L, Alm C, De Las Carreras C, Widen J, Edman G, Schalling D. Debrisoquine hydroxylation polymorphism and personality. *Lancet* 1(8637), 555 (1989).

- 36 Llerena A, Edman G, Cobaleda J, Benitez J, Schalling D, Bertilsson L. Relationship between personality and debrisoquine hydroxylation capacity. Suggestion of an endogenous neuroactive substrate or product of the cytochrome P4502D6. *Acta Psychiatr. Scand.* 87(1), 23–28 (1993).
- 37 Coccaro EF. Impulsive aggression and central serotonergic system function in humans: an example of a dimensional brain-behavior relationship. *Int Clin. Psychopharmacol.* 7(1), 3–12 (1992).
- 38 Yu AM, Idle JR, Byrd LG, Krausz KW, Kupfer A, Gonzalez FJ. Regeneration of serotonin from 5-methoxytryptamine by polymorphic human *CYP2D6*. *Pharmacogenetics* 13(3), 173–181 (2003).
- 39 Rudberg I, Mohebi B, Hermann M, Refsum H, Molden E. Impact of the ultrarapid *CYP2C19*17* allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin. Pharmacol. Ther.* 83(2), 322–327 (2008).
- 40 Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M *et al.* Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol. Psychiatry* 9(5), 442–473 (2004).
- 41 Eap CB, Lessard E, Baumann P *et al.* Role of *CYP2D6* in the stereoselective disposition of venlafaxine in humans. *Pharmacogenetics* 13(1), 39–47 (2003).
- 42 Fukuda T, Nishida Y, Zhou Q, Yamamoto I, Kondo S, Azuma J. The impact of the *CYP2D6* and *CYP2C19* genotypes on venlafaxine pharmacokinetics in a Japanese population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 56(2), 175–180 (2000).
- 43 Nassan M, Nicholson WT, Elliott MA, Rohrer Vitek CR, Black JL, Frye MA. Pharmacokinetic pharmacogenetic prescribing guidelines for antidepressants: a template for psychiatric precision medicine. *Mayo Clin. Proc.* 91(7), 897–907 (2016).
- 44 Shah RR, Smith RL. Addressing phenoconversion: the Achilles' heel of personalized medicine. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 79(2), 222–240 (2015).
- 45 Berm E, Kok R, Hak E, Wilffert B. Relation between *CYP2D6* genotype, phenotype and therapeutic drug concentrations among nortriptyline and venlafaxine users in old age psychiatry. *Pharmacopsychiatry* 49(5), 186–190 (2016).
- 46 Preskorn SH, Kane CP, Lobello K *et al.* Cytochrome P450 2D6 phenoconversion is common in patients being treated for depression: implications for personalized medicine. *J. Clin. Psychiatry* 74(6), 614–621 (2013).
- 47 Chua EW, Foulds J, Miller AL, Kennedy MA. Novel *CYP2D6* and *CYP2C19* variants identified in a patient with adverse reactions towards venlafaxine monotherapy and dual therapy with nortriptyline and fluoxetine. *Pharmacogenet. Genomics* 23(9), 494–497 (2013).
- 48 Lamers F, Hoogendoorn AW, Smit JH *et al.* Sociodemographic and psychiatric determinants of attrition in the Netherlands Study of depression and anxiety (NESDA). *Compr. Psychiatry* 53(1), 63–70 (2012).
- 49 Vinetti M, Haufroid V, Capron A, Classen JF, Marchandise S, Hantson P. Severe acute cardiomyopathy associated with venlafaxine overdose and possible role of *CYP2D6* and *CYP2C19* polymorphisms. *Clin. Toxicol. (Phila.)* 49(9), 865–869 (2011).
- 50 Trivedi MH, Rush AJ, Wisniewski SR *et al.* Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am. J. Psychiatry* 163(1), 28–40 (2006).
- 51 Berm EJ, Gout-Zwart JJ, Luttjeboer J, Wilffert B, Postma MJ. A Model Based cost-effectiveness analysis of routine genotyping for *cyp2d6* among older, depressed inpatients starting nortriptyline pharmacotherapy. *PLoS ONE* 11(12), e0169065 (2016).

The Catechol-O-methyltransferase Val(108/158)Met Genetic Polymorphism cannot be Recommended as a Biomarker for the Prediction of Venlafaxine Efficacy in Patients Treated in Psychiatric Settings

Adela Taranu¹, Khalil El Asmar¹, Romain Colle^{1,2}, Florian Ferreri³, Mircea Polosan^{4,5}, Denis David¹, Laurent Becquemont^{1,6}, Emmanuelle Corruble^{1,2} and Céline Verstuyft^{1,7,8}

¹INSERM UMR1178, Team 'Depression and Antidepressants', University of Medicine of Paris-Sud, University Paris-Sud, Le Kremlin Bicetre, France, ²Service of Psychiatry, Group of Hospitals of Paris Sud, AP-HP, Hospital Bicetre, Le Kremlin Bicetre, France, ³Service of Psychiatry, Group of Hospitals of Paris Est, AP-HP, Hospital Saint-Antoine, Paris, France, ⁴Grenoble Institute of Neurosciences, Inserm U1216 GIN, University of Grenoble Alpes, Grenoble, France, ⁵Hospital of Grenoble, Grenoble, France, ⁶Clinical Research Center (CRC), Group of Hospitals of Paris Sud, AP-HP, Hospital Bicetre, Le Kremlin Bicetre, France, ⁷Service of Molecular Genetics, Pharmacogenetics and Hormonology, Group of Hospitals of Paris Sud, AP-HP, Hospital Bicetre, Le Kremlin Bicetre, France and ⁸Center of Biological Resources of Paris-Sud, Group of Hospitals of Paris Sud, AP-HP, Hospital Bicetre, Le Kremlin Bicetre, France

(Received 1 April 2017; Accepted 4 June 2017)

Abstract: The antidepressant venlafaxine is known to increase the turnover of cerebral monoamines, which are catabolized by the catechol-O-methyltransferase (COMT). The *COMT* (Val(108/158)Met, rs4680) genetic polymorphism affects the cerebral COMT activity. But whether this genetic polymorphism is associated with response to venlafaxine remains unclear. We assessed the impact of the *COMT* Val(108/158)Met, rs4680 genetic polymorphism on the efficacy of venlafaxine in depressed patients. This study was nested in the METADAP cohort, a real-world naturalistic treatment study in psychiatric settings. A total of 206 Caucasian patients with a unipolar major depressive episode (DSM-IVTR) treated with venlafaxine and evaluated with the Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) were studied. One hundred and eighty patients were genotyped for the *COMT* Val(108/158)Met, rs4680 genetic polymorphism and classified into three genotype subgroups: Val/Val, Val/Met and Met/Met. The *COMT* genotype was the explanatory variable, and the variables to be explained were HDRS score, HDRS score improvement over time, response rate and remission rate. Venlafaxine had a trend to higher efficacy in the Val/Val patients as compared to Met/Met carriers, as shown by the HDRS score improvement after 3 months of treatment, but this result was not significant in mixed models [Val/Val: 59.78% (±22.4); Val/Met: 51.64% (±26.3); Met/Met: 39.52% (±27.6)]. The percentage of responders and remitters after 3 months of treatment was not significantly different in the three genotype groups, although coherent trends were shown. The *COMT* Val(108/158)Met, rs4680 genetic polymorphism cannot be recommended as a biomarker for the prediction of venlafaxine efficacy in patients treated in psychiatric settings.

Major depressive disorder (MDD) is the most common psychiatric disorder with a life-time prevalence of around 16% [1]. This disorder has a heavy impact on the individual well-being and has been predicted to become the second leading cause of the global burden of disease by the year 2020 [2]. MDD is a multi-factorial disease influenced by genetic, environmental and physiological factors [3,4].

Unfortunately, response to antidepressant drugs (ADD) in patients suffering from MDD remains insufficient as up to one-third of patients adequately treated for major depressive disorder (MDD) do not respond to multiple interventions [5]. This variability of ADD response partly relies on specific socio-demographic and clinical factors [5] but also on genetic factors [6,7].

Many pharmacogenetic studies have examined the association between antidepressant response and candidate genes

involved in the serotonergic system, but only few studies have focused on dopaminergic or noradrenergic systems [3,8]. The catechol-O-methyltransferase (COMT) inactivates norepinephrine and dopamine via methyl conjugation and therefore is a promising candidate for pharmacogenetic studies [9,10].

A single functional genetic polymorphism, rs4680 (427G>A) causes an aminoacid change from valine to methionine in codon 158 (Val158Met) for the membrane-bound isoform (MB-COMT) and in codon 108 (Val108Met), corresponding to codon 158 of MB-COMT, for the soluble isoform (S-COMT). It was shown *in vitro* that the *COMT* Val(108/158)Met genetic polymorphism influences the enzyme activity: high activity for the Val/Val carriers, intermediate activity for the Val/Met carriers and low activity for the Met/Met carriers. Carriers of Met allele have three to four times lower enzymatic activity than those of Val allele [6].

Clinical studies testing an association of *COMT* Val(108/158)Met, rs4680 genetic polymorphism with antidepressant response also showed contrasting results in MDD patients. One possible explanation for the contradictory results could be

Author for correspondence: Céline Verstuyft, Service of Molecular Genetics, Pharmacogenetics and Hormonology, Public Assistance Paris Hospitals, Hospital Bicetre, 78 rue du General Leclerc, 94275, Le Kremlin Bicetre, France (e-mail celine.verstuyft@aphp).

the rather broad definition of MDD and in the complex way of defining a MDD [7].

Eight studies showed a positive association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* and antidepressant response evaluated on HDRS score [11–18]. Three studies reported a better response in *Val* carriers in depressed patients [15–17]. One study reported that *Val/Val* genotypes had a better improvement on HDRS score than *Met/Met* genotypes with venlafaxine ($n = 126$ patients, $n = 128$ placebo [17]), another one showed a better response to mirtazapine in *Val* carriers ($n = 53$ [15]), and one metabolomic study evaluating duloxetine HDRS response and plasma metabolites showed that *Val/Val* Japanese patients have increased plasma concentration of a catecholamine metabolite 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol ($n = 64$ patients and $n = 30$ controls), showing that the *Val/Val* genotype is more sensitive to the influence to duloxetine treatment on noradrenergic neurons but not the HDRS response [16].

In another way, five studies reported a better response in *Met/Met* carriers for Caucasian patients treated with milnacipran for 6 weeks ($n = 81$ [11]), the SSRI paroxetine for 1 month ($n = 55$ [13]), the SSRI fluvoxamine for 6 weeks ($n = 55$ [14]) and an inhibitor not specified for 8 weeks ($n = 25$ [18]) and Chinese patients treated with fluoxetine after 8 weeks of treatment but not after 4 weeks ($n = 334$ [12]).

On the other hand, ten studies showed no association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism and antidepressant response evaluated on the HDRS score on depressed patients [15,19–25], with different treatments on the MADRS (Montgomery–Åsberg Depression Rating Scale) that evaluates the severity of depressive episodes [26] and on the HAM-A (Hamilton Anxiety Rating Scale) [27] that evaluates the severity of a patient's anxiety. No effects were reported on response to venlafaxine and paroxetine on Korean patients ($n = 184$ patients and $n = 200$ healthy controls [19]); to venlafaxine and other antidepressants ($n = 226$ patients and $n = 557$ controls) [22]; to venlafaxine ($n = 112$ [27]); and to citalopram (STAR*D study: $n = 1953$ [24] and $n = 139$ [20]). No effects were shown in response to all antidepressants pooled together in a homogenous population of Caucasian patients evaluated by the HDRS: ($n = 225$ [21]; and $n = 396$ patients and $n = 295$ controls [23]); to SSRIs in Caucasian patients: paroxetine and fluvoxamine ($n = 207$ [20]); paroxetine, fluvoxamine and citalopram ($n = 86$ [26]); paroxetine ($n = 49$ [15]); and fluoxetine ($n = 64$ [25]).

Among the studies mentioned above, only four studied the association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism and the response to venlafaxine [17,19,22,27]. One study showed that *Val/Val* genotypes had a better improvement than *Met/Met* genotypes [17], and three studies showed no association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism and the response to venlafaxine [19,22,27].

Therefore, we aimed to investigate whether the *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism could be a biomarker for the prediction of venlafaxine efficacy in patients treated in psychiatric settings in a cohort of well-phenotyped and homogenous MDD patients followed after ADD introduction.

Materials and Methods

Study population. The METADAP cohort is a 6-month prospective, multi-centre, real-world setting, treatment study, including 624 in- or outpatients of various ethnicities suffering from a unipolar major depressive episode (MDE) in a context of major depressive disorder (MDD) (DSM-IVTR) and requiring a new antidepressant treatment. The antidepressant treatment had to be a monotherapy. The drug and its dose were left to the treating psychiatrist, using 'real-world' treatment options [28,29]. Data were collected from November 2009 to March 2013 in six university psychiatry departments in France. Written informed consent was obtained from all patients participating in this study.

Patients were included based on the following criteria: aged 18–65 years, with a current MDE (with a minimum score of 18 at the Hamilton Depression Rating Scale-17 items (HDRS-17) [30]) in a context of MDD. Patients with psychotic symptoms, bipolar disorders, psychotic disorders, eating disorders, current substance abuse or dependence, pregnancy, organic brain syndromes or severe unstable medical conditions were not included. Patients receiving antipsychotics or mood stabilizers before inclusion and/or for 4 months or more during the last year were not included. They were evaluated for depression symptoms at the start of the treatment (M0) and 1 month (M1), 3 months (M3) and 6 months (M6) later.

Our sample is the subgroup of 206 Caucasian patients treated with venlafaxine. Among them, 180 patients could be genotyped for *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism, but DNA could not be amplified for the remaining 26 patients. The patients who prematurely dropped out of the study between the baseline and the first month of treatment, between the first and the third and between the third and the sixth month were excluded from the analyses. The drop-out reasons were as follows: stop of the antidepressant drug, prescription of unauthorized drugs, change of diagnosis, investigator's decision, patient's decision or other reason.

Genotyping. Genomic DNA was extracted from circulating blood leucocytes using Gentra Puregene Blood Kits according to the manufacturer's protocol (Qiagen, S.A., Courtaboeuf, France) and was stored at -20°C . Genotyping of *Val(108/158)Met, rs4680* was performed using the Fluidigm SNP Type Assays[®] according to the manufacturer's recommendations. The assays are based on allele-specific PCR SNP detection chemistry using the BioMark[®] HD System (Fluidigm, San Francisco, CA, USA). The call rate for the final set of SNPs was 99%. The *COMT* genotypes were evaluated as blind samples. Each analysis included positive and negative control for quality assurance. Patients were classified into three genotypes: *Val/Val*, *Val/Met* and *Met/Met*. The METADAP study was approved by the Ethics Committee of Paris-Boulogne, France, and conformed to international ethical standards that cover all genotype procedures.

Venlafaxine efficacy. Clinical response was assessed using the HDRS score. The *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genotype was the explanatory variable, and the variables to be explained were HDRS score, HDRS score improvement over time, response rate and remission rate. The HDRS score improvement over time was defined by the percentage of the difference between the HDRS score at the follow-up and the HDRS score at baseline divided by the HDRS score at baseline. Response was defined by a decrease in the HDRS score of at least 50% from baseline to follow-up (M1, M3 or M6). Remission was defined by a HDRS score of 7 or less at follow-up (M1, M3 or M6) [28,29].

Statistical methods. Descriptive statistics were performed first for the three genotypes: *Val/Val*, *Val/Met* and *Met/Met*. Bivariate analyses were performed using parametric statistics to compare the effects of

each genotype on HDRS score, HDRS improvement score, response rate and remission rate. Categorical variables were compared by means of parametric chi-square test. As the distribution data were normal, continuous variables were compared by means of parametric ANOVA test ($n > 2$ categories). Mixed models controlled for the potential confounding factors of age, sex and venlafaxine dose were performed to compare the association of *COMT Val(108/158)Met, rs4680* with HDRS score or HDRS improvement score over time between the three genotypes as well as among each genotype. The R Software version 2.14.1 and GraphPad Prism version 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) were used. All tests were two-tailed, with the significance level of the p value set at 0.05.

Results

Socio-demographic characteristics.

The 180 patients genotyped for *COMT Val(108/158)Met, rs4680* and treated with venlafaxine had an average age of 48.54 ± 11.97 years. They were 66.22% female and were Caucasian. Their HDRS-17 score was 24.92 ± 4.77 at baseline, 13.72 ± 6.67 at M1, 12 ± 6.97 at M3 and 10.14 ± 8.22 at M6. The average life-time duration of MDD before inclusion

was 10.35 ± 11.32 years. Their mean number of previous MDE was 1.77 ± 1.75 . Thirty-four (23.28%) patients dropped out between M0 and M1, 41 (39.04%) patients between M1 and M3 and 24 (29.63%) patients later. The attrition rate was not significantly different between the three groups (table 1).

In this analysis, the genotype distributions were in accordance with Hardy–Weinberg equilibrium ($p = 0.17$). Allele frequencies of *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism were 55.6% for *Val* allele and 44.4% for *Met* allele. At baseline, the *Val/Val* group comprised 51 (28.3%) patients, the *Val/Met* group comprised 98 (54.5%) patients and the *Met/Met* group comprised 31 (17.2%). Twenty-seven patients had never been treated with an ADD before (naïve patients), among whom 6 (22.2%) patients were *Val/Val*, 14 (51.8%) *Val/Met* and 7 (26%) *Met/Met*. Clinical and demographic characteristics of the sample according to *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genotype are shown in table 1. At baseline, HDRS score did not differ between the three genotype groups ($p = 0.93$) in the whole sample and among the subgroup of naïve patients.

Table 1.

COMT genotype and efficacy of venlafaxine.

M0	<i>COMT</i> genotype			<i>p</i>
	<i>Val/Val</i>	<i>Val/Met</i>	<i>Met/Met</i>	
Age, years [m (S.D.)]	47.66 (± 11.25)	48.55 (± 12.44)	47.66 (± 11.96)	0.68
Female [n (%)]	38 (74.50)	65 (65.32)	18 (58.06)	0.09
Number of previous MDE [m (S.D.)]	2.16 (± 1.82)	1.69 (± 1.76)	1.43 (± 1.50)	0.15
MDD duration, years [m (S.D.)]	9.53 (± 9.07)	11.06 (± 12.20)	9.48 (± 11.97)	0.26
Antidepressant previous duration, years [m (S.D.)]	3.22 (± 4.76)	2.99 (± 4.81)	2.7 (± 4.38)	0.50
HDRS				
HDRS M0 [m (S.D.)]	25.31 (± 4.11)	25 (± 5.18)	24.03 (± 4.41)	0.93
HDRS M1 [m (S.D.)]	13.75 (± 5.9)	13.32 (± 6.6)	15.22 (± 8)	0.09
HDRS M3 [m (S.D.)]	10.03 (± 5.2)	12.25 (± 7.37)	14.81 (± 7.63)	0.04
HDRS M6 [m (S.D.)]	7.63 (± 6.68)	10.10 (± 8.12)	14 (± 9.65)	0.02
HDRS improvement score (%)				
HDRS improvement score, %, M1 [m (S.D.)]	45.27 (± 23.2)	45.77 (± 25.8)	39.43 (± 30.1)	0.06
HDRS improvement score, %, M3 [m (S.D.)]	59.78 (± 22.46)	51.64 (± 26.37)	39.52 (± 27.66)	0.01
HDRS improvement score, %, M6 [m (S.D.)]	70.28 (± 26.27)	59.13 (± 32.74)	42.08 (± 39.34)	0.009
HDRS response				
Responders M1 [n (%)]	18 (45)	39 (46.5)	8 (36.5)	0.18
Responders M3 [n (%)]	22 (73.33)	30 (50.84)	6 (37.5)	0.03
Responders M6 [n (%)]	15 (78.95)	36 (73.46)	7 (53.84)	0.16
HDRS remission				
Remitters M1 [n (%)]	7 (21.2)	18 (21.4)	6 (27.3)	0.73
Remitters M3 [n (%)]	9 (30)	16 (27.11)	4 (25)	0.67
Remitters M6 [n (%)]	13 (68.42)	21 (42.85)	5 (38.46)	0.11
Venlafaxine dose				
Dose M0 [m (S.D.)]	117.62 (± 72.56)	107.31 (± 49.26)	102.38 (± 37.99)	0.49
Dose M1 [m (S.D.)]	177.15 (± 74.6)	161.13 (± 74.26)	157.90 (± 61.28)	0.87
Dose M3 [m (S.D.)]	200 (± 76.7)	184.66 (± 72.8)	194.5 (± 66)	0.83
Dose M6 [m (S.D.)]	186.73 (± 72.64)	181.1 (± 76.17)	204.76 (± 54.38)	0.60
Attrition				
Attrition M1 [n (%)]	11 (27.5)	14 (16.66)	9 (40.9)	0.16
Attrition M3 [n (%)]	10 (33.33)	25 (42.37)	6 (37.5)	0.16
Attrition M6 [n (%)]	11 (57.89)	10 (20.40)	3 (23.07)	0.26

M, mean; S.D., standard deviation; MDE, major depressive episodes; MDD, major depressive disorder; HDRS, Hamilton Depression Rating Scale-17 items; M1, the first month of treatment; M3, the third month of treatment; M6, the sixth month of treatment.

Descriptive statistics and bivariate analyses. Categorical variables were compared by means of parametric chi-square test, and continuous variables were compared by means of parametric ANOVA test. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

COMT Val(108/158)Met, rs4680 genetic polymorphism and venlafaxine response.

After the first month of treatment, a trend towards a better HDRS score in the *Val/Val* and *Val/Met* groups and a lower HDRS score in the *Met/Met* group was shown in bivariate analyses ($p = 0.09$). After three and 6 months of treatment, this association was significant in bivariate analyses ($p = 0.04$ and $p = 0.02$). No significant association was shown between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism and the HDRS score in the *Val/Met* and *Met/Met* groups when compared to the *Val/Val* group in mixed models. Nevertheless, when the evolution of HDRS score over time was analysed independently for each genotype in mixed models, the HDRS score significantly decreased over time in the *Val/Val*, *Val/Met* and *Met/Met* groups ($p = 0.002$, $p < 0.001$ and $p < 0.001$).

Regarding the average percentage of HDRS improvement score in bivariate analyses at the first month of treatment, a trend towards a better HDRS improvement was shown in the *Val/Val* and *Val/Met* groups but not in the *Met/Met* group ($p = 0.06$). The *Val/Val* and *Val/Met* showed a better HDRS improvement score after 3 months of treatment ($p = 0.01$) and 6 months of treatment ($p = 0.009$) in bivariate analyses. No significant association was shown between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism and the HDRS improvement score in mixed models. However, when the evolution of HDRS improvement score over time was analysed independently in each genotype in mixed models, the HDRS improvement score significantly increased over time in the *Val/Val*, *Val/Met* and *Met/Met* groups ($p = 0.001$, $p < 0.001$ and $p < 0.001$) (fig. 1).

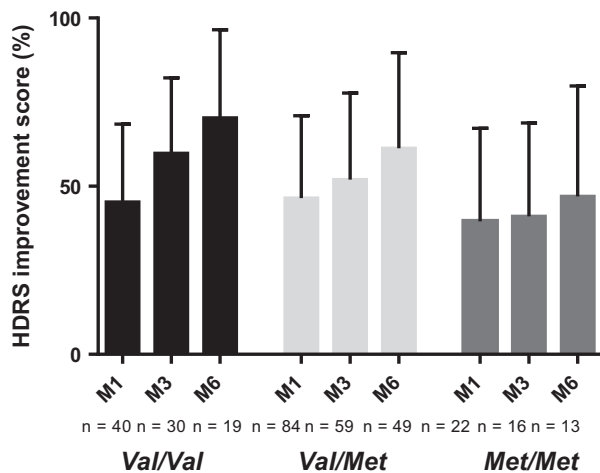


Fig. 1. Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) improvement score depending on catechol-O-methyltransferase (*COMT*) genotype. HDRS improvement score was analysed by comparing the *Val/Met* and *Met/Met* groups to the *Val/Val* group using mixed models adjusted for sex, age and venlafaxine dose. *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism was not statistically associated over time with HDRS score improvement in mixed models for the *Val/Val* group, the *Val/Met* group and the *Met/Met* group. M1 – the first month of treatment; M3 – the third month of treatment; M6 – the sixth month of treatment.

Regarding the responder status, we observed more responders in the *Val/Val* and *Val/Met* groups, and this difference was significant only at M3 in bivariate analyses ($p = 0.03$). In mixed models, the responder status was no more associated with *COMT Val(108/158)Met, rs4680*. No association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism and HDRS remission was shown in bivariate analyses and mixed models (table 1).

Discussion

The main finding of this study is that *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism cannot be recommended as a biomarker for the prediction of venlafaxine efficacy in Caucasian patients treated in psychiatric settings. Nevertheless, when the genotypes were analysed independently, *Val/Val*, *Val/Met* and *Met/Met* carriers showed an improvement to venlafaxine over time.

In our study, the frequency of *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism was consistent with the most data in the literature for depressed Caucasian patients (52.6% for *Val* allele carriers), whereas in the healthy Caucasian population, the frequency of the *Val* allele was 49.6% [20,31]. However, Hopkins *et al.* [17] showed in their study that the frequency of the *Val* allele among all healthy and depressed randomized European individuals was 51.42%. The allele frequency of *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism is ethnicity-dependent [31]. Indeed, for the Asian ancestry, the *Val* allele had a frequency of 60.5% for the depressed population and 65.9% for the healthy population [31,32], whereas Hopkins *et al.* [17] showed in his study that the *Val* allele of all healthy and depressed randomized African American individuals had a frequency of 68.69%.

In our study, we found that all genotypes improved over time, but no significant difference between the three genotypes was shown. In the double-blind, 8-week, randomized study with patients treated with venlafaxine, Hopkins *et al.* [17] showed a different result. The clinical improvement of *Val/Val* genotypes treated with venlafaxine *versus* placebo was better than that of *Met/Met* after 8 weeks of treatment. However, the number of patients treated with venlafaxine in the Hopkins study was less important than the number of the patients in our study. Moreover, this study included 25% of African American patients and 75% of Caucasian patients because they decided to increase the power to separate responses between the *COMT* genotypes by including individuals with higher frequency of *Val* allele such as African ancestry [17].

On the other hand, our results are in agreement with the three other studies of patients treated with venlafaxine that showed no association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism and response to venlafaxine. In the first study of 112 Caucasian patients treated with venlafaxine alone, Narasimah *et al.* [27] showed no association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* and venlafaxine treatment outcome after 6 months of treatment. However, the patients did not have MDD but generalized anxiety disorder evaluated by the HAM-A. In the second study with mixed

ADD, a larger naturalistic study of 226 unrelated Caucasian patients with MDD and a control group of 557 healthy individuals after 6 weeks of treatment, Baune *et al.* [22] showed no association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* and venlafaxine response. In this study, only 45 patients were treated with venlafaxine as a monotherapy. In the third study of 184 Korean patients and 200 Korean controls, Chiesa *et al.* [19] observed no association of the *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism with depressive symptom improvement after an average of 7.42 weeks of treatment with venlafaxine in 52 patients.

In our study, among the three genotype groups, we observed a very close HDRS score at baseline. Interestingly, in the group of patients who had never received an antidepressant treatment before, the *Val/Val* genotype group had a more important severity of depression at baseline, and we observed 4 points of difference on the HDRS score compared to *Met/Met* patients. Even if this difference is not significant, the meta-analysis of Wang *et al.* [31] showed the same results: the *Val* allele carriers of Caucasian ancestry tend to have a greater likelihood of becoming depressed than the *Met* carriers, while the *Met* allele is associated with early onset of depression in the Asian population. Moreover, a European multi-centre study found the same outcome that the *Val* allele was associated with the early onset of depression in the Caucasian population. Furthermore, individuals with the *Val/Val* genotype seem to have a lower level of transsynaptic catecholamines due to an increased COMT activity which leads to an increased degradation of norepinephrine and dopamine [33]. Massat *et al.* [33,34] showed in a large cohort of Caucasian patients that the *Val* allele, especially the *Val/Val* genotype, may predispose to early onset in MDD patients.

The outcome of our study showed that there is no significant difference in improvement over time between the *Val/Val*, *Val/Met* and *Met/Met* carriers after the 6 months of venlafaxine even if the *Val/Val* genotype was described to have the highest enzyme activity [6]. Venlafaxine and its main active metabolite, the O-desmethylvenlafaxine, are both pharmacologically active and inhibit both serotonin and norepinephrine uptake, with a potency greater for the serotonin at low doses (up to 150 mg) and the norepinephrine reuptake process at higher doses (225 mg or higher) [35]. It also inhibits to a lesser extent the reuptake of dopamine [36]. The clinical response is a complex phenomenon in which the interaction between noradrenergic, dopaminergic and serotonergic systems makes it impossible for dopamine not to be involved in the response to venlafaxine [4]. COMT inactivates norepinephrine and dopamine, and therefore, it should have an important impact on venlafaxine efficacy only at higher doses [6]. Our results show that the venlafaxine dose is an important confounding factor. Moreover, higher COMT activity for the *Val/Val* carriers when the norepinephrine transporter (NET) is inhibited by venlafaxine could decrease the bioavailability of norepinephrine and dopamine, compared with *Met* carriers who show an increased pool of norepinephrine [4,17]. Nevertheless, the decreased bioavailability of norepinephrine and dopamine in the synaptic cleft could lead to an increase in

serotonin concentration that might explain the lack of association between the *COMT Val(108/158)Met* genotype and the venlafaxine efficacy. Another study evaluating the association between *COMT Val(108/158)Met, rs4680* and the milnacipran response, which like venlafaxine blocks the serotonin and norepinephrine transporters, showed a positive association with a greater effect for *Val* carriers [15]. Bupropion is another antidepressant that inhibits both the norepinephrine and dopamine transporter. Pooled analyses that combined samples from two separate pharmacogenetic trials in more than 700 European patients report evidence of bupropion moderation of a smoking cessation outcome. This study showed that *COMT Val(108/158)Met* had a moderating effect in altering the efficacy of bupropion on time to first lapse [37].

Venlafaxine is metabolized by CYP2D6 and CYP2C19 in its main metabolite, O-desmethylvenlafaxine. To the best of our knowledge, until now, only three studies have examined the influence of *CYP2D6* and *CYP2C19* genetic polymorphisms on venlafaxine treatment response and prediction of venlafaxine efficacy in depressed patients treated in natural psychiatric clinical settings [38–40]. In all of them, no relationship between genotype and treatment response was shown. We have recently shown in our study on METADAP cohort on the same patients treated with venlafaxine that there was no association between the *CYP2D6* and *CYP2C19* genotype and venlafaxine efficacy [41]. Therefore, as these studies have not shown a strong correlation of CYP2D6 and CYP2C19 with venlafaxine efficacy, this confounding factor was not included in our mixed models.

Furthermore, gene–gene interaction among a high number of genes belonging to the same pathways should be considered for understanding complex diseases such as MDD [19]. Likewise, two studies showed that *COMT Val(108/158)Met, rs4680* interacts with *5-HT* gene transporter in anxiety and personal characteristics [42,43], while another study showed no association of *COMT* and dopamine receptor 2 (*DRD2*) with the clinical outcome of MDD [19].

Our study has a few important strengths. Firstly, it was a naturalistic study representing ‘real-life’ patients and shortening the gap between research and practice. Secondly, it had an evaluation until the sixth month of treatment, which is longer than the duration of the other three studies of depressed patients treated with venlafaxine that had only 6–8 weeks of duration evaluated by the HDRS [17,19,22]. The one study with the same periods of time is that of Narasimhan *et al.* [27] on patients with a generalized anxiety disorder treated with venlafaxine evaluated by the HAM-A during 6 months. However, an evaluation of at least 8 weeks is necessary as the team of Tsai *et al.* [12] showed in a sample of 334 Chinese patients that the influence of *COMT Val(108/158)Met, rs4680* can become significant during the second month of treatment. Thirdly, in our study, the patients had homogenous clinical characteristics of MDD at baseline, especially the HDRS score. They were all Caucasian and predominantly female, which represents the reality of MDD, and were all treated with the same drug. Fourthly, the sample size of depressed patients of our study was the highest compared to the three association

studies evaluating venlafaxine [17,22,27], and our study had almost the same size as the study of Korean patients by Chiesa *et al.* (n = 184 [19]).

There are a few limitations of this study that should be considered. Firstly, our study was a naturalistic study. The lack of randomization may lead to biases related to individual characteristics, environmental influences and their respective treatment response. Secondly, we did not measure compliance, which could have a very important impact in pharmacogenetics studies. Thirdly, the attrition rate of our cohort was 39.04% at the third month of treatment and 29.62% at the sixth month of treatment. Yet, our attrition rate was similar to the attrition rate of the main naturalistic study of ADD with MDD patients, the STAR*D cohort. The attrition rate of the STAR*D cohort was 58.2% of patients who dropped out from the study before the third month of treatment [44]. Moreover, in a longitudinal study of depressive symptoms, Chang *et al.* [45] showed that 53.10% of the patients dropped out before or at the sixth evaluation. However, attrition is a problem faced by all longitudinal epidemiological studies and the 'real-world' treatment options [46].

In conclusion, our study shows that *COMT Val(108/158) Met, rs4680* genetic polymorphism showed no effect on depressive symptom improvement of venlafaxine in a Caucasian sample treated in a psychiatric setting. Our findings support the hypothesis that factors affecting catecholaminergic neurotransmission such as *COMT Val(108/158)Met* do not contribute to shape the response to venlafaxine and *COMT Val(108/158)Met, rs4680* genetic polymorphism cannot be recommended as a biomarker for the prediction of venlafaxine in patients treated in psychiatric settings. Further clinical studies are needed to confirm our result and explore a biomarker with a panel of all genes comprising the dopaminergic, serotonergic and noradrenergic pathways in clinical settings.

Acknowledgements

Adela Taranu was supported by a grant from the University of Paris-Sud. The authors would like to thank the Center of Biological Resources Paris South (BB-0033-00089) of GH Paris South, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, where the META-DAP biobank is stored. The authors sincerely thank all the patients who participated in the study. Funding for the study was provided by the Programme Hospitalier de Recherche Clinique National of the French Ministry of Health (AOM06022 – E Corruble). The funder had no further role in study design, in the collection, analysis and interpretation of data, in the writing of the report and in the decision to submit the article for publication.

Conflict of Interest

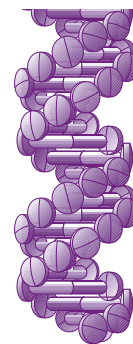
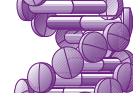
Adela Taranu, Céline Verstyft, Emmanuelle Corruble and Khalil El Asmar have no conflict of interests. Romain Colle has received funds from Lundbeck; Mircea Polosan has received s conference fees from Lundbeck; and Laurent Becquemont has received funds from Antisense Therapeutics, Alnylam Pharmaceuticals, PregLem SA, ISIS Pharmaceuticals, Novartis, Pharma, Auris medical, MedDay Pharmaceuticals, Gilead,

Sanofi-Aventis, Pfizer, Servier, Genzyme, GlaxoSmithKline, Bristol-Myers Squibb, Merck Sharp and Dohme.

References

- 1 Kessler RC, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Chatterji S, Lee S, Ormel J *et al.* The global burden of mental disorders: an update from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. *Epidemiol Psychiatr Soc* 2009;**18**:23–33.
- 2 Murray CJ, Lopez AD. Evidence-based health policy—lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science* 1996;**274**:740–3.
- 3 Belmaker RH, Agam G. Major depressive disorder. *N Engl J Med* 2008;**358**:55–68.
- 4 Drago A, Crisafulli C, Sidoti A, Serretti A. The molecular interaction between the glutamatergic, noradrenergic, dopaminergic and serotonergic systems informs a detailed genetic perspective on depressive phenotypes. *Prog Neurobiol* 2011;**94**:418–60.
- 5 De Carlo V, Calati R, Serretti A. Socio-demographic and clinical predictors of non-response/non-remission in treatment resistant depressed patients: A systematic review. *Psychiatry Res* 2016;**240**:421–30.
- 6 Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 1996;**6**:243–50.
- 7 Klein M, Schmoeger M, Kasper S, Schosser A. Meta-analysis of the *COMT Val158Met* polymorphism in major depressive disorder: the role of gender. *World J Biol Psychiatry* 2016;**17**:147–58.
- 8 Bosker FJ, Hartman CA, Nolte IM, Prins BP, Terpstra P, Posthuma D *et al.* Poor replication of candidate genes for major depressive disorder using genome-wide association data. *Mol Psychiatry* 2011;**16**:516–32.
- 9 Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, Ulmanen I, Melen K, Julkunen I *et al.* Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 1995;**34**:4202–10.
- 10 Mannisto PT, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase (COMT): biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. *Pharmacol Rev* 1999;**51**:593–628.
- 11 Yoshida K, Higuchi H, Takahashi H, Kamata M, Sato K, Inoue K *et al.* Influence of the tyrosine hydroxylase val81met polymorphism and catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on the antidepressant effect of milnacipran. *Hum Psychopharmacol* 2008;**23**:121–8.
- 12 Tsai SJ, Gau YT, Hong CJ, Liou YJ, Yu YW, Chen TJ. Sexually dimorphic effect of catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on clinical response to fluoxetine in major depressive patients. *J Affect Disord* 2009;**113**:183–7.
- 13 Benedetti F, Colombo C, Pirovano A, Marino E, Smeraldi E. The catechol-O-methyltransferase Val(108/158)Met polymorphism affects antidepressant response to paroxetine in a naturalistic setting. *Psychopharmacology* 2009;**203**:155–60.
- 14 Benedetti F, Dallaspesza S, Colombo C, Lorenzi C, Pirovano A, Smeraldi E. Effect of catechol-O-methyltransferase Val(108/158)Met polymorphism on antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Eur Psychiatry* 2010;**25**:476–8.
- 15 Szegeedi A, Rujescu D, Tadic A, Muller MJ, Kohonen R, Stassen HH *et al.* The catechol-O-methyltransferase Val108/158Met polymorphism affects short-term treatment response to mirtazapine, but not to paroxetine in major depression. *Pharmacogenomics* 2005;**5**:49–53.
- 16 Atake K, Yoshimura R, Hori H, Katsuki A, Nakamura J. Catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and the clinical responses to duloxetine treatment or plasma levels of 3-methoxy-4-

- hydroxyphenylglycol and homovanillic acid in Japanese patients with major depressive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2015;**11**:967–74.
- 17 Hopkins SC, Reasner DS, Koblan KS. Catechol-O-methyltransferase genotype as modifier of superior responses to venlafaxine treatment in major depressive disorder. *Psychiatry Res* 2013;**208**:285–7.
 - 18 Spronk D, Arns M, Barnett KJ, Cooper NJ, Gordon E. An investigation of EEG, genetic and cognitive markers of treatment response to antidepressant medication in patients with major depressive disorder: a pilot study. *J Affect Disord* 2011;**128**:41–8.
 - 19 Chiesa A, Lia L, Alberti S, Lee SJ, Han C, Patkar AA *et al.* Lack of influence of rs4680 (COMT) and rs6276 (DRD2) on diagnosis and clinical outcomes in patients with major depression. *Int J Psychiatry Clin Pract* 2014;**18**:97–102.
 - 20 Arias B, Serretti A, Lorenzi C, Gasto C, Catalan R, Fananas L. Analysis of COMT gene (Val 158 Met polymorphism) in the clinical response to SSRIs in depressive patients of European origin. *J Affect Disord* 2006;**90**:251–6.
 - 21 Kautzky A, Baldinger P, Souery D, Montgomery S, Mendlewicz J, Zohar J *et al.* The combined effect of genetic polymorphisms and clinical parameters on treatment outcome in treatment-resistant depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 2015;**25**:441–53.
 - 22 Baune BT, Hohoff C, Berger K, Neumann A, Mortensen S, Roehrs T *et al.* Association of the COMT val158met variant with antidepressant treatment response in major depression. *Neuropsychopharmacology* 2008;**33**:924–32.
 - 23 Kocabas NA, Faghel C, Barreto M, Kasper S, Linotte S, Mendlewicz J *et al.* The impact of catechol-O-methyltransferase SNPs and haplotypes on treatment response phenotypes in major depressive disorder: a case-control association study. *Int Clin Psychopharmacol* 2010;**25**:218–27.
 - 24 McMahon FJ, Buervenich S, Charney D, Lipsky R, Rush AJ, Wilson AF *et al.* Variation in the gene encoding the serotonin 2A receptor is associated with outcome of antidepressant treatment. *Am J Hum Genet* 2006;**78**:804–14.
 - 25 Gudayol-Ferre E, Herrera-Guzman I, Camarena B, Cortes-Penagos C, Herrera-Abarca JE, Martinez-Medina P *et al.* The role of clinical variables, neuropsychological performance and SLC6A4 and COMT gene polymorphisms on the prediction of early response to fluoxetine in major depressive disorder. *J Affect Disord* 2010;**127**:343–51.
 - 26 Illi A, Setälä-Soikkeli E, Kampman O, Viikki M, Nuolivirta T, Poutanen O *et al.* Catechol-O-methyltransferase val108/158met genotype, major depressive disorder and response to selective serotonin reuptake inhibitors in major depressive disorder. *Psychiatry Res* 2010;**176**:85–7.
 - 27 Narasimhan S, Aquino TD, Multani PK, Rickels K, Lohoff FW. Variation in the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and treatment response to venlafaxine XR in generalized anxiety disorder. *Psychiatry Res* 2012;**198**:112–5.
 - 28 Corruble E, El Asmar K, Trabado S, Verstuyft C, Falissard B, Colle R *et al.* Treating major depressive episodes with antidepressants can induce or worsen metabolic syndrome: results of the METADAP cohort. *World Psychiatry* 2015;**14**:366–7.
 - 29 Colle R, Gressier F, Verstuyft C, Deflesselle E, Lepine JP, Ferreri F *et al.* Brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and 6-month antidepressant remission in depressed Caucasian patients. *J Affect Disord* 2015;**175**:233–40.
 - 30 Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960;**23**:56–62.
 - 31 Wang M, Ma Y, Yuan W, Su K, Li MD. Meta-analysis of the COMT Val158Met polymorphism in major depressive disorder: effect of ethnicity. *J Neuroimmune Pharmacol* 2016;**11**:434–45.
 - 32 Palmatier MA, Kang AM, Kidd KK. Global variation in the frequencies of functionally different catechol-O-methyltransferase alleles. *Biol Psychiatry* 1999;**46**:557–67.
 - 33 Massat I, Souery D, Del-Favero J, Nothen M, Blackwood D, Muir W *et al.* Association between COMT (Val158Met) functional polymorphism and early onset in patients with major depressive disorder in a European multicenter genetic association study. *Mol Psychiatry* 2005;**10**:598–605.
 - 34 Massat I, Kocabas NA, Crisafulli C, Chiesa A, Calati R, Linotte S *et al.* COMT and age at onset in mood disorders: a replication and extension study. *Neurosci Lett* 2011;**498**:218–21.
 - 35 Takano A, Halldin C, Farde L. SERT and NET occupancy by venlafaxine and milnacipran in nonhuman primates: a PET study. *Psychopharmacology* 2013;**226**:147–53.
 - 36 Holliday SM, Benfield P. Venlafaxine. A review of its pharmacology and therapeutic potential in depression. *Drugs* 1995;**49**:280–94.
 - 37 David SP, Strong DR, Leventhal AM, Lancaster MA, McGeary JE, Munafo MR *et al.* Influence of a dopamine pathway additive genetic efficacy score on smoking cessation: results from two randomized clinical trials of bupropion. *Addiction* 2013;**108**:2202–11.
 - 38 Grasmader K, Verwohlt PL, Rietschel M, Dragicevic A, Muller M, Hiemke C *et al.* Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasma concentrations and clinical effects of antidepressants in a naturalistic clinical setting. *Eur J Clin Pharmacol* 2004;**60**:329–36.
 - 39 Rolla R, Gramaglia C, Dalo V, Ressico F, Prosperini P, Vidali M *et al.* An observational study of Venlafaxine and CYP2D6 in clinical practice. *Clin Lab* 2014;**60**:225–31.
 - 40 Ng C, Sarris J, Singh A, Bousman C, Byron K, Peh LH *et al.* Pharmacogenetic polymorphisms and response to escitalopram and venlafaxine over 8 weeks in major depression. *Hum Psychopharmacol* 2013;**28**:516–22.
 - 41 Taranu A, Colle R, Gressier F, El Asmar K, Becquemont L, Corruble E *et al.* Should a routine genotyping of CYP2D6 and CYP2C19 genetic polymorphisms be recommended to predict venlafaxine efficacy in depressed patients treated in psychiatric settings? *Pharmacogenomics* 2017;**18**:639–50.
 - 42 Benjamin J, Osher Y, Kotler M, Gritsenko I, Nemanov L, Belmaker RH *et al.* Association between tridimensional personality questionnaire (TPQ) traits and three functional polymorphisms: dopamine receptor D4 (DRD4), serotonin transporter promoter region (5-HTTLPR) and catechol O-methyltransferase (COMT). *Mol Psychiatry* 2000;**5**:96–100.
 - 43 Olsson CA, Byrnes GB, Anney RJ, Collins V, Hemphill SA, Williamson R *et al.* COMT Val(158)Met and 5HTTLPR functional loci interact to predict persistence of anxiety across adolescence: results from the Victorian Adolescent Health Cohort Study. *Genes Brain Behav* 2007;**6**:647–52.
 - 44 Trivedi MH, Rush AJ, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Warden D, Ritz L *et al.* Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry* 2006;**163**:28–40.
 - 45 Chang CC, Yang HC, Tang G, Ganguli M. Minimizing attrition bias: a longitudinal study of depressive symptoms in an elderly cohort. *Int Psychogeriatr* 2009;**21**:869–78.
 - 46 Lamers F, Hoogendoorn AW, Smit JH, van Dyck R, Zitman FG, Nolen WA *et al.* Sociodemographic and psychiatric determinants of attrition in the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *Compr Psychiatry* 2012;**53**:63–70.



BDNF/TRKB/P75NTR polymorphisms and their consequences on antidepressant efficacy in depressed patients

We propose an extensive review of the literature about *BDNF/TRKB/P75NTR* polymorphisms and their consequences on antidepressant efficacy in depressed patients. Five genome-wide association studies and 30 association studies were included. Twenty seven studies focused on the Val66Met polymorphism (rs6265), the Met allele being associated with a higher antidepressant efficacy only in Asian patients. Other *BDNF/TRKB/P75NTR* polymorphisms (*BDNF*: rs7103411, rs7124442, rs908867, rs2049046, rs61888800, rs10501087, rs1491850; *TRKB*: rs10868223, rs11140778, rs1565445, rs1659412; *P75NTR*: rs2072446) were reported to be associated with antidepressant efficacy but these results were not replicated. Finally, there are 15 positive studies among 30 studies regarding *BDNF/TRKB/P75NTR* polymorphisms. The only SNP which benefits of at least three positive studies is the *BDNF* Val66Met polymorphism (rs6265). Consequently, with a lack of good and consistent studies, the clinical utility of *BDNF* in treatment selection is far from clear. We propose several recommendations for further studies.

Keywords: antidepressant remission • antidepressant response • *BDNF* • major depressive disorder • major depressive episode • *P75NTR* • single nucleotide polymorphism • *TRKB*

Only a third of patients with major depressive episodes (MDE) achieve remission after 3 months of antidepressant treatment [1]. To reduce risks, suffering and minimize costs associated with major depressive disorder (MDD), it is useful to determine criteria that may predict antidepressant efficacy. To the best of our knowledge, these criteria are scarce [2]. Thus, the prediction of response and remission in depressed patients treated with antidepressant drugs remains a challenge for clinicians.

Growing evidence suggests the implication of adult brain plasticity, especially adult hippocampal neurogenesis in antidepressant efficacy [3–6], especially pharmacogenetic studies focusing on the brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*) and its receptors tyrosine kinase receptor B (*TRKB*) and p75 neurotrophin receptor (*P75NTR*) (alternatively named as *NGFR* or tumor necrosis factor superfamily member 16, *TNFRSF16*).

The *BDNF* is a member of the neurotrophin family [7]. The *BDNF* gene comprises 11 exons that span about 70 kb of chromosome 11 [8]. *BDNF*, initially synthesized as 32 kD precursor protein called pro-*BDNF*, is intra- and extracellularly cleaved to produce the mature *BDNF* form [9,10]. Mature *BDNF* binds to *TRKB* receptors with high affinity [11,12]. The *BDNF/TRKB* couple increases neuronal plasticity, such as neurogenesis, neurite arborization and synaptogenesis. Pro-*BDNF/P75NTR* couple lead to programmed neuronal death, neurite retraction and synaptic pruning [12].

TRKB is mainly present in the central and peripheral nervous system [13,14]. This receptor is located on the cellular membrane and mediates the effects of *BDNF* through its extra- and intracellular domains. It is coded by a 24-exon gene that spans about 24 kb located on chromosome 9(q22.1) [15,16]. The binding of the *BDNF* dimer to *TRKB* induces dimer-

Romain Colle^{*1}, Eric Deflesselle¹, Séverine Martin¹, Denis J David², Patrick Hardy¹, Adéla Taranu¹, Bruno Falissard³, Céline Verstuyft^{4,5} & Emmanuelle Corruble¹

¹INSERM UMR 1178 Team 'Depression & Antidepressants', Faculté de Médecine Paris Sud, Service de Psychiatrie, Hôpital Bicêtre, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, 94275 Le Kremlin Bicêtre, France

²INSERM UMR 1178 Team 'Depression & Antidepressants', Faculté de Pharmacie Paris Sud, Châtenay-Malabry, France

³INSERM UMR 1178, Faculté de Médecine Paris Sud, Département de Biostatistiques, Hôpital Paul Brousse, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, 94400 Villejuif, France

⁴INSERM U1184 'Immunologie des maladies virales et auto-immunes' University Paris Sud, Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Le Kremlin Bicêtre F-94275, France

⁵University Paris-Sud, INSERM U1184, 92296 Chatenay-Malabry Cedex, France

*Author for correspondence:

Tel.: +33 1 45 21 25 24

Fax: +33 1 45 21 28 64

romaincolle@hotmail.com

ization and autophosphorylation of TRKB, resulting in sequential phosphorylation in intracellular signaling pathways. The BDNF-activated TRKB signaling pathway increases neuronal plasticity, such as neurogenesis, neurite arborization and synaptogenesis.

The *P75NTR* gene comprises six exons that span about 23 kb of chromosome 17q21-q22. P75NTR preferentially binds mature pro-BDNF. Pro-BDNF-P75NTR pathway may promote cell death in rodent neurons, oligodendrocytes and Schwann cells [17]. If co-expressed, TrkB and P75NTR work together as a receptor complex for mature BDNF. In this heterodimer, the mature BDNF seems to interact solely with the TRKB component, p75NTR acting indirectly to increase the number of high affinity binding sites for TRKB [18].

Preclinical evidence suggests that the BDNF/TRKB pathway is involved in the pathophysiology of mood disorders and that BDNF-promoted neuronal plasticity underlies the effect of antidepressants. Indeed, in rats, stress induced decrease in BDNF mRNA expression in the hippocampus [19]. And BDNF injections in the dentate gyrus of the hippocampus lead to improvement in depressive behaviors [20]. Similarly, a chronic treatment with antidepressant restores stress-induced changes in BDNF mRNA levels in experimental animals [19,21]. Some preclinical studies also argue for a different impact of BDNF on antidepressant efficacy depending on antidepressant drugs [22–24]. In rodents, TRKB agonists reverse antidepressant-like behaviors [25], TRKB is activated by antidepressants [26] and the absence of this receptor in hippocampus cells decreases antidepressant efficacy [27,28].

Clinical studies also point out that BDNF and TRKB receptor density in the brain and BDNF concentrations are decreased in the plasma of suicidal subjects [29,30]. Furthermore, antidepressant treatment increases BDNF levels in the hippocampus of post-mortem human brains [31]. In a more recent study, in MDD patients, serum BDNF was decreased during MDE and some data suggest that antidepressants may act by normalizing the levels of serum BDNF [32,33].

Taking into account the growing evidence for BDNF/TRKB/P75NTR involvement in antidepressant efficacy and the need for biomarkers to guide clinical prescription of antidepressant drugs, we propose an extensive review of the literature about the effects of polymorphisms of the BDNF/TRKB/P75NTR signaling pathway on antidepressants efficacy in depressed patients.

Methods

We reviewed the literature by an extensive PUBMED search of studies published until December 2014.

First, we used PUBMED SNP to identify published SNPs for the *BDNF*, *TRKB* and *P75NTR* genes. Only SNP studies involving antidepressant drugs were selected for this review. Second, we checked the references of all included studies to identify supplementary data. Third, we screened each SNP as keyword ‘rs...’ in PUBMED to identify further studies. Finally, to be included in this review, studies had to be clinical prospective studies, with clinical assessment at baseline and at the end of the follow-up period and of patients with a diagnosis of MDE (DSM criteria) either MDD or bipolar and treated with antidepressant drugs (all marketed antidepressant drugs could be included).

The screening of studies was performed independently by two investigators (R Colle and S Martin for *BDNF/P75NTR* and E Deflesselle and S Martin for *TRKB*). In case of disagreement, the relevance of the study was assessed consensually by both investigators. Thus, 37 studies were initially selected and four studies were excluded, two because of the absence of pharmacological treatment, another because it did not focus on antidepressant efficacy and the last one for statistical methodological limitations.

Overall, five genome-wide association studies (GWAS) (including one meta-analysis) and 30 pharmacogenetic association studies (methodology in Table 1) were included in this review.

Levels of evidence for each SNP were estimated individually based on the ‘clinical annotation level of evidence’ of PharmGKB [63] described in Supplementary Table 1 (see online at: www.futuremedicine.com/doi/suppl/10.2217/pgs.15.56). Extrapolations of this assessment scale were also proposed to estimate the level of evidence for haplotype associations.

Results

GWAS

We identified four GWAS studies: Uher *et al.*, 2010 [64] (GENDEP, n = 706), Ising *et al.*, 2009 [65] (MARS, n = 339 + German replication sample, n = 361), Gariock *et al.*, 2010 [66] (STAR*D, n = 1948), Ji *et al.*, 2013 [67] (PGRN-AMPS, n = 529). None of these studies reported SNP of *BDNF/TRKB/P75NTR* associated with antidepressant efficacy. Accordingly, a meta-analysis of three GWAS (STAR*D, GENDEP and MARS) [68] including 1.2 million of SNP in 2256 individuals of Northern European descent with MDD, receiving antidepressant treatment for at least 12 weeks, failed to identify SNP of *BDNF/TRKB/P75NTR* associated with antidepressant efficacy.

BDNF polymorphisms

A total of 84 SNPs are reported in the literature, of which 37 were never explored for antidepressant effi-

Table 1. Characteristics of included studies.

Study	n (included)	Ethnicity	Diagnosis	Bipolar	Cohort name	Follow-up (w)	AD	Dose (mg/day)	Design	Scale	Outcome	Ref.
Tsai <i>et al.</i> , 2003	152	Asian	MDE-MDD	Not applicable		4	F	20–60	Prospective open	HAMD	Response/remission	[34]
Choi <i>et al.</i> , 2006	128	Asian	MDE-MDD	Not applicable		8	C	10–60	Prospective open	HAMD	Response	[35]
Wilkie <i>et al.</i> , 2007	166	Caucasian	MDE-MDD	Excluded		6–12	P/C/I/L/Ph		Prospective open	HAMD	Response/remission	[36]
Gratcos <i>et al.</i> , 2008	374	Caucasian	MDE	40%		6	F/P/S/C/V	2–40/ 20–40/ 100–200/ 20–40/ 150–300	Prospective open	HAMD	Remission	[37]
Lin <i>et al.</i> , 2008	72	Asian	MDE-MDD	Not applicable		4	V	75–150	Prospective open	HAMD	Response	[38]
Yoshida <i>et al.</i> , 2007	134	Asian	MDE-MDD	Not applicable		6	Fv/MI	50–200/ 50–100	Prospective open	MADRS	Score/response	[39]
Gau <i>et al.</i> , 2008	228	Asian	MDE-MDD	Excluded		8	F	20–40	Prospective open	HAMD	Score/response	[40]
Dong <i>et al.</i> , 2009	272	Mexican American	MDE-MDD	Excluded	UCLA PPRG	8	F/D	10–40/ 50–200	Randomized double blind	HAMD	Score/remission	[16]
Licinio <i>et al.</i> , 2009	272	Mexican American	MDE-MDD	Excluded	UCLA PPRG	8	F/D	10–40/ 50–200	Randomized double blind	HAMD	Score/remission	[41]
Alexopoulos <i>et al.</i> , 2010	34	Caucasian	geriatric MDE-MDD	Excluded		12	E	10	Prospective open	HAMD	Remission	[42]
Bukh <i>et al.</i> , 2010	290	Caucasian	MDE-MDD	Excluded		52	All marketed ad		Prospective open	HAMD	Score	[43]
Domschke <i>et al.</i> , 2010	268	Caucasian	MDE-MDD	Excluded	Muenster	6	All marketed ad		Prospective open	HAMD	Score	[44]
Kang <i>et al.</i> , 2010	243	Asian	MDE-MDD	Not applicable		8	M	15–60	Prospective open	HAMD	Score/response	[45]
Lanctot <i>et al.</i> , 2010	90	Caucasian	MDE-MDD	Excluded		6	C	20	Prospective open	HAMD	Score/response/remission	[46]
Pae <i>et al.</i> , 2012	141	Asian	MDE-MDD	Not applicable		5	All marketed AD		Prospective open	MADRS	Remission	[47]

AD: Antidepressant; C: Citalopram; CD: Coronary disease; D: Desipramine; E: Escitalopram; F: Fluoxetine; Fv: Fluvoxamine; I: Imipramine; L: Lofepramine; M: Mirtazapine; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; MI: Minalcipran; NA: Not available; P: Paroxetine; S: Sertraline; SNRI: Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor; SSRI: Serotonin selective reuptake inhibitor; TC-A: Tricyclic antidepressant; V: Venlafaxine; w: Weeks.

Table 1. Characteristics of included studies (cont.).

Study	n (included)	Ethnicity	Diagnosis	Bipolar	Cohort name	Follow-up (w)	AD	Dose (mg/day)	Design	Scale	Outcome	Ref.
Zou et al., 2010	305	Asian	MDE-MDD	Not applicable		6	F	20	Prospective open	HAMD	Score/response/remission	[48]
Kocabas et al., 2011	206	Caucasian	MDE-MDD	Excluded	PTRSSUAD	4	All marketed AD		Prospective open	HAMD	Response/remission/resistance	[49]
Su et al., 2011	166	Asian	Alcohol+MDE-MDD	Excluded		8	S	150	Prospective open	HAMD	Response	[50]
Taylor et al., 2011	229	Caucasian	geriatric MDE-MDD	Not applicable		26	All AD		Prospective open	MADRS	Score/remission	[51]
Yoshimura et al., 2011	132	Asian	MDE-MDD	Not applicable		8	P/S	20–40/25–100	Prospective open	HAMD	Response	[52]
Katsuki et al., 2012	84	Asian	MDE-MDD	Not applicable		4	M	NA	Prospective open	NA	NA	[53]
Musil et al., 2013	324	Caucasian	MDE	Frequency not specified		6	All marketed AD		Prospective open	HAMD	Score/response	[54]
Xu et al., 2012	159	Asian	MDE-MDD	Not applicable		4	SSRI/V	NA	Prospective open	HAMD	Score/response	[55]
Hennings et al., 2013	894	Caucasian	MDE	11%	MARS/Muenster	5	All marketed AD		Prospective open	HAMD	Score/response/remission	[56]
Illi et al., 2013	106	Caucasian	MDE-MDD	Excluded		6	C/F/P	NA	Prospective open	MADRS	Response/remission	[57]
Li et al., 2013	948	Asian	MDE-MDD	Excluded		12	All marketed AD		Prospective open	HAMD	Resistance	[58]
El-Hage et al., 2014	187	Caucasian	MDE	15%		3–6	E	10–30	Prospective open	MADRS	Score/response/remission	[59]
Liu et al., 2014	155	Asian	MDE with CD	NA		8	S	NA	Prospective open	NA	NA	[60]
Matsumoto et al., 2014	97	Caucasian	MDE-MDD	Excluded		8	All marketed AD		Prospective open	NA	NA	[61]
Colle et al., 2015	345	Caucasian	MDE-MDD	Excluded		26	SSRI/SNRI/TCA	NA	Prospective open	HAMD	Response/remission	[62]

AD: Antidepressant; C: Citalopram; CD: Coronary disease; D: Desipramine; E: Escitalopram; F: Fluoxetine; Fv: Fluvoxamine; I: Imipramine; L: Lofepramine; M: Mirtazapine; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; MI: Minalcipran; NA: Not available; P: Paroxetine; Ph: Phenezine; S: Sertraline; SNRI: Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor; SSRI: Serotonin selective reuptake inhibitor; TCA: Tricyclic antidepressant; V: Venlafaxine; w: Weeks.

cacy. The 47 others were explored: a significant association was shown for eight of them whereas there is no reported association for the 39 others. Among the 37 which were never explored for antidepressant efficacy, three were located in an exonic region and concern missense mutations (rs1048218, rs1048220 and rs1048221), 15 were localized in intronic regions (rs11030107, rs11030108, rs11030118, rs11030119, rs12291063, rs12291186, rs16917234, rs1967554, rs2030323, rs2049045, rs2049046, rs56164415, rs6484320, rs7127507, rs7934165), one was in 5'-UTR (rs28383487) region, one in 3'-UTR (rs11030100) and, for 17 SNPs, the locations were unknown (rs10835187, rs11030064, rs1157659, rs1387145, rs1519480, rs2203877, rs2352802, rs2883187, rs3750934, rs3763965, rs4074134, rs4923461, rs4923463, rs7481311, rs8192466, rs972096, rs988712). These 47 SNPs were extracted from 28 association studies, were assessed for their association with antidepressant efficacy in MDD (Table 1). Historically, the first studies assessed the functional Val66Met polymorphism. Other ones investigated other gene locations with a systematic approach. For the first time in 2009, Licinio *et al.*, [41] investigated together exonic, intronic, 3'-UTR and 5'-UTR region with a complete sequencing approach. Kocabas *et al.*, 2011 [49] focused on 3'-UTR and 5'-UTR regions.

Only the study of Licinio *et al.*, 2009 was a randomized double-blind controlled trial [41]. Since MDE occurs mainly in MDD but also in bipolar disorders, and because response to antidepressants may differ between MDD and bipolar disorder, this point was examined carefully: 12 studies had explicit exclusion criteria for bipolar disorders. Nine studies focused on MDD but did not exclude explicitly bipolar disorders. Bipolar disorders were included in four studies (frequency: 11–40%). Ethnicity was also heterogeneous: 13 studies focused on Asian patients and 14 on Caucasian patients. 8 studies focused on selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), one on venlafaxine (SNRI) and two on mirtazapine. In the others, several classes of antidepressant drugs were assessed. Except six studies with a duration longer than 12 weeks, most studies were short term ones (4–8 weeks).

Polymorphisms with no reported association

We show the 39 SNPs with no association with antidepressant efficacy in [Supplementary Table 2](#).

Polymorphisms with a reported positive association

Table 2 shows the eight SNPs with a reported association with antidepressant efficacy (level of evidence of 3).

rs6265

The most studied *BDNF* polymorphism is the Val66Met (rs6265) (Valine is changed by Methionine in the 66 position of *BDNF* protein). To the best of our knowledge, this is the only SNP with a reasonably known functional biological effect, the Met allele being associated with a decreased dendritic trafficking [69]. This functional polymorphism is assessed in 26 MDE samples. Some studies suggest an association between the Val66Met polymorphism and response or remission with antidepressant drugs, either in Asian [35,48,55] or in Caucasian [42,46,51,59] patients. However, several studies failed to replicate this association, both in Asian [34,38–39,45,47,53,58,60] and in Caucasian [37,41,43–44,49,51,54,56,61] patients, including the powerful study comprising the STAR-D results [44]. Meta-analyses [70–72] pointed out either a higher response rate in Met patients that may be specific to Asian patients, or no difference in response and remission rates between Met and Val/Val Caucasian patients. The meta-analysis of Niitsu *et al.*, 2013 [73] including ten studies (eight of Asian patients [34–35,39,45,48,50,52,74]), one study of Caucasian patients [36] and data from STAR-D) showed that in Asian patients, the Met allele is associated with a higher antidepressant efficacy (level 2B). In Caucasian patients however, the Val66Met effect remains unclear. As the frequency of the Met66 allele is different between Caucasian (16–28%) and Asian (35–54%) populations, the functionality could be different in these populations. Moreover, some differences may exist between antidepressants. Licinio *et al.*, 2009 [41] found no different effect between fluoxetine (n = 97) and desipramine (n = 103). However, Xu *et al.*, 2012 [55] found a higher 4-week antidepressant efficacy in Met carriers treated with SSRI (n = 104) but not with venlafaxine (n = 55). In a recent study we reported [62] interactions between the Val66Met polymorphism and antidepressant drug classes: with SSRI, Val/Val patients had a higher response rate than Met patients. With SNRI/TCA, Val/Val patients had a lower remission rate than Met patients.

Other *BDNF* genetic polymorphisms

For the other *BDNF* SNPs associated with antidepressant efficacy, to the best of our knowledge, there is no biological effect documented and none of these associations were replicated (level 3). For example, the rs2049046 polymorphism was assessed in one study and was associated with antidepressant efficacy (level 3) [56], however, the promising effect of this polymorphism needs to be replicated in further studies.

Six SNPs are associated with antidepressant efficacy, but they were not replicated in other studies (level 3).

Table 2. *BDNF* SNPs associated with antidepressant efficacy.

Study	SNP	Location	Biological effect	Minor allele	MAF	n	Ethnicity	Diagnosis	AD	Genotype with higher efficacy	Significant outcome	L.E.	Ref.
Gratacos et al., 2008	rs10501087	3'-UTR	Unknown	C	0.26	374	Caucasian	MDE	F/P/S/C/V	No	No	3	[37]
Kocabas et al., 2011				NA	NA	206	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	C	Response: OR: 2.06; 95% CI: 1.23–3.45; p = 0.009	3	[49]
Gratacos et al., 2008	rs1491850	5'-UTR	Unknown	C	0.43	374	Caucasian	MDE	F/P/S/C/V	No	No	3	[37]
Kocabas et al., 2011				NA	NA	206	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	C	Response: OR: 1.88; 95% CI: 1.23–2.88; p = 0.007	3	[49]
Hennings et al., 2013				C	NA	894	Caucasian	MDE	All marketed AD	No	No	3	[56]
Hennings et al., 2013	rs2049046	Intron	Unknown	A	NA	894	Caucasian	MDE	All marketed AD	T	Response: p = 0.02	3	[56]
Licinio et al., 2009	rs61888800	Intron	Unknown	NA	NA	272	Mexican American	MDE-MDD	F/D	GG	Response: p = 0.02	3	[41]
Illi et al., 2013				T	0.25	106	Caucasian	MDE-MDD	C/F/P	No	No	3	[57]
Tsai et al., 2003	rs6265	Exon missense	Met = decrease dendritic trafficking	Met	0.54	152	Asian	MDE-MDD	F	No	No	3	[34]
Choi et al., 2006				Met	0.54	128	Asian	MDE-MDD	C	Met	Score: p = 0.03	3	[35]
Wilkie et al., 2007				Met	0.16	166	Caucasian	MDE-MDD	P/C/I/L/Ph	No	No	3	[36]

AD: Antidepressant; C: Citalopram; CD: Coronary disease; D: Desipramine; E: Escitalopram; F: Fluoxetine; Fv: Fluvoxamine; I: Imipramine; L: Lofepamine; L.E.: Level of evidence; M: Mirtazapine; MAF: Minor allele frequency; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; MI: Minalcipran; NA: Not available; OR: Odds ratio; P: Paroxetine; Ph: Phenelzine; S: Sertraline; SNRI: Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor; SSRI: Serotonin selective reuptake inhibitor; TCA: Tricyclic antidepressant; V: Venlafaxine; w: Weeks.

Table 2. BDNF SNPs associated with antidepressant efficacy (cont.).

Study	SNP	Location	Biological effect	Minor allele	MAF	n	Ethnicity	Diagnosis	AD	Genotype with higher efficacy	Significant outcome	L.E.	Ref.
Gratacos <i>et al.</i> , 2008				Met	0.23	374	Caucasian	MDE	F/P/S/C/V	No	No	3	[37]
Lin <i>et al.</i> , 2008				Met	0.51	72	Asian	MDE-MDD	V	No	No	3	[38]
Yoshida <i>et al.</i> , 2007				Met	0.41	134	Asian	MDE-MDD	Fv/MI	Met	Score: p = 0.0004	3	[39]
Licinio <i>et al.</i> , 2009				Met	0.10	272	Mexican American	MDE-MDD	F/D	No	No	3	[41]
Alexopoulos <i>et al.</i> , 2010				Met	0.28	34	Caucasian	Geriatric MDE-MDD	E	Met	Remission: p = 0.04	3	[42]
Bukh <i>et al.</i> , 2010				Met	NA	290	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	No	No	3	[43]
Domschke <i>et al.</i> , 2010				Met	0.20	268	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	No	No	3	[44]
Kang <i>et al.</i> , 2010				Met	0.52	243	Asian	MDE-MDD	M	No	No	3	[45]
Lancot <i>et al.</i> , 2010				Met	0.19	90	Caucasian	MDE-MDD	C	Val/Val	Score: 0.02	3	[46]
Pae <i>et al.</i> , 2012				Met	0.48	141	Asian	MDE-MDD	All marketed AD	No	No	3	[47]
Taylor <i>et al.</i> , 2011				Met	NA	229	Caucasian	Geriatric MDE-MDD	All marketed AD	Met	Remission: p = 0.049	3	[51]
Zou <i>et al.</i> , 2010				Met	0.48	305	Asian	MDE-MDD	F	No	No	3	[48]
Kocabas <i>et al.</i> , 2011				NA	NA	206	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	Met	Response: OR: 2.07; 95% CI: 1.22–3.51; p = 0.01	3	[49]

AD: Antidepressant; C: Citalopram; CD: Coronary disease; D: Desipramine; E: Escitalopram; F: Fluoxetine; Fv: Fluvoxamine; I: Imipramine; L: Lofepramine; L.E.: Level of evidence; M: Mirtazapine; MAF: Minor allele frequency; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; MI: Minalcipran; NA: Not available; OR: Odds ratio; P: Paroxetine; Ph: Phenelzine; S: Sertraline; SNRI: Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor; SSRI: Serotonin selective reuptake inhibitor; TCA: Tricyclic antidepressant; V: Venlafaxine; w: Weeks.

Table 2. *BDNF* SNPs associated with antidepressant efficacy (cont.).

Study	SNP	Location	Biological effect	Minor allele	MAF	n	Ethnicity	Diagnosis	AD	Genotype with higher efficacy	Significant outcome	L.E.	Ref.
Su et al., 2011				Met	0.53	166	Asian	Alcohol+ MDE-MDD	S	Met	Response: OR: 2.17; 95% CI: 1.39–3.42; p = 0.001	3	[50]
Yoshimura et al., 2011				Met	0.35	132	Asian	MDE-MDD	P/S	No	No	3	[52]
Katsuki et al., 2012				NA	NA	84	Asian	MDE-MDD	M	No	No	3	[53]
Musil et al., 2013				Met	0.19	324	Caucasian	MDE	All marketed AD	No	No	3	[54]
Xu et al., 2012				Met	NA	159	Asian	MDE-MDD	SSRI 104/V 55	Met	SSRI: score; p = 0.02 SSRI: response: OR: 4.85; 95% CI: 1.04–22.58; p = 0.04	3	[55]
Hennings et al., 2013				Met	NA	894	Caucasian	MDE	All marketed AD	No	No	3	[56]
Li et al., 2013				Met	0.48	948	Asian	MDE-MDD	All marketed AD	No	No	3	[58]
El Hage et al., 2014				Met	0.25	187	Caucasian	MDE	E	Met	Response: p = 0.02	3	[59]
Liu et al., 2014				NA	NA	155	Asian	MDE with CD	S	Met	Response: OR: 2.14; 95% CI: 1.29–3.53; p = 0.003	3	[60]
Matsumoto et al., 2014				Met	0.24	97	Caucasian	MDE	All marketed AD	No	No	3	[61]

AD: Antidepressant; C: Citalopram; CD: Coronary disease; D: Desipramine; E: Escitalopram; F: Fluoxetine; Fv: Fluvoxamine; I: Imipramine; L: Lofepamine; L.E.: Level of evidence; M: Mirtazapine; MAF: Minor allele frequency; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; Mi: Minalcipran; NA: Not available; OR: Odds ratio; P: Paroxetine; Ph: Phenezine; S: Sertraline; SNRI: Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor; SSRI: Serotonin selective reuptake inhibitor; TCA: Tricyclic antidepressant; V: Venlafaxine; w: Weeks.

Table 2. BDNF SNPs associated with antidepressant efficacy (cont.).

Study	SNP	Location	Biological effect	Minor allele	MAF	n	Ethnicity	Diagnosis	AD	Genotype with higher efficacy	Significant outcome	L.E.	Ref.
Colle et al., 2015				Met	0.19	345	Caucasian	MDE-MDD	SSRI/SNRI/TCA	Met/Val/Val	SSRI: response: OR: 3.04; 95% CI: 1.05–9.37; p = 0.04 SNRI/TCA: remission: OR: 0.27; 95% CI: 0.09; 0.76; p = 0.02	3	[62]
Domschke et al., 2010	rs7103411	Intron	Unknown	C	0.22	268	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	C	Score: male: p = 0.009, anxious: p = 0.005, melancholic: p = 0.003	3	[44]
Musil et al., 2013				C	0.22	324	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	No	No	3	[54]
Licinio et al., 2009	rs7124442	Exon	Unknown	C	0.23	272	Mexican American	MDE-MDD	F/D	No	No	3	[41]
Domschke et al., 2010				C	0.31	268	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	CC	Score: p = 0.01	3	[44]
Musil et al., 2013				C	0.28	324	Caucasian	MDE	All marketed AD	No	No	3	[54]
Gratacos et al., 2008	rs908867	5'-UTR	Unknown	A	0.07	374	Caucasian	MDE	F/P/S/C/V	A	Remission: OR: 3.57; 95% CI: 1.51–8.16; p = 0.003	3	[37]
Kocabas et al., 2011				NA	NA	206	Caucasian	MDD-MDD	All marketed AD	No	No	3	[49]
Licinio et al., 2009				A	0.04	272	Mexican American	MDE-MDD	F/D	No	No	3	[41]

AD: Antidepressant; C: Citalopram; CD: Coronary disease; D: Desipramine; E: Escitalopram; F: Fluoxetine; Fv: Fluvoxamine; I: Imipramine; L: Lofepramine; L.E.: Level of evidence; M: Mirtazapine; MAF: Minor allele frequency; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; Mi: Minalcipran; NA: Not available; OR: Odds ratio; P: Paroxetine; Ph: Phenelzine; S: Sertraline; SNRI: Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor; SSRI: Serotonin selective reuptake inhibitor; TCA: Tricyclic antidepressant; V: Venlafaxine; w: Weeks.

Table 3. *BDNF* haplotypes associated with antidepressant efficacy.

Study	Haplotype	n	Ethnicity	Diagnosis	AD		L.E.	Ref.
Domschke <i>et al.</i> , 2010	rs7103411–rs6265–rs7124442	268	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	T-Val-T: lower efficacy: p = 0.005	3	[44]
Kocabas <i>et al.</i> , 2011	rs10501087–rs6265–rs1491850	206	Caucasian	MDE-MDD	All marketed AD	T-Val-T: response/resistance	3	[49]
Hennings <i>et al.</i> , 2013	rs1030094–rs11602246	894	Caucasian	MDE	All marketed AD	G-C: higher efficacy: p = 0.007	3	[56]
Hennings <i>et al.</i> , 2013	r6265–rs11030109–rs10835211–rs2049046–rs4923468–rs12273363	894	Caucasian	MDE	All marketed AD	G-G-G-A-C-T: lower efficacy: p = 0.007	3	[56]
Gratacos <i>et al.</i> , 2008	rs12273363–rs908867–rs1491850	374	Caucasian	MDE	F/P/S/C/V	T-A-T: higher remission rates: OR: 2.71; 95% CI: 1.30–5.63; p = 0.008	3	[37]

AD: Antidepressant; C: Citalopram; F: Fluoxetine; L.E.: Level of evidence; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; OR: Odds ratio; P: Paroxetine; S: Sertraline; V: Venlafaxine.

Indeed, for rs61888800 (intronic polymorphism), Licinio *et al.*, 2009 [41] showed that the GG genotype was associated with a higher efficacy but this was not replicated by Illi *et al.*, 2013 [57] (level 3). For rs7103411, the TT genotype was associated with a lower antidepressant efficacy [44], but this result was not replicated in a second study [54]. For rs7124442 (a missense exonic mutation), the TT genotype was associated with a higher antidepressant efficacy [44], but this result was not replicated in two other papers [41,54] (level 3). For rs1491850 (5'-UTR), the C allele was associated with a higher antidepressant efficacy [49], but this result was not replicated in a second study [56] (level 3). For rs908867 (5'-UTR), the A allele was associated with a higher antidepressant efficacy [37], but this result was not replicated in two other studies [41,49]. Finally the C allele of rs10501087 (3'-UTR) was associated with a higher antidepressant efficacy [49] but was also not replicated in a second study [37] (level 3).

BDNF haplotype analyses

Table 3 shows results about *BDNF* haplotype analyses. Five haplotypes were associated with antidepressant efficacy.

TRKB polymorphisms

There were only three studies focusing on 153 *TRKB* SNPs (Table 1). Only one study was a randomized double-blind controlled one [16]. In the two other studies, antidepressants were prescribed in open naturalist designs [56,58]. They were short term (with a maximum of 12-week duration). The samples were heterogeneous regarding ethnicity (Mexican Americans [16], Caucasians [56] and Asian [58]). Hennings *et al.*, 2013 [56]

chose SNPs on the minor allelic frequency (MAF >0.1) in the Munich Antidepressant Response signature (MARS) project and two replication samples from MARS sample and the Muenster cohort. Dong *et al.*, 2009 [16] selected 89 SNPs in the Vega database, whereas Li *et al.*, 2013 [58] selected three SNPs from the literature.

Polymorphisms with no reported association with antidepressant efficacy

They are presented in Supplementary Table 2.

Polymorphisms with a reported association with antidepressant efficacy

Table 4 shows the *TRKB* SNPs associated with antidepressant efficacy in at least one study, corresponding to a level of evidence of 3. None of these positive associations were replicated.

TRKB haplotype analysis

None of them reported *TRKB* haplotypes with a significant association (after correction for multiple tests) with antidepressant efficacy [16,56].

P75NTR polymorphisms

Despite preclinical evidence of the relevance of *P75NTR* in the *BDNF/TRKB/P75NTR* pathway, we found only one pharmacogenetic study assessing *P75NTR* impact on antidepressant efficacy in depressed patients [40]. In this study, five SNP (rs575791, rs2537706, rs2072446, rs11466155 and rs734194) were assessed in 228 Chinese MDD patients treated in open design with citalopram or fluoxetine for 8 weeks. And the rs2072446 was associated with a higher response

in CC patients ($p = 0.04$). The constructed haplotype (rs2072446–rs11466155–rs734194) was associated with response, the TCT patients having a lower response to SSRI ($p = 0.01$). The nonsynonymous polymorphism may thus contribute to the functional alteration of p75NTR (T carriers). Moreover, other SNPs were described in the literature to have an impact on several conditions like asthma, migraine, Alzheimer disease (rs9908234, rs3785931, rs2072445, rs2072446, rs734194, rs741072, rs10491195) and could be assessed regarding antidepressant efficacy.

BDNF*TRKB polymorphism interactions

Only two studies investigated possible interactions between *BDNF* and *TRKB* on antidepressant efficacy. Hennings *et al.*, 2013 [56] showed an interaction between the *BDNF* SNP rs4923468 and the *NTRK2* SNP rs1387926. Li *et al.*, 2013 [58] used an original method to explore interactions between three *TRKB* SNP (rs1387923-rs1565445-rs2769605) and one *BDNF* SNP (rs6265) and evidenced a 57.4% accuracy for the four-SNP model.

Discussion

Globally, there are 15 positive studies among 30 studies regarding *BDNF/TRKB/P75NTR* polymorphisms and their association with antidepressant efficacy in depressed patients. For *BDNF* polymorphisms, eight out of 47 (17%) polymorphisms studied seem to be significantly associated with antidepressant efficacy, of which three are intronic. The only SNP which benefits of at least three positive studies is the *BDNF* Val-66Met polymorphism (rs6265). The results show that the Met allele is associated with a higher antidepressant efficacy in Asian MDD patients (level of evidence 2B). Seven other polymorphisms may be also associated with antidepressant efficacy: rs1491850, rs10501087, rs61888800, rs7124442, rs7103411, rs908867 and rs2049046 but were not replicated. In positive studies, the effect sizes were small to moderate (OR comprised between: 1.88 and 4.85).

Some evidence argues for a different impact of *BDNF* polymorphisms depending on antidepressant drugs. These data are in line with some preclinical ones. Met carrier mice responded to desipramine, a tricyclic antidepressant, but not to an SSRI [22]. However, clarifications about the influence of genetic variant *BDNF* on monoaminergic transporters would be useful. Indeed, the impact of the Met allele on 5-HTT expression or on the density of serotonergic neurons [75] was not replicated recently [76]. Furthermore, an increased BDNF protein expression in the frontal cortex was observed with SNRIs but not with SSRIs [23,24]. Moreover, a chronic treatment with an SNRI, but not an SSRI,

Table 4. TRKB SNPs associated with antidepressant efficacy.

Study	SNP	Location	Minor allele	MAF	n	Ethnicity	Diagnosis	AD	Genotype with higher efficacy	Outcome	L.E.	Ref.
Hennings <i>et al.</i> , 2013	rs1659412	5'-UTR	C	0.10	894	Caucasian	MDE-MDD or bipolar disorder	All marketed AD	C	Response: OR = NA, $p = 0.02$	3	[56]
Hennings <i>et al.</i> , 2013	rs10868223	Intron	T	0.12	894	Caucasian	MDE-MDD or bipolar disorder	All marketed AD	C	Response: OR = NA, $p = 0.02$	3	[56]
Hennings <i>et al.</i> , 2013	rs11140778	Intron	T	0.21	894	Caucasian	MDE-MDD or bipolar disorder	All marketed AD	A	Response: OR = NA, $p = 0.004$	3	[56]
Li <i>et al.</i> , 2013	rs1565445	Intron	C	0.32	948	Han Chinese	MDE-MDD	All marketed AD	C	Resistance: OR: 1.43; 95% CI: 1.16–1.76; $p = 0.0008$	3	[58]

AD: Antidepressant; L.E.: Level of evidence; MAF: Minor allele frequency; MDD: Major depressive disorder; MDE: Major depressive episode; NA: Not available; OR: Odds ratio.

can reduce mature BDNF in the cytosol and increase its level in the crude synaptosomal fraction, suggesting that SNRIs, but not SSRIs, not only produce a marked upregulation of BDNF mRNA and protein, but may also affect the subcellular redistribution of the BDNF [23].

Even if some studies in this field are negative [52,53,56], further studies assessing serum BDNF as a possible proxy of central BDNF concentration and antidepressant efficacy may improve the understanding of the biological effect of these genetic polymorphisms.

For the *TRKB* four SNPs, rs11140778, rs10868223, rs1659412 and rs1565445, of which three are intronic were associated with a higher antidepressant efficacy, but none of these associations were replicated.

For the *p75NTR* gene, only one positive study is available (rs2072446).

In the absence of replication, the clinical and biological significance of these data is doubtful. However, these polymorphisms could be in linkage disequilibrium with others which could have relevant biological effects. Only one of them (*BDNF* rs2049046) was found to be in linkage disequilibrium with rs6265. So, it is probably not its effect but the effect of Val66Met which is observed here. For other intronic polymorphisms, different possible biological mechanisms to explain their association with antidepressant efficacy could be suggested, such as alternative splicing, transcription regulation, translation regulation or epigenetic changes.

Limitations

Some limitations exist in the field of genetic approaches. In GWAS, the high number of SNPs studied leads to increased significance level and decreased power. Indeed, these studies are designed to detect the effects of frequent SNPs. In the meta-analysis [68], a satisfying power exists only for SNPs with allelic frequency at upper 0.25. However, the *TRKB/BDNF/p75NTR* SNPs associated with antidepressant efficacy have frequently lower minor allelic frequency. Some authors suggest that future GWAS should need samples of tens of thousands of patients rather than the thousands usually studied [77]. Additionally, the available genotyping platforms are able to provide only a relatively narrow genomic coverage (e.g., less than 50% in the STAR*D) [78].

Some limitations exist in the field of methodology of clinical studies as well. The majority of studies are based on small and heterogeneous samples of patients. In terms of diagnoses, because MDD and bipolar disorder could be different in terms of antidepressant response, this heterogeneity in the samples studied could impact the results. Efficacy of antidepressant

drugs may also differ between bipolar and unipolar patients. Moreover, there is a possible different impact of genetic polymorphisms with different types of antidepressant drugs. This point could be a confounding factor. Ethnicity or treatment duration should also be taken into account.

Another limitation is that the biological consequences of the SNPs are not well known in humans.

Last, but not least, publication biases are a major limitation of this review. Publication biases are frequent in the medical literature, positive studies being as much as three-times more likely to be published than negative studies [79]. This is a limitation of this review, in which the positive results could be overestimated as compared with the whole data obtained in this field [79].

Future perspective

In terms of clinical perspectives, we recommend well characterized and homogenous phenotypes: either MDD or bipolar disorders, or both MDD and bipolar disorders with separate analyses. Accordingly, ethnicity should be precisely described, and if mixed ethnicity populations are included, they should be analyzed separately. We also recommend that further studies have longer than 3 months duration. The more frequently used designs are prospective naturalistic cohorts with blind genotype assessment. Actually, a placebo-controlled RCT to assess polymorphism effects on antidepressant efficacy is usually not performed for ethical reasons. Moreover, patients in RCT are quite selected and nonrepresentative of real-life patients. And, if positive results could be found in an RCT, these results would have to be confirmed in naturalistic designs to assess their clinical relevance in daily clinical practice. In this context, adding a randomization to a longitudinal open cohort, as did Licinio *et al.*, 2009 [41] and Dong *et al.*, 2009 [16] appears to be a good compromise.

In terms of genetic and biological perspectives, even if the expected effect size could be rather small, 37 *BDNF* SNPs described in the literature, not yet studied for antidepressant efficacy, should be studied, especially the three exonic missense SNPs, and the *TRKB* and *p75NTR* genes. Moreover, although *BDNF/TRKB/PNTR75* interacts with the monoamine system which may affect the clinical response to antidepressants, the interaction between the *BDNF/TRKB/PNTR75* gene and genes related to the monoamine or glutamatergic systems on antidepressant efficacy should be studied.

Biological indices such as BDNF serum, LCR BDNF or brain imaging markers could also be helpful to better understand the role of SNPs on antidepressant

sant efficacy. BDNF expression which is also regulated by epigenetic chromatin remodeling, including DNA methylation, histone acetylation and other chemical alterations in gene promoter regions should also be studied, since an increase in CpG methylation at promoter regions on the *BDNF* gene was correlated with decreased synthesis of BDNF in neurons [80].

Moreover, the involvement of common functional variants in antidepressants drug response, specifically of brain methylations sites, was described recently by Wong *et al.*, 2014 [81]. Interestingly, those results support some previous works on the influence of variation in DNA methylation. Indeed, in the CNS, DNA methylation of cytosines in cytosine–guanine (CpG) dinucleotides is regarded as the representative component of broader epigenetic modification at a given locus [82], and suggesting that the consequence of those epigenetic markers could be more investigated, particularly during pregnancy [83], and human studies developmentally sensitive to the quality of the environment [84,85].

However, as with other psychiatric disorders, the genetics of MDD and antidepressant efficacy is complex. Genetic risk factors with individually large effects are likely to rare. Association-based methods to identify common genetic risk alleles in MDD presented limited success. Genome-wide association studies based on common genetic variants have

yielded relatively few candidate genes that are not confirmed by replication. Alternative approaches that focus on rare genetic variants are needed. One genetic approach that was used effectively to overcome some problems of heterogeneity is the genome-wide analysis of copy-number variants (CNVs). Current genotyping platforms and CNV discovery algorithms enable the genotyping of copy number polymorphisms and the analysis of CNVs. CNVs are submicroscopic deletions and duplications in genomic DNA that were implicated in a variety of different psychiatric disorders. Interestingly, studies from multiple groups have now firmly established that rare CNVs contribute to genetic risk for schizophrenia, autism spectrum disorder, MDD and, in particular, that spontaneous CNVs are important risk factors in the sporadic form of the disorders [86–89]. Moreover, recently, Tansey *et al.*, 2014 [90] found that specific CNVs were nominally associated with poor response to antidepressants in MDD patients.

One of the most interesting as well as challenging observations has been the degree of phenotypic variability associated with individual CNVs, in other words, the ‘expressivity’ of the genotype. Undoubtedly, the phenotypic expression of rare high penetrance alleles is modulated by other genetic factors, including rare variants, as well as common (polygenic) variation [91] or epigenetic regulation [81,92].

Executive summary

Preclinical data

- BDNF/TRKB/pNTR75 are involved in antidepressant efficacy.

BDNF genetic polymorphisms

- The Met allele of the Val66Met polymorphism is associated with a higher antidepressant efficacy in Asian major depressive disorder patients (good level of evidence).
- Seven other polymorphisms (rs7103411, rs7124442, rs908867, rs2049046, rs61888800, rs10501087 and rs1491850) may also be associated with antidepressant efficacy, but no replication is available.

TRKB genetic polymorphisms

- Four polymorphisms (rs11140778, rs10868223, rs1659412 and rs1565445) may be associated with antidepressant efficacy, but no replication is available.

P75NTR genetic polymorphisms

- One polymorphism (rs2072446) may be associated with antidepressant efficacy.

Future perspective

- Further studies are needed since several SNP of *BDNF/TRKB/P75NTR* have never been explored.
- For further clinical studies, we recommend to separately analyze major depressive disorders and bipolar disorders.
- Different impacts of *BDNF* polymorphisms between different antidepressant drugs need to be better assessed, eventually as a primary objective of further clinical studies.
- Composite scores using gene*gene interaction or gene*biomarker interaction may help to predict antidepressant efficacy.

Conclusion

- Finally, there are 15 positive studies among 30 studies regarding *BDNF/TRKB/P75NTR* polymorphisms. The only SNP which benefits of at least three positive studies is the *BDNF* Val66Met polymorphism (rs6265).
- Consequently, with a lack of good and consistent studies, the clinical utility of BDNF in treatment selection is far from clear.

Since the effects of SNPs alone may be rather limited, integration of several biomarkers could be relevant. And composite scores using gene*gene interaction or gene*biomarker interaction could be useful to predict antidepressant efficacy.

Conclusion

Finally, there are 15 positive studies among 30 studies regarding *BDNF/TRKB/P75NTR* polymorphisms and their association with antidepressant efficacy in depressed patients. The only SNP which benefits of at least three positive studies is the *BDNF* Val66Met polymorphism (rs6265). Moreover, studies suffer from methodological limitations. Consequently, with a lack of good and consistent studies, the clinical utility of *BDNF* in treatment selection is far from clear.

References

Papers of special note have been highlighted as:

• of interest; •• of considerable interest

- Trivedi MH, Rush AJ, Wisniewski SR *et al.* Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am. J. Psychiatry* 163(1), 28–40 (2006).
- Kupfer DJ, Frank E, Phillips ML. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. *Lancet* 379(9820), 1045–1055 (2012).
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q *et al.* Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 62(4), 479–493 (2009).
- Surget A, Tanti A, Leonardo ED *et al.* Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Mol. Psychiatry* 16(12), 1177–1188 (2011).
- Miller BR, Hen R. The current state of the neurogenic theory of depression and anxiety. *Curr. Opin. Neurobiol.* 30C, 51–58 (2015).
- Ernst A, Frisen J. Adult neurogenesis in humans- common and unique traits in mammals. *PLoS Biol.* 13(1), e1002045 (2015).
- Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.* 1(5), 549–553 (1982).
- Pruunsild P, Kazantseva A, Aid T, Palm K, Timmusk T. Dissecting the human *BDNF* locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics* 90(3), 397–406 (2007).
- Lu B. Pro-region of neurotrophins: role in synaptic modulation. *Neuron* 39(5), 735–738 (2003).
- Lessmann V, Gottmann K, Malcangio M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog. Neurobiol.* 69(5), 341–374 (2003).
- Roux PP, Barker PA. Neurotrophin signaling through the p75 neurotrophin receptor. *Prog. Neurobiol.* 67(3), 203–233 (2002).
- Castren E, Rantamaki T. The role of *BDNF* and its receptors in depression and antidepressant drug action: reactivation of developmental plasticity. *Dev. Neurobiol.* 70(5), 289–297 (2010).
- Barbacid M. The Trk family of neurotrophin receptors. *J. Neurobiol.* 25(11), 1386–1403 (1994).
- Calavia MG, Feito J, Lopez-Iglesias L *et al.* The lamellar cells in human Meissner corpuscles express TrkB. *Neurosci. Lett.* 468(2), 106–109 (2010).
- Nakagawara A, Liu XG, Ikegaki N *et al.* Cloning and chromosomal localization of the human TRK-B tyrosine kinase receptor gene (*NTRK2*). *Genomics* 25(2), 538–546 (1995).
- Dong C, Wong ML, Licinio J. Sequence variations of *ABCB1*, *SLC6A2*, *SLC6A3*, *SLC6A4*, *CREB1*, *CRHR1* and *NTRK2*: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Mol. Psychiatry* 14(12), 1105–1118 (2009).
- Double-blind randomized study assessing with a complete sequencing approach the *TRKB* polymorphisms impact on antidepressant efficacy.
- Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr. Opin. Neurobiol.* 10(3), 381–391 (2000).
- Lu B, Pang PT, Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat. Rev. Neurosci.* 6(8), 603–614 (2005).
- Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol. Psychiatry* 59(12), 1116–1127 (2006).
- Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J. Neurosci.* 22(8), 3251–3261 (2002).
- Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of *BDNF* and *trkB* mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J. Neurosci.* 15(11), 7539–7547 (1995).
- Yu H, Wang DD, Wang Y, Liu T, Lee FS, Chen ZY. Variant brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism

Financial & competing interests disclosure

DJ David serves as a consultant for Lundbeck, Roche and Servier. B Falissard has been consultant, expert or has given talks for Eli Lilly, BMS, Servier, Sanofi, GlaxoSmithKline, HRA, Roche, Boeringer Ingelheim, Bayer, Almirall, Allergan, Stallergene, Genzyme, Pierre Fabre, AstraZeneca, Novartis, Janssen, Astellas, Biotronik, Daiichi-Sankyo, Gilead and MSD. LE Corruble received consulting or conference fees from AstraZeneca, Eisai, Lundbeck, Otsuka, Sanofi-Aventis and Servier. The authors have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript apart from those disclosed.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

- alters vulnerability to stress and response to antidepressants. *J. Neurosci.* 32(12), 4092–4101 (2012).
- 23 Calabrese F, Molteni R, Maj PF *et al.* Chronic duloxetine treatment induces specific changes in the expression of BDNF transcripts and in the subcellular localization of the neurotrophin protein. *Neuropsychopharmacology* 32(11), 2351–2359 (2007).
- 24 Cooke JD, Grover LM, Spangler PR. Venlafaxine treatment stimulates expression of brain-derived neurotrophic factor protein in frontal cortex and inhibits long-term potentiation in hippocampus. *Neuroscience* 162(4), 1411–1419 (2009).
- 25 Blugeot A, Rivat C, Bouvier E *et al.* Vulnerability to depression: from brain neuroplasticity to identification of biomarkers. *J. Neurosci.* 31(36), 12889–12899 (2011).
- 26 Rantamaki T, Vesa L, Antila H *et al.* Antidepressant drugs transactivate TrkB neurotrophin receptors in the adult rodent brain independently of BDNF and monoamine transporter blockade. *PLoS ONE* 6(6), e20567 (2011).
- 27 Li Y, Luikart BW, Birnbaum S *et al.* TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron* 59(3), 399–412 (2008).
- 28 Liu X, Chan CB, Qi Q *et al.* Optimization of a small tropomyosin-related kinase B (TrkB) agonist 7,8-dihydroxyflavone active in mouse models of depression. *J. Med. Chem.* 55(19), 8524–8537 (2012).
- 29 Dwivedi Y, Rizavi HS, Zhang H *et al.* Neurotrophin receptor activation and expression in human postmortem brain: effect of suicide. *Biol. Psychiatry* 65(4), 319–328 (2009).
- 30 Kim YK, Lee HP, Won SD *et al.* Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 31(1), 78–85 (2007).
- 31 Chen B, Dowlatshahi D, Macqueen GM, Wang JF, Young LT. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol. Psychiatry* 50(4), 260–265 (2001).
- 32 Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol. Psychiatry* 64(6), 527–532 (2008).
- 33 Molendijk ML, Spinhoven P, Polak M, Bus BA, Penninx BW, Elzinga BM. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). *Mol. Psychiatry* 19(7), 791–800 (2014).
- 34 Tsai SJ, Cheng CY, Yu YW, Chen TJ, Hong CJ. Association study of a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphism and major depressive disorders, symptomatology, and antidepressant response. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 123B(1), 19–22 (2003).
- 35 Choi MJ, Kang RH, Lim SW, Oh KS, Lee MS. Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism (Val66Met) and citalopram response in major depressive disorder. *Brain Res.* 1118(1), 176–182 (2006).
- 36 Wilkie MJ, Smith D, Reid IC *et al.* A splice site polymorphism in the G-protein beta subunit influences antidepressant efficacy in depression. *Pharmacogenet. Genomics* 17(3), 207–215 (2007).
- 37 Gratacos M, Soria V, Urretavizcaya M *et al.* A brain-derived neurotrophic factor (BDNF) haplotype is associated with antidepressant treatment outcome in mood disorders. *Pharmacogenomics J.* 8(2), 101–112 (2008).
- 38 Lin E, Chen PS, Huang LC, Hsu SY. Association study of a brain-derived neurotrophic-factor polymorphism and short-term antidepressant response in major depressive disorders. *Pharmacogenomics Pers. Med.* 1, 1–6 (2008).
- 39 Yoshida K, Higuchi H, Kamata M *et al.* The G196A polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene and the antidepressant effect of milnacipran and fluvoxamine. *J. Psychopharmacol.* 21(6), 650–656 (2007).
- 40 Gau YT, Liou YJ, Yu YW *et al.* Evidence for association between genetic variants of p75 neurotrophin receptor (p75NTR) gene and antidepressant treatment response in Chinese major depressive disorder. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 147B(5), 594–599 (2008).
- 41 Licinio J, Dong C, Wong ML. Novel sequence variations in the brain-derived neurotrophic factor gene and association with major depression and antidepressant treatment response. *Arch. Gen. Psychiatry* 66(5), 488–497 (2009).
- **Double-blind randomized study assessing with a complete sequencing approach the BDNF polymorphisms impact on antidepressant efficacy.**
- 42 Alexopoulos GS, Glatt CE, Hoptman MJ *et al.* BDNF val66met polymorphism, white matter abnormalities and remission of geriatric depression. *J. Affect. Disord.* 125(1–3), 262–268 (2010).
- 43 Bukh JD, Bock C, Vinberg M, Werge T, Gether U, Kessing LV. No interactions between genetic polymorphisms and stressful life events on outcome of antidepressant treatment. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 20(5), 327–335 (2010).
- 44 Domschke K, Lawford B, Laje G *et al.* Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene: no major impact on antidepressant treatment response. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 13(1), 93–101 (2010).
- 45 Kang RH, Chang HS, Wong ML *et al.* Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms and mirtazapine responses in Koreans with major depression. *J. Psychopharmacol.* 24(12), 1755–1763 (2010).
- 46 Lanctot KL, Rapoport MJ, Chan F *et al.* Genetic predictors of response to treatment with citalopram in depression secondary to traumatic brain injury. *Brain Inj.* 24(7–8), 959–969 (2010).
- 47 Pae CU, Chiesa A, Porcelli S *et al.* Influence of BDNF variants on diagnosis and response to treatment in patients with major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Neuropsychobiology* 65(1), 1–11 (2012).
- 48 Zou YF, Wang Y, Liu P *et al.* Association of brain-derived neurotrophic factor genetic Val66Met polymorphism with severity of depression, efficacy of fluoxetine and its side effects in Chinese major depressive patients. *Neuropsychobiology* 61(2), 71–78 (2010).
- 49 Kocabas NA, Antonijevic I, Faghel C *et al.* Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms: influence on treatment response phenotypes of major depressive disorder. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 26(1), 1–10 (2011).

- 50 Su N, Zhang L, Fei F *et al.* The brain-derived neurotrophic factor is associated with alcohol dependence-related depression and antidepressant response. *Brain Res.* 1415, 119–126 (2011).
- 51 Taylor WD, Mcquoid DR, Ashley-Koch A *et al.* BDNF Val66Met genotype and 6-month remission rates in late-life depression. *Pharmacogenomics J.* 11(2), 146–154 (2011).
- 52 Yoshimura R, Kishi T, Suzuki A *et al.* The brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*) polymorphism Val66Met is associated with neither serum BDNF level nor response to selective serotonin reuptake inhibitors in depressed Japanese patients. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 35(4), 1022–1025 (2011).
- 53 Katsuki A, Yoshimura R, Kishi T *et al.* Serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), *BDNF* gene Val66Met polymorphism, or plasma catecholamine metabolites, and response to mirtazapine in Japanese patients with major depressive disorder (MDD). *CNS Spectr.* 17(3), 155–163 (2012).
- 54 Musil R, Zill P, Seemuller F *et al.* No influence of brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*) polymorphisms on treatment response in a naturalistic sample of patients with major depression. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 263(5), 405–412 (2013).
- 55 Xu G, Lin K, Rao D *et al.* Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism (Val66Met) and the early response to antidepressant in Chinese Han population. *Psychiatr. Genet.* 22(4), 214–215 (2012).
- 56 Hennings JM, Kohli MA, Czamara D *et al.* Possible associations of *NTRK2* polymorphisms with antidepressant treatment outcome: findings from an extended tag SNP approach. *PLoS ONE* 8(6), e64947 (2013).
- 57 Illi A, Viikki M, Poutanen O *et al.* No support for a role for *BDNF* gene polymorphisms rs11030101 and rs61888800 in major depressive disorder or antidepressant response in patients of Finnish origin. *Psychiatr. Genet.* 23(1), 33–35 (2013).
- 58 Li Z, Zhang Y, Wang Z *et al.* The role of *BDNF*, *NTRK2* gene and their interaction in development of treatment-resistant depression: data from multicenter, prospective, longitudinal clinic practice. *J. Psychiatr. Res.* 47(1), 8–14 (2013).
- 59 El-Hage W, Vourc'h P, Gaillard P *et al.* The *BDNF* ValMet polymorphism is associated with escitalopram response in depressed patients. *Psychopharmacology* 232(3), 575–581 (2014).
- 60 Liu YQ, Su GB, Duan CH *et al.* Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms are associated with coronary artery disease-related depression and antidepressant response. *Mol. Med. Rep.* 10(6), 3247–3253 (2014).
- 61 Matsumoto Y, Fabbri C, Pellegrini S *et al.* Serotonin transporter gene: a new polymorphism may affect response to antidepressant treatments in major depressive disorder. *Mol. Diagn. Ther.* 18(5), 567–577 (2014).
- 62 Colle R, Gressier F, Verstuyft C *et al.* Brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and 6-month antidepressant remission in depressed Caucasian patients. *J. Affect. Disord.* 175C, 233–240 (2015).
- **Naturalistic study assessing the impact of the *BDNF* Val66Met polymorphism on antidepressant efficacy, taking into account the antidepressant drug class.**
- 63 PharmGKB: Clinical Annotation Levels of Evidence. www.pharmgkb.org/page/clinAnnLevels
- 64 Uher R, Perroud N, Ng MY *et al.* Genome-wide pharmacogenetics of antidepressant response in the GENDEP project. *Am. J. Psychiatry* 167(5), 555–564 (2010).
- 65 Ising M, Lucae S, Binder EB *et al.* A genomewide association study points to multiple loci that predict antidepressant drug treatment outcome in depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 66(9), 966–975 (2009).
- 66 Garriock HA, Kraft JB, Shyn SI *et al.* A genomewide association study of citalopram response in major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 67(2), 133–138 (2010).
- 67 Ji Y, Biernacka JM, Hebring S *et al.* Pharmacogenomics of selective serotonin reuptake inhibitor treatment for major depressive disorder: genome-wide associations and functional genomics. *Pharmacogenomics J.* 13(5), 456–463 (2013).
- 68 GENDEP Investigators¹; MARS Investigators; STAR*D Investigators. Common genetic variation and antidepressant efficacy in major depressive disorder: a meta-analysis of three genome-wide pharmacogenetic studies. *Am. J. Psychiatry* 170(2), 207–217 (2013).
- **Meta-analysis of three genome-wide association studies about antidepressant efficacy in major depressive disorder.**
- 69 Egan MF, Kojima M, Callicott JH *et al.* The *BDNF* val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112(2), 257–269 (2003).
- **Explores the biological effect of Val66Met polymorphism.**
- 70 Kato M, Serretti A. Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 15(5), 473–500 (2010).
- 71 Yan T, Wang L, Kuang W *et al.* Brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism association with antidepressant efficacy: a systematic review and meta-analysis. *Asia Pac. Psychiatry* 6(3), 241–251 (2014).
- 72 Zou YF, Ye DQ, Feng XL, Su H, Pan FM, Liao FF. Meta-analysis of BDNF Val66Met polymorphism association with treatment response in patients with major depressive disorder. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 20(8), 535–544 (2010).
- 73 Niitsu T, Fabbri C, Bentini F, Serretti A. Pharmacogenetics in major depression: a comprehensive meta-analysis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 45, 183–194 (2013).
- **Meta-analysis of the impact of several genes, including the Val66Met *BDNF* polymorphism, on antidepressant efficacy.**
- 74 Chi MH, Chang HH, Lee SY *et al.* Brain derived neurotrophic factor gene polymorphism (Val66Met) and short-term antidepressant response in major depressive disorder. *J. Affect. Disord.* 126(3), 430–435 (2010).
- 75 Henningsson S, Borg J, Lundberg J *et al.* Genetic variation in brain-derived neurotrophic factor is associated with serotonin transporter but not serotonin-1A receptor availability in men. *Biol. Psychiatry* 66(5), 477–485 (2009).

- 76 Kraus C, Baldinger P, Rami-Mark C *et al.* Exploring the impact of *BDNF* Val66Met genotype on serotonin transporter and serotonin-1A receptor binding. *PLoS ONE* 9(9), e106810 (2014).
- 77 Fabbri C, Porcelli S, Serretti A. From pharmacogenetics to pharmacogenomics: the way toward the personalization of antidepressant treatment. *Can. J. Psychiatry* 59(2), 62–75 (2014).
- 78 Laje G, McMahon FJ. Genome-wide association studies of antidepressant outcome: a brief review. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 35(7), 1553–1557 (2011).
- 79 Murad MH, Montori VM, Ioannidis JP *et al.* How to read a systematic review and meta-analysis and apply the results to patient care: users' guides to the medical literature. *JAMA* 312(2), 171–179 (2014).
- 80 Martinowich K, Hattori D, Wu H *et al.* DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent *BDNF* gene regulation. *Science* 302(5646), 890–893 (2003).
- 81 Wong ML, Dong C, Flores DL *et al.* Clinical outcomes and genome-wide association for a brain methylation site in an antidepressant pharmacogenetics study in Mexican Americans. *Am. J. Psychiatry* 171(12), 1297–1309 (2014).
- 82 Hochberg Z, Feil R, Constancia M *et al.* Child health, developmental plasticity, and epigenetic programming. *Endocr. Rev.* 32(2), 159–224 (2011).
- 83 Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA *et al.* Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat. Neurosci.* 7(8), 847–854 (2004).
- 84 McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC *et al.* Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat. Neurosci.* 12(3), 342–348 (2009).
- 85 Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, Grunau R, Misri S, Devlin AM. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics* 3(2), 97–106 (2008).
- 86 McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR *et al.* Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat. Rev. Genet.* 9(5), 356–369 (2008).
- 87 Vacic V, McCarthy S, Malhotra D *et al.* Duplications of the neuropeptide receptor gene *VIPR2* confer significant risk for schizophrenia. *Nature* 471(7339), 499–503 (2011).
- 88 Williams NM, Zaharieva I, Martin A *et al.* Rare chromosomal deletions and duplications in attention-deficit hyperactivity disorder: a genome-wide analysis. *Lancet* 376(9750), 1401–1408 (2010).
- 89 Rucker JJ, Breen G, Pinto D *et al.* Genome-wide association analysis of copy number variation in recurrent depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 18(2), 183–189 (2013).
- 90 Tansey KE, Rucker JJ, Kavanagh DH *et al.* Copy number variants and therapeutic response to antidepressant medication in major depressive disorder. *Pharmacogenomics J.* 14(4), 395–399 (2014).
- 91 International Schizophrenia C, Purcell SM, Wray NR *et al.* Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 460(7256), 748–752 (2009).
- 92 Hirasawa R, Feil R. Genomic imprinting and human disease. *Essays Biochem.* 48(1), 187–200 (2010).

Titre : Identification de biomarqueurs génétiques de réponse à la venlafaxine dans une cohorte de patients déprimés.

Résumé :

Introduction : Le trouble dépressif majeur (TDM) représente un enjeu de Santé Publique. Aujourd'hui, il existe différents médicaments antidépresseurs (ADs), mais 60% des patients déprimés ne répondent pas suffisamment à ce type de traitement. La pharmacogénétique (PG) se définit comme l'étude de la variabilité de la réponse aux médicaments associée à des variations génétiques des gènes de la pharmacodynamie ou de la pharmacocinétique. La médecine personnalisée utilise la PG pour améliorer la prise en charge des patients.

La venlafaxine (VEN), AD fréquemment utilisé en psychiatrie, est métabolisée par les enzymes du Cytochrome P450 (CYP) 2D6 et 2C19. Elle augmente le turnover des monoamines cérébrales, qui sont catabolisées par la catechol-O-méthyltransférase (COMT). L'objectif de ce travail est d'identifier des biomarqueurs génétiques de réponse à la VEN qui pourraient être utilisés dans la pratique clinique psychiatrique. Ce travail présente deux études de gènes candidats, et une étude de panel de gènes basée sur une revue de la littérature.

Méthodes : Deux cent six patients caucasiens souffrant d'un épisode dépressif majeur unipolaire (DSM-IVTR), nécessitant un nouveau traitement AD, issus de la cohorte METADAP et traités par VEN ont été étudiés. METADAP est une cohorte prospective d'une durée de 6 mois, multicentrique, naturaliste, en conditions réelles de prescription en psychiatrie. La dépression a été mesurée avec l'échelle de dépression de Hamilton à l'inclusion et après 1, 3 et 6 mois de traitement antidépresseur, permettant d'évaluer le pourcentage d'amélioration, la réponse et la rémission. Les patients ont été génotypés pour les polymorphismes génétiques ou Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) majeurs du *CYP2D6* et du *CYP2C19* : allèles défectueux entraînant une déficience enzymatique complète (*CYP2D6* *3 *rs35742686*, *4 *rs3892097*, *6 *rs5030655*, délétion du gène *5); (*CYP2C19* *2 *rs4244285*, *3 *rs4986893*, *4 *rs28399504*, *5 *rs56337013*), allèles entraînant une diminution de l'activité enzymatique (*CYP2D6* *10 *rs1065852*, *CYP2D6**41 *rs28371725*), allèles associés à un métabolisme accéléré (duplication du gène *CYP2D6**2xN) ; (*CYP2C19* *17 *rs12248560*) et pour le polymorphisme de la *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680*. La technique de discrimination allélique TaqMan a été utilisée. Les patients ont été classés selon le phénotype *CYP2D6* et *CYP2C19* en métaboliseurs lents, normaux, rapides, intermédiaires et ultrarapides et en 3 génotypes *COMT Val(108/158)Met*: *Val/Val*, *Val/Met*, *Met/Met*. Par ailleurs, 70 patients ont été séquencés en utilisant les technologies de séquençage à haut débit ou Next Generation Sequencing (NGS) MiSeq Illumina pour un panel de 70 gènes.

Résultats : Dans cet échantillon, il n'existe pas d'association entre l'évolution de la dépression sous VEN et les SNPs que nous avons étudiés du *CYP2D6*, du *CYP2C19* et de la *COMT*. Les données NGS sont en cours d'analyse. D'ores et déjà, la qualité des données a été validée par comparaison aux résultats de la discrimination allélique TaqMan des CYP. Suite à une revue de la littérature mettant en évidence l'importance des transporteurs *OCTs* (Organic Cation Transporter) et *PMATs* (Plasma Membrane Monoamine Transporter) dans le transport des monoamines et leur rôle dans la réponse aux AD, ces gènes seront intégrés dans la sélection du panel de gènes pour le NGS.

Conclusion : Ce travail ne permet pas de recommander le génotypage des SNPs du *CYP2D6*, du *CYP2C19* et de la *COMT Val(108/158)Met* en routine clinique psychiatrique chez les patients déprimés traités par VEN. Ce travail se poursuivra par l'analyse NGS qui tentera d'identifier des variants rares ou ultra-rares et pertinents, notamment pour des gènes qui n'ont pas été étudiés dans le TDM comme ceux des *OCTs* et *PMATs*.

Mots clés : dépression, venlafaxine, pharmacogénétique, cohorte, antidépresseur

Title: Identification of genetic biomarkers of response to venlafaxine in a cohort of depressed patients.

Abstract:

Introduction: Major Depressive Disorder (MDD) represents an issue of Public Health. Currently, different antidepressant (ADs) treatments exist, but 60% of depressed patients do not respond sufficiently to this type of treatment. Pharmacogenetics (PG) represents the study of the variability of response to a treatment associated to genetic variations identified in pharmacokinetic and pharmacodynamic genes. Personalized medicine is using PG to make the best therapeutic choice for a depressed patient.

Venlafaxine (VEN), AD frequently used in psychiatry, is metabolized by the enzymes of Cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. VEN increases the turnover of cerebral monoamines, which are catabolized by the catechol-O-methyltransferase (COMT). The aim of this study is to identify genetic biomarkers of response to VEN that may be used in clinical practice in psychiatry. This work presents two candidate gene studies and a study of panel of genes based on a review of the literature.

Methods: Two hundred and six caucasian patients suffering from a unipolar major depressive episode (DSM-IVTR), requiring a new AD treatment, selected from METADAP cohort, treated by VEN have been studied. The METADAP cohort is a 6-month prospective, multicenter, real-world setting, treatment study in psychiatry. Depression was assessed by the Hamilton scale at the baseline and after 1, 3 and 6 months of AD treatment allowing the evaluation of the percentage of improvement, the response and the remission. Patients were genotyped for the major SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) of *CYP2D6* and *CYP2C19*: loss of function alleles (*CYP2D6* *3 *rs35742686*, *4 *rs3892097*, *6 *rs5030655*, the complete gene deletion *5); (*CYP2C19* *2 *rs4244285*, *3 *rs4986893*, *4 *rs28399504*, *5 *rs56337013*); increased function alleles (gene duplication *CYP2D6**2xN); (*CYP2C19* *17 *rs12248560*); decreased function alleles (*CYP2D6* *10 *rs1065852*, *CYP2D6**41 *rs28371725*) and *COMT Val(108/158)Met*, *rs4680*. The TaqMan allelic discrimination technology was used. Accordingly to the *CYP2D6* and *CYP2C19* phenotype, the patients were classified in: poor, normal, extensive, intermediate, and ultra-rapid metabolizers and respectively 3 *COMT Val(108/158)Met* genotypes: *Val/Val*, *Val/Met*, *Met/Met*. Furthermore, 70 patients were sequenced using Next Generation Sequencing (NGS) technologies of MiSeq Illumina for a panel of 70 genes.

Results: No association between the evolution of depression of patients treated by VEN and the SNPs of *CYP2D6*, of *CYP2C19* and of *COMT* was showed in this sample. The NGS data is being analyzed. The quality of the NGS data has been validated by comparing the results to the TaqMan allelic discrimination of the CYP. Following the review of the literature showing the importance of the OCTs (Organic Cation Transporter) and PMATs (Plasma Membrane Monoamine Transporter) transporters in the transport of monoamines and their role in the AD response, these genes will be integrated in the selection of the panel of genes for the NGS study.

Conclusion: This work shows that routine genotyping of the SNPs of *CYP2D6*, of *CYP2C19* and of *COMT Val(108/158)Met* cannot be recommended in clinical practice in psychiatry for depressed patients treated by VEN. This work will continue with the NGS analyses that will attempt to identify relevant, rare and very rare variants, in particular for genes that have not been studied in a context of MDD such as *OCTs* and *PMATs*.

Key Words: depression, venlafaxine, pharmacogenetics, cohort, antidepressant