



Intérêts des marqueurs biologiques dans les essais cliniques

Julien Romanetto

► **To cite this version:**

Julien Romanetto. Intérêts des marqueurs biologiques dans les essais cliniques. Sciences pharmaceutiques. 2011. hal-01739098

HAL Id: hal-01739098

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739098>

Submitted on 20 Mar 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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2011

FACULTE DE PHARMACIE

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le **5 Juillet 2011**

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Julien ROMANETTO**

né le 23 novembre 1983 à Nancy (54)

Sujet de thèse

**INTERETS DES MARQUEURS BIOLOGIQUES DANS
LES ESSAIS CLINIQUES**

Directrice de thèse

Mme le Professeur Michèle GERMAN

Membres du Jury

Président : M. Philippe MAINCENT, Professeur, Faculté de Pharmacie, UHP Nancy I

Juges : Mme Michèle GERMAN, Professeur, Faculté de Pharmacie, Paris-Sud XI
Mme Sandrine LAPORTE, Docteur en Pharmacie
M. Rémy DEFRANCE, Docteur en Médecine

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN

Francine PAULUS

Vice-Doyen

Francine KEDZIEREWICZ

Président du Conseil de la Pédagogie

Bertrand RIHN

Responsable de la Commission de la Recherche

Christophe GANTZER

Directeur des Etudes

Virginie PICHON

Responsable de la Commission des Relations Internationales

Francine KEDZIEREWICZ

Président de la Commission Prospective Facultaire

Jean-Yves JOUZEAU

Responsable de la filière Officine : Francine PAULUS

Responsables de la filière Industrie : Isabelle LARTAUD
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH : Jean-Michel SIMON
(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON
Chantal FINANCE

Professeur Emérite : Jeffrey ATKINSON
Marie-Madeleine GALTEAU
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

Professeurs Honoraires

Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMAN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET

Maîtres de Conférences Honoraires

Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Andrée IMBS

Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Louis SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANT HONORAIRE

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Dominique NOTTER
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER	Pharmacie clinique
Jean-Claude BLOCK	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Isabelle LARTAUD.....	Pharmacologie
Dominique LAURAIN-MATTAR.....	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER.....	Biochimie
Pierre LEROY.....	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT.....	Pharmacie galénique
Alain MARSURA.....	Chimie thérapeutique
Jean-Louis MERLIN.....	Biologie cellulaire oncologique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS.....	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN.....	Biochimie, Biologie moléculaire
Jean-Michel SIMON.....	Economie de la santé, Législation pharmaceutique

MAITRES DE CONFERENCES

Sandrine BANAS.....	Parasitologie
Mariette BEAUD.....	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT.....	Communication et Santé
Isabelle BERTRAND.....	Microbiologie
Michel BOISBRUN.....	Chimie thérapeutique
François BONNEAUX.....	Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER.....	Chimie Physique
Cédric BOURA.....	Physiologie
Gérald CATAU.....	Pharmacologie
Igor CLAROT.....	Chimie analytique

Joël COULON.....	Biochimie
Sébastien DADE.....	Bio-informatique
Dominique DECOLIN.....	Chimie analytique
Béatrice DEMORE.....	Pharmacie clinique
Roudayna DIAB.....	Pharmacologie clinique
Joël DUCOURNEAU.....	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY.....	Chimie thérapeutique
François DUPUIS.....	Pharmacologie
Raphaël DUVAL.....	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE.....	Hématologie
Luc FERRARI.....	Toxicologie
Caroline GAUCHER-DI STASIO.....	Chimie physique, Pharmacologie
Stéphane GIBAUD.....	Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT.....	Chimie organique
Frédéric JORAND.....	Santé et Environnement
Olivier JOUBERT.....	Toxicologie
Francine KEDZIEREWICZ.....	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT.....	Informatique, Biostatistiques
Stéphanie MARCHAND.....	Chimie physique
Patrick MENU.....	Physiologie
Christophe MERLIN.....	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU.....	Pharmacognosie
Maxime MOURER.....	Chimie organique
Francine PAULUS.....	Informatique
Christine PERDICAKIS.....	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO.....	Pharmacologie
Virginie PICHON.....	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER.....	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY.....	Santé publique
Gabriel TROCKLE.....	Pharmacologie
Mohamed ZAIYOU.....	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI.....	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER.....	Sémiologie
-------------------------	------------

PROFESSEUR AGREGÉ

Christophe COCHAUD.....	Anglais
-------------------------	---------

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

En préambule à ce manuscrit de thèse, je tiens à remercier sincèrement l'ensemble des personnes ayant permis sa réalisation et en particulier :

A Madame le Professeur Michèle German

Pour m'avoir fait l'honneur de me confier et de diriger cette thèse.

Pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail, pour votre disponibilité, vos conseils, votre relecture attentive et votre aide qui ont permis son aboutissement.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect.

Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Philippe Maincent

Pour m'avoir fait l'honneur de présider cette thèse.

Pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail, votre disponibilité, la liberté laissée dans la manière de gérer ce travail et vos encouragements.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect.

A Madame Sandrine Laporte

Pour avoir accepté depuis le début de suivre son évolution et juger cette thèse

Pour m'avoir guidé durant mes premiers pas au sein des affaires réglementaires avec bienveillance.

Sois assurée de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur Rémy Defrance

Pour avoir accepté, avec un grand intérêt, de juger ce travail.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect et de ma gratitude.

A Sandrine Laporte, Olivier Poirieux et Quentin Desvigne

Merci de votre confiance, d'avoir accepté un jour de me donner ma chance pour me mettre le pied à l'étrier, votre patience au jour le jour et votre pédagogie. J'ai beaucoup appris à vos côtés.

Je vous en suis sincèrement reconnaissant.

Aux équipes des Affaires Réglementaires rencontrées chez Bristol-Myers Squibb à Rueil et Novartis à Bâle :

Noelle, Laura, Corinne, Selma, Sandra, Lucie, Isabelle, Marion, Valérie, Nadège, Elisabeth, Frédérique, Steve, Manoël, Thomas, Nicolas pour Bristol-Myers Squibb

Laurie, Valérie, Julie, Dania, Emilie, Diane, Chloé, Marjolaine, Marites, Alexandra, Liesbeth, Lea, Max, Thomas, Wim, Martin, Nick, Hans-Juergen, Yves, Emmanuel, Franck, Simon, Julien, Alain, Anthony pour Novartis

Pour votre amitié, tous les bons moments partagés du côté de Paris ou de la Suisse, votre écoute et vos conseils afin de m'aider à grandir au jour le jour dans la voie professionnelle que j'ai choisi.

Egalement aux membres « non réglementaires » des équipes dans lesquelles j'ai pu évoluer :

Guylaine, Valérie, Gerhild, Silvia, Emmanuel, Mark, Florian, Simon & Emilie, Diane, Constance

Pour m'avoir toujours considéré comme un membre à part entière de leurs équipes malgré ma faible expérience. Et surtout, j'espère avoir la chance dans le futur d'évoluer au sein d'équipes comme celles que vous composiez.

Merci aussi à **David Laurie** qui m'a facilité l'accès à certains documents qui m'ont été très utiles au moment de débiter ce travail de thèse.

A l'équipe du Centre Anti-Poison de Nancy

Patricia, Solène, Anick, Bénédicte, Sonia, Emmanuel, Luc, Paul

Pour votre bonne humeur même après de longues nuits de garde, votre gentillesse et l'accès aux réunions matinales même pour de simples stagiaires de pharma. Promis, jamais je ne me ferai une décoction de bulbes de jacinthe au petit-déjeuner.

A l'équipe de la pharmacie Petit-Poinsignon

Mme Petit-Poinsignon, Alex, Céline

Pour votre accueil, cette bonne ambiance et pour avoir pris du temps pour me former bien que je ne me destine pas en premier lieu à l'officine.

A mes parents, ma famille et tout particulièrement mon oncle Quirin,

Merci de m'avoir supporté, soutenu, aidé et encouragé durant toutes ces années d'études.

Recevez cette thèse en guise de remerciements et témoignage de mon amour.

A tous mes amis de longue date,

Sarah, Alice, Jean-Luc, David, Julien, Sébastien, Frédéric, Maxime, Vincent , François

Merci pour votre présence, votre écoute durant toutes ces années.

A mes amis de la Faculté,

Fanny, Aurélie, Vanessa, Florence, Lucie, Mélina, Emilie, Marie, Charlotte, Caro, Antoine, Jonathan, Guillaume, Manu, Pilou, Arnaud, Jonathan

A mes amis de promotion du Master de Paris XI,

Anaïs, Elodie, Sophie, Caro B, CaroR, Laurence, Nathalie, Aude, Nathalie, Louis

Aux « Bâlois » **Céline, Julien, Guillaume, Olympia, Allison**

Merci à tous de m'avoir accompagné durant tout ce chemin, pour votre présence, votre écoute durant toutes ces années sur les bancs du collège, du lycée puis de la fac.

Désormais, le « fantôme de la fac » va définitivement raccrocher son costume. Le douze et les ponts disulfure ne seront plus toxiques.

Que notre amitié perdure encore de longues années.

A toutes les personnes qui ont quelque chose à voir de près ou de loin avec ce travail...

LISTE DES ABREVIATIONS

AAPS	Association Américaine des Sciences Pharmaceutiques
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADNc	Acide DésoxyriboNucléique complémentaire
Afssaps	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ARNm	Acide RiboNucléique messenger
CBNPC	Cancer Bronchique Non à Petite Cellule
CHMP	Comité d'évaluation des médicaments européen «Committee for Medicinal Products for Human Use »
CTD	Format de dossier technique harmonisé « Common Technical Document »
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CYP3A5	Cytochrome P450 3A5
DFG	Débit de Filtration Glomérulaire
DIA	Association internationale pour les affaires réglementaires « Drug Information Association »
DMT	Dose Maximale Tolérée
ECG	ElectroCardioGramme
EGFR	Récepteur du Facteur de Croissance Epidermique « Epidermal Groth Factor Receptor »
EMA	Autorité de santé européenne “European Medicines Agency”
FDA	Autorité de santé américaine « Food and Drug Administration »
FISH	Hybridation In Situ de Fluorescence « Fluorescence In Situ Hybridation »
FPFV	Première visite du premier patient « First Patient First Visit »

HDL	Lipoprotéines de Haute Densité « High Density Lipoproteins »
ICH	Conférence Internationale d'Harmonisation « International Conference on Harmonization »
IND	Dossier de demande d'essai clinique américain « Investigational New Drug »
IOS	Organisation Internationale de Normalisation « International Organisation for Standardisation »
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
ITT	Intention de traiter « Intention To Treat »
KO	Gène éteint « Knock Out »
LBA	Dosage ligand-récepteur « Ligand Binding Assay »
LDL	Lipoprotéines de Faible Densité « Light Density Lipoproteins »
LOQ	Limite de sensibilité « Limite Of Quantitation »
MDRD	Modification du régime alimentaire en cas de pathologie rénale « Modification of the Diet in Renal Disease »
NDA	Dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché américaine « New Drug Application »
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ORR	Taux de réponse objectif au traitement « Overall Response Rate »
PCR	Amplification en chaîne par polymérase « PolyChain Reaction »
PCR-FRET	Amplification en chaîne par polymérase associée à une technique de détection de l'énergie émise par un fluorochrome « PolyChain Reaction -Fluorescence Resonance Energy Transfer »
PCR-RFLP	Amplification en chaîne par polymérase associée à la technique de polymorphisme de longueur des fragments de restriction « PolyChain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism »

PMDA	Agence de Santé japonaise « Pharmaceuticals and Medical Devices Agency »
PPAR	Peroxisome Proliferator Activated Receptor
PSTC	Consortium d'évaluation de données de sécurité prédictives « Predictive Safety Testing Consortium »
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RT-PCR	Amplification en chaîne par polymérase associée à une transcriptase inverse « Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction »
SAGE	Technique d'analyse des gènes exprimés « Serial Analysis of Gene Expression »
SAWP	Comité consultatif scientifique de l'autorité de santé européenne « Scientific Advice Working Party »
SNP	Paire de bases «Single Nucleotide Polymorphism »
SSP	Survie Sans Progression
VGDS	Procédure de Dépôt Volontaire des données PharmacoGénomiques « Voluntary Genomic Data Submission »

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS.....	10
SOMMAIRE	13
TABLE DES FIGURES	17
Introduction.....	20
I. Définition des biomarqueurs.....	20
II. Développement des biomarqueurs : identification des besoins	26
1. Coûts de développement.....	26
2. Tendre vers la Médecine personnalisée:.....	29
III. Différents types de biomarqueurs.....	32
1. Classification des biomarqueurs selon leur nature biochimique ou la technique ayant permis de développer le biomarqueur	32
2. Classification des biomarqueurs par catégorie selon les autorités de santé	37
3. Classification des biomarqueurs selon leurs fonctions.....	38
5. Classification des biomarqueurs selon la nature de la variable mesurée par la méthode de dosage du biomarqueur	40
IV. Biomarqueurs et essais cliniques	41
1. Identification d'un biomarqueur	41

2. Validation du biomarqueur et de la méthode de dosage du biomarqueur..	41
3. Qualification d'un biomarqueur	47
a. Définition de la Qualification des biomarqueurs	47
b. Historique du concept de qualification des biomarqueurs	47
c. Procédures de qualification des biomarqueurs pharmacogénomiques en tant que biomarqueurs compagnons spécifiques d'une substance active.....	49
d. Procédures de qualification des autres biomarqueurs (biomarqueurs non pharmacogénomiques et non spécifiques à une substance active).....	57
V. Biomarqueurs en tant que critères de substitution.....	67
1. Définition et spécificités des critères de substitution.....	67
2. Intérêts et objectifs des critères de substitution	68
3. Critères de substitution : des débuts controversés	70
1. Utilisation du LDL-cholestérol comme critère de substitution	70
2. Utilisation de l'hémoglobine glyquée (HbA1C) en tant que critère de substitution.....	72
3. Causes d'échec des critères de substitution	74
4. Critères de substitution : défis et opportunités.....	76
VI. Biomarqueurs et Essais cliniques adaptatifs.....	78
1. Notion d'essais cliniques adaptatifs	78
a. Définition et objectifs des essais cliniques adaptatifs.....	78
b. Intérêts des essais cliniques adaptatifs par rapport aux essais cliniques conventionnels.....	79
c. Risques potentiels avec les essais cliniques adaptatifs	80
2. Catégories d'essais cliniques adaptatifs	82
3. Essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs.....	85

a. Essais cliniques adaptatifs par enrichissement de la population suite à l'évaluation du statut d'un biomarqueur.....	87
b. Essais cliniques adaptatifs utilisant un biomarqueur pour lequel on ne possède pas d'éléments scientifiques démontrant que les sous-populations exprimant ce(s) biomarqueur(s) répondent mieux au traitement.....	88
c. Essai clinique adaptatif utilisant un biomarqueur non totalement validé.....	88

VII.Exemples d'illustration : biomarqueurs utilisés au cours d'essais cliniques..... 91

1. Illustration du potentiel des biomarqueurs à réduire le taux d'échec des essais cliniques : bucindolol	91
2. Illustration de l'intégration des biomarqueurs dans les phases précoces du développement clinique : essai clinique de Phase I de recherche de la dose maximale tolérée par escalade de doses pour PLX4032 dans le traitement du mélanome malin métastatique.	92
a. Introduction.....	92
b. Présentation de PLX4032.....	93
c. Essai clinique de phase I de recherche de la dose maximale tolérée par escalade de doses pour PLX4032 chez des patients atteints de mélanome malin métastatique	94
d. Intérêt des biomarqueurs lors de l'essai clinique de phase I de recherche de la dose maximale tolérée par escalade de doses pour PLX4032.....	95
3. Illustration d'un essai clinique adaptatif utilisant des biomarqueurs : l'essai clinique I-SPY 2.....	97
a. Présentation et objectifs	97
b. Place et apport des biomarqueurs dans l'essai clinique I-SPY 2	98
c. Plan expérimental.....	99
4. Illustration du rôle des biomarqueurs dans les essais cliniques pivots de phase III et le processus d'enregistrement : l'exemple de la mise sur le marché de gefitinib (Iressa®) dans le traitement du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) en Europe	102

a. Introduction.....	102
b. Parcours réglementaire suivi par géfitinib en Europe.....	103
c. Description des essais cliniques pivots de Phase III et importance des biomarqueurs pour ces études pivots	104
d. Apport des biomarqueurs pour la mise sur le marché du géfitinib	108

Conclusion : Intérêts des biomarqueurs dans les essais cliniques 110

LISTE DES REFERENCES 112

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Coût total estimé de recherche et développement estimé (en millions de dollars) permettant la mise sur le marché d'une nouvelle molécule ou entité biologique au cours du temps.....	26
Figure 2: Répartition des investissements de Recherche et développement (en %) par phase selon l'enquête réalisée en 2008 auprès des membres de l'organisation PhRMA.....	27
Figure 3: Evolution des causes d'arrêt du programme de développement de nouvelles substances chimiques ou biologiques entre 1990 et 2010 selon une enquête annuelle réalisée auprès des compagnies pharmaceutiques..	28
Figure 4: Variabilité inter-individuelle et taux de réponse aux traitements non personnalisés.....	29
Figure 5: Principe de la technique des puces à protéines et des puces à anticorps.....	36
Figure 6: Différents statuts réglementaires d'un biomarqueur relatifs aux étapes du processus de qualification.....	38
Figure 7: Etapes du processus de validation d'un biomarqueur et de la méthode de dosage associée....	41
Figure 8: Etapes du processus de validation d'un biomarqueur et de la méthode de dosage associée....	42
Figure 9: Adaptation du niveau de validation requis en fonction du caractère de la variable biologique reflétée par le biomarqueur.....	42
Figure 10: Relation entre la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire (DFG).	48
Figure 11: Inclusion de données pharmacogénomiques au dossier expérimental («Investigational New Drug ; IND») d'une nouvelle substance active en cours de développement aux Etats-Unis.....	51
Figure 12: Inclusion de données pharmacogénomiques au dossier de demande d'AMM d'une nouvelle substance chimique ou biologique aux Etats-Unis et en Europe.	51
Figure 13: Procédure de Soumission Volontaire de Données pharmacoGénomiques (procédure VGDS).	54
Figure 14: Procédure de qualification européenne des biomarqueurs..	64
Figure 15: Projet de procédure de qualification japonaise des biomarqueurs.....	65
Figure 16: Variation de l'épaisseur intima-media carotidienne en fonction de la diminution de la concentration sérique en LDL-cholestérol dans des essais cliniques contrôlés.	72
Figure 17: Situations possibles d'échec d'utilisation de critère de substitution.....	76
Figure 18: Illustration du plan expérimental d'un essai adaptatif multiple possible pour un essai clinique de recherche de dose : modification des paramètres de randomisation et élimination séquentielle.....	83

Figure 19: Mise en évidence du gain de temps théorique autorisé par le recours à un essai clinique adaptatif combiné de phase II/III par comparaison à des essais cliniques successifs de phase II et de phase III.	85
Figure 20: Arbre décisionnel de l'utilisation d'un biomarqueur dans un essai clinique adaptatif.....	86
Figure 21: Plan expérimental possible d'essai clinique adaptatif par enrichissement de la population suite à l'évaluation du statut d'un biomarqueur.....	87
Figure 22: Schématisation de la voie de transduction des MAP kinases.	93
Figure 23: Evaluation des biomarqueurs de pharmacodynamie lors de l'essai clinique de phase I de recherche de la DMT par escalade de dose pour PLX4032.	97
Figure 24: Plan expérimental de l'essai clinique I-SPY 2..	102
Figure 25: Voie de transduction du signal du facteur de croissance épidermique.....	103
Figure 26: Vue d'ensemble du programme clinique mené pour gefitinib dans le traitement du CBNPC.	105

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1: Définition des biomarqueurs selon le National Institute of Health.	21
Tableau 2: Liste des nouveaux traitements en oncologie autorisés aux Etats-Unis durant la période 2002-2008.	22
Tableau 3: Liste des biomarqueurs pharmacogénomiques qualifiés par la FDA et l'EMA et dont il est fait référence dans le RCP des médicaments concernés – Situation au 25 mars 2011.....	23
Tableau 4: Comparaison des techniques de découverte des biomarqueurs usuelles.	32
Tableau 5: Paramètres techniques à évaluer recommandés pour la méthode de dosage selon la catégorie de biomarqueur.....	44
Tableau 6: Tableau comparatif des caractéristique habituelles d'un essai clinique conventionnel et des caractéristiques habituelles d'un essai clinique adaptatif.	80

Introduction

Le processus de recherche et développement pharmaceutique se subdivise habituellement en trois grandes phases jusqu'à l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché : la phase de recherche, la phase de développement pré-clinique et la phase de développement clinique.

C'est au cours de cette dernière qu'ont lieu les essais cliniques. Les essais cliniques sont des études médicales statistiques effectuées chez l'Homme pour prouver la validité d'un nouveau traitement. Ils ont pour but d'établir l'existence d'un rapport bénéfice/risque favorable des traitements en cours de développement pour les malades et de préciser les conditions optimales de leurs emplois.

Les essais cliniques de Phase I correspondent aux premières administrations de la substance active à l'Homme afin de procéder à une évaluation à court terme de sa sécurité d'emploi en fonction de la dose et d'établir un premier profil pharmacocinétique/pharmacodynamique. Lorsque cette première administration à l'Homme s'avère concluante, d'autres études de Phase I peuvent être menées afin d'établir de manière plus complète le profil pharmacocinétique/pharmacodynamique de la substance active testée (Etudes des possibles interactions médicamenteuses, ...).

Les essais cliniques de Phase II ou essais exploratoires consistent à administrer la nouvelle substance active à un nombre limité de patients. L'objectif est de préciser l'efficacité thérapeutique et la sécurité clinique de cette nouvelle substance active et d'établir le schéma thérapeutique optimum (dose d'administration, fréquence d'administration, durée de traitement).

Les essais cliniques de Phase III ou essais confirmatoires ont pour but de confirmer l'efficacité et la sécurité clinique de la substance active administrée sur un plus grand nombre de patients et à plus long terme afin de se conformer au mieux à la population à laquelle elle est destinée.

Les biomarqueurs sont de plus en plus couramment utilisés lors de la phase clinique du développement d'une nouvelle substance chimique ou biologique. Au cours de ce travail de thèse, nous nous efforcerons d'identifier les raisons pour lesquelles on assiste à une expansion de l'emploi des biomarqueurs au cours de la phase clinique de développement puis nous définirons les différents types de biomarqueurs disponibles. Ensuite, nous aborderons la méthode avec laquelle il est possible d'introduire un biomarqueur dans un essai clinique. Enfin, à travers des exemples concrets d'essais cliniques utilisant des biomarqueurs, nous tenterons de mettre en évidence les bénéfices possibles des biomarqueurs lors de la phase clinique de développement.

I. Définition des biomarqueurs

Le terme « biomarqueur » a émergé au cours des 5 dernières années pour devenir de plus en plus commun de nos jours lorsque l'on évoque le développement pharmaceutique. La première question à se poser est donc la signification de ce terme générique.

Selon le National Institute of Health (USA), la définition générale d'un biomarqueur qui est actuellement répandue dans la communauté scientifique, est « une caractéristique biologique mesurée de façon objective et évaluée comme un indicateur soit de processus biologiques normaux ou pathologiques, soit de réponses pharmacologiques résultant d'une intervention thérapeutique » [3].

Cependant, les biomarqueurs ne sont pas un concept nouveau même s'ils n'étaient pas utilisés sous cette dénomination et de manière aussi fréquente dans le passé. Pour autant, en médecine clinique la mesure et le suivi de la température corporelle pour une infection ou la détermination de la glycémie pour le diabète de type II sont des exemples simples et utilisés depuis longtemps qui répondent à la définition des biomarqueurs. Ainsi, les biomarqueurs les plus accessibles et les plus connus sont sans doute les paramètres physiologiques, biochimiques ou moléculaires qui peuvent être détectés dans un tissu ou un fluide biologique (ex : sang, urine...).

Les biomarqueurs représentent aujourd'hui un domaine vaste puisqu'ils se présentent sous différentes formes physiques et biologiques et couvrent différents domaines d'application aussi bien au cours du développement pharmaceutique que dans la médecine clinique.

De par la diversité des types de biomarqueurs possibles, le National Institute of Health a également proposé une classification des biomarqueurs (tableau 1).

Tableau 1: Définition des biomarqueurs selon le National Institute of Health. D'après [3-4].

Dénomination	Définition
Biomarqueur	Caractéristique biologique mesurée de façon objective et évaluée comme un indicateur soit d'un processus biologique normal ou pathologique, soit de réponse pharmacologique résultant d'une intervention thérapeutique
Biomarqueur de type 0	Marqueur biologique de la progression de la maladie relié à un paramètre clinique connu
Biomarqueur de type I	Marqueur biologique qui reflète les effets d'une thérapeutique selon son mécanisme d'action
Biomarqueur de type II	Marqueur biologique considéré comme un critère de substitution : une modification de ce biomarqueur est associée à un bénéfice clinique ou à un risque
Critère de substitution [ou « Surrogate endpoint »]	Catégorie de marqueurs destinés à se substituer à un critère d'évaluation clinique devant permettre de déterminer le bénéfice clinique ou le risque à partir de données épidémiologiques, thérapeutiques ou physiopathologiques
Critère d'évaluation clinique [ou « Clinical end point »]	Caractéristique ou variable qui reflète l'état du patient.

Marqueur pronostique	Marqueur permettant de différencier des catégories de patients à différents risques pour une évolution déterminée, indépendamment du choix du traitement administré (ou du choix de ne pas administrer de traitement)
Marqueur prédictif	Marqueur permettant de prévoir les éventuels bénéfices (efficacité) et risques (toxicité) d'un traitement selon le statut du marqueur.

Les biomarqueurs s'appliquent également aux médicaments dans leur forme finale et leur usage est de plus en plus répandu. Aux médicaments qui sont développés, il peut être associé un test diagnostique "compagnon" permettant de prévoir l'efficacité du médicament pour un patient spécifié. Un biomarqueur validé peut être un de ces tests diagnostiques "compagnons". On peut citer l'exemple des Etats-Unis où près de 50% des nouveaux traitements autorisés en cancérologie sur la période 2002-2008 avaient recours à un biomarqueur diagnostique « compagnon » au moment de leur mise sur le marché pour définir les patients répondeurs au traitement (tableau 2).

Tableau 2: Liste des nouveaux traitements en oncologie autorisés aux Etats-Unis durant la période 2002-2008. D'après [9].

Médicaments d'oncologie en DCI ayant recours à un biomarqueur pour définir les patients répondeurs au traitement (biomarqueur utilisé)	Médicaments d'oncologie en DCI n'ayant pas recours à un biomarqueur pour définir les patients répondeurs au traitement	
Trastuzumab (HER2+)	Oxaliplatine	Bevacizumab
Fulvestrant (ER+)	Clofarabine	Temsirolimus
Tositumomab (CD20+)	Pemetrexed	Bendamustine
Imatinib (Ph+, KIT+)	Gefitinib	
Lenalomide (5q-)	Bortezomid	
Cetuximab (EGFR+)	Nelarabine	
Dasatinib (Ph+)	Erlotinib	
Panitumumab (KRAS)	Sorafenib	
Lapatinib (HER2+)	Sunitinib	
Nilotinib (Ph+)	Ixabepilone	
11 médicaments soit 45%	13 médicaments soit 55%	

Issue de la notion de biomarqueur, une nouvelle discipline a même été créée : « la théranostique ». Cette discipline s'intéresse à une catégorie spécifique de biomarqueurs : les biomarqueurs compagnon, la théranostique étant l'association d'une thérapeutique et d'un test diagnostique. La théranostique a pour but de permettre le choix du traitement le plus adapté pour chaque patient à l'aide de biomarqueurs .

Les évolutions des technologies pour la santé font qu'aujourd'hui la notion de biomarqueur ne correspond pas nécessairement à une caractéristique unique mesurée *ex vivo*, mais inclut des caractéristiques physiologiques complexes mesurées *in vivo*. Les caractéristiques physiologiques mesurées peuvent être des molécules circulantes, mais aussi d'autres natures (exemple : mesure d'un biomarqueur par technique d'imagerie) et peuvent aussi correspondre à un ensemble de caractéristiques physiologiques mesurées simultanément. Lorsqu'un test biomarqueur mesure un ensemble de paramètres en parallèle et non pas un seul paramètre, on parle de « test multiplexe » (« Biomarker pattern »).

Les différentes techniques employées (génomique, transcriptomique...) pour acquérir des données sur les biomarqueurs mesurés seront détaillées dans l'une des sections suivantes, car elles représentent une des voies de classification des biomarqueurs.

En pratique, malgré l'abondance de biomarqueurs potentiels identifiés par la recherche biomédicale, le nombre de biomarqueurs pertinents autorisé par les autorités de santé pour un usage en médecine clinique est encore faible mais devrait connaître une croissance exponentielle au cours des prochaines années [48]. A titre d'illustration, il y avait 17 biomarqueurs compagnons qualifiés [test obligatoire ou recommandé] par la FDA jusqu'en juin 2009 et 23 tests compagnons validés par la FDA jusqu'en mars 2011 (tableau 3).

Tableau 3: Liste des biomarqueurs pharmacogénomiques qualifiés par la FDA et l'EMA et dont il est fait référence dans le RCP des médicaments concernés – Situation au 25 mars 2011 (adapté de [5])

Molécule	Aire thérapeutique	Biomarqueur	Catégorie de biomarqueur	Extrait du RCP (si test obligatoire ou test recommandé)
Abacavir	Antirétroviral	Allèle HLA-B*5701	Test obligatoire	Avant de débiter un traitement contenant de l'abacavir, le dépistage de l'allèle HLA-B*5701 doit être réalisé chez tout patient infecté par le VIH
Aripiprazole	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Trioxysde d'arsenic	Oncologie	Translocation t(15;17)	Test obligatoire	Indiqué pour l'induction de la rémission et la consolidation chez des patients adultes en rechute/période réfractaire de leucémie promyélocytaire aiguë (LPA), caractérisée par la présence de la translocation t(15;17) et/ou la présence du gène PML/RAR-alpha
Trioxysde d'arsenic	Oncologie	Gène PML/RAR α	Test obligatoire	
Atomoxetine	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Atorvastatine	Endocrinologie	Récepteur au LDL	Pour information	
Azathioprine	Rhumatologie	TPMT	Test recommandé	Dans les rares cas de patients présentant un déficit génétique en thiopurine méthyltransférase, une surveillance étroite de l'hémogramme est indiquée en raison du risque de développement rapide d'une myélosuppression après initiation d'un traitement par l'azathioprine.

Busulfan	Oncologie	Chromosome Ph+	Pour information	
Capecitabine	Oncologie	DPD	Pour information	
Carbamazepine	Neurologie	Allèle HLA B1502	Test recommandé	Il a été observé que la présence de l'allèle HLA B1502 chez les sujets d'origine thaïlandaise ou Chinoise Han a été fortement associée au risque de réaction cutanée sévère de type SJS ou TEN lors d'un traitement par carbamazépine. Il est recommandé d'effectuer, dans la mesure du possible, une recherche de cet allèle chez ces sujets avant l'instauration d'un traitement par carbamazépine
Carvedilol	Cardiologie	CYP2D6	Pour information	
Cetuximab	Oncologie	EGFR	Test obligatoire	Indiqué dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal métastatique avec gène KRAS de type sauvage exprimant EGFR
Cetuximab	Oncologie	KRAS	Test obligatoire	
Cevimeline	Dermatologie	CYP2D6	Pour information	
Chloroquine	Anti-infectieux	Déficit en G6PD	Pour information	
Clopidogrel	Cardiologie	CYP2C19	Pour information	
Clozapine	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Codeine	Analgésique	CYP2D6	Pour information	
Dapsone	Dermatologie	Déficit en G6PD	Pour information	
Dasatinib	Oncologie	Chromosome Ph+	Test obligatoire	Indiqué chez des patients adultes atteints de LMC à Chromosome Philadelphie (Ph+) en phase chronique nouvellement diagnostiquée ; LAL et LMC en phase blastique lymphoïde Ph+ en cas de résistance ou intolérance à un traitement antérieur
Diazepam	Psychiatrie	CYP2C19	Pour information	
Doxepin	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Erlotinib	Oncologie	EGFR	Pour information	
Esomeprazole	Gastrentérologie	CYP2C19	Pour information	
Fluorouracile	Dermatologie	DPD	Pour information	
Fluoxétine	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Gefitinib	Oncologie	EGFR M+	Test obligatoire	Traitement du CBNPC localement avancé ou métastatique avec mutations activatrices de l'EGFR
Imatinib	Oncologie	C-Kit	Pour information	
Imatinib	Oncologie	Chromosome Ph+	Test obligatoire	Traitement des patients adultes et enfants atteints de LMC Ph+ en phase chronique après échec du traitement par l'interféron alpha, ou en phase accélérée ou en crise blastique ;
Irinotecan	Oncologie	UGT1A1	Test recommandé	Les patients avec mutations de UGT1A1 sont plus susceptibles d'être exposés aux effets indésirables d'irinotecan (cancer colo-rectal)
Lapatinib	Oncologie	Her2/neu	Test obligatoire	Tyverb est indiqué, dans le traitement du cancer du sein, avec surexpression des récepteurs HER2
Lenalidomide	Hématologie	Chromosome 5q	Test recommandé	Lénalidomide inhibe la prolifération de certaines cellules malignes hématopoïétiques (y compris les plasmocytes malins de MM et celles présentant des délétions sur le chromosome 5)

Maraviroc	Antiviral	CCR5	Test obligatoire	Traitement de l'infection par le VIH-1 à tropisme détecté uniquement CCR5 chez l'adulte prétraité par des antirétroviraux
Mercaptopurine	Oncologie	TPMT	Pour information	
Metoprolol	Cardiologie	CYP2D6	Pour information	
Nelfinavir	Antirétroviral	CYP2C19	Pour information	
Nilotinib	Oncologie	Chromosome Ph+	Test obligatoire	Traitement de la LMC Ph+ en phase chronique nouvellement diagnostiquée.
Nilotinib	Oncologie	UGT1A1	Pour information	
Panitumumab	Oncologie	EGFR	Test obligatoire	Indiqué en monothérapie pour le traitement des patients atteints de cancer colorectal métastatique exprimant l'EGFR et présentant le gène KRAS non muté (type sauvage)
Panitimumab	Oncologie	KRAS	Test obligatoire	
Propaferone	Cardiologie	CYP2D6	Pour information	
Propranolol	Cardiologie	CYP2D6	Pour information	
Protriptyline	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Quinidine	Antimalarien	CYP2D6	Pour information	
Rabéprazole	Gastroentérologie	CYP2C19	Pour information	
Rasburicase	Oncologie	Déficit en G6PD	Test recommandé	Le risque accru d'hémolyse concerne donc uniquement les patients atteints d'un déficit en G6PD ou d'une anémie héréditaire.
Rifampicine	Anti-infectieux	NAT1; NAT2	Pour information	
Risperidone	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Phénylacetate de sodium	Gastroentérologie	NAGS; CPS; ASS; OTC; ASL; ARG	Test recommandé	Surveillance thérapeutique : Les taux plasmatiques de l'ammoniaque, de l'arginine, des acides aminés essentiels (en particulier les acides aminés branchés), de la carnitine et des protéides doivent être maintenus dans les limites de la normale et celui de la glutamine à des taux inférieurs à 1000 µmol/l.
Phénylbutyrate de sodium	Gastroentérologie	NAGS; CPS; ASS; OTC; ASL; ARG	Test recommandé	
Tamoxifène	Oncologie	Récepteur aux oestrogènes	Test recommandé	L'efficacité de cette thérapeutique est plus importante chez les femmes dont la tumeur contient des récepteurs de l'estradiol et/ou de la progestérone.
Terbinafine	Antifongique	CYP2D6	Pour information	
Tetrabenzazine	Neurologie	CYP2D6	Pour information	
Thioguanine	Oncologie	TPMT	Pour information	
Thioridazine	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Timolol	Ophthalmologie	CYP2D6	Pour information	
Tiotropium	Respiratoire	CYP2D6	Pour information	
Tolterodine	Urologie	CYP2D6	Pour information	
Tramadol	Analgésique	CYP2D6	Pour information	
Trastuzumab	Oncologie	Her2/neu	Test obligatoire	Traitement du cancer du sein métastatique, avec surexpression tumorale de HER2
Tretinoïne	Dermatologie	PML/RAR α translocation	Pour information	
Acide valproïque	Psychiatrie	NAGS; CPS; ASS; OTC; ASL; ARG	Pour information	
Venlafaxine	Psychiatrie	CYP2D6	Pour information	
Voriconazole	Antifongique	CYP2C19	Pour information	
Warfarine	Hématologie	CYP2C9	Pour information	
Warfarine	Hématologie	VKORC1	Pour information	

II. Développement des biomarqueurs : identification des besoins

1. Coûts de développement

Un médicament ne peut être mis sur le marché et rendu disponible aux patients qu'après une longue phase de Recherche et Développement . Or les coûts de cette phase de Recherche et Développement de nouvelles molécules pharmaceutique n'ont cessé d'augmenter au cours de la dernière décennie (Figure 1). Ainsi, l'étude publiée en 2007 sur le sujet a estimé le coût moyen actuel de la phase de recherche et développement d'une nouvelle molécule pharmaceutique ou d'une nouvelle entité biologique à 1059 millions d'euros [12].

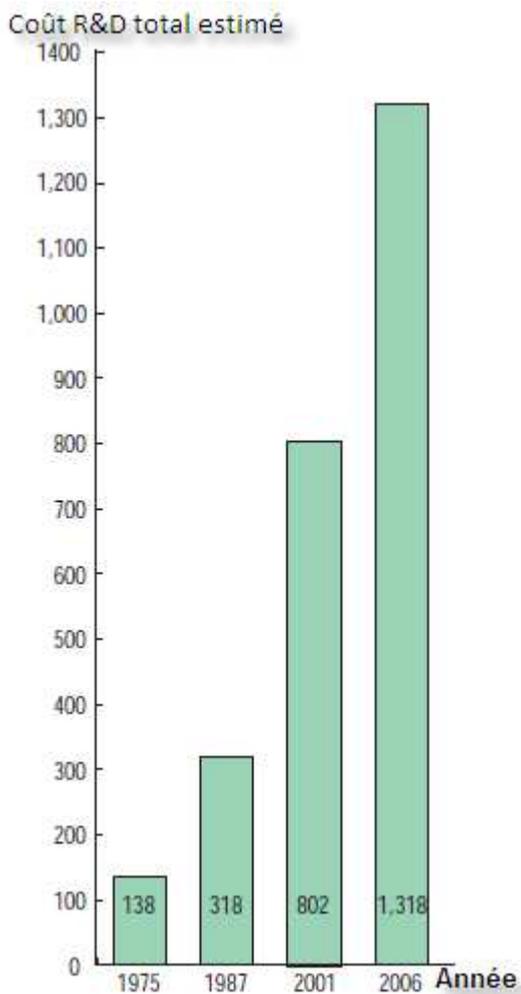


Figure 1 : Coût total estimé de recherche et développement estimé (en millions de dollars) permettant la mise sur le marché d'une nouvelle molécule ou entité biologique au cours du temps, adapté de [12]

Or cette phase de Recherche et Développement s'avère risquée pour les compagnies pharmaceutiques qui doivent en supporter les coûts. En effet, plusieurs études ont démontré que la probabilité de succès de mise sur le marché d'une nouvelle molécule pharmaceutique ou d'une nouvelle entité biologique

identifiée est de 0.1% à 0.2% [12]. Autrement dit, à partir de 5000 molécules pharmaceutiques ou entités biologiques identifiées, on estime à seulement 250 le nombre qui entreront en phase de recherche pré-clinique, puis 10 en phase de recherche clinique pour aboutir à 1 seule molécule qui se verra décerner une autorisation de mise sur le marché par les autorités de santé.

D'autre part, on considère que seule la moitié des molécules ou entités biologiques candidates qui atteignent la phase de développement clinique durant laquelle les sommes les plus importantes de la phase de recherche et développement sont investies (Figure 2) pourra obtenir une autorisation de mise sur le marché, et que seuls 30% des médicaments mis sur le marché seront à même de générer des revenus couvrant ou dépassant les sommes investies en recherche et développement par les compagnies pharmaceutiques.

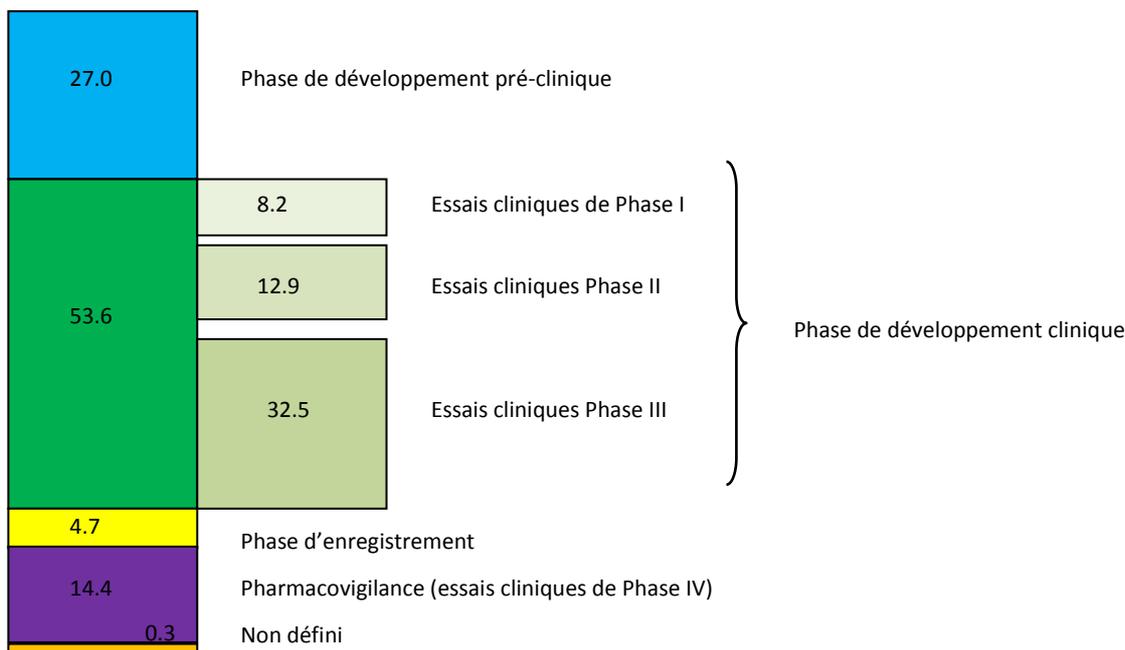


Figure 2: Répartition des investissements de Recherche et développement (en %) par phase selon l'enquête réalisée en 2008 auprès des membres de l'organisation PhRMA, adapté de [12]

Au rang des principaux facteurs contribuant à cette augmentation exponentielle des coûts de recherche et développement, on trouve la complexité technique et scientifique croissante pour identifier de nouvelles molécules ou entités biologiques candidates, le coût des essais cliniques liés à des exigences réglementaires de plus en plus élevées et le taux d'échec de développement de nouvelles molécules ou entités biologiques candidates.

En parallèle à cette augmentation exponentielle des coûts de recherche et développement, pour différentes raisons y compris le contexte économique mondial, les investissements des compagnies pharmaceutiques au niveau mondial semblent suivre une évolution plus lente.

En conséquence, les compagnies pharmaceutiques cherchent à identifier les causes des échecs et à mettre en œuvre des moyens pour les identifier le plus en amont possible de la phase de recherche et

développement afin d'éviter des investissements à perte dans le développement de nouvelles molécules ou entités biologiques candidates. Ce besoin d'outils à la prise de décision au cours du développement se trouve renforcé par les échecs récents rencontrés par certaines firmes pharmaceutiques dans le développement de potentiels « blockbusters » tel que torceptrapib (Pfizer) [10].

Une étude a ainsi été menée entre 1991 et 2010 afin de tenter de déterminer les principales causes d'échecs de développement de nouvelles molécules chimiques ou biologiques au cours de la phase clinique [84]. Si le taux d'échecs du développement pour des raisons de pharmacocinétique, de pharmacodynamie ou de bioéquivalence a nettement diminué entre 1991 et 2000, probablement du fait d'une caractérisation plus en amont de ces paramètres au cours du développement clinique, les taux d'échecs dûs à un manque d'efficacité ou à un profil de sécurité insatisfaisant n'ont pas ou peu régressé durant cette période (Figure 3).

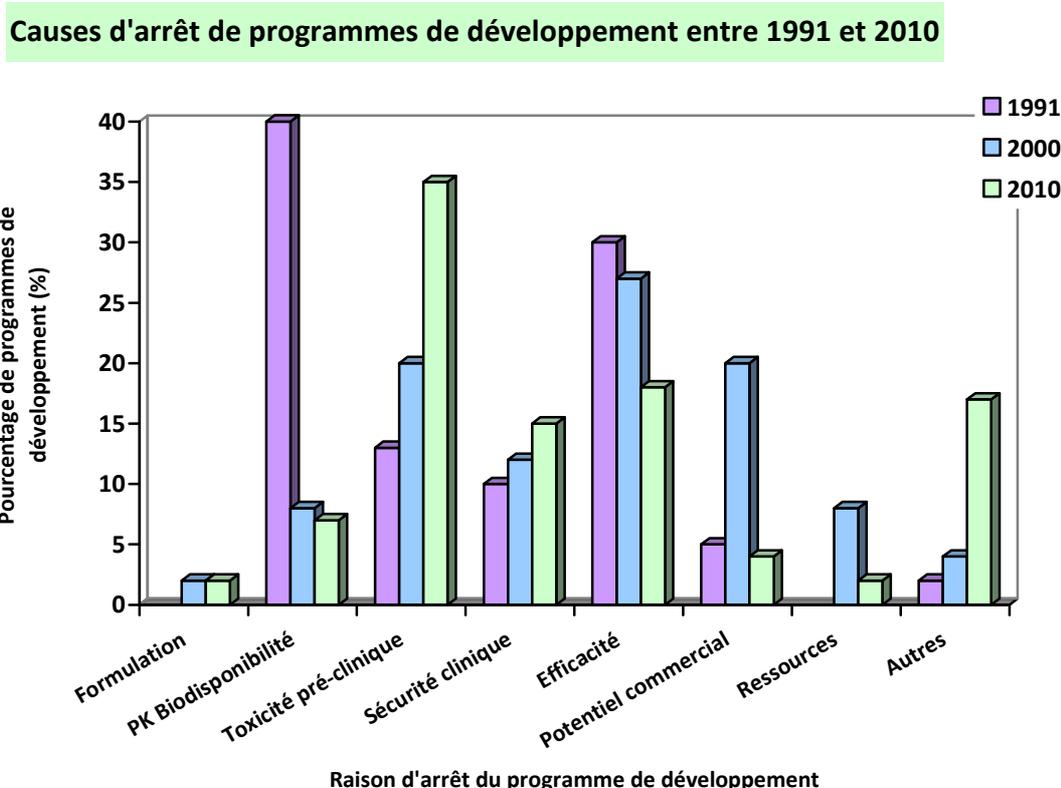


Figure 3: Evolution des causes d'arrêt du programme de développement de nouvelles substances chimiques ou biologiques entre 1990 et 2010 selon une enquête annuelle réalisée auprès des compagnies pharmaceutiques. Adapté de [8, 84].

De par leur capacité potentielle à évaluer la liaison de la molécule pharmaceutique à la cible d'intérêt ou à améliorer la compréhension des mécanismes physiopathologiques d'une maladie, les biomarqueurs sont actuellement perçus comme un des outils possibles d'aide à la décision au cours du développement. Ils devraient permettre de mieux sélectionner les candidats médicaments et de réduire les taux d'échecs, donc permettre de réaliser des économies dans les coûts globaux de recherche et développement.

2. Tendre vers la Médecine personnalisée:

Pour qu'une nouvelle molécule ou entité biologique se voit décerner une autorisation de mise sur le marché par les autorités de santé compétentes, elle doit pouvoir justifier d'une balance bénéfique/risque suffisante. L'évaluation repose sur des études statistiques chez un nombre significatif de patients atteints par la pathologie concernée. Cependant, il est rare qu'un traitement soit efficace et sûr pour absolument tous ces patients. Ceci est dû à la variabilité inter-individuelle. Ainsi, au cours d'une étude réalisée en 2001 sur différents traitements utilisés dans des pathologies fréquentes, les auteurs avaient établi, à partir de données publiées, que la proportion de patients répondeurs variait entre 50% et 75% pour la majorité de ces traitements (Figure 4) [6].

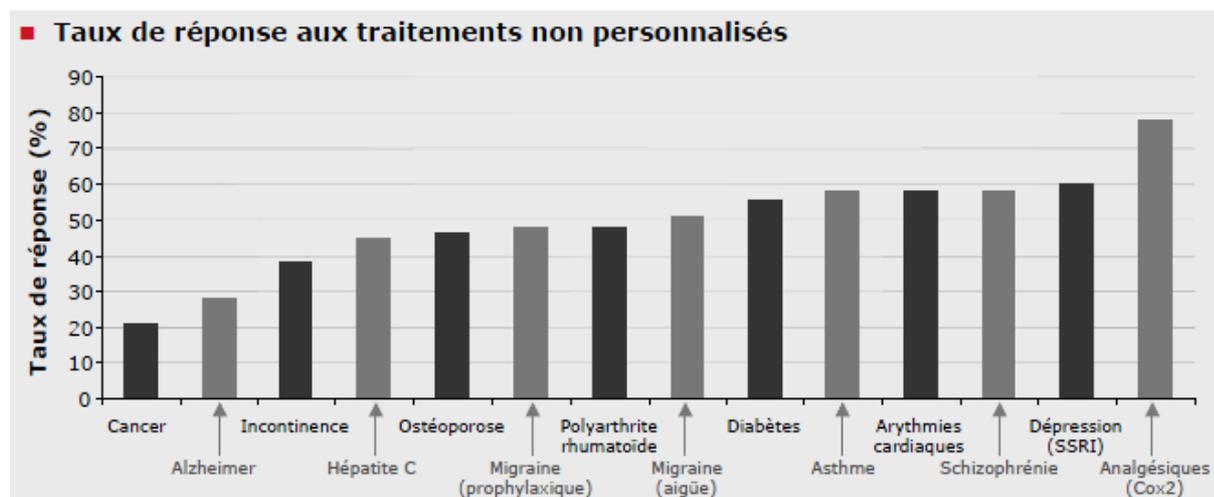


Figure 4: Variabilité inter-individuelle et taux de réponse aux traitements non personnalisés. D'après [8].

Les conséquences sur la qualité du système de santé sont significatives. En termes d'efficacité et de qualité de vie, les patients peuvent se trouver contraints de changer plusieurs fois de traitements jusqu'à ce qu'ils trouvent le traitement qui leur est efficace. D'un point de vue économique, la société supporte alors le coût d'un traitement qui se révèle inefficace chez certains patients, ce qui conduit à dégrader la qualité du système de santé à terme, les sommes dépensées ne pouvant être allouées à d'autres pans du budget. Une étude réalisée en 2008 avait ainsi mis en évidence que 604 millions de dollars pourraient être économisés annuellement aux Etats-Unis dans le cadre du traitement du cancer colorectal métastatique si Vectibix® (panatimumab) et Erbitux® (cetuximab) n'étaient prescrits qu'aux patients répondeurs à ces traitements, c'est-à-dire aux patients dont le gène KRAS n'est pas muté [13-14]. Cette restriction a depuis été ajoutée dans les indications américaines et européennes de Vectibix® (panatimumab) et Erbitux® (cetuximab) [15-18]. En conséquence, les organismes de remboursement et les autorités de santé sont de plus en plus regardants sur les preuves d'efficacité et de sécurité lors des procédures de mise sur le marché de nouveaux médicaments, l'un de leurs objectifs étant d'autoriser de nouvelles thérapeutiques qui garantissent aux patients le bon médicament, à la bonne dose et au bon moment [22].

Le développement de la médecine personnalisée pourrait être une des solutions pour maintenir la qualité du système de santé dans les années à venir. La médecine personnalisée peut être définie comme l'adaptation des traitements médicaux aux caractéristiques individuelles de chaque patient. Il ne s'agit pas du développement de médicaments ou dispositifs médicaux spécifiques à un patient, mais

plutôt de la capacité à classer les patients en sous-populations qui diffèrent par la sensibilité à une maladie, par la capacité à répondre au traitement ou encore par la susceptibilité à développer des effets secondaires graves lorsqu'ils sont exposés à un traitement. La prise en charge avec un traitement personnalisé peut alors se concentrer sur ceux qui en bénéficieront, tout en évitant des dépenses inutiles et le risque de survenue d'effets indésirables chez les patients dont il aura été établi qu'ils ne bénéficieront pas du traitement [23]. C'est donc une approche préventive, coordonnée et fondée sur des preuves scientifiques. Elle repose sur le concept du « bon traitement pour le bon patient » [9].

La médecine personnalisée peut être considérée comme un prolongement de l'approche traditionnelle actuelle visant à la compréhension et au traitement d'une pathologie. Les médecins ont toujours utilisé des preuves scientifiques établies afin de poser un diagnostic et prescrire le traitement adapté à chaque individu. La médecine personnalisée tend à fournir aux médecins des outils plus précis, ne se limitant pas uniquement à des preuves observables ou à des examens « externes » (mammographie, recherche de cellules tumorales au microscope...) mais poussant les explorations jusqu'à l'échelle moléculaire. Le profil génétique d'un patient peut ainsi orienter le choix vers des médicaments ou des protocoles de traitement qui induisent le moins d'effets secondaires ou la meilleure efficacité. En effet, certaines variabilités inter-individuelles sont clairement en cause dans la réponse au traitement en fonction du profil d'expression génique [19-21]. Ce profil peut également indiquer une sensibilité à certaines maladies avant qu'elles se manifestent, ce qui permettrait au médecin de définir avec le patient un plan de surveillance et de prévention.

Le démarrage du développement du concept de « médecine personnalisée » a vraiment été rendu possible par le séquençage du génome humain en 2003. A l'heure actuelle, ce concept de « médecine personnalisée » n'est pas seulement théorique mais est déjà réel et continue de progresser rapidement. Les principales agences du médicament mondiales ont déjà évalué des traitements personnalisés en oncologie : certains médicaments possèdent des indications personnalisées en fonction d'un biomarqueur compagnon pharmacogénomique précisé dans leurs indications [11].

Dans la médecine personnalisée, les biomarqueurs validés, spécifiquement associés à une pathologie ou à un traitement, sont des éléments indispensables pour aider les médecins à orienter leurs décisions quant aux traitements à administrer à leurs patients. Aux nouveaux médicaments qui sont actuellement développés, est associé de plus en plus fréquemment un test diagnostique "compagnon" permettant de prévoir l'efficacité du médicament. Ces tests diagnostiques sont la recherche de biomarqueurs, on parle ainsi de « biomarqueurs compagnons ».

L'utilisation des biomarqueurs en tant que « biomarqueurs compagnons » est la manifestation la plus visible pour le grand public de l'emploi des biomarqueurs lors de la phase de recherche et développement dans le cadre de la médecine personnalisée. Cependant, l'utilisation des biomarqueurs ne se limite pas à cette étape finale mais peut intervenir dès les étapes de développement pré-clinique puis tout au long du développement clinique d'une nouvelle molécule ou entité biologique sans pour autant qu'un biomarqueur compagnon soit associé au médicament. On peut ainsi envisager l'emploi de biomarqueurs de toxicité (ex : biomarqueurs de néphrotoxicité) afin de sélectionner les candidats médicaments de manière plus fiable lors des phases initiales du développement. On peut également envisager l'emploi de biomarqueurs mesurant l'activité d'une cible spécifique permettrait de déterminer, au début du développement, les sous-populations spécifiques pour lesquelles le candidat

médicament a les effets les plus marqués pour un critère clinique pré-défini ; la suite du développement ne sera alors réalisée que chez ces sous-populations spécifiques. Ces utilisations potentielles des biomarqueurs sont également des applications de la médecine personnalisée.

Si le développement des biomarqueurs en tant que test diagnostique compagnon n'est pas l'objet de ce travail de thèse, le développement et la généralisation des biomarqueurs passent également par les « biomarqueurs compagnons ». En effet, le premier facteur de généralisation des biomarqueurs est économique. Les acteurs de l'industrie pharmaceutique savent que la médecine personnalisée conduit à stratifier les patients atteints d'une même pathologie et de ce fait à cibler des populations de moindre taille susceptibles de bénéficier de ces traitements personnalisés. Par conséquent, cela revient à diminuer la taille du marché et les revenus potentiels générés par ces traitements personnalisés. Mais, en contrepartie, si la stratification des patients est réussie, les essais de phase III qui constituent la part la plus onéreuse du développement clinique pourraient devenir considérablement moins chers en ciblant une population restreinte. Tandis que la recherche d'une taille d'effet significative sur une sous-population bien définie au lieu d'une efficacité faible dans la population générale pourrait renforcer la probabilité d'obtenir une autorisation de mise sur le marché [10].

Le recours aux biomarqueurs devrait alors éviter des investissements de plusieurs millions de dollars dans le développement de blockbusters pour de larges populations qui se révéleront être des échecs au final [10]. Par conséquent, l'utilisation de biomarqueurs dans le cadre de la médecine personnalisée est perçue par les acteurs de l'industrie pharmaceutique comme une opportunité qui pourrait permettre à certaines molécules d'avoir de nouvelles indications dans des marchés concurrentiels et des marchés de niche [9].

III. Différents types de biomarqueurs

1. Classification des biomarqueurs selon leur nature biochimique ou la technique ayant permis de développer le biomarqueur

En fonction de la nature du biomarqueur recherché, peuvent être appliquées des techniques de génomique, de transcriptomique, de protéomique ou de métabolomique. De ce fait, on parle de biomarqueurs génomiques fondés sur l'ADN, de biomarqueurs transcriptomique fondés sur l'ARNm, de biomarqueurs protéomique fondés sur les protéines ou de biomarqueurs métabolomique pour les métabolites.

Tableau 4: Comparaison des techniques de découverte des biomarqueurs usuelles, d'après [80]

	Biomarqueur génomique	Biomarqueur transcriptomique	Biomarqueur protéomique	Biomarqueur métabolomique
Technique à bas débit	Technique de séquençage	PCR Northern blot		RMN Chromatographie en phase gazeuse
Technique à moyen débit	Spectrométrie de masse	SAGE	Spectrométrie de masse ELISA	Chromatographie Lique/Spectrométrie de Masse
Technique à haut débit	PCR	Puce à ADN	Puce à protéines Puce à anticorps	

SAGE : « Serial Analysis of Gene Expression » ; ELISA : « Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay » ; RMN: Résonance Magnétique Nucléaire ; PCR : « Polymerase Chain Reaction »

a) biomarqueurs génomiques et biomarqueurs transcriptomiques

Bien que sur un plan strictement scientifique, de par leurs natures différentes, les biomarqueurs génomiques (ADN) et les biomarqueurs transcriptomiques (ARNm) doivent être différenciés, les techniques de découvertes associées étant la plupart du temps différentes, ils sont communément regroupés sous le terme de pharmacogénomique. Dans cette acceptation, la génomique consiste en l'étude et l'analyse des séquences d'acides nucléiques (ADN et ARNm) du point de vue qualitatif et/ou quantitatif [9].

Dans le domaine de la génétique, l'étude des variations génétiques a deux principaux domaines d'application : établir une corrélation entre une variation génétique et une pathologie et établir une corrélation entre une variation génétique et des niveaux de réponse à un traitement.

La génomique fonctionnelle vise donc à déterminer la fonction et l'expression des gènes séquencés grâce à leurs produits d'expression (ex : nombre de copies d'ARNm produites) dans différentes conditions (avant et après stimulation) ou selon l'origine du tissu (tissu sain, tissu pathologique, tissu d'origine anatomique variable...). Elle peut ainsi permettre la mise en évidence de gènes physiologiques ou de gènes modifiés corrélés à la présence d'une pathologie ou à un certain niveau de réponse à un médicament. Ces gènes peuvent alors constituer des biomarqueurs génomiques. De la même manière, la corrélation à un produit d'expression génique peut permettre la mise en évidence de biomarqueurs transcriptomiques [9].

L'élément essentiel dans le développement de la génomique a été l'achèvement du séquençage complet du génome humain en 2003, ce qui a permis de s'intéresser aux variations d'une paire de bases entre individus ou SNP («Single Nucleotide Polymorphism») comme base pour la mise en évidence de biomarqueurs génomiques ou transcriptomiques. Les SNP constituent la forme la plus importante de variations génétiques dans le génome humain (90% de toutes les différences entre individus). Ces polymorphismes sont stables, très abondants et distribués uniformément dans tout le génome.

Trois étapes sont essentielles dans les techniques visant à identifier des variations géniques telles que les SNP : l'isolement de l'échantillon génétique (ADN ou ARN), l'amplification et la détection du produit d'intérêt. Au départ, le séquençage du génome pour la mise en évidence de SNP reposait sur des techniques manuelles complexes et extrêmement chronophages telles que l'analyse de l'ADN par hybridation en Southern blot, relayée ensuite par une technique plus efficace : l'amplification par polymérisation en chaîne (PCR) et l'ensemble de ces déclinaisons selon la technique de détection utilisée (PCR-RFLP en utilisant une enzyme de restriction produisant des fragments de longueurs variable selon les individus, PCR-FRET en utilisant des sondes émettant une énergie de fluorescence, RT-PCR en utilisant une transcriptase inverse). La RT-PCR (« Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction») reste à ce jour la technique la plus sensible pour détecter et doser de faible quantité d'ARNm par rapport à d'autres techniques plus récentes, ce qui peut s'avérer utile lorsque l'on est en mesure de ne collecter que des échantillons de taille réduite. Mais le progrès majeur ayant rendu possible le séquençage complet du génome fut la mise au point de séquenceurs automatiques reposant initialement sur la technique de Sanger [9].

Pour développer de nouvelles techniques appliquées à la génomique, il faut qu'elles soient suffisamment automatisées pour permettre l'analyse d'un grand nombre d'échantillons en un temps réduit. Dans cette voie, les principales techniques les plus récemment développées pour la génomique fonctionnelle et la mise en évidence de biomarqueurs génomiques sont les puces à ADN et la bioinformatique [9].

Les puces à ADN permettent de suivre le profil d'expression de centaines de gènes en parallèle. Ces puces à ADN sont des supports solides (verre, silices, polymères) sur lesquels sont déposés des sondes d'ADN simple brin connues en des endroits précis. L'ARNm des cellules étudiées, dont on veut comparer l'expression des gènes avec un étalon, est extrait et amplifié. A partir de cet ARNm, on produit grâce à une rétrotranscriptase de l'ADN complémentaire que l'on marque avec un fluorochrome avant de le mettre en contact avec les sondes de la puce à ADN préalablement préparée. Une réaction d'hybridation entre les sondes d'ADN et l'ADNc peut alors avoir lieu ou non. Cette hybridation est alors mise en évidence en comparant l'intensité du signal émis par le fluorochrome analysé par un scanner à très haute définition à l'intensité du signal émis par l'étalon marqué avec un autre fluorochrome [9].

Si d'un point de vue technique, la génomique atteint actuellement un niveau de fiabilité satisfaisant associé à des coûts abordables, l'analyse des données fournies demeure un point crucial. La bioinformatique et les biostatistiques sont capitales dans ce domaine, le recours à des logiciels de calculs mathématiques étant indispensable pour traiter les quantités importantes de données fournies. Différents logiciels sont disponibles pour chaque technique et n'utilisent pas toujours les mêmes algorithmes mathématiques pour traiter les données. Il est donc important de veiller malgré tout à une certaine uniformité dans les outils bioinformatique appliqués à la génomique utilisés [9].

Il faut enfin noter que la génomique s'est déclinée dans des domaines spécialisés tels que la toxicogénomique. La toxicogénomique étudie la relation entre l'expression du génome et les effets indésirables des médicaments ou des substances toxiques sur les cellules, les tissus, les organes et les liquides biologiques. Cette approche permet une meilleure compréhension des phénomènes de toxicité au niveau moléculaire et entrouvre la porte vers la possibilité de prévoir les phénomènes de toxicité. Par exemple, suite à l'exposition à un toxique, de manière directe ou indirecte, un gène se retrouve non exprimé ou son expression est diminuée. La non-expression ou la réduction de l'expression de certains gènes peut avoir des conséquences pathologiques. Ces gènes, si l'on est capable d'établir leur profil d'expression, peuvent constituer des biomarqueurs et être utilisés pour évaluer la sécurité d'un médicament [9].

b) biomarqueur protéomique

Le protéome est l'ensemble des protéines exprimées dans une cellule, une partie d'une cellule (membranes, organites) ou un groupe de cellules (organe, organisme, groupe d'organismes) dans des conditions données et à un moment donné. Contrairement au génome qui est identique dans la plupart des cellules, le protéome est dynamique. Des groupes de protéines différents sont produits en fonction de la lignée cellulaire et du stade de développement de la cellule. Le protéome est également influencé par l'environnement externe. La protéomique étudie alors les variations des taux d'expressions des différentes protéines en fonction du temps, de leur environnement, de leur état de développement, de leur état physiologique et pathologique, de l'espèce d'origine... Elle étudie aussi les interactions des protéines avec leur environnement [80].

Différentes techniques sont disponibles pour identifier une protéine, la doser et/ou déterminer son activité et peuvent ainsi aboutir à mettre en évidence un biomarqueur protéomique : gel d'électrophorèse bidimensionnelle, spectromètre de masse MALDI-TOF ou SELDI-TOF...

- L'électrophorèse bidimensionnelle sur gel permet de séparer les protéines en fonction de leur charge (point isoélectrique) et de leur masse. Elle permet ainsi d'établir une carte des protéines exprimées dans un tissu à un moment donné.
- Le spectromètre de masse MALDI-TOF associe une source d'ionisation à un analyseur de temps de vol et permet de déterminer la masse exacte de fragments peptidiques résultant de la digestion enzymatique des échantillons. Des spectres de masse sont produits et permettent ainsi l'identification des protéines.
- La spectrométrie de masse en tandem permet d'identifier une protéine d'intérêt dans un échantillon comportant un mélange complexe de protéines lorsque le spectromètre de masse MALDI-TOF n'est plus utilisable en raison de la superposition des empreintes dans la carte peptidique obtenue. Dans le cas de la spectrométrie de masse en tandem, les peptides issus de la première fragmentation sont à nouveau fragmentés. Les produits de fragmentation sont alors des acides aminés ou des peptides très courts. La séquence complète de la protéine est reconstituée par chevauchement des séquences des différents peptides.
- La chromatographie liquide d'affinité est une autre technique d'isolement de protéines. Elle repose sur la reconnaissance hautement spécifique entre une molécule du mélange à séparer et

un ligand. Lors d'une première étape de fixation, le mélange contenant la protéine à purifier est chargé sur la colonne d'affinité et seule la protéine présentant une affinité suffisante pour le ligand est retenue sur la phase stationnaire. En continuant à faire passer du tampon dans la colonne, toutes les molécules non adsorbées sur la phase stationnaire sont éliminées lors de la phase de purification. Enfin, la protéine purifiée est éluée de la phase stationnaire [9].

Comme nous l'avons écrit précédemment, les biomarqueurs protéomiques font partie des biomarqueurs les plus courants et les plus anciens. Leur mise en évidence peut se révéler complexe et utilise le plus fréquemment des techniques d'immunodosage. Le développement des antigènes et des anticorps spécifiques de la protéine détectée est une étape supplémentaire dans le développement des ces biomarqueurs protéomiques. Le coût de la technique de dosage doit être raisonnable. Les techniques d'immunodosage restent les méthodes de dosage des biomarqueurs protéomiques les plus favorisées de fait de leur facilité d'utilisation et de leur coût modéré. Des techniques d'immunodosage multiple permettant le dosage simultané de plusieurs protéines comme les « puces protéiques » aussi dénommées « puces à antigène » et les « puces à anticorps » sont les techniques les plus récemment conçues [9].

Le principe des puces à antigènes et des puces à protéines est identique à celui des puces à ADN. Dans le cas des puces à antigènes, ce ne sont pas des sondes d'ADN mais des anticorps connus pour leur affinité pour une/des protéine(s) spécifique(s) qui sont déposés au fond des micropuits et jouent le rôle de sonde. Ces sondes d'anticorps peuvent ainsi détecter les protéines cibles présentes dans l'échantillon à analyser. Les puces à protéines permettent de détecter les interactions moléculaires d'une protéine déterminée avec divers ligands. Dans ce cas, ce sont des protéines qui sont déposées au fond des micropuits et jouent le rôle de sonde. Il est alors possible de reconnaître les autres protéines, les anticorps, les sucres ou les acides nucléiques qui établissent des interactions moléculaires avec les protéines déposées (Figure 6). Les puces protéiques et les puces à anticorps permettent l'analyse des protéomes à haut débit bien que ces techniques soient parfois limitées par leur manque de sensibilité [79].

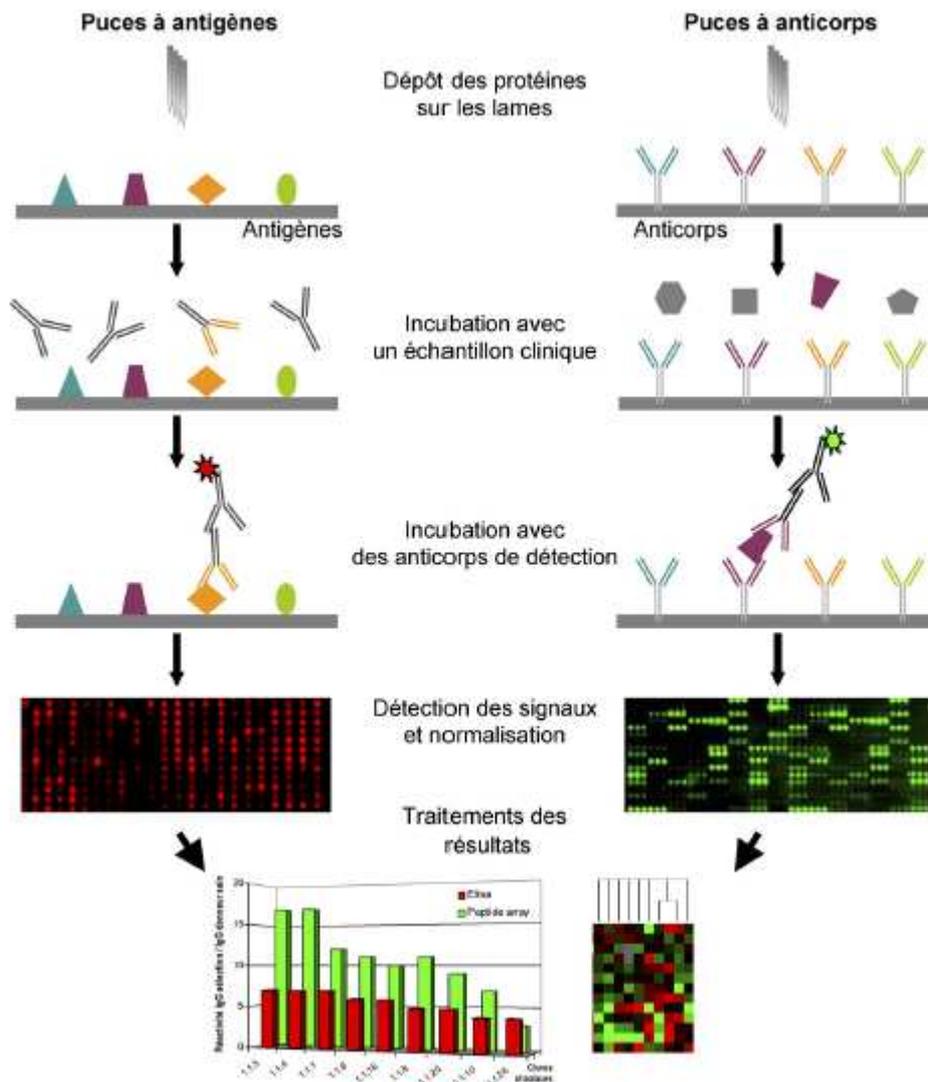


Figure 5: Principe de la technique des puces à protéines et des puces à anticorps. *Sur les puces à protéines, la détection des immunoglobulines réagissant avec les molécules spottées est réalisée par des anticorps anti-IgG, anti-IgM ou anti-IgE marqués (en rouge). Sur les puces à anticorps, la détection des protéines-cibles, captées par des anticorps primaires, est réalisée par des anticorps secondaires marqués (en vert). La détection peut être aussi réalisée par d'autres molécules capables de reconnaître des anticorps avec un tag (par exemple, l'interaction de l'avidine avec l'immunoglobuline biotinylée). D'après [79].*

c) Biomarqueurs métabolomiques

La métabolomique consiste à établir le profil d'expression des métabolites endogènes issus des processus biologiques dans les liquides biologiques ou les tissus. Ainsi, la métabolomique reflète le fonctionnement des dernières étapes des processus de synthèse biologiques. Les techniques analytiques appliquées à la métabolomique sont de deux sortes : certaines techniques permettent de séparer les différents métabolites et les impuretés présents dans les échantillons, d'autres permettent d'identifier les métabolites isolés [9, 80].

Parmi les techniques de séparation, les techniques de chromatographie sont les plus utilisées, notamment la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Dans la CPG, le mélange à analyser est

vaporisé à l'entrée d'une colonne qui renferme une phase stationnaire solide (chromatographie d'adsorption) ou liquide (chromatographie de partage). Le mélange vaporisé est transporté à travers la colonne à l'aide d'un gaz vecteur ayant le rôle de phase mobile. Les différentes molécules du mélange vont alors se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules. En sortie de colonne, un détecteur (détecteur à ionisation de flamme, spectromètre de masse...) analyse et identifie les molécules. [9]

Avec la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est l'autre technique principalement utilisée pour l'identification des métabolites et éventuellement d'un biomarqueur métabolomique parmi les métabolites identifiés. Cette technique repose sur la propriété des noyaux des atomes dotés d'un nombre impair de protons, de neutrons voire les deux à posséder un spin nucléaire intrinsèque. Soumis à un champ magnétique, un noyau avec un spin non nul s'oriente soit dans le sens du champ magnétique soit dans le sens opposé. Lorsqu'ils sont soumis à une onde radio à la fréquence de résonance, les noyaux atomiques peuvent absorber l'énergie du rayonnement puis la relâcher lors de la relaxation. L'énergie mise en jeu lors de ce phénomène de résonance correspond à une fréquence très précise, qui dépend du champ magnétique et d'autres facteurs moléculaires qui peuvent alors permettre d'identifier le métabolite [9].

L'étude des profils métabolomiques n'en est qu'à ses prémices mais elle comporte certains avantages comme le fait de pouvoir observer les effets cumulés de plusieurs paramètres (stimulation, mutation génique, facteurs environnementaux et effet d'une molécule chimique ou biologique administrée) sur ces profils d'expression, ce qui n'est pas toujours possible avec les autres biomarqueurs intervenant plus en amont dans les processus biologiques. Par exemple, l'analyse de biomarqueurs métabolomiques dans les échantillons urinaires est déjà jugée d'un grand intérêt pour suivre la survenue éventuelle de phopholidose ou de prolifération incontrôlée des peroxisomes, aucun autre biomarqueur d'une autre nature n'ayant pu être identifié jusqu'ici pour effectuer ce suivi [9, 80].

2. Classification des biomarqueurs par catégorie selon les autorités de santé

Tout biomarqueur découvert ne peut pas servir de critère d'évaluation principal lors d'un essai clinique pivot ayant une importance majeure dans le dossier d'AMM A la suite des premières définitions émises par le National Institute of Health avec une classification des biomarqueurs présentée en introduction, l'autorité de santé américaine a établi, dès 2005, différents « statuts réglementaires » pour les biomarqueurs (Figure 6). Selon ces statuts, certains peuvent être qualifiés de « simples » biomarqueurs exploratoires, là où d'autres peuvent être qualifiés de « critère de substitution ». La principale différence entre un « simple » biomarqueur exploratoire et un biomarqueur qualifié de « critère de substitution » étant son niveau de validation [9].

Pour qu'un biomarqueur puisse être classé comme « critère de substitution », de nombreuses données issues de plusieurs essais cliniques contrôlés réalisés avec des populations en nombre satisfaisant sont nécessaires afin d'établir la corrélation entre le biomarqueur concerné et la variation du paramètre biologique ciblé. Auparavant, le biomarqueur doit être qualifié et validé. Un biomarqueur qualifié se distingue d'un biomarqueur validé par le fait que le processus administratif d'évaluation des données de validation par les autorités de santé a été effectué avec succès pour un biomarqueur qualifié.

Un biomarqueur validé est « un biomarqueur mesuré par une méthode analytique aux performances établies et pour lequel il y a suffisamment d'éléments scientifiques pour démontrer la signification clinique, toxicologique ou pharmacologique des données générées par le biomarqueur ». Néanmoins, il est possible de distinguer deux types de biomarqueurs validés : les biomarqueurs validés et les biomarqueurs probablement valides. Par rapport à un biomarqueur validé, un biomarqueur probablement valide s'en différencie pour l'une des raisons suivantes :

- 1) Les données scientifiques visant à démontrer la signification clinique, toxicologique ou pharmacologique du biomarqueur sont en cours d'étude.
- 2) Malgré un raisonnement scientifique avancé pour justifier l'intérêt du biomarqueur, les éléments scientifiques produits jusqu'ici pour établir la signification clinique, toxicologique ou pharmacologique des données fournies par le biomarqueur ne permettent pas encore de conclure sur la validité du biomarqueur.
- 3) Les données produites n'ont pas été portées à la connaissance d'un organisme indépendant autre que l'entreprise développant le biomarqueur [37].

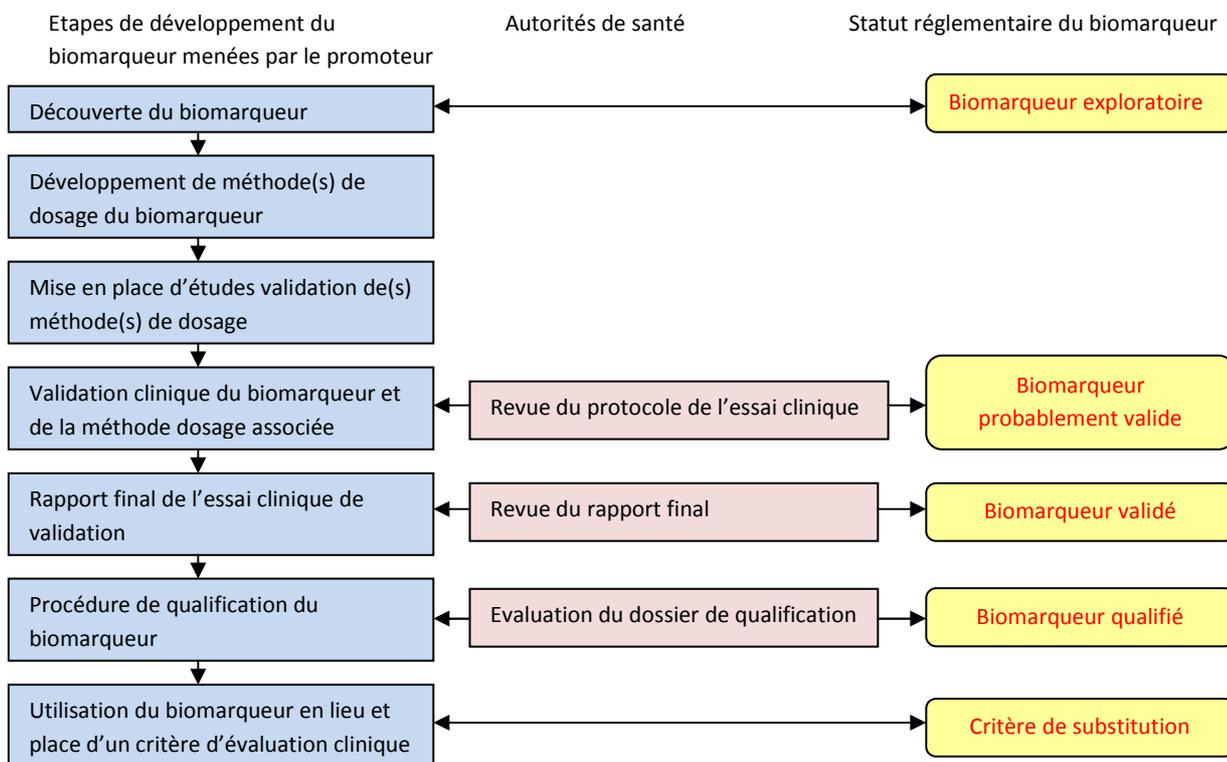


Figure 6: Différents statuts réglementaires d'un biomarqueur relatifs aux étapes du processus de qualification. Adapté de [9].

3. Classification des biomarqueurs selon leurs fonctions

L'introduction d'un biomarqueur au cours d'un essai clinique répondant à un objectif préalablement défini, il est également possible de classer les biomarqueurs selon les différents types d'objectifs poursuivis :

- 1) Biomarqueurs physiopathologiques et biomarqueurs de diagnostic

- 2) Biomarqueurs pronostiques
- 3) Biomarqueurs prédictifs de la pharmacodynamie
- 4) Biomarqueurs prédictifs de l'effet thérapeutique

Cette classification a été constituée à l'usage par la communauté scientifique et non par les autorités de santé, mais a depuis été reprise. Elle est ainsi reconnue par les autorités de santé dans différentes lignes directrices telle que la ligne directrice : «Reflection paper on co-development of pharmacogenomic biomarkers and assays in the context of drug development » [43].

- 1) Biomarqueur physiopathologiques et diagnostiques

Les biomarqueurs physiopathologiques ont pour objectif d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques permettant l'approfondissement de la connaissance des mécanismes physiopathologiques et permettant de diagnostiquer les patients atteints de la pathologie étudiée [48].

- 2) Biomarqueurs pronostiques

Les biomarqueurs pronostiques ont pour objectif de déterminer l'évolution prévisible de la maladie et le niveau de risque qui y est associé pour le patient. La découverte et le développement d'un biomarqueur pronostique débutent souvent par une analyse à *posteriori* de collections d'échantillons biologiques prélevés lors d'essais cliniques ayant d'autres objectifs et conservés en prévision de recherche ultérieure de biomarqueurs. Les biomarqueurs pronostiques recherchés doivent avoir l'origine la moins invasive possible, être stables et nécessiter une méthode de dosage simple et peu onéreuse. L'emploi de biomarqueur pronostiques pour guider le traitement administré au patient est soumis à discussion, l'utilisation de biomarqueurs prédictifs étant préférée lorsqu'il s'agit d'établir des protocoles de traitement de référence qui sont guidés par un ou plusieurs biomarqueur(s) [1].

- 3) Biomarqueurs prédictifs de la pharmacodynamie et 4) Biomarqueurs prédictifs de l'effet thérapeutique

Les biomarqueurs prédictifs ont pour objectif de différencier les patients qui sont plus ou moins à même de répondre à un traitement. En conséquence, lorsque plusieurs options thérapeutiques sont disponibles, les biomarqueurs prédictifs permettent de déterminer le traitement le plus à même de bénéficier à chaque patient. La découverte d'un biomarqueur prédictif suit généralement le même cheminement que les biomarqueurs pronostiques. Il est possible de différencier deux catégories de biomarqueurs prédictifs : les biomarqueurs prédictifs de la pharmacodynamie et les biomarqueurs prédictifs de l'effet thérapeutique. Les biomarqueurs prédictifs de pharmacodynamie s'intéressent à l'activité biologique du traitement : dose suffisante pour atteindre et agir sur la cible ? ... Ce sont les biomarqueurs prédictifs de l'effet thérapeutique, reflétant l'activité thérapeutique du traitement, qui constituent des facteurs d'enrichissement des populations cibles d'un traitement, c'est-à-dire des facteurs limitant l'indication du traitement aux sous-populations susceptibles d'en bénéficier le plus [1, 81].

5. Classification des biomarqueurs selon la nature de la variable mesurée par la méthode de dosage du biomarqueur

Enfin, il est possible de classer les biomarqueurs selon la nature de la variable mesurée par la méthode de dosage du biomarqueur : biomarqueur quantitatif, biomarqueur quantitatif relatif, biomarqueur quasi-quantitatif, biomarqueur qualitatif. Cette est une donnée importante pour la conduite du processus de validation. De ce fait, les distinctions entre ces différents types de biomarqueurs selon cette classification seront abordés dans la partie III.2 : « Validation du biomarqueur et de la méthode de dosage du biomarqueur ».

IV. Biomarqueurs et essais cliniques

1. Identification d'un biomarqueur

Les biomarqueurs sont identifiés par l'étude de la corrélation statistique existant entre la présence ou l'intensité d'expression d'un marqueur biologique particulier (ADN, ARN, protéine, métabolite) et le résultat clinique observé (symptômes de la maladie, effets secondaires, efficacité). Cette identification passe en général par l'analyse comparative de produits biologiques (tissus, sang, biopsies, liquides biologiques...) issus de sujets sains et de patients qui peuvent être des patients à différents stades d'une même maladie. Les caractéristiques biologiques identifiées uniquement dans l'échantillon du patient par mesures répétées ou différenciellement par rapport à un témoin peuvent alors être considérées comme des biomarqueurs de l'état physiologique correspondant. En fonction de la nature du biomarqueur identifié, les termes « biomarqueurs génomiques », « transcriptomiques », « protéomiques » et « métabolomiques » sont utilisés.

Cette étape d'identification nécessite la maîtrise d'une très large palette de techniques telles que des tests de biologie moléculaire, de l'imagerie ou des dosages protéique.

La qualité des échantillons utilisés et la précision du protocole clinique de collecte sont primordiaux pour l'identification de biomarqueurs qui pourront passer avec succès les étapes de validation. Ainsi, depuis quelques années, la collection et le stockage d'échantillons s'organisent au sein de biobanques, structures réglementées dédiées à ces activités.

2. Validation du biomarqueur et de la méthode de dosage du biomarqueur

Une fois les candidats biomarqueurs identifiés, leur pertinence clinique doit être démontrée, ainsi que leur capacité à être mesurés ou analysés de manière reproductible et robuste. La validation de la méthode de dosage ou d'évaluation est une étape critique dans le développement d'un biomarqueur. Le développement d'un biomarqueur peut échouer en phase clinique, non pas pour des raisons scientifiques mais à cause d'un mauvais choix de la méthode de dosage du biomarqueur ou de la validation insuffisante de la méthode de dosage du biomarqueur utilisée.

La validation d'une méthode est définie par l'Organisation Internationale pour la Standardisation (IOS) comme «la confirmation par l'expérimentation et les preuves objectives issues de ces expérimentations que les conditions requises pour une utilisation définie sont remplies». Le but lors du développement d'un biomarqueur est plutôt de développer une méthode de dosage adaptée et valable du biomarqueur plutôt que de faire valider pour le biomarqueur une méthode de dosage existante. L'une des clés de la réussite dans le développement d'un biomarqueur réside dans le choix de(s) méthode(s) de dosage utilisée(s) et des bonnes questions à se poser dès la mise en place de la méthode de dosage : quelle est la nature du paramètre biologique à doser ? est-ce la cible moléculaire de la substance en développement, permettant de démontrer l'activité de la substance en développement sur cette cible ? Est-ce que ce sont les effets pharmacodynamiques de la substance en développement tels que l'inhibition d'enzymes ou les modifications de l'état de phosphorylation d'une protéine ?... Idéalement, la validation d'une méthode de dosage devrait s'attacher ainsi à deux aspects : l'aspect « recherche exploratoire » et l'aspect « opérationnel ». L'aspect de recherche exploratoire consiste à établir le

principe de la méthode et à définir les valeurs cibles, les limites de la méthode... tandis que l'aspect opérationnel consiste à s'assurer des capacités de la méthode de dosage retenue. La but est de s'assurer que les performances techniques de la méthode de dosage retenue permettent d'atteindre le but défini du biomarqueur. [45] En conséquence, si les Autorités de Santé n'ont pas encore fourni d'éléments précis sur la manière d'envisager la validation d'un biomarqueur, d'autres organisations telles que l'Association Américaine des Sciences Pharmaceutiques (AAPS) ont tenté d'établir ce que pourraient être les étapes de validation d'un biomarqueur et de sa méthode de dosage (Figure 8) et ont développé le concept de méthode de validation adaptée. [44]

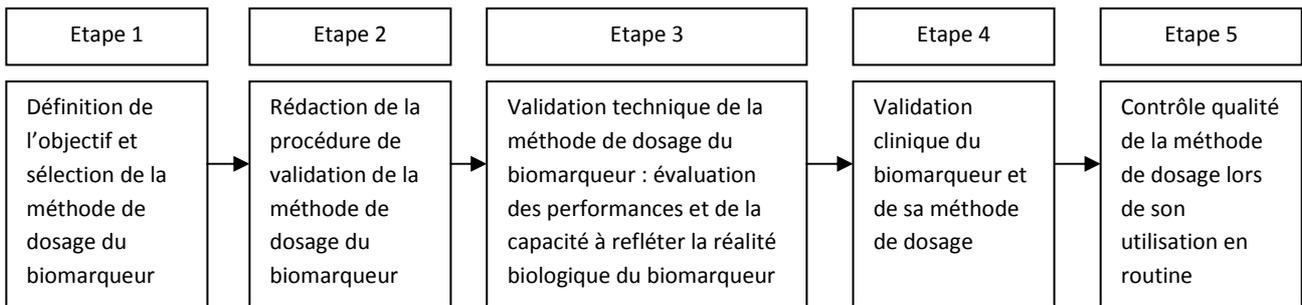


Figure 8: Etapes du processus de validation d'un biomarqueur et de la méthode de dosage associée. D'après [44].

Bien que les étapes à accomplir selon la figure 8 restent similaires quel que soit le biomarqueur, les biomarqueurs peuvent être de différente nature et posséder des fonctions différentes dans le développement d'une nouvelle substance. En fonction de la nature du biomarqueur et de son rôle dévolu au cours du développement d'une nouvelle substance, les paramètres à évaluer et le niveau de preuves requis pour valider une méthode de dosage sont différents, d'où le concept de validation adaptée pour un biomarqueur et sa méthode de dosage (Figure 9)[45].

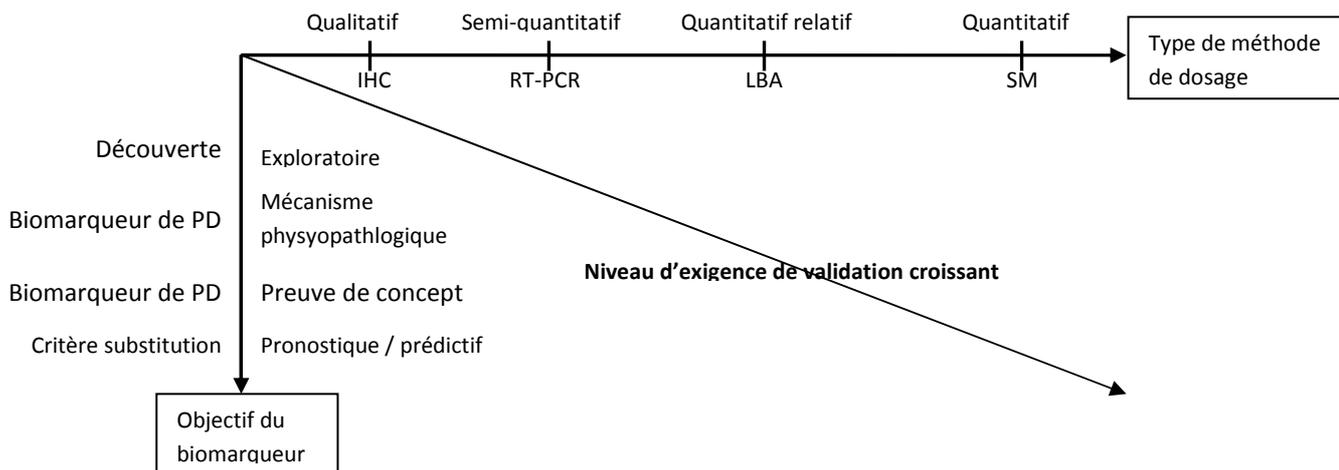


Figure 9: Adaptation du niveau de validation requis en fonction du caractère de la variable biologique reflétée par le biomarqueur. D'après [45].

IHC = Méthode de dosage immunohistochimique ; RT-PCR = Technique de réaction en chaîne par polymérase utilisant une rétrotranscriptase ; LBA = Dosage ligand-récepteur ; SM = Spectrométrie de Masse ; PD= Pharmacodynamie.

Les variables peuvent être réparties en deux catégories principales :

- Les variables qualitatives qui sont des variables non mesurables. On peut distinguer deux catégories secondaires de variables qualitatives : les variables semi-qualitatives ou ordinales qui peuvent bénéficier d'un classement ordonné (ex : intensité de la douleur nulle, légère ou forte) et les variables qualitatives pures ou nominales (ex : couleur des yeux).
- Les variables quantitatives qui, par opposition, sont des variables mesurables. On peut distinguer deux catégories secondaires de variables quantitatives : les variables quantitatives discrètes qui ne peuvent prendre qu'un nombre fini de valeurs (ex : nombre d'enfants) et les variables quantitatives continues qui peuvent prendre un nombre indéfini de valeurs (ex : taille, pression artérielle) [46].

Quatre catégories de biomarqueurs ont donc été définies, selon le caractère de la variable biologique reflétée par le biomarqueur :

1) Biomarqueur quantitatif :

La méthode de dosage d'un biomarqueur quantitatif a recours à un modèle de régression et à des contrôles pour déterminer la valeur du biomarqueur. Les contrôles standards sont clairement définis et établis comme représentatifs du biomarqueur.

Un exemple de méthode de dosage d'un biomarqueur quantitatif est l'analyse par spectrométrie de masse pour doser un biomarqueur moléculaire tel qu'une protéine dans un échantillon. L'objectif d'une méthode quantitative de dosage est de déterminer avec autant d'exactitude possible la concentration du biomarqueur d'intérêt dans l'échantillon analysé. Cette exactitude dépend de la somme des erreurs de la méthode dûes aux biais systématiques de la méthode et aux variables aléatoires : jour, matériel, technicien... En plus des paramètres à évaluer requis pour les autres types de méthodes de dosage tels que la précision évaluée ici par le coefficient de variation, dans le cas de la méthode de dosage d'un biomarqueur quantitatif il faudra évaluer l'exactitude par l'étude de la déviation moyenne obtenue au cours d'analyses répétées des mêmes échantillons à différentes concentrations.

2) Biomarqueur quantitatif relatif :

La méthode de dosage d'un biomarqueur quantitatif relatif a recours à une courbe dose-réponse et à des contrôles pour déterminer la valeur du biomarqueur. Les contrôles standards ne sont pas totalement représentatifs du biomarqueur. La précision de la méthode de dosage d'un biomarqueur quantitatif relatif peut être validée, mais l'exactitude ne peut qu'être estimée.

Un exemple de méthode de dosage d'un biomarqueur quantitatif relatif est l'évaluation de la liaison ligand-récepteur dans le cas d'un biomarqueur protéique ayant le rôle de ligand. Dans ce cas, le biomarqueur est une substance endogène toujours présente dans l'échantillon quel que soit l'état du patient et l'accès à une forme caractérisée du biomarqueur pouvant servir de contrôle est généralement limité. De nombreuses difficultés peuvent en outre concerner ce type de méthode de dosage : biotransformation du biomarqueur liée à des mécanismes multifactoriels, complexation du biomarqueur à des récepteurs solubles, stabilité des réactifs de la méthode de dosage (ex : anticorps)...

3) Biomarqueur semi-quantitatif

La méthode de dosage d'un biomarqueur semi-quantitatif n'utilise pas de contrôles et la valeur du biomarqueur est exprimée en proportion de l'échantillon total analysé.

Un exemple de méthode de dosage d'un biomarqueur semi-quantitatif est la détermination quantitative de l'ADN par la technique de RT-PCR. En effet, pour cette technique, il est extrêmement complexe de disposer de contrôles.

4) Biomarqueur qualitatif :

La méthode de dosage d'un biomarqueur qualitatif établit l'état du biomarqueur dans l'échantillon.

Des exemples de méthodes de dosage d'un biomarqueur qualitatif sont la détection d'un biomarqueur protéique par technique d'immuno-empreinte (Western blot) ou la détection d'un biomarqueur génomique par hybridation fluorescente *in situ* (FISH). Démontrer la spécificité et la sensibilité analytique puis clinique de ces méthodes de dosage de biomarqueurs qualitatifs est essentiel pour la validation de ces biomarqueurs. Parfois, ces démonstrations peuvent nécessiter des éléments non encore disponibles, tels que des souris KO ou des lignées cellulaires surexprimant le biomarqueur ciblé. Dans ce cas, il est conseillé de réaliser une évaluation préliminaire de la spécificité de la méthode à travers des études restreintes utilisant les éléments disponibles dans l'attente des éléments parfaitement adaptés. [44]

Une fois le biomarqueur classé selon le type de variable biologique reflété, il est nécessaire de déterminer un certain nombre de paramètres de la méthode de dosage du biomarqueur (tableau 5), afin de valider les performances de la méthode de dosage utilisée. [44]

Tableau 5: Paramètres techniques à évaluer recommandés pour la méthode de dosage selon la catégorie de biomarqueur, adapté de [45]. LOQ : « Limit Of Quantitation »

Paramètres techniques à évaluer	Biomarqueur quantitatif	Biomarqueur quantitatif relatif	Biomarqueur semi-quantitatif	Biomarqueur qualitatif
Exactitude	X	X		
Précision	X	X	X	
Sensitivité	X (dont une détermination à la limite inférieure de quantification)	X (dont une détermination à la limite inférieure de quantification)	X	X
Spécificité	X	X	X	X
Linéarité	X	X		
Variabilité	X	X		
Limite de sensibilité du dosage / LOQ	X	X	X	
Stabilité du/des réactif(s)	X	X		
Stabilité de l'échantillon	X	X	X	X

Ces différents paramètres techniques à évaluer sont définis dans la ligne directrice Q2A de l'ICH bien que le contenu de ce document ne s'applique pas à la validation des méthodes de dosage des biomarqueurs puisqu'il a trait à la validation analytique « des épreuves d'identification, des méthodes de dosage quantitatif des impuretés, des méthodes de vérification des teneurs limites des impuretés, et des méthodes de dosage de la partie active ou d'une ou de plusieurs autres composantes de la substance active ou du produit fini. » Cependant, les définitions fournies dans ce document peuvent être appliquées à la validation des méthodes de dosage des biomarqueurs et font office de référence du fait qu'elles sont émises par l'ICH :

En statistique, la spécificité d'un test est décrite comme l'aptitude du test à ne détecter que les cas positifs ou encore à donner un résultat négatif lorsque la condition n'est pas présente [46]. La spécificité est définie par l'ICH comme « la propriété qui fait qu'une méthode d'analyse rend compte sans ambiguïté de la substance analysée en présence d'autres composants normalement présents. Ces derniers peuvent inclure des impuretés, des produits de dégradation, la matrice, etc. »

A l'inverse, la sensibilité est l'aptitude d'un test à détecter tous les cas positifs ou encore à donner un résultat positif lorsque la condition est présente [46].

L'exactitude correspond « au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention ».

La précision d'une méthode correspond « au degré d'accord (degré de dispersion) entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites. L'évaluation de la précision doit se faire au moyen d'échantillons homogènes et authentiques. La précision est généralement exprimée par la variance, l'écart-type ou le coefficient de variation d'un ensemble de mesures. »

La linéarité d'une méthode d'analyse est « sa capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration (quantité) de la substance analysée dans un échantillon. »

La variabilité « est une expression de la précision de l'analyse lorsque celle-ci est reprise dans les mêmes conditions de réalisation, après un court intervalle de temps. Elle est aussi désignée précision intra-analyse. »

La limite de détection ou LOQ d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de détecter, sans nécessairement fournir la valeur exacte [47].

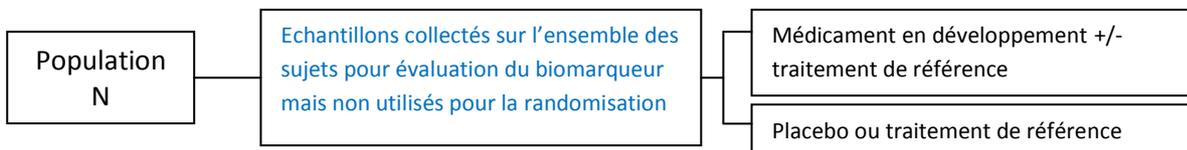
Si la validation technique de la méthode de dosage de biomarqueur se révèle satisfaisante, il convient ensuite de passer à une évaluation du biomarqueur et sa méthode de dosage dans un contexte clinique. Après une première étude pré-clinique éventuelle si la nature du biomarqueur le permet, plusieurs études cliniques seront réalisées en plusieurs phases successives:

- Une première étude clinique dite « étude d'essai » ou « étude pilote » (« training ou pilot set ») aboutit à une preuve de concept et est réalisée sur une cinquantaine à une centaine de sujets témoins et malades.

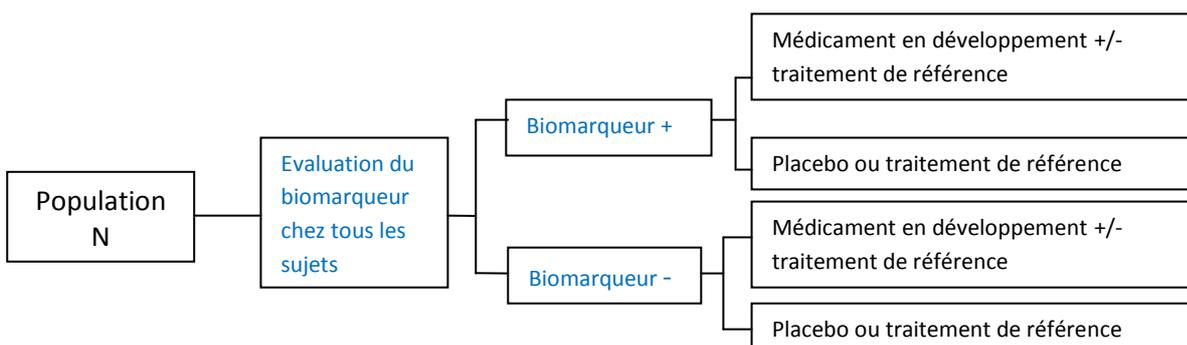
- Une seconde étude clinique plus large dite « étude d'évaluation » (« test set ») sur un plus grand nombre de malades est ensuite élargie à une étude multicentrique et multi-ethnique si les résultats sont favorables (« validation test »).
- Plusieurs études cliniques sont ensuite réalisées sur des groupes de patients indépendants de ceux qui ont été utilisés dans les étapes précédentes. Selon le biomarqueur étudié et le message clinique qu'il délivrerait, les groupes de sujets témoins et/ou atteints d'une pathologie présentant doivent présenter la même symptomatologie mais d'étiologie différente, et/ou toutes sortes de sujets nécessaires pour établir, avec le moins de biais possible, le message et l'hypothèse établie avec le biomarqueur concerné ainsi que la spécificité et la sensibilité de sa méthode de mesure [48].

Les autorités compétentes n'interviennent pas dans le processus de validation d'un biomarqueur et de sa méthode de dosage qui reste à l'initiative du requérant, hormis pour autoriser la mise en place des études cliniques nécessaires. Les seules recommandations concernant le processus de validation ont été publiées par la FDA au sujet des études cliniques utilisées pour les biomarqueurs compagnons durant lesquelles sont explorés à la fois le biomarqueur compagnon et le médicament en développement qui y est associé. En effet, de multiples modèles d'études cliniques peuvent s'envisager dans cette situation. Afin de confirmer les capacités de la méthode de dosage du médicament lors d'un essai clinique portant sur le médicament en développement, l'autorité de santé recommande le recours à deux modèles :

Si pour des raisons pratiques et/ou techniques, il n'est pas possible de pratiquer le test du biomarqueur dans tous les sites de l'étude ou d'obtenir les résultats de l'évaluation du biomarqueur dans un délai raisonnable dans tous les sites de l'étude, une étude randomisée, contrôlée, en double aveugle en parallèle est suggérée. Dans ce cas, une analyse statistique du critère clinique principal étudié dans les sous-populations établies par les résultats de l'évaluation du biomarqueur sera réalisée à postériori :



Dans la situation inverse où il est possible de disposer des résultats de l'évaluation du biomarqueur à temps dans l'intégralité des sites de l'étude, une double randomisation est appliquée aux sujets participants à l'étude selon le résultat du test d'évaluation du biomarqueur et du traitement auxquels ils sont affectés [49] :



3. Qualification d'un biomarqueur

a. Définition de la Qualification des biomarqueurs

La qualification d'un biomarqueur est l'étape réglementaire du développement d'un biomarqueur au cours de laquelle interviennent les autorités de santé. Lors des études précliniques et des essais cliniques, c'est le promoteur qui détermine lui-même les biomarqueurs dont l'évaluation lui semble pertinent pour juger d'un effet thérapeutique ou toxique. Néanmoins, après avoir fourni les éléments démontrant la pertinence clinique du biomarqueur, le requérant doit faire évaluer ces éléments et approuver leur pertinence et leur validité par les autorités de santé.

C'est une étape essentielle. Les progrès qui ont été réalisés en matière de développement des médicaments ont nécessité que les autorités de santé établissent des procédures de décisions pour les médicaments ou les substances biologiques au cours des dernières décennies [37]. Ces procédures décrivent la manière d'évaluer l'efficacité, la sécurité ou le dosage d'un médicament ou d'une substance biologique au moment de la demande de mise sur le marché ou après son autorisation de mise sur le marché. De manière similaire, les biomarqueurs nécessitent la création de procédures de décision spécifiques de leurs caractéristiques afin de déterminer lesquels sont reconnus par les autorités de santé pour répondre à une question définie et peuvent être utilisés au cours du développement d'un nouveau médicament ou d'une nouvelle substance biologique. C'est cette procédure de décision que l'on nomme « qualification » d'un biomarqueur. La qualification « conclut, dans un contexte d'utilisation bien défini, que les résultats de l'évaluation d'un biomarqueur sont corrélés à un processus biologique, à une réponse biologique ou un événement biologique et de ce fait approuve l'emploi du biomarqueur concerné durant les phases de développement ou après autorisation d'un médicament ou d'un produit biologique » [85]. Le contexte d'utilisation d'un biomarqueur est le terme diminutif employé pour désigner « la description exhaustive des rôles et des circonstances d'utilisation autorisées du biomarqueur précisant ses limites d'utilisation » [34].

b. Historique du concept de qualification des biomarqueurs

Néanmoins, comme nous l'avons évoqué en introduction, certains paramètres biologiques sont employés depuis de nombreuses années comme indicateurs de fonctionnement d'un processus biologique en médecine clinique sans pour autant être désignés comme des biomarqueurs et ceci bien avant l'existence de procédure de qualification. Ainsi, on peut citer l'exemple de l'urémie et la créatininémie qui sont des indicateurs de l'état de fonctionnement des reins, reconnus par la communauté scientifique internationale, et que l'on peut donc désigner comme des biomarqueurs de la fonction rénale et d'éventuels phénomènes de néphrotoxicité. Cette reconnaissance ou qualification « implicite » par la communauté scientifique internationale s'est faite par la rédaction de nombreuses publications scientifiques au cours du temps dans différentes revues scientifiques par différents auteurs. L'hypothèse d'un lien entre la clairance de la créatinine et le fonctionnement rénal est évoqué dans des publications scientifiques dès les années 1930 [24], puis expérimenté dans les années 50 entre autres par des épreuves de charge à la créatine ou l'évaluation de la clairance à la créatinine chez des insuffisants rénaux [25-26], jusqu'à l'établissement en 1976 par Cockcroft & Gault d'une formule mathématique appelée « formule de Cockcroft & Gault » permettant d'établir la clairance de la créatinine comme une estimation de l'état de la fonction rénale à partir de la créatininémie [27]. De plus, la créatininémie répond bien à la définition de biomarqueur de la fonction rénale car elle a vu son

contexte d'utilisation précisé. En effet, la relation entre la créatinine plasmatique et la filtration glomérulaire n'est pas linéaire mais hyperbolique (Figure 10). La clairance de la créatinine est donc un biomarqueur de la fonction rénale valable pour tout sujet mais qui nécessite la connaissance de certains paramètres : le sexe, l'âge et le poids de l'individu; et dont la précision est moindre chez les enfants, les femmes enceintes et les personnes obèses [27]. Pour certains médicaments, l'évaluation et la surveillance de la créatininémie pour dépister une néphrotoxicité possible chez des sujets à risque est communément admise par les autorités de santé tel que reflété dans leurs résumés des caractéristiques produit.

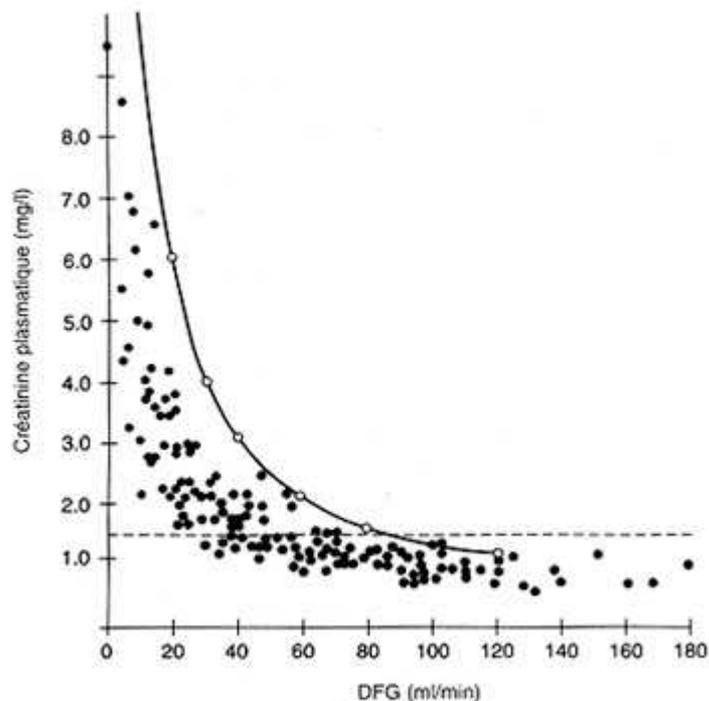


Figure 10: Relation entre la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire (DFG). D'après [31]

L'exemple de la créatininémie permet de constater que la qualification d'un biomarqueur par le passé était une méthode approfondie, faite de démonstrations et de contre-démonstrations afin de parvenir à un consensus dans la communauté scientifique, mais aussi une méthode longue et empirique puisque sans méthode préétablie. En outre, ce processus de qualification présentait des déficiences. Ainsi, comme nous l'avons mentionné au début de cet exemple, l'urémie au même titre que la créatininémie est un indicateur de l'état de fonctionnement des reins et des publications scientifiques ont établi le lien entre une augmentation de l'urémie et une dégradation de la fonction rénale [28-29]. Pour autant, peut-on considérer l'urémie comme un « bon » biomarqueur de la fonction rénale ? Des variations de l'urémie ne sont observés qu'en cas de perturbation importante de la fonction rénale. Il serait donc plus approprié de considérer l'urémie comme un biomarqueur de l'insuffisance rénale sévère.

D'autre part, il a été démontré que la créatininémie n'est pas un biomarqueur parfait de la fonction rénale. En effet, par la formule de Cockcroft-Gault ou même via la formule MDRD (« Modification of the Diet in Renal Disease »), la clairance de la créatinine estimée obtenue conduit à une classification du degré d'insuffisance rénale qui est erronée pour environ 30% des patients. Par exemple, en moyenne, la

formule de Cockcroft-Gault surestime la clairance de la créatinine d'environ 2 mL/min/1.73m², avec une tendance à la surestimation plus forte chez les sujets âgés [30]. Néanmoins, la créatininémie reste un biomarqueur de l'état de fonctionnement rénal communément utilisé car c'est un biomarqueur rapide et simple à déterminer avec un degré de fiabilité maîtrisé par la communauté scientifique.

En conclusion, dans cette méthode de qualification implicite par la communauté internationale, il manquait une expertise scientifique en mesure d'évaluer de manière méthodique l'ensemble des données disponibles à un moment donné afin d'établir si le degré de corrélation entre un biomarqueur et le processus biologique associé est suffisant pour que le biomarqueur soit considéré comme qualifié.

L'autre méthode de qualification des biomarqueurs utilisée récemment est la qualification des biomarqueurs spécifiques d'un médicament, c'est-à-dire de biomarqueurs compagnons. Dans ce cas, les données sur le biomarqueur en question sont soumises dans le dossier de demande d'AMM du médicament. En cas de décision favorable à la mise sur le marché du médicament, le biomarqueur compagnon se trouve qualifié de fait (exemples : biomarqueur génomiques HER2+ pour trastuzumab/Herceptin®, biomarqueur génomique Ph+ pour nilotinib/Tasigna® ...). Cette méthode de qualification d'un biomarqueur au cours de l'évaluation du dossier d'AMM d'un nouveau médicament demeure valable. Dans ce cas, le groupe d'évaluateurs de l'autorité de santé auprès duquel est déposé le dossier d'AMM doit expertiser à la fois la nouvelle molécule ou la nouvelle substance biologique et le biomarqueur associé.

Cependant, cette méthode de validation ne répond pas à tous les besoins. En effet, les données ayant permis de valider le biomarqueur restent alors la propriété du demandeur de l'autorisation de mise sur le marché et ne sont pas applicables à d'autres entités chimiques ou biologiques. Un développement supplémentaire coûteux est alors nécessaire pour le biomarqueur en plus du développement de la nouvelle molécule ou la nouvelle substance biologique. Or, il existe une volonté de développer et valider des biomarqueurs d'usage étendu qui pourraient ensuite potentiellement s'appliquer au développement de toute substance biologique ou chimique dans les limites de leur contexte d'utilisation défini.

Avec l'expansion programmée des biomarqueurs dans le développement pharmaceutique, il est donc nécessaire de standardiser et d'harmoniser les règles de qualification des biomarqueurs dans des lignes directrices internationales afin de définir une procédure commune, efficace et rapide de qualification des biomarqueurs. Il est aussi souhaitable qu'existe un accompagnement dans le développement des biomarqueurs avec des interactions possibles entre le développeur et les autorités de santé, par exemple, par des avis scientifiques spécifiques aux biomarqueurs, semblables à ceux qui sont déjà en place pour les médicaments ou les substances biologiques. Dans ce but, des discussions se sont engagées entre les principales institutions réglementaires internationales.

c. Procédures de qualification des biomarqueurs pharmacogénomiques en tant que biomarqueurs compagnons spécifiques d'une substance active

A la suite de l'achèvement du séquençage complet du génome humain, en avril 2003, les travaux de recherche en pharmacogénomique se sont multipliés. Certains visent à identifier les variations du génome humain à l'origine des variations inter-individuelles, à établir d'éventuels liens et donc à mieux

comprendre les mécanismes moléculaires d'une pathologie ou de l'apparition d'effets indésirables de médicaments. A l'issue de ces travaux de recherche peuvent parfois être identifiés de potentiels biomarqueurs génomiques. L'essor rapide des recherches dans le domaine de la génomique et le potentiel des biomarqueurs génomiques pour la médecine personnalisée ont conduit à la publication des premières lignes directrices relatives à la qualification de biomarqueurs, mais traitant uniquement des biomarqueurs génomiques.

En effet, à la suite des demandes répétées des promoteurs de ne pas se lancer dans des programmes de développement incluant des biomarqueurs pharmacogénomiques sans disposer d'une position claire des Agences de santé sur la manière acceptable d'intégrer des données pharmacogénomiques lors du développement de nouvelles substances actives [37], la FDA fut la première à émettre une série de lignes directrices relatives à la qualification des biomarqueurs pharmacogénomiques en avril 2006. Ces lignes directrices avaient pour objectif de préciser le moment où les données pharmacogénomiques doivent être transmises à l'Autorité de santé durant le développement d'une nouvelle substance chimique ou biologique : quel est le contenu et le format des données pharmacogénomiques souhaitées par l'Agence, quand et comment ces données pourraient être intégrées à une procédure de mise sur le marché d'une nouvelle substance chimique ou biologique ? [37]. Elles ont été régulièrement mises à jour et complétées par d'autres lignes directrices tandis que des lignes directrices aux objectifs similaires ont été publiées en Europe [35].

Ces lignes directrices décrivent en réalité deux procédures distinctes :

- Une procédure de qualification du biomarqueur pharmacogénomique dans le cadre de l'évaluation du dossier de demande d'AMM de la substance active qui y est liée. Il s'agit de biomarqueurs pharmacogénomiques validés ou probablement valides qui optimisent le choix des doses administrées, améliorent l'efficacité ou la sécurité du médicament. Dans ce cas, le recours au biomarqueur se matérialise par une mention informative ou une consigne obligatoire dans la notice et le RCP du médicament évalué en parallèle en fonction de la disponibilité d'un coffret de diagnostic permettant d'évaluer l'état du biomarqueur chez le patient en passe de recevoir ce nouveau médicament.
- Une procédure volontaire de dépôt de données pharmacogénomiques dénommée procédure VGDS (« Voluntary Genomic Data Submission »), initiative commune à l'EMA et la FDA. Il s'agit de biomarqueurs pharmacogénomiques exploratoires pour lesquels des données ont été produites lors du développement d'un nouveau médicament, non pas pour contribuer à l'enregistrement du nouveau médicament, du moins dans un premier temps, mais afin de comprendre l'éventuel lien entre les différents génotypes ou profils d'expression génique possibles du biomarqueur et les différents types de réponses au traitement. Ce sont donc des données liées au développement du biomarqueur.

Pour aider les requérants à savoir quelle procédure s'applique selon les situations auxquelles ils pourraient être confrontés, les Autorités de santé (EMA et FDA) ont créé les deux arbres décisionnels suivants (figures 10 et 11):

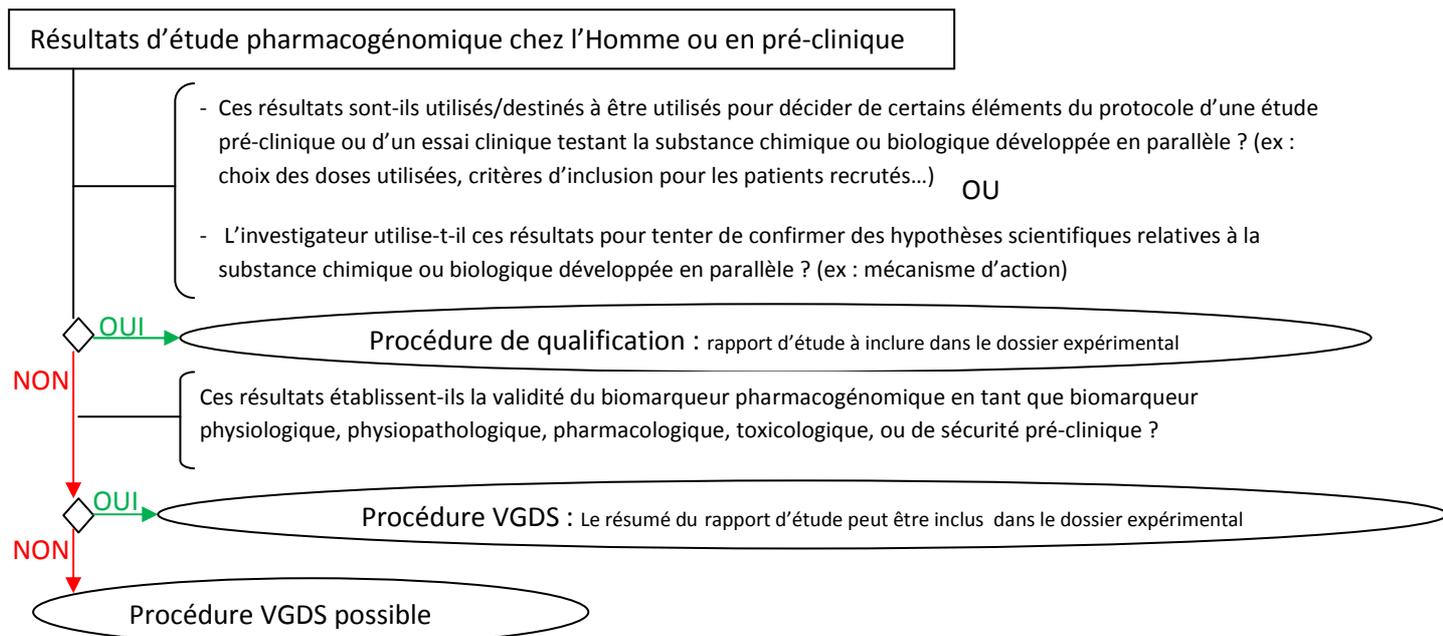


Figure 11: Inclusion de données pharmacogénomiques au dossier expérimental («Investigational New Drug ; IND») d'une nouvelle substance active en cours de développement aux Etats-Unis. Adapté de [42].
Cet arbre décisionnel est strictement applicable au système américain, l'IND n'existant pas dans les autres pays. Néanmoins, il constitue une indication pour savoir quelles sont les données pharmacogéniques à inclure dans la brochure investigateur, utilisée dans la plupart des pays.

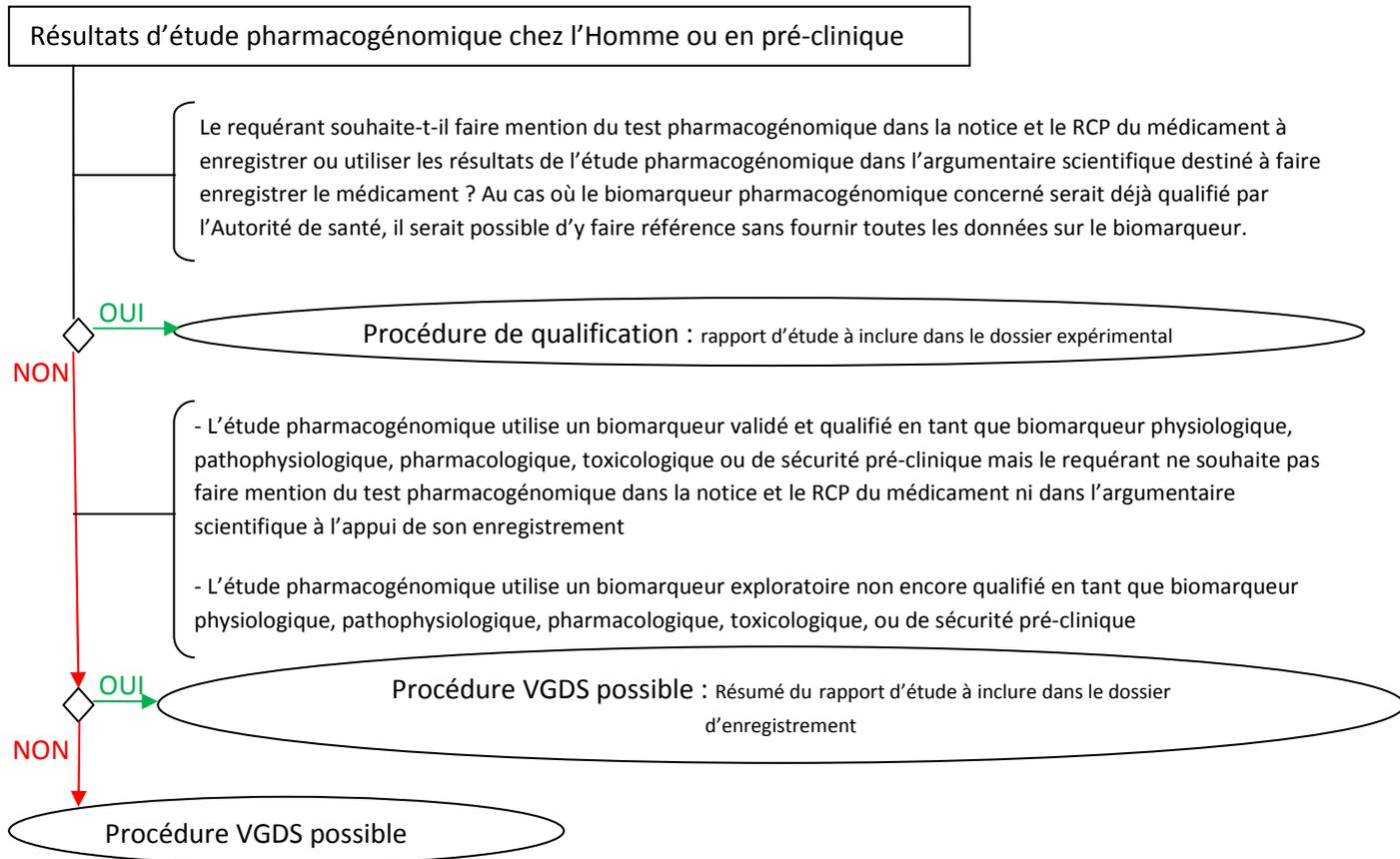


Figure 12: Inclusion de données pharmacogénomiques au dossier de demande d'AMM d'une nouvelle substance chimique ou biologique aux Etats-Unis et en Europe. Adapté de [42]

c.1 Procédure de qualification d'un biomarqueur pharmacogénomique compagnon pour l'évaluation d'un dossier de demande d'AMM.

Pour les Autorités de Santé, l'objectif de la qualification d'un biomarqueur pharmacogénomique compagnon est de s'assurer que le biomarqueur sélectionné apporte une valeur ajoutée pour l'utilisation de la substance active développée et de s'assurer que la méthode de dosage du biomarqueur utilisée est suffisamment robuste.

Les lignes directrices publiées s'appliquent ainsi aux différents scénarios envisageables de développement d'un biomarqueur pharmacogénomique compagnon lié à une substance active : qualification en simultané, mais également la qualification *a posteriori* d'un biomarqueur pharmacogénomique pour une substance active déjà autorisée et qui conduirait, dans ce cas, à une modification de l'indication de la substance active en y ajoutant la réalisation préalable d'un test pharmacogénomique.

Les lignes directrices donnent la liste des facteurs critiques lors du développement d'un biomarqueur pharmacogénomique compagnon. Les requérants doivent donc s'assurer que ces différents points sont traités dans le dossier d'AMM déposé pour permettre la qualification du biomarqueur pharmacogénomique compagnon [43]:

- Facteurs pré-analytiques :
 - Type d'échantillon à prélever
 - Critères de sélection des sujets, conditions de prélèvement des échantillons
 - Gestion des échantillons prélevés (conditions de stockage ...)
- Facteurs analytiques :
 - Protocole d'évaluation du biomarqueur
 - Normes techniques et matériel utilisé pour l'évaluation du biomarqueur (limite de détection, linéarité, précision...)
 - Utilisation de témoins (contrôle positif/contrôle négatif) et de procédure de qualité
 - Logiciels et algorithmes utilisés pour l'interprétation des résultats
 - Facteurs extrinsèques pouvant avoir une influence sur les résultats ; stabilité du biomarqueur pharmacogénomique au cours du temps et par rapport aux différentes phases ou état possible du phénotype clinique
- Facteurs post-analytiques :
 - Gestion des résultats
 - Disponibilité de données de référence pour le biomarqueur concerné, méta-analyse
 - Comparaison des performances du biomarqueur aux méthodes de référence, si elles existent

- Validation de la méthode d'évaluation du biomarqueur :
 - Détermination de la valeur-seuil et limite de détection de la méthode d'évaluation du biomarqueur
 - Validation des performances analytiques (ex : capacité à détecter le biomarqueur)
 - Validation *in vivo* dans le contexte d'utilisation prévu (ex : sensibilité et spécificité à détecter une réponse clinique ou un état clinique)
 - Réflexion sur mise en place d'un plan de suivi des performances du biomarqueur en phase post-AMM

Les Autorités de santé émettent quelques recommandations à l'intention des requérants afin de faciliter la qualification des biomarqueurs pharmacogénomiques compagnons. Généralement, plusieurs techniques de dosage du biomarqueur sont envisageables au moment des premières étapes d'identification, allant de méthodes courantes telles que des techniques d'immuno-histochimie à des méthodes de « haute technologie » telles que des techniques de séquençage ou de dosage par liaison à un ligand. Il est alors conseillé d'intégrer plusieurs techniques de dosage du biomarqueur pharmacogénomique lors des étapes de validation, pouvant alors permettre des comparaisons et des recoupements dans les résultats obtenus dans les études. Autre recommandation : dans la mesure du possible, il est préférable d'utiliser un seul laboratoire d'analyse des échantillons pour s'assurer d'une uniformité des résultats obtenus au cours de la validation du biomarqueur, les procédures de qualité de ces laboratoires d'analyse devant, quant à elles, assurer la reproductibilité de la méthode de dosage à d'autres laboratoires. [43]

c.2 Procédure de dépôt volontaire de données pharmacogénétiques: la procédure VGDS

L'abréviation VGDS est ici utilisée pour « Voluntary Genomic Data Submission » c'est-à-dire une procédure volontaire de dépôt de données pharmacogénétiques. Au moment où cette ligne directrice a été mise en place, la majorité des données pharmacogénomique étaient de nature exploratoire dans le cadre de recherches expérimentales. Ainsi, il est par exemple fréquent pour des études cliniques ayant un critère d'évaluation principal clinique usuel d'avoir une collection d'échantillons supplémentaires provenant des sujets participants à l'étude afin de tenter de mettre en évidence un biomarqueur génomique d'intérêt, tel que nous l'avons décrit dans les objectifs exploratoires du protocole. L'intégralité des données concernant la recherche de biomarqueurs génomique n'est alors pas requise par les Autorités de santé dans le dossier de demande d'AMM, puisque sans incidence sur la conclusion de l'étude, hormis dans le cas où elles permettraient de mettre en évidence d'un biomarqueur ayant ensuite un rôle dans le développement de la nouvelle substance chimique ou biologique à enregistrer.

Néanmoins, les Autorités de santé ont souhaité rendre possible un dépôt volontaire des données de recherches génomiques, en raison d'un bénéfice mutuel potentiel de cette démarche. Les promoteurs entreprennent des recherches génomiques dans le but d'identifier et de qualifier des biomarqueurs génomiques. Dans cette optique, la procédure VGDS est un moyen de familiariser les experts

scientifiques des autorités de santé avec les travaux génomiques en cours, en leur assurant une connaissance accrue des domaines de recherche les plus récents et des dernières techniques utilisées. En retour, les promoteurs peuvent bénéficier de recommandations de ces experts scientifiques pour les travaux en cours à une phase précoce du développement. Cela permet en plus de faciliter et améliorer l'évaluation des biomarqueurs génomiques compagnons concernés dans le cadre d'une procédure d'AMM ultérieure. [37]

Bien que cette procédure VGDS soit totalement facultative, elle a des délais et des étapes bien établis (Figure 13). Son déroulement est classique avec l'émission d'une liste de questions par l'équipe d'évaluateurs, une fois la procédure débutée, auxquelles le requérant se devra répondre avant d'obtenir un avis de la part des évaluateurs. Sa principale particularité est d'être commune à deux Autorités de santé (EMA et FDA). De ce fait, un coordinateur unique, soit de l'EMA ou de la FDA, est nommé pour chaque demande. Le requérant prépare un dossier qu'il fournit à la fois à l'EMA et à la FDA et reçoit en retour un unique rapport d'évaluation unique reflétant la position des deux Autorités de santé. Les représentants des Agences impliqués dans cette procédure proviennent de deux groupes de travail spécialisés : l'« EMA Pharmacogenetics Working Party » (PGWP) et le « FDA Interdisciplinary Pharmacogenomic Review Group » (IPRG). Cette coopération se traduit aussi par la tenue d'une réunion en vidéoconférence au cours de laquelle le requérant est confronté simultanément aux experts du SAWP et de l'IPRG, les Agences se réservant toutefois le droit de tenir deux réunions distinctes si leurs ressources ne leur permettent pas une autre solution [38].

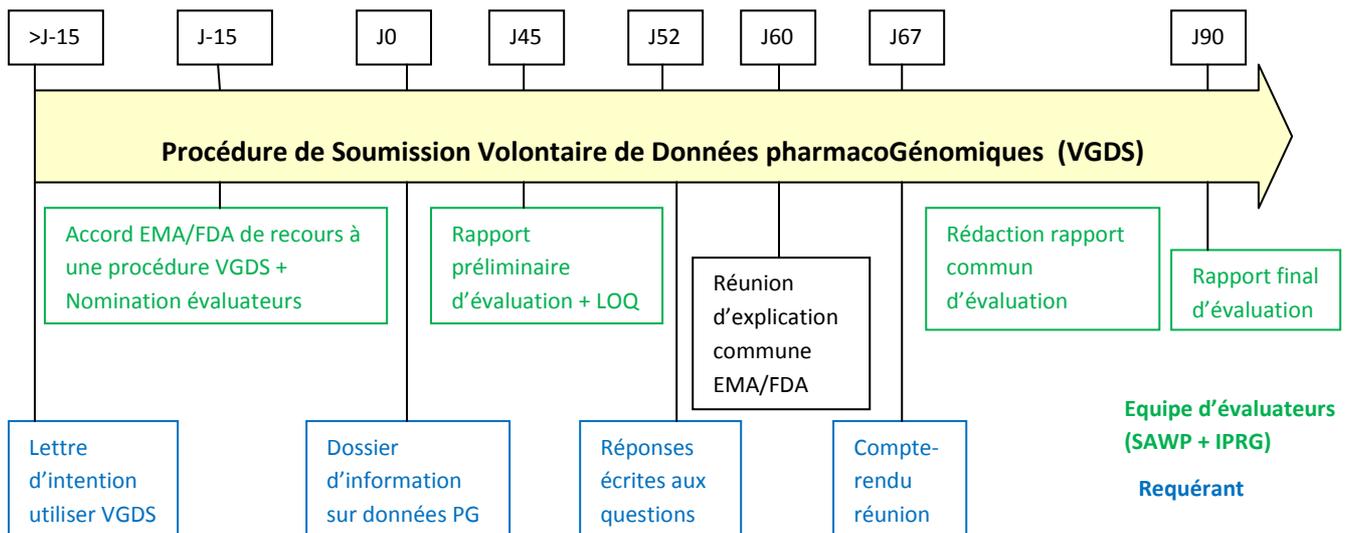


Figure 13: Procédure de Soumission Volontaire de Données pharmacoGénomiques (procédure VGDS). Adapté de [38]

Sur cette figure, les activités réalisées par l'équipe d'évaluateurs des Autorités de santé durant la procédure apparaissent en vert et les activités réalisées par le promoteur qui initie cette procédure apparaissent en bleu.

Les données que les Autorités de Santé suggèrent aux requérants de fournir dans leurs dossiers d'information afin de faciliter la procédure VGDS sont :

- la liste des gènes ou des profils d'expression géniques étudiés par l'investigateur

- le recensement et la description des techniques et méthodes de dosage utilisés au cours des travaux de recherche
- le dénombrement des difficultés rencontrées lors des expérimentations
- un argumentaire scientifique sur l'intérêt potentiel de ce(s) marqueur(s) pharmacogénomique(s) mis en évidence au cours du développement de nouveaux médicaments et sur la possibilité de standardiser la détection de ce(s) marqueur(s) génomique(s) en ayant recours à différentes techniques et différents moyens d'analyse (logiciels informatiques notamment).
- la liste éventuelle des questions que le requérant souhaite poser aux autorités de santé [37].

En plus de ces arbres décisionnels décrits précédemment, les Autorités de santé ont également établi, en annexe de ces lignes directrices, une série de cas pratiques en y indiquant quelle procédure (procédure de qualification ou procédure VGDS) doit s'appliquer pour chaque situation. Les promoteurs peuvent s'y référer lorsqu'ils développent un biomarqueur pharmacogénomique.

Parmi ces exemples, on peut citer la situation d'un essai clinique d'interaction médicamenteuse réalisé au cours du développement d'une nouvelle substance active. Si, durant cet essai clinique, le génotype des sujets est établi pour déterminer l'allèle codant le cytochrome CYP3A5 possédé afin de tenter de déterminer l'influence du polymorphisme allélique du gène codant pour le CYP3A5 dans la variabilité inter-individuelle de réponse au traitement, c'est la procédure VGDS qui s'applique. En effet, l'objectif principal de l'étude n'est pas l'étude du polymorphisme allélique du gène codant pour le CYP3A5, le génotype CYP3A5 n'étant pas un biomarqueur validé ou probablement validé, cette étude du polymorphisme est un objectif exploratoire de l'étude. La procédure VGDS s'appliquera de la même manière si, lors d'un essai clinique, en plus de l'évaluation des paramètres cliniques d'efficacité et de sécurité, une biopsie des lésions sporadiques est réalisée afin de séquencer le profil d'expression génique de 160 gènes mis en cause dans la pathologie et de 140 gènes pouvant avoir un potentiel prédictif sur la réponse au traitement afin de les comparer dans les populations répondant et ne répondant pas au traitement [42].

c.3 Premier retour d'expérience de la procédure de dépôt volontaire de données pharmacogénétique - procédure VGDS : Qualification de biomarqueurs de néphrotoxicité pré-clinique par le « Consortium d'évaluation de données de sécurité prédictives » (PSTC).

La procédure VGDS étant une démarche volontaire de la part des investigateurs et les données pharmacogénomiques concernées étant liées à des phases précoces du développement de nouvelles substances chimiques ou biologiques, ses conclusions, ainsi que les différents documents échangés au cours de la procédures, sont confidentiels.

Néanmoins, un retour d'expérience est disponible : les conclusions de la procédure de dépôt volontaire de données du « Predictive Safety Testing Consortium » (PSTC) sont publiques alors que les données constituant le dossier ont déjà été publiées dans différentes revues scientifiques. Le « Predictive Safety Testing Consortium » (PSTC) est un partenariat public-privé créé en mars 2006. Il comporte la participation de seize laboratoires pharmaceutiques coordonnés par un organisme public à but non

lucratif : « C-Path ». « C-Path » trouve ses origines dans l'Université de l'Arizona et a été créé pour répondre à l'objectif de la FDA de «contribuer à la mise sur le marché de nouveaux médicaments ou dispositifs médicaux innovants dans le bénéfice du patient ». Au moment de la mise en place du PSTC, il était reconnu que les phénomènes de toxicité inattendus conduisaient à retirer du marché 2 à 3% des médicaments chaque année. Dans leur volonté de développer de nouvelles méthodes de détection de toxicité pour répondre à ce problème, les laboratoires pharmaceutiques développent leurs propres solutions de manière isolée, ce qui conduit à une multitude de techniques différentes qui sont difficilement acceptées par les Autorités de santé. En effet, elles n'ont pas été systématiquement évaluées et comparées entre elles. L'objectif de ce partenariat est un partage des connaissances et des ressources possédées par ses membres relatifs aux biomarqueurs de sécurité pré-cliniques et cliniques appliqués à 6 domaines définis : carcénogénicité, néphrotoxicité, hépatotoxicité, lésions musculaires, lésions vasculaires et hypertrophie cardiaque , afin de valider le développement de nouveaux outils communs de détection de toxicité [40].

Les membres du PSTC se réunissent une fois par mois. Le principe de fonctionnement est qu'une fois qu'une firme pharmaceutique a identifié, développé et partagé les données sur un nouveau biomarqueur de toxicité ayant un potentiel, les tests de validation du biomarqueur de toxicité identifié sont réalisés par un autre membre du PSTC. Ainsi, à partir de données publiées mentionnant des biomarqueurs potentiels de néphrotoxicité, le groupe de travail sur la néphrotoxicité a réalisé des recherches sur sept biomarqueurs de nature protéique susceptibles de mettre en évidence des phénomènes de néphrotoxicité chez le rat et le singe : dosage de KIM-1 (« Kidney Injury Molecule-1 »), dosage de l'albumine urinaire, dosage des Protéines totales urinaires, dosage de la β 2-microglobuline, dosage de la Cystatine C, dosage de la Clusterine, et dosage du Facteur 3 Trefoil. Jusqu'ici comme nous l'avons mentionné dans la partie III.3.b, les biomarqueurs de référence de l'état de la fonction rénale et d'éventuels phénomènes de néphrotoxicité, reconnus par les Autorités de Santé, étaient les dosages de l'urémie et la créatininémie[39, 41].

Le PSTC fut le premier groupe à avoir recours à la procédure de soumission volontaire de données, selon la phase pilote dénommée VEDS (« Voluntary Exploratory Data Submission ») à l'époque et dont les premières bases avaient été mises en place par les Agences de santé (EMA et FDA) dès 2004. Ainsi, en plusieurs séquences entre juin 2007 et janvier 2008, le PSTC a transmis aux Agences de santé les données fournies par des études de courte durée de néphrotoxicité induite par des substances néphrotoxiques connues chez le rat et le singe, dans le but d'identifier des biomarqueurs. De même ont été transmises les données fournies par les études de validation des biomarqueurs identifiés. Les discussions au cours de la procédure VEDS ont principalement porté sur les performances de chaque nouveau biomarqueur identifié, comparées aux méthodes de référence, par la comparaison de l'aire sous la courbe des courbes de ROC (« Receiver Operating Characteristics »), qui sont des tracés des valeurs de la sensibilité en fonction de 1-Spécificité, fournies pour les nouveaux biomarqueurs et les méthodes de référence. En accord avec les autorités de santé, le cadre n'étant pas encore clairement explicité durant cette phase pilote, cette procédure de dépôt volontaire des données a progressivement mué en une procédure de qualification des biomarqueurs concernés. Dans un premier temps, les Autorités de santé ont mis en évidence les limites et manquements de l'ensemble des données fournies, tel que le manque de données établissant le lien entre la variation des valeurs du biomarqueur et l'évolution de l'affection rénale au cours du temps ou le manque de données sur le poids, la consommation d'eau et de nourriture des animaux impliqués dans certaines études. [38, 40]

Le PSTC a alors travaillé à fournir les éléments demandés pour aboutir, en juin 2008, à une décision commune de la FDA et de l'EMA, de qualifier les sept biomarqueurs dans le contexte d'utilisation suivant :

- Dans le cadre du développement pré-clinique d'une nouvelle substance chimique ou biologique dans le but de contrôler la survenue d'éventuels phénomènes de néphrotoxicité induits par la nouvelle substance chimique ou biologique
- Ces biomarqueurs de néphrotoxicité sont à utiliser en addition des méthodes de référence déjà existantes et ne visent pas à s'y substituer [41].

On peut noter que les deux Agences de Santé ont été rejointes dans leur décision par l'Agence de santé japonaise (PMDA) qui a également qualifié ces sept biomarqueurs pour le même contexte d'utilisation en mai 2010.

Bien que cela ne soit pas mentionné dans le contexte de leur utilisation, des représentants de la FDA ont ajouté en outre qu'ils considèrent que ces sept biomarqueurs ont une valeur ajoutée par rapport aux méthodes de référence actuelles (dosage de la créatininémie et dosage de l'urémie) car ces nouveaux biomarqueurs permettent de détecter des phénomènes de néphrotoxicité dans des délais plus courts ou parce que la mesure de l'ensemble de ces biomarqueurs permet de préciser quelle partie du rein est atteinte chez le rat. Ces biomarqueurs ne sont pas encore validés chez l'Homme mais le PSTC y travaille, ces biomarqueurs ayant été retenus initialement par le PSTC entre autre parce qu'ils sont également sécrétés par les cellules rénales humaines [39].

La procédure VGDS qui avait été créée dans le cadre du développement des biomarqueurs compagnons a donc été étrennée pour des biomarqueurs qui n'en sont pas. Dès lors, cette procédure peut désormais être employée pour tout type de biomarqueurs, aussi bien pour des biomarqueurs génomiques compagnons que pour des biomarqueurs génomiques pronostiques. De plus, ces biomarqueurs pré-cliniques de néphrotoxicité ont été qualifiés par les deux Agences de santé simultanément au cours de la même procédure. C'est une exception due à la phase pilote appliquée à ces biomarqueurs. En effet, si la procédure VGDS est une procédure commune à l'EMA et à la FDA, le souhait des Agences était qu'ensuite les demandes de qualification soient évaluées séparément dans les différentes régions et aboutissent à des décisions indépendantes. Cela soulignait aussi l'absence de procédure de qualification, seule la procédure de qualification des biomarqueurs compagnons étant finalisée au moment où le PSTC souhaitait qualifier ces sept biomarqueurs pré-cliniques de néphrotoxicité. Ces procédures ont été depuis mises en place par les différentes Autorités de santé et nous nous efforcerons de les détailler dans la section suivante.

d. Procédures de qualification des autres biomarqueurs (biomarqueurs non pharmacogénomiques et non spécifiques à une substance active)

Pour répondre au besoin de qualification de biomarqueurs qui ne sont pas dans le champ d'application des biomarqueurs compagnons, la Conférence Internationale d'Harmonisation des Pré-requis à l'enregistrement d'une substance pharmaceutique à usage humain (ICH) a engagé, dès 2009, une réflexion visant à établir une ligne directrice relative au contenu et au format du dossier de qualification d'un biomarqueur [32]. En outre, il était nécessaire d'envisager les démarches de validation à mettre en

place non seulement pour un biomarqueur unique ne correspondant pas à la définition d'un biomarqueur compagnon, mais également pour des ensembles de biomarqueurs (« pattern ») ayant un contexte d'utilisation commun. Pour rappel, l'ICH est un groupe de travail international réunissant des représentants des principales autorités de santé et institutions internationales (FDA, EMA, PMDA, OMS ...) et des représentants de l'industrie pharmaceutique. Il a pour but d'harmoniser les principes d'enregistrement des substances chimiques ou biologiques au niveau international afin de réduire les disparités non nécessaires dans un marché pharmaceutique de plus en plus globalisé tout en préservant la souveraineté des autorités de santé dans leurs évaluations [33]. Cette réflexion a abouti à la création de la ligne directrice E16 «Biomarkers related to drug or biotechnology product development : Context, structure and format of qualification submissions» [85] qui décrit les minimums requis quant au contenu et au format pour permettre la qualification d'un biomarqueur. Cette ligne directrice est actuellement à l'étape 4 de son cycle de création, c'est à dire à la phase d'implémentation de ces principes dans les différentes réglementations régionales. Dans cette section, nous n'allons pas décrire directement le contenu de cette ligne directrice ICH E16 mais nous présenterons les différentes lignes directrices qui ont été créées dans les différentes régions en accord avec la ligne directrice ICH E16.

De fait, parallèlement au travail de l'ICH, les autorités de santé des principales régions ont développé leurs propres lignes directrices ayant pour but de clarifier la manière de qualifier un biomarqueur, tout en y intégrant les principes établis par la ligne directrice ICH E16. Ainsi, dès février 2008 et jusqu'à la version finale datée de janvier 2009, l'autorité de santé européenne (EMA) a travaillé à rédiger sa ligne directrice intitulée « Qualification of novel methodologies for drug development : guidance to applicants », tandis que son homologue américaine (FDA) finalise sa ligne directrice «Qualification process for drug development tools » publiée à l'état de projet en cours ouvert aux commentaires du public depuis octobre 2010 et son homologue japonaise (PMDA) a amendé sa ligne directrice sur le déroulement des avis scientifiques en mars 2009 pour y ajouter une annexe concernant le déroulement des consultations de l'Agence de santé japonaise pour les biomarqueurs génomiques ou non, actuellement en phase pilote : « PMDA notification 0331004 : Implementation procedures for the face-to-face advice services, Inspections for certification and other services provided by the pharmaceuticals and medical devices agency (Attachement 3 : Implementation procedure for the pharmacogenomic/biomarker consultations provided as face-to-face advice services) ».

En préambule à leur description, il est important de noter que ces procédures de qualification n'en sont qu'à leurs prémices et que l'on ne dispose encore que de peu de retours d'expérience. Elles pourraient donc être amenées à évoluer en fonction de leurs premières applications. Il paraît opportun de décrire ces deux lignes directrices ensemble car leurs concepts se veulent harmonisés et complémentaires même si elles peuvent conserver des spécificités. Il est ainsi clairement mentionné que, bien qu'une procédure de qualification commune EMA/FDA ne soit pas envisagée, « les requérants sont encouragés à soumettre leurs dossiers de qualification de manière concomitante à l'EMA et la FDA, les autorités de santé fourniront alors leurs rapports d'évaluation en simultané et rencontreront le requérant ensemble » [35].

Ces deux lignes directrices ont pour objet de décrire les procédures officielles de qualification de biomarqueurs hors biomarqueurs compagnons spécifiques d'une substance chimique ou biologique. En effet, les Autorités de santé anticipent un effet gagnant-gagnant à la qualification de biomarqueurs valables pour différentes pathologies ou différentes classes de substances médicamenteuses puisque

ces demandes de qualification peuvent être effectués par des consortium, des associations, des partenariats public-privé [34, 35] permettant de réduire les ressources humaines et financières engagées par chaque participant dans la qualification de leurs biomarqueurs d'intérêt. De plus, les Autorités de santé pourraient s'affranchir de réévaluer plusieurs fois les données communes comme c'est le cas lors des demandes de qualification d'un nouveau contexte d'utilisation d'un biomarqueur déjà autorisé [34]. Ce sont des recommandations non formellement obligatoires, une autre approche de qualification pourrait être acceptée si elle est dûment justifiée. Les lignes directrices ne visent pas à décrire les spécificités techniques requises pour la qualification d'un biomarqueur, celles-ci s'établissant au cas par cas [34]. Il est clairement spécifié que la procédure de qualification d'un biomarqueur doit être différenciée de la procédure d'autorisation d'un dispositif médical [34].

En effet, la plupart des biomarqueurs nécessitent l'emploi d'un dispositif médical pour évaluer ou mesurer l'état du biomarqueur. Or, la qualification d'un biomarqueur ne vaut pas autorisation de commercialiser d'éventuels dispositifs médicaux pouvant y être associés pour évaluer ou mesurer le biomarqueur. En effet, la procédure d'autorisation d'un dispositif médical a pour but d'évaluer la capacité du dispositif médical à mesurer de manière fiable et précise le biomarqueur tandis que la qualification du biomarqueur a pour but d'évaluer la capacité du biomarqueur à refléter de manière fiable, précise et répétée un phénomène biologique donné. Le concept théorique de qualification d'un biomarqueur est qu'un biomarqueur n'est pas lié à un dispositif médical spécifique mais peut être évalué par différents dispositifs médicaux. [34] D'autre part, il est intéressant de noter que le champ d'application de ces lignes directrices ne se limite pas aux biomarqueurs mais se veut plus étendu. La ligne directrice américaine traite de la qualification des « outils de développement des substances chimiques ou biologiques », notion qui englobe à la fois les biomarqueurs mais aussi les outils d'auto-évaluation d'efficacité ou de sécurité par le patient [34]. En revanche, la notion de « nouvelles méthodes » n'est pas précisée dans la ligne directrice européenne, mais suggère l'emploi possible de cette procédure de qualification pour d'autres outils que les biomarqueurs.

A l'instar de l'enregistrement d'un médicament, la qualification d'un biomarqueur s'effectue en 2 phases : une première phase de consultation et d'accompagnement matérialisée par des avis scientifiques, durant laquelle le(s) requérant(s) et les autorités de santé auront des échanges et s'accorderont sur la nature des données et la taille de l'effet à obtenir pour permettre la qualification du biomarqueur ; la seconde phase correspond à la qualification proprement dite durant laquelle les Autorités de santé évalueront le dossier de qualification du biomarqueur.

Le point de départ de ce processus de qualification n'est pas formellement défini. Il est laissé à l'appréciation du requérant, au moment où il estime avoir collecté un minimum de données suffisant pour démarrer les discussions avec l'autorité de santé [34]. Ce point de départ se matérialisera par l'envoi d'une lettre d'intention du requérant à l'autorité de santé concernée. Cette lettre d'intention précisera à quelle phase du développement le biomarqueur se destine (phase pré-clinique ou phase clinique) et devra s'accompagner du projet de dossier d'information que le requérant prévoit de fournir à l'Autorité de santé durant la procédure dans le cas de la procédure européenne. Les informations minimales à fournir avec la lettre d'intention sont :

- Partie administrative : nom(s) de(s) requérant(s) pour cette procédure de qualification et leurs coordonnées

- Caractéristiques du biomarqueur : contexte d'utilisation envisagé, justification du contexte d'utilisation envisagé, méthode(s) d'étude du biomarqueur, méthode(s) d'évaluation du biomarqueur proposées
- Résumé des données non-cliniques ou des données cliniques connues sur le biomarqueur
- Liste des questions prévues pour l'autorité de santé

Une première différence apparaît ici entre la ligne directrice européenne et la ligne directrice américaine : dans la procédure américaine, la lettre d'intention semble être nécessaire uniquement pour débiter la phase de consultation et d'accompagnement qui enchaînera de manière séquentielle et obligatoire avec la phase de qualification. En revanche, dans la procédure européenne, les deux phases sont bien distinctes et une lettre d'intention doit être envoyée au minimum 30 jours avant le début de chaque phase de la procédure, la position définitive sur la phase de qualification requise (avis scientifique ou qualification proprement dite) n'est pas obligatoire au moment de la Lettre d'intention ce qui laisse supposer que l'on pourrait directement aller à la phase de qualification.

Si la demande de qualification est jugée satisfaisante par l'autorité de santé, à la suite de l'envoi de cette lettre d'intention, une équipe d'évaluateurs de qualification est constituée. Cette équipe d'évaluateurs de qualification comprend des membres du Comité de recherche et d'évaluation des médicaments (CDER ; «Center for Drug Evaluation and Research ») pour la FDA ; des membres du Comité des médicaments à usage humain (CHMP ; «Committee for Medicinal Products for Human Use ») et du Groupe de travail pour les avis scientifiques (SAWP ; « Scientific Advice Working Party ») avec un minimum de cinq membres en Europe. Ces groupes d'évaluateurs pouvant être rejoints par des experts scientifiques au cas par cas, selon le type de biomarqueur à qualifier et le contexte d'utilisation proposé.

Au moment où débute la procédure, dénommé « Jour 0 », le requérant doit fournir à l'autorité de santé le dossier d'information concernant le biomarqueur à qualifier. Les deux lignes directrices de l'EMA et la FDA fournissent des suggestions sur le format et le contenu du dossier d'information du biomarqueur à qualifier qui ne sont pas strictement identiques. Les éléments communs requis à la fois par la FDA et l'EMA sont :

- a) Un résumé du dossier d'information
- b) L'utilisation envisagée pour le biomarqueur
 - Description de la pathologie / du contexte expérimental dans lequel le biomarqueur est prévu d'être utilisé

Cette section rassemble les données appropriées disponibles de physiopathologie, de pharmacologie, de pharmacodynamie, d'épidémiologie, les facteurs de risques, les facteurs pronostiques, les traitements disponibles chez les sujets atteints de la pathologie dans laquelle le biomarqueur est prévu d'être utilisé. Il est suggéré d'indiquer les facteurs qui pourraient contribuer à l'amélioration de l'état des patients atteints de cette pathologie (diagnostic précoce, détection des effets indésirables des traitements, détermination de la réponse au traitement...)

- Description de l'usage prévu du biomarqueur au cours du développement pharmaceutique

Cette section précise quel type d'utilisation est envisagé avec le biomarqueur d'intérêt : détection des patients atteints de la pathologie afin de pouvoir les inclure dans un essai clinique, détermination de l'état d'avancement de la pathologie, évaluation de la présence ou de l'absence de réponse à un traitement, aide au choix du traitement approprié pour le patient, sélection de la posologie ou optimisation de la posologie du traitement, détection des effets indésirables ... La manière dont les informations sur le biomarqueur pourraient être intégrées au développement d'une nouvelle substance chimique ou biologique dans le cadre de son dossier d'enregistrement y est aussi expliquée.

- Description des limites du contexte d'utilisation

Cette section indique les limites d'utilisation prévues pour le biomarqueur : si son utilisation s'applique à une substance spécifique uniquement, à une classe médicamenteuse ou à toute substance chimique ou biologique, aux patients présentant un phénotype défini ou aux patients ayant ou n'ayant pas encore un certain stade de la pathologie défini, à certaines espèces animales uniquement, si son utilisation n'est valable qu'avec certaines techniques de recueil des échantillons uniquement (exemple : dans le cas d'un biomarqueur génomique : technique des micropuits et/ou technique de PCR quantitative)...

- Méthodes d'études disponibles

Cette section décrit les techniques et analyses cliniques actuellement utilisées pour étudier le paramètre évalué par le biomarqueur et met en évidence leurs limitations. Les valeurs de référence du paramètre évalué, dans le contexte d'utilisation envisagé pour le biomarqueur, y sont indiquées et justifiées.

- Caractéristiques du biomarqueur

Cette section fournit les caractéristiques du biomarqueur et en particulier les caractéristiques techniques détaillées de l'outil de mesure du biomarqueur: description détaillée du dispositif médical utilisé, description détaillée du logiciel informatique utilisé, etc, et évalue la disponibilité de cet outil de mesure.

c) Méthodes et résultats

Cette section fournit un résumé et une description détaillée du programme de développement du biomarqueur réalisé ainsi que des aspects non encore étudiés. Elle comporte les protocoles et les rapports détaillés de chaque étude d'évaluation du biomarqueur ainsi que d'éventuelles meta-analyses de ces études et d'éventuelles publications scientifiques justifiant l'utilisation du biomarqueur.

Pour les protocoles détaillés des études réalisées, il est recommandé d'inclure des informations sur les points cruciaux de l'étude, le choix de la méthode d'étude, le choix des critères d'inclusion et d'exclusion, le choix des valeurs de référence du paramètre étudié, le choix des analyses statistiques appliquées ainsi que la description et les caractéristiques de l'outil de mesure du biomarqueur utilisé dans l'étude.

Les rapports détaillés de fin d'étude doivent comporter les résultats analytiques au sujet de la précision, de la sélectivité, de la sensibilité, de la reproductibilité et de la stabilité du biomarqueur étudié ; des

analyses sur les valeurs seuils du biomarqueur ; des données sur les conditions de prélèvement des échantillons ; les contrôles utilisés ; la calibration des échantillons et les conditions expérimentales ; l'analyse d'éventuels facteurs intrinsèques ou extrinsèques pouvant influencer sur les valeurs du biomarqueur (exemples : âge, sexe, facteurs de sensibilité ethnique, consommation d'alcool...) ; enfin une discussion sur l'adéquation du contexte d'utilisation envisagé (exemple : le biomarqueur est valable dans le cas d'un traitement prophylactique et/ou d'un traitement curatif, le biomarqueur est valable chez les patients dont le diagnostic clinique de la pathologie est établi et/ou chez les patients dont le diagnostic clinique de la pathologie est probable, ...)

d) Conclusion

Cette section résume les éléments essentiels de la qualification du biomarqueur d'intérêt, les aspects non encore élucidés ainsi que les propositions de programme de développement à réaliser pour résoudre ces aspects non encore élucidés

e) Liste des questions et position du requérant pour chaque question, s'il s'agit d'un avis scientifique

f) Brochure investigateur et publications scientifiques référencées dans le document en Annexe du dossier d'information

Que ce soit dans le cadre d'une phase de consultation et d'accompagnement ou dans le cadre d'une phase de qualification, les requérants sont invités à discuter le contenu et le format de leur dossier d'information au moment de la réunion de préparation. Dans tous les cas, conformément aux indications de la ligne directrice ICH E16, le dossier de qualification d'un biomarqueur doit être fourni aux Autorités de Santé au format CTD (« Common Technical Document ») comme pour un dossier de demande d'AMM d'un médicament.

En effet, peu après la réception du dossier d'information, une réunion d'information a lieu entre l'équipe d'évaluateurs de qualification et le requérant. Au cours de cette réunion, le requérant présente son dossier. Puis cette réunion est l'occasion d'une première discussion sur les données manquantes qui devront être produites pour permettre la qualification du biomarqueur.

Les procédures américaines et européennes diffèrent encore pour l'étape suivante. Que ce soit la phase de consultation et d'accompagnement ou la phase de qualification proprement dite, en Europe, l'équipe d'évaluateurs de qualification fournit dans les deux cas un rapport d'évaluation écrit du dossier agrémenté d'une liste de questions (figure 14). Dans le cas des USA, durant la phase de consultation et d'accompagnement, seules des réunions accompagnées de leur comptes-rendus écrits ont lieu ; le rapport d'évaluation du dossier agrémenté d'une liste de questions ne sera produit que lors de la phase de qualification proprement dite.

De plus et de manière habituelle liée à l'organisation de l'Agence européenne, le rapport d'évaluation est établi en deux phases : un rapport préliminaire d'évaluation est rédigé par le coordinateur du groupe de travail puis ce rapport est revu et discuté par l'équipe d'évaluateurs de qualification afin de fournir le rapport final d'évaluation. Entre ces deux étapes, une réunion explicative pourra être demandée par le requérant afin de clarifier certains éléments du rapport ou certaines questions, les réponses écrites aux questions devant être transmises à l'EMA avant que l'équipe d'évaluateurs de qualification se réunisse

pour revoir le rapport d'évaluation préliminaire. Le requérant est autorisé à demander un arrêt du calendrier de la procédure d'évaluation (appelé « Clock-stop ») afin de disposer d'un temps suffisant pour constituer ses réponses [35].

La demande de réunion explicative avec la FDA est également possible dans la procédure américaine, mais contrairement à l'Europe, il s'agit alors de réunions ouvertes au public [34].

En conclusion du rapport d'évaluation, l'équipe d'évaluateurs de qualification émettra une recommandation si le dossier est admissible pour une qualification ou uniquement un avis scientifique et une opinion favorable ou une opinion défavorable dans le cas d'une qualification. S'il s'agit d'une opinion défavorable la procédure sera automatiquement requalifiée en un avis scientifique. En effet, le rapport final d'évaluation de qualification d'un biomarqueur sera rendu public alors que le rapport final dans le cadre d'un avis scientifique pour un biomarqueur demeure confidentiel [35].

En Europe, le rapport d'évaluation de l'équipe d'évaluateurs de qualification et ses conclusions sont ensuite transmis au CHMP pour adoption. S'il s'agit d'un avis scientifique, le CHMP se prononce sur les études à mener pour permettre la qualification du biomarqueur évoquées dans les conclusions de l'avis scientifique et la procédure s'arrête à ce stade. S'il s'agit de la qualification d'un biomarqueur, le CHMP confirme ou infirme le projet d'opinion de l'équipe d'évaluateurs de qualification. Il faut noter que la procédure européenne ne prévoit pas de système d'appel, mais il est demandé au requérant de débiter un nouveau cycle de procédure complet s'il souhaite contester la décision adoptée.

La ligne directrice américaine ne fournit aucun détail sur la manière de faire appel. Dans le cas d'une opinion de qualification favorable du CHMP, il s'ensuit une période de six semaines de consultation publique durant lesquelles l'opinion de qualification et le rapport final d'évaluation sont rendus publics sur le site internet de l'Agence. La communauté scientifique est alors invitée à émettre ses commentaires sur le biomarqueur et sa qualification. Au préalable, le requérant dispose de 5 jours pour indiquer les informations confidentielles qu'il souhaite voir retirer des documents publiés. Ce n'est qu'à l'issue de cette phase de consultation publique que l'opinion de qualification du CHMP est finalisée.

Une fois qu'un biomarqueur est qualifié pour une utilisation définie, il est possible de demander une extension du cadre d'utilisation du biomarqueur à la manière des extensions d'indications pour les médicaments [34]. Cependant, la manière de procéder n'est décrite dans aucune des deux lignes directrices, ce qui laisse supposer qu'une extension du cadre d'utilisation nécessiterait un cycle complet de qualification et qu'il n'y aurait pas de procédure simplifiée et raccourcie prévue dans ce cas contrairement à une extension d'indication d'une substance chimique ou biologique par une variation de type II. A l'opposé, si de nouvelles découvertes scientifiques remettaient en cause les données de qualification d'un biomarqueur, cette qualification pourrait être annulée [34]. La figure 14 résume les différentes étapes de la procédure de qualification d'un biomarqueur.

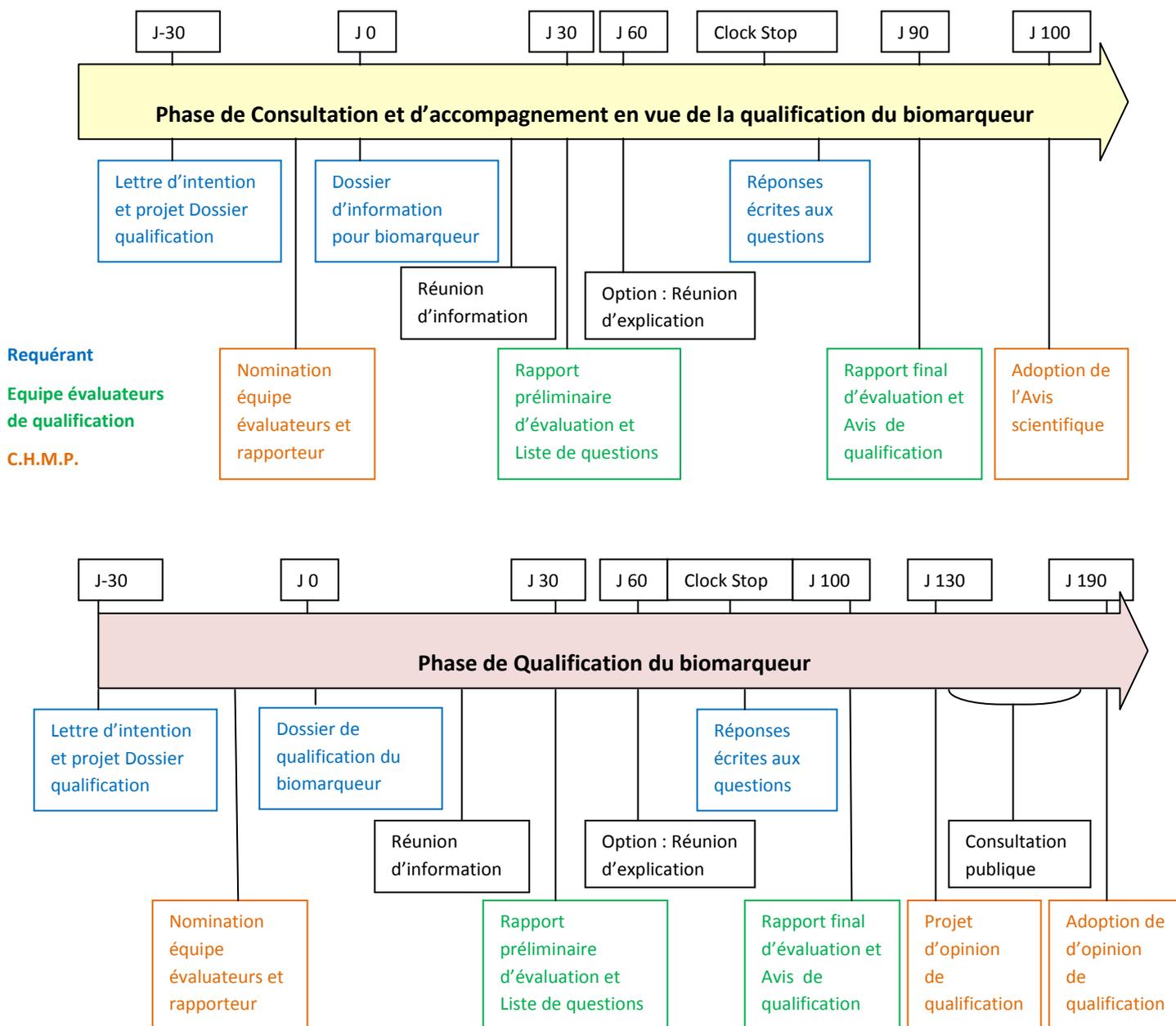


Figure 14: Procédure de qualification européenne des biomarqueurs. D'après [35].

La procédure de qualification d'un biomarqueur comporte deux phases : une phase de consultation et d'accompagnement et une phase de qualification proprement dite du biomarqueur. Sur cette figure, les activités réalisées par l'équipe d'évaluateurs des Autorités de santé durant la procédure apparaissent en vert et les activités réalisées par le promoteur qui initie cette procédure apparaissent en bleu.

Comme mentionné en introduction de cette section, l'autorité de santé Japonaise (PMDA) a également sa procédure de qualification d'une biomarqueur qui fut présentée au cours de la conférence annuelle de l'association internationale pour les affaires réglementaires (DIA, Drug Information Association) en mars 2009 [36]. Le principe de cette procédure de qualification actuellement en phase pilote est

semblable aux procédures américaines et européennes décrites ci-dessus. Ce projet de procédure (Figure 15) se veut valable à la fois pour un avis scientifique et pour la qualification d'un biomarqueur proprement dite, la principale différence étant que la réunion d'information avec l'Agence a lieu avant le début officiel de la procédure.

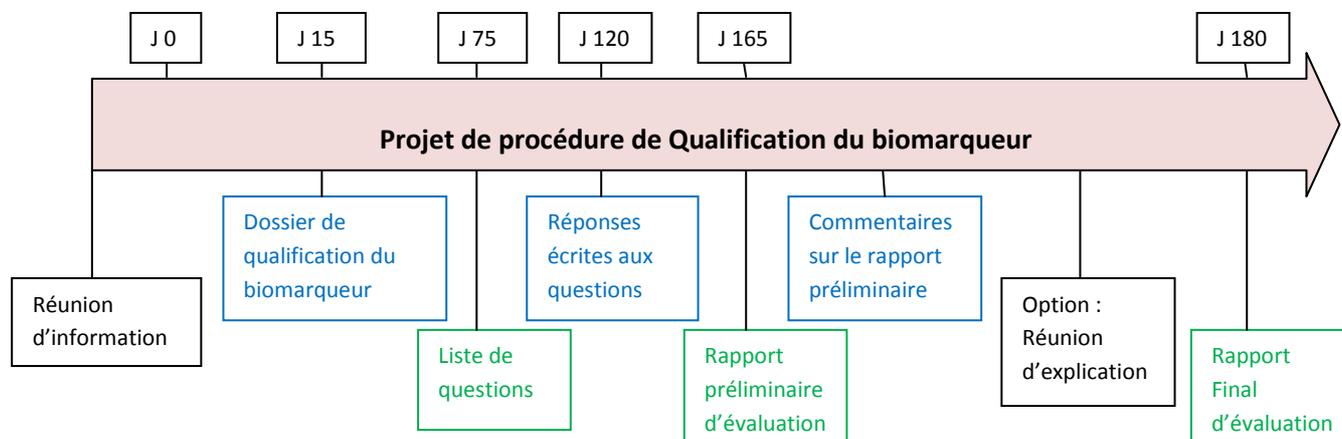


Figure 15: Projet de procédure de qualification japonaise des biomarqueurs. D'après [36].

Sur cette figure, les activités réalisées par l'équipe d'évaluateurs des Autorités de santé durant la procédure apparaissent en vert et les activités réalisées par le promoteur qui initie cette procédure apparaissent en bleu.

En conclusion, ces lignes directrices sont une base solide fournit aux premiers requérants des informations nécessaires sur les attentes des autorités de santé et sur les différentes étapes permettant la qualification d'un biomarqueur. Néanmoins, ces lignes directrices semblent encore imparfaites et nécessiteront probablement des ajustements à la suite des premiers retours d'expérience.

Ainsi, contrairement à la ligne directrice européenne, la ligne directrice américaine fournit la liste des étapes de qualification d'un biomarqueur, mais sans aucun détail sur le calendrier de ces étapes. Il semble que l'autorité de santé américaine ait prévu de rédiger des lignes directrices complémentaires, mais aucune précision n'est fournie quant à la disponibilité de ces lignes directrices qui pourraient comporter ces informations.

De la même manière, certains éléments de la ligne directrice européenne restent à éclaircir. Par exemple, la durée standard de l'arrêt du calendrier d'évaluation du biomarqueur (appelée « Clock-stop ») pouvant être demandée par le requérant pour préparer ses réponses n'est pas indiquée. Il n'est pas précisé non plus si l'équipe des évaluateurs de qualification pour la procédure de qualification d'un biomarqueur faisant suite à une procédure initiale d'avis scientifique pour ce même biomarqueur doit rester tant que possible inchangée, conserver un minimum de membres ou au contraire être complètement renouvelée. D'autre part, il est indiqué que les frais dont le requérant doit s'acquitter auprès de l'EMA sont de 37 700€ pour un avis scientifique de qualification et de 75 500€ pour une procédure de qualification [35]. De la même manière, la ligne directrice n'est pas encore disponible, mais il avait été indiqué au cours de la conférence de la DIA mentionnée auparavant qu'au Japon, les frais à acquitter auprès du PMDA pour toute interaction relative à la qualification d'un biomarqueur seraient d'environ 3 millions de yens soit approximativement 30 000€ par interaction. Or, le but final de ces procédures de qualification est de disposer des outils pouvant être utilisés par tout développeur

pharmaceutique pour rendre disponibles de nouveaux traitements améliorant la santé publique [34]. Ces procédures de qualification de biomarqueur pourraient être entreprises par des consortiums, des associations, des partenariats public-privé et pas seulement des entreprises pharmaceutiques privées seules. On peut alors se demander qui sera en mesure de s'acquitter de telles sommes dans le cas de consortium publics uniquement par exemple et comment le règlement de telles sommes sera accepté lorsque des partenaires privés seront engagés. En effet, la qualification du biomarqueur sera rendue publique et pourrait donc théoriquement être utilisée immédiatement par d'autres entreprises n'ayant rien investi dans le développement et la qualification du biomarqueur, pour peu qu'elles maîtrisent la technique de mesure du biomarqueur.

V. Biomarqueurs en tant que critères de substitution

1. Définition et spécificités des critères de substitution

Un critère d'évaluation clinique (« clinical endpoint ») est défini par les autorités de santé comme « une caractéristique ou une variable clinique qui reflète comment le patient se sent, l'état des fonctions physiologiques ou de survie du patient ». Ces caractéristiques ou variables cliniques propres au patient doivent pouvoir être exprimées par une unité de mesure évaluable directement (exemple : mortalité totale) ou indirectement par une échelle d'évaluation préalablement établie (exemple : outils d'auto-évaluation d'efficacité ou de sécurité par le patient). Les informations issues d'un critère d'évaluation clinique doivent permettre d'évaluer la présence ou l'absence d'effet thérapeutique, mais également la l'importance de l'effet induit par la substance chimique ou biologique en cours de développement administrée aux sujets de l'étude. Certains critères d'évaluation clinique renseignent sur l'efficacité de la substance, d'autres sur la sécurité de la substance ; parfois, comme avec l'évaluation de la mortalité, ils peuvent être à la fois des critères d'efficacité et de sécurité. De ce fait, l'évaluation d'une nouvelle substance ne peut pas reposer sur un seul critère d'évaluation clinique, mais plusieurs critères d'évaluation clinique sont nécessaires. Ainsi, un nouveau traitement de chimiothérapie peut seulement réduire le nombre d'hospitalisations et provoquer des effets secondaires modérés uniquement mais ne pas prolonger l'espérance de vie. Dans ce cas, le traitement semble avoir un bénéfice pour le patient bien que le bénéfice ne concerne pas l'un des critères d'évaluation clinique. Parmi les critères d'évaluation clinique les plus fréquemment utilisés et non spécifiques d'une pathologie, on peut citer : la réduction de la mortalité, la réduction de la morbidité, la fréquence des effets secondaires dûs au traitement, la survie sans progression, la survie totale, le taux d'hospitalisation, la qualité de vie... Les critères d'évaluation clinique sont déterminants dans la prise de décision des autorités de santé pour l'autorisation ou le refus de mise sur le marché d'un nouveau traitement [53].

Ces critères d'évaluation clinique sont évalués lors des essais cliniques pour déterminer l'effet produit par une nouvelle thérapeutique en cours de développement. Ils doivent être prédéfinis avant le début des essais cliniques et objectifs. Cependant, tous les effets mesurables au cours des essais cliniques ne sont pas des critères d'évaluation clinique. Certains de ces effets n'ont pas un lien de causalité direct avec l'état du patient. Par exemple, au cours des essais cliniques d'un nouveau traitement antidiabétique, une diminution du taux d'amputation a un lien direct avec l'amélioration de l'état du patient et est un critère d'évaluation clinique. Lors des mêmes essais cliniques d'un nouveau traitement antidiabétique, on peut également constater un épaississement de certaines tuniques des vaisseaux sanguins ou une variation de la concentration sérique mais ces effets n'ont pas un lien direct de causalité avec l'état du patient et ne sont pas des critères d'évaluation clinique. Cela renvoie alors à la notion de critère de substitution.

Un critère de substitution est « un biomarqueur utilisé à la place d'un critère d'évaluation clinique. Il doit permettre de déterminer le bénéfice clinique, l'absence de bénéfice clinique ou le risque à partir de données épidémiologiques, thérapeutiques ou physiopathologiques. » Les critères de substitution représentent une sous-catégorie de biomarqueurs. Ainsi, si tous les critères de substitution peuvent être considérés comme des biomarqueurs, seul un nombre restreint de biomarqueurs seront amenés à acquérir le statut de critère de substitution. La principale différence entre un biomarqueur « simple » et un biomarqueur ayant le statut de critère de substitution réside dans le niveau de validation requis.

Pour qu'un biomarqueur soit accepté comme critère de substitution par les autorités, les preuves scientifiques établissant le lien entre le biomarqueur et le critère clinique doivent être plus solides et plus nombreuses que pour un biomarqueur « simple », ce qui se traduit par un nombre plus important d'études cliniques requises, des études contrôlées réalisées sur de plus larges populations... En conséquence, l'évaluation d'un biomarqueur ayant le statut de critère de substitution au cours d'essai(s) clinique(s) pivot(s) est censée être valable pour affirmer l'efficacité clinique et/ou l'absence de risque clinique d'une nouvelle substance chimique ou biologique dans un dossier de demande d'AMM soumis aux autorités de santé, contrairement à l'évaluation d'un biomarqueur « simple ». Néanmoins, l'évaluation de biomarqueurs « simples » peut aussi être réalisée pour des essais cliniques inclus dans le dossier de demande d'AMM, mais ils concernent alors les essais cliniques réalisés au cours des phases précoces du développement (phase I ou phase II) [53].

2. Intérêts et objectifs des critères de substitution.

Bien que la dénomination de « Critère de substitution » n'ait pas encore été établie, dès le début des années 1990 des biostatisticiens ont commencé à travailler sur la mise en place de modèles permettant de rapprocher des paramètres biologiques à des critères d'évaluation clinique. Une fois la notion de biomarqueur établie par le National Institute of Health, Prentice fut le premier à proposer des critères pour définir un critère de substitution satisfaisant d'un point de vue statistique [86]. Il a été rapidement imité par d'autres scientifiques qui souhaitaient proposer leurs propres modèles statistiques d'identification de critères de substitution satisfaisants. Le but de ces travaux de recherche sur les critères de substitution était de répondre aux questions suivantes : Qu'est-ce qu'un critère de substitution? Quelles données scientifiques sont nécessaires pour établir qu'un biomarqueur est un critère de substitution satisfaisant d'un critère d'évaluation clinique défini? Comment étudier la corrélation entre le critère de substitution supposé et le critère d'évaluation clinique de référence pour l'effet thérapeutique produit par la substance en cours de développement? Peut-on avoir recours à une étude unique ou plusieurs études sont-elles nécessaires pour évaluer la corrélation?... [56]

La possibilité de recourir à des critères de substitution lors du développement de nouvelles substances chimiques ou biologiques est reconnue et acceptée par les autorités de santé. Dès 1997, la FDA a introduit la possibilité de « délivrer des autorisations de mise sur le marché pour de nouveaux médicaments sur la base d'essais cliniques contrôlés mettant en évidence que le principe actif a un effet sur un critère de substitution satisfaisant ». Ce principe a été réitéré en 2004 puisque l'un des objectifs définis de son initiative pour le développement de nouveaux traitements innovants (« Critical Path Initiative ») est « d'identifier des biomarqueurs pouvant remplacer des critères d'évaluation clinique afin d'accélérer les phases de développement des médicaments et d'aboutir à des produits plus sûrs pour le patient » [87].

L'ensemble de ces initiatives en faveur des critères de substitution veut en réalité répondre à un véritable besoin. En effet, dans certaines pathologies, les critères d'évaluation clinique ne peuvent pas être déterminés sans études cliniques de longue durée ou nécessitant une très large population. A titre d'exemple, pour le développement de nouveaux traitements des pathologies cardiovasculaire, les études de morbi-mortalité sont établies comme étant les études de référence pour déterminer l'efficacité et le risque de ces traitements. Cependant, comme la plupart des événements athérotrombotiques ne se traduisent pas par des symptômes cliniques, il est habituel d'inclure jusqu'à

15000 patients atteints de la pathologie cardiovasculaire en question avec une période de suivi d'au moins 3 ans pour permettre une étude de morbi-mortalité concluante. De la même manière, on ne peut pas concevoir comme acceptable pour les patients atteints de la maladie d'Alzheimer un délai d'attente d'une vingtaine d'années pour que les patients ressentent les effets cliniques de traitements en cours de développement avant d'envisager l'enregistrement de ces derniers. Cette question se trouve renforcée lorsque le nombre de thérapeutiques disponibles est limité voire inexistant. Les critères de substitution sont perçus dans ces situations comme des alternatives attractives pour remplacer des critères d'évaluation clinique rares, réduire le temps et les ressources nécessaires à la réalisation de ces études. Il est néanmoins essentiel de garder à l'esprit que les critères de substitution ne sont pas une mesure du paramètre clinique et doivent être employés de manière réfléchie. Par exemple, si un critère de substitution d'efficacité permet de réduire le temps d'exposition à la substance testée, il faudra veiller à ce que l'on maintienne une durée d'administration suffisante pour obtenir une quantité de données de sécurité permettant d'émettre une conclusion sur le risque de la substance. [52, 54]

De fait, avec le temps et l'expérience, la communauté scientifique a tenté d'établir les caractéristiques souhaitées pour qu'un critère de substitution se révèle satisfaisant dans les applications cliniques :

- Le critère de substitution peut être mesuré de manière pro-active et plus facilement ou plus fréquemment que le critère d'évaluation clinique.
- Le rôle du critère de substitution dans le(s) mécanisme(s) physiopathologique(s) de la maladie doit être connu et documenté ainsi que le mécanisme d'action de la substance chimique ou biologique en cours de développement.
- La corrélation entre le critère de substitution et le critère d'évaluation clinique est démontrée par des études cliniques randomisées de longue durée et l'effet thérapeutique complet de la substance en cours de développement s'exerce sur le critère de substitution.
- Le critère de substitution n'est pas soumis à des facteurs extrinsèques (variations inter-individuelles, durée, lieu de traitement...) pour une pathologie donnée.
- En option et de manière idéale, il est établi, pour d'autres substance actives dans la même classe médicamenteuse et éventuellement dans d'autres classes médicamenteuses, qu'une amélioration du critère de substitution est liée à une amélioration du paramètre clinique ciblé [50].

L'usage de critères de substitution adéquats, validés et qualifiés semble admis au cours des études pivots confirmant l'efficacité et la sécurité d'une substance chimique ou biologique en cours de développement. Cependant, à la suite de premiers cas détaillés dans la section suivante pour lesquels les critères de substitution ont prêté à discussion, les Autorités de santé paraissent favoriser la délivrance d'AMM conditionnelles en Europe et d'AMM par procédure accélérée aux Etats-Unis. Dans les deux cas, ces AMM sont soumises à des mesures de suivi pour confirmer les propriétés de la substance active, cette fois avec des critères cliniques afin d'obtenir une autorisation définitive. Cette manière de procéder permet ainsi de garantir un accès de ces nouveaux traitements innovants aussi

rapide que possible aux patients qui en ont le besoin, tout en assurant une validation scientifique solide de l'efficacité et de la sécurité de ces médicaments [51].

3. Critères de substitution : des débuts controversés

Le recours à des critères de substitution n'a cependant pas toujours été perçu comme une avancée. En effet, à leur début, quelques uns des critères de substitution considérés comme les plus fiables et les plus prometteurs n'ont pas permis d'aboutir à la conclusion exacte sur le bénéfice clinique supposé de nouvelles substances en cours de développement. S'il ne respecte pas l'un des paramètres de la liste de la section précédente, un critère de substitution risque de produire des conclusions erronées. Nous allons tenter ici de rappeler ces situations et de mettre en évidence les raisons pour lesquelles ces critères de substitutions ne s'étaient pas révélés satisfaisants.

1. Utilisation du LDL-cholestérol comme critère de substitution

Les données prospectives de l'étude de Framingham et de nombreuses autres études ont montré que le risque de maladie coronarienne est fortement relié aux concentrations sériques de cholestérol et de LDL-cholestérol. La classe pharmacologique la plus efficace pour réduire le taux de LDL-cholestérol est la classe des HMG-CoA réductases. Une méta-analyse de 58 études cliniques représentant un total de 148 321 patients a ainsi établi que, pour chaque diminution de la concentration sérique de LDL-cholestérol d'1mmol/L, le risque de survenue de maladie ischémique se trouvait diminué de 11% au cours de la première année de traitement, de 24% au cours de la seconde année de traitement, de 33% au cours des trois années suivantes et de 36% par la suite. La combinaison de ces données épidémiologiques et de la prévention d'événements cardiovasculaires par les statines qui provoquent une diminution de la concentration sérique de LDL-cholestérol, avait fait de la concentration sérique en LDL-cholestérol un critère de substitution valable et reconnu par les autorités de santé [54].

Pour autant, la physiopathologie des maladies cardiovasculaires est un processus complexe. Elles débutent par un dysfonctionnement de l'endothélium, une accumulation de lipides et un afflux de cellules inflammatoires. De nombreuses molécules telles que des cytokines, des protéases ou des chimiokines sont impliquées dans divers mécanismes jusqu'à aboutir à l'athérosclérose. En amont des phénomènes d'athérosclérose, la progression de la maladie demeure la plupart du temps asymptomatique et donc sans manifestation clinique. Avec le temps, certaines plaques d'athérosclérose fixées à la paroi des vaisseaux peuvent devenir instables, se détacher et conduire à des infarctus, des arrêts vasculaires cérébraux ou des maladies vasculaires périphériques. Les causes exactes conduisant à l'instabilité d'une plaque d'athérosclérose demeurent non élucidées. Au sein d'une même artère, des plaques d'athérosclérose stables et instables peuvent coexister, ce qui laisse supposer une influence de facteurs autocrines dans la différenciation des plaques d'athérosclérose stables en plaques d'athérosclérose instables [54].

Puisque la concentration sérique en LDL-cholestérol était reconnue comme un critère de substitution valable, certains investigateurs ont souhaité y avoir recours pour développer de nouveaux traitements destinés aux maladies cardiovasculaires. De la même manière que les statines, les œstrogènes sont connus pour leur capacité à faire diminuer la concentration sérique en LDL-cholestérol. Certains investigateurs avaient donc projeté de développer des traitements substitutifs par hormonothérapie pour les patients atteints de maladies cardiovasculaires intolérants aux statines ou comme traitement

adjuvant des statines. Or, un risque de mortalité accru, dû à des événements cardiovasculaires est apparu lors des essais cliniques chez les patients auxquels étaient administrés des œstrogènes. Il semblerait que les traitements substitutifs par hormonothérapie activent des mécanismes pro-athérogènes qui contrebalanceraient les effets bénéfiques produits par la diminution de la concentration sérique en LDL-cholestérol [54].

De la même façon, une autre substance active, l'ézétimibe, avait été récemment retenue comme une substance à développer dans le traitement de maladies cardiovasculaires, en raison de ses propriétés à limiter l'absorption du cholestérol ce qui conduit à une diminution des concentrations sériques en LDL-cholestérol. Or, dans l'étude clinique ENHANCE, l'efficacité de l'ézétimibe comme traitement adjuvant de la simvastatine a été évaluée chez des patients atteints d'hypercholestérolémie familiale homozygote. L'ézétimibe conduisait à une réduction moyenne supplémentaire de 16,5% de la concentration sérique en LDL-cholestérol par rapport aux patients traités par simvastatine seule. Mais en dépit de cette diminution, la progression des phénomènes d'athérosclérose et le risque cardiovasculaire, évalués par un autre critère de substitution (l'évaluation par ultrason de l'épaisseur intima-media carotidienne) restait inchangée pour les deux groupes de patients. La conclusion de cette étude ENHANCE embarrassait les Autorités de santé qui avaient déjà autorisé la mise sur le marché de l'ézétimibe (Ezetrol®, Inegy®) comme traitement adjuvant au régime et à la simvastatine de l'hypercholestérolémie primaire sur la base d'études cliniques dont le critère d'évaluation principal d'efficacité était la diminution de la concentration sérique en LDL-cholestérol. Dans des études précédant l'étude ENHANCE, une corrélation entre les variations des concentrations sériques en LDL-cholestérol et les variations de l'épaisseur intima-media carotidienne avait en outre été mise en évidence mais elle ne se retrouvait pas dans l'étude ENHANCE. A la suite de l'étude ENHANCE, une méta-analyse incluant l'ensemble des études cliniques disponibles pour lesquelles avaient été évaluées les variations des concentrations sériques en LDL-cholestérol et les variations de l'épaisseur intima-media carotidienne a été réalisée. Elle confirme la corrélation entre ces deux critères de substitution (Figure 16). La contradiction entre ces deux critères de substitution dans l'étude ENHANCE pourrait être due à un mécanisme pro-athérogène encore inconnu qui annihilerait l'effet bénéfique de la diminution de la concentration sérique en LDL-cholestérol [54].

Depuis, les autorités américaines et européennes ont autorisé l'extension d'indication dans le traitement de l'hypercholestérolémie familiale homozygote, mais elles ont simultanément ajouté une restriction d'utilisation en précisant dans le RCP pour les deux indications, que «Le bénéfice d'ézétimibe sur la mortalité et la morbidité cardiovasculaire n'a pas encore été établi. » « Des études visant à le démontrer sont en cours. » Cette restriction d'utilisation s'accompagne d'une mesure de suivi post-AMM où les autorités ont demandé au titulaire de l'AMM de reproduire une étude similaire à l'étude ENHANCE, mais en utilisant cette fois des critères de jugement cliniques : la mortalité et la morbidité cardiovasculaire. De plus, la situation rencontrée avec l'ézétimibe a conduit les autorités de santé à plus de méfiance lors de l'évaluation d'autres substances dont la démonstration de l'efficacité reposait uniquement sur leur capacité à réduire la concentration sérique de LDL-cholestérol, en particulier lorsque le mécanisme d'action amenant à cette réduction était différent de celui des statines. Par exemple, pour le mipomersen, oligonucléotide antisens visant à inhiber la synthèse de l'apolipoprotéine B100 et qui réduit la concentration sérique en LDL-cholestérol au-delà des réductions induites par les hypolipémiants disponibles, la FDA a requis la réalisation d'études cliniques employant des critères de

jugement clinique pour permettre l'autorisation de cette molécule, hormis dans le cas de l'indication orpheline de traitement de l'hypercholestérolémie familiale [57].

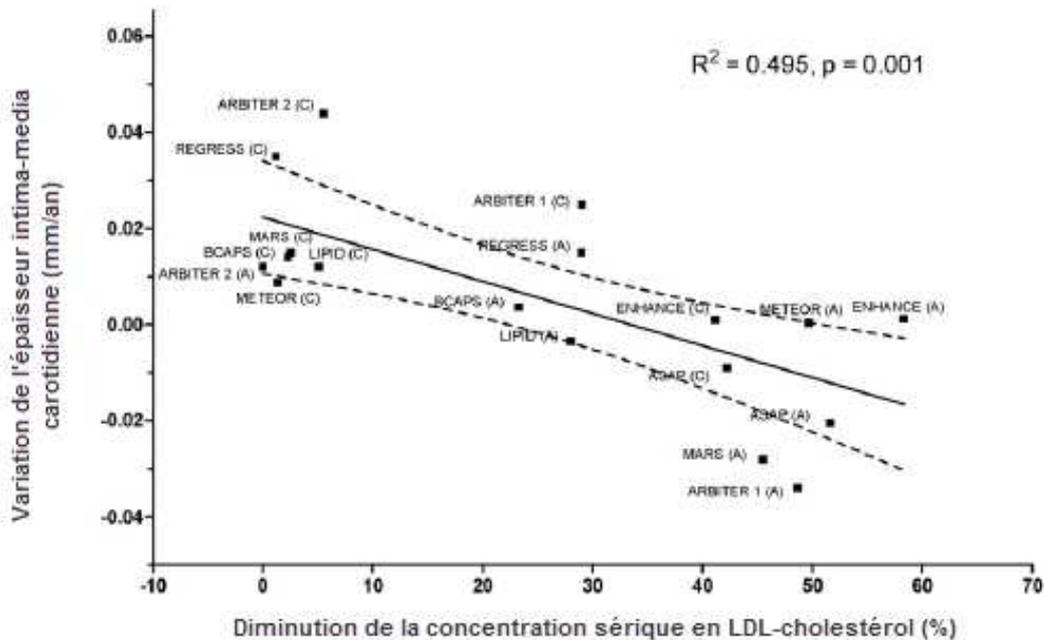


Figure 16: Variation de l'épaisseur intima-media carotidienne en fonction de la diminution de la concentration sérique en LDL-cholestérol dans des essais cliniques contrôlés. Adapté de [54].

Sur ce graphique, pour chaque étude, le groupe témoin apparaît avec la mention «(C)» tandis que le groupe ayant reçu la substance en développement apparaît avec la mention «(A)»

2. Utilisation de l'hémoglobine glyquée (HbA1C) en tant que critère de substitution

L'hémoglobine glyquée (fraction HbA1C) est une valeur biologique dont le dosage régulier, par un prélèvement sanguin veineux, permet de surveiller l'équilibre glycémique des patients diabétiques et, ainsi, d'évaluer et d'adapter leurs traitements anti-diabétiques. C'est également un critère de substitution qui a été validé et reconnu par les autorités de santé européenne et américaine comme indicateur du risque de survenue d'événements cardiovasculaires chez les patients atteints de diabète. Ainsi, une méta-analyse avait mis en évidence un risque relatif de 1,18 de survenue d'une maladie cardiovasculaire à chaque augmentation de 1% du taux d'hémoglobine glyquée chez les patients atteints de diabète de type II [88]. De nombreuses autres études ont montré qu'une diminution du taux d'hémoglobine glyquée correspondait à une amélioration de l'état clinique de diabétiques atteints de diabète de type II. L'ensemble de ces études a conduit à formuler l'hypothèse qu'une réduction supplémentaire du taux d'hémoglobine glyquée à celle apportée par le traitement habituel de ces patients, afin d'atteindre les valeurs normales constatées dans la population générale (HbA1C<6%), devrait conduire à un bénéfice clinique supérieur chez les patients atteints de diabète de type II. Cette hypothèse a alors été étudiée dans l'étude clinique ACCORD [89]. L'étude ACCORD était une étude randomisée ayant pour objectif d'observer l'effet d'un traitement intensif comparé à un traitement classique sur la survenue d'événements cardiovasculaires chez des patients atteints de diabète de type II. Dans cette étude, le taux d'hémoglobine glyquée était le critère de substitution visé par les protocoles

de traitement par l'insuline administrés, le but étant d'atteindre un taux d'hémoglobine glyquée HbA1C < 6% dans le groupe des patients soumis à un traitement intensif (pression artérielle systolique ciblée inférieure à 120 mm Hg) et un taux d'hémoglobine glyquée HbA1C = 7%-7,9% dans le groupe des patients soumis à un traitement classique (pression artérielle systolique ciblée inférieure à 140 mm Hg). Or, l'étude ACCORD a dû être interrompue prématurément à cause d'un taux de mortalité fortement accentué dans le groupe des patients soumis à un traitement intensif. [54]

De la même manière, au cours du développement de la rosiglitazone, traitement anti-diabétique de la classe des glitazones ou thiazolidinediones, le taux d'hémoglobine glyquée a été utilisé comme critère de substitution pour apprécier l'efficacité de cette molécule. La rosiglitazone, comme l'ensemble des glitazones, se lie aux récepteurs PPAR gamma (Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma) des cellules adipeuses, localisé au niveau des tissus musculaires et du foie. Cette activation des protéines conduit à une production accrue de protéines (enzymes, transporteurs type Glut-4) par hétérodimérisation avec des récepteurs des rétinoïdes aboutissant à rendre les cellules impliquées plus sensibles à l'insuline. La mise sur le marché de la rosiglitazone en 1999 par la FDA puis en 2000 par l'EMA en monothérapie (Avandia®) chez les adultes insuffisamment contrôlés par le régime alimentaire et l'exercice physique et pour lesquels la metformine n'était pas adaptée en raison de contre-indications ou d'intolérance ; puis en 2003 en bithérapie en association avec la metformine (Avandamet®), chez les adultes insuffisamment équilibrés par la metformine en monothérapie à la dose maximale tolérée et en 2006 en bithérapie en association avec un sulfamide hypoglycémiant (Avaglim®) uniquement chez les adultes intolérants à la metformine ou pour lesquels la metformine est contre-indiquée et qui sont insuffisamment contrôlés par un sulfamide hypoglycémiant. Lors de l'évaluation initiale du dossier de mise sur le marché, dans toutes les études de phase III, le critère d'évaluation principal était la variation de la concentration d'hémoglobine glyquée entre le début et la fin de l'étude : aucun des critères d'évaluation secondaires d'efficacité n'était un critère d'évaluation clinique (variation des concentrations sériques de fructosamine, cholestérol total, LDL cholestérol, HDL cholestérol, insuline, peptide C...). Les données d'efficacité et de sécurité à long terme étaient issues de six prolongations d'étude en ouvert. Au moment de délivrer l'AMM, l'autorité de santé européenne était satisfaite de la sécurité de la rosiglitazone à court terme mais souhaitait plus de données sur sa sécurité à long terme. Ainsi, des mesures de suivi avaient été imposées pour surveiller le capacité éventuelle de la rosiglitazone à engendrer des événements cardiovasculaires lors d'une exposition à long terme [54, 59].

De fait, après la mise sur le marché de spécialités à base de rosiglitazone, l'étude clinique nommée étude ADOPT a été mise en place. Il s'agissait d'une étude contrôlée, en double aveugle, conçue pour étudier les effets de la rosiglitazone comparée à la metformine ou au glibenclamide sur le maintien du contrôle glycémique à long terme chez 4360 patients ayant un diabète de type 2 récemment diagnostiqué. Avec un suivi médian de 4 années, l'étude ADOPT a alors démontré que, malgré une réduction supérieure de la concentration d'hémoglobine glyquée chez les patients traités par rosiglitazone, la survenue d'événements cardiovasculaires était plus fréquente pour ce groupe de patients. Cette conclusion a ensuite été corroborée par une méta-analyse incluant 42 études cliniques qui a conclut à une augmentation du risque d'infarctus du myocarde ainsi que d'autres complications cardiaques associées à la prise de rosiglitazone, malgré la capacité de la rosiglitazone à diminuer le taux d'hémoglobine glyquée. A la suite à la publication de l'ensemble de ces données, les autorités européennes ont statué et reconsidéré le rapport bénéfice/risque des médicaments contenant de la rosiglitazone, désormais jugé défavorable. En conséquence, l'AMM des médicaments contenant ce

principe actif a été suspendue en Europe en Septembre 2010. Les spécialités à base de rosiglitazone ont vu leur AMM maintenue aux Etats-Unis, mais de fortes restrictions d'utilisation ont été ajoutées en février 2011 à leurs RCP, les rétrogradant en dernière ligne de traitement, en plus de l'ajout des résultats des études cliniques mentionnés ci-dessus dans les sections adéquates du RCP [58, 59, 60].

Les exemples de l'étude ACCORD et de la rosiglitazone ont ainsi mis en évidence que la capacité de l'hémoglobine glyquée à servir de critère de substitution pour prédire le risque de survenue d'événements cardiovasculaires chez les patients atteints de diabète de type II est trop limitée, par comparaison aux critères d'évaluation clinique disponibles (mortalité et morbidité cardiovasculaire). L'hémoglobine glyquée est sans doute un biomarqueur intéressant à utiliser au cours des études cliniques précoces, pour déceler le bénéfice potentiel de nouvelles substances en développement mais les études pivots y succédant doivent utiliser des critères d'évaluation clinique. Ainsi, si au cours des dizaines d'années précédant la situation de la rosiglitazone, quelques médicaments avaient pu être autorisés de par leur aptitude à diminuer le taux d'hémoglobine glyquée, désormais les autorités de santé souhaitent que les demandes d'enregistrement de nouveaux traitements du diabète de type II reposent sur des critères d'évaluation clinique. L'une des explications émises sur l'échec de l'hémoglobine glyquée en tant que critère de substitution est que, si les études épidémiologiques préalables ont démontré clairement et de manière répétée que la diminution du taux d'hémoglobine glyquée chez les diabétiques est bénéfique sur la survenue de complications microvasculaires ou microangiopathies diabétiques touchant en particulier la rétine ou le rein, le bénéfice sur la survenue de complications macrovasculaires reste plus incertaine[50, 54].

L'exemple de l'hémoglobine glyquée, comme celui du LDL-cholestérol met aussi en lumière les limites des critères de substitution dits « solubles ». Ces critères de substitution solubles ne rendent souvent compte que d'une partie des mécanismes physiopathologiques impliqués en ne reflétant que des médiateurs systémiques ; ils peuvent manquer de sensibilité pour détecter l'ensemble des effets indésirables produits par l'intervention thérapeutique. Il paraît ainsi hasardeux de faire reposer l'ensemble de l'évaluation clinique d'une substance chimique ou biologique sur un critère de substitution unique. La combinaison de plusieurs critères de substitution, en particulier de critères de substitution de différentes natures, pourrait permettre de s'affranchir de certains de ces travers. Pour les exemples détaillés précédemment, on aurait ainsi pu avoir recours à des critères de substitution d'imagerie pour évaluer l'effet de ces traitements dans les maladies cardiovasculaires en plus des critères de substitution soluble utilisés. En effet, les critères de substitutions d'imagerie présentent leurs propres imperfections potentielles (difficulté d'orientation spatiale, possibles artefacts lors de l'interprétation des clichés...) mais elles sont différentes de celles des critères de substitution solubles. La combinaison de deux types de critères de substitution de nature différente aurait pu conduire à des conclusions plus fiables [50, 54].

3. Causes d'échec des critères de substitution

De manière théorique, les principes établissant les raisons pouvant conduire à des critères de substitution erronés ont été développées en même temps que la notion de biomarqueur. Le premier principe énoncé est qu'une simple corrélation entre un paramètre clinique et un paramètre biologique ne suffit pas à établir un critère de substitution.

En effet, de nombreux facteurs peuvent conduire à l'échec d'un critère de substitution à prédire les conséquences cliniques d'une intervention thérapeutique (figure 17). Malgré une corrélation avec le

critère d'évaluation clinique, le critère de substitution peut ne pas appartenir au mécanisme pathophysiologique de progression de la maladie induisant une détérioration clinique (figure 17 - situation A). Parmi les différents mécanismes pathophysiologiques de progression de la maladie induisant une détérioration clinique, la substance thérapeutique en cours de développement peut avoir un effet uniquement sur le mécanisme impliquant le critère de substitution (figure 17 - situation B) ou uniquement sur un mécanisme indépendant du critère de substitution (figure 17 - situation C). Enfin, le cas le plus fréquent responsable de l'échec du développement d'un critère de substitution est que la substance thérapeutique en cours de développement peut avoir un effet sur le(s) paramètre(s) clinique(s) par un mécanisme d'action parfois encore inconnu, indépendant des mécanismes pathophysiologiques de progression de la maladie. Dans cette situation, la substance thérapeutique peut produire des effets indésirables qui seraient visibles par évaluation des paramètres cliniques, mais ne sont pas détectables par le critère de substitution car ils se produisent en aval de l'intervention du critère de substitution (figure 17 - situation D). Dans la situation optimale pour disposer d'un critère de substitution satisfaisant, le critère de substitution doit être impliqué dans l'ensemble des mécanismes pathophysiologiques de progression de la maladie et l'ensemble de l'effet exercé par la substance thérapeutique en cours de développement sur le(s) paramètre(s) clinique(s) doit être régulé/médié par le critère de substitution (figure 17 - situation E). Même cette situation optimale ne garantit pas que le critère de substitution soit satisfaisant car le critère de substitution peut être surestimé ou sous-estimé en raison par exemple d'un excès de bruit de fond lors de la mesure du critère de substitution. La difficulté lorsque l'on souhaite développer une nouvelle substance thérapeutique avec un critère de substitution réside donc dans l'existence potentielle de multiples mécanismes de progression d'une pathologie pouvant avoir des répercussions cliniques. Par ailleurs, des mécanismes de progression de la pathologie peuvent être encore inconnus ou des mécanismes d'action de la substance testée peuvent agir directement sur les paramètres cliniques [55].

A partir de ces concepts, dès 1989, Prentice a suggéré quatre critères à remplir pour pouvoir recourir à un critère de substitution unique dans le développement d'une nouvelle substance chimique ou biologique [50] :

- La thérapeutique en cours d'évaluation doit avoir un effet significatif sur le critère de substitution.
- La thérapeutique en cours d'évaluation doit avoir un effet significatif sur le(s) paramètre(s) clinique(s) impacté(s).
- Il doit y avoir une corrélation forte entre les variations du paramètre biologique correspondant au critère de substitution et les variations du paramètre clinique.
- L'ensemble des effets de la thérapeutique en cours d'évaluation sur le(s) paramètre(s) clinique(s) impacté(s) doivent être régulés par le critère de substitution.

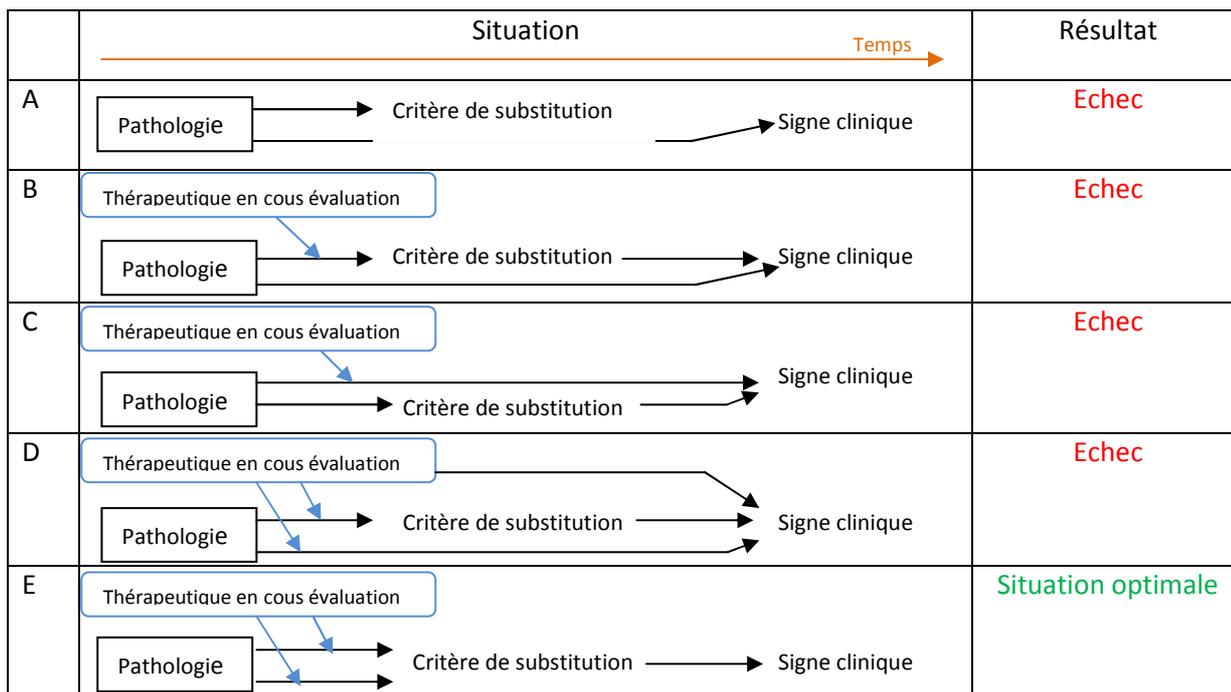


Figure 17: Situations possibles d'échec d'utilisation de critère de substitution. Adapté de [55].

4. Critères de substitution : défis et opportunités

Malgré certaines difficultés rencontrées par le passé, les critères de substitution restent perçus aujourd'hui comme des outils nécessaires en Recherche et Développement pharmaceutique. D'abord parce qu'ils peuvent avoir des avantages par rapport aux critères d'évaluation clinique de référence, tels que : réduire la durée des essais cliniques, faciliter l'évaluation du paramètre permettant des mesures plus fréquentes, bénéficier d'une méthode de dosage objective et plus précise. Les critères de substitution semblent également quasi incontournables dans certaines situations spécifiques comme dans les pathologies à évolution extrêmement lente où l'évaluation par les critères d'évaluation clinique nécessiterait de très longues études avant de pouvoir mettre à disposition des patients un nouveau traitement. Des groupes de travail des Autorités de santé, dont certains impliquent des acteurs industriels, poursuivent donc leur réflexion pour déterminer comment intégrer au mieux les critères de substitution au cours du développement d'une nouvelle substance chimique ou biologique [51,56].

Ces groupes de travail ont émis quelques recommandations spécifiques des critères de substitution. Selon l'idée que la connaissance élargie des mécanismes physiopathologiques de progression d'une maladie augmente les probabilités de succès d'un critère de substitution, il est recommandé aux requérants de procéder à une modélisation des interactions entre la thérapeutique en cours de développement, le critère de substitution et le paramètre d'évaluation clinique à partir des connaissances scientifiques disponibles avant d'utiliser de manière pratique un critère de substitution. Cette modélisation a pour but de vérifier, en l'état actuel des connaissances, si l'on semble disposer d'une compréhension suffisante des mécanismes d'action impliqués. Et, si ce n'est pas le cas, d'évaluer si l'étude des mécanismes d'action manquants est réalisable avant l'utilisation du critère de substitution. La seconde étape consiste à évaluer la relation existant entre le critère de substitution et le critère d'évaluation clinique. Cette évaluation peut être réalisée par une simple corrélation, en

respectant les conditions décrites par Prentice précédemment. Même pour établir une simple corrélation, il est fortement recommandé de répéter l'étude entre les deux paramètres et de ne pas se contenter d'une étude unique. Néanmoins, la méthode préconisée semble être le recours à une méta-analyse, la combinaison de données provenant de multiples études assurant généralement plus de fiabilité que l'interprétation des résultats de chaque étude séparément. En effet, on considère que l'effet de la thérapeutique en cours de développement sur le critère de substitution et sur le critère d'évaluation clinique représente une variable dont la moyenne et le coefficient de variation peut varier d'une étude à l'autre. L'emploi de méta-analyse permet, de plus, de qualifier un critère de substitution pour une classe thérapeutique entière plutôt que pour une substance active particulière, selon les études incluses dans la méta-analyse [56].

D'autre part, les autorités de santé distinguent deux rôles possibles pour les critères de substitution. Ils peuvent être utilisés lors des études de phase III en lieu et place des critères d'évaluation clinique, mais les autorités de santé réitèrent la possibilité d'utiliser des critères de substitution au cours des phases précoces de développement (études de phase I-II) afin d'accélérer l'évaluation de la nouvelle substance tout en procédant à des études pivots avec des critères d'évaluation clinique. Les groupes de travail tentent d'apporter des recommandations à un certain nombre de questions relatives aux critères de substitution qui émergent en permanence, telles que : Considération des nouveaux médicaments autorisés uniquement sur la base de critères de substitution lors des essais cliniques pivots de Phase III par les organismes de remboursement ? Existe-t-il des situations dans lesquelles un biomarqueur, bien que nouveau et non validé, puisse être accepté en tant que critère de décision principal pour une AMM? Dans le cas des maladies orphelines dont les essais cliniques sont réalisés sur de petites populations, comment serait-il possible d'intégrer des critères de substitution ?... Par exemple, pour cette dernière question, des groupes de travail ont débattu et estimé que dans le cas de maladies rares, s'il existe un biomarqueur scientifiquement crédible au vu des données scientifiques disponibles qui peut être utilisé comme un critère de substitution, mais qu'un processus complet de validation est quasi-impossible vu la faible prévalence de la pathologie, il paraît envisageable d'utiliser ce critère de substitution lors des essais cliniques pour faire enregistrer la nouvelle substance pharmaceutique. Cependant, il est très fortement recommandé à l'investigateur de solliciter un avis scientifique auprès des Autorités de santé pour discuter au préalable du protocole des essais cliniques [51].

VI. Biomarqueurs et Essais cliniques adaptatifs

Les essais cliniques adaptatifs constituent l'autre domaine majeur d'innovation en recherche clinique à l'heure actuelle, avec les biomarqueurs. Il n'existe pas de lien formel entre les deux concepts : un essai clinique adaptatif peut être mis en place sans qu'aucun biomarqueur ne soit utilisé. Néanmoins, parmi les différentes catégories d'essais cliniques adaptatifs développés, une des deux variations les plus utilisées actuellement est l'enrichissement du groupe d'une étude clinique recevant le traitement en cours d'évaluation, par des patients plus susceptibles de répondre au traitement que la population générale, qui fait alors souvent usage de biomarqueurs. On désigne par « facteurs d'enrichissement » les éléments qui augmentent les critères de sélection des patients susceptibles de bénéficier d'un traitement. Une catégorie spécifique d'essais cliniques adaptatifs a même été développée pour ceux qui utilisent des biomarqueurs pour leurs variations (« Biomarker adaptive clinical trials design »). L'utilisation de biomarqueurs dans les essais cliniques adaptatifs est une vision assez futuriste, encore peu utilisée en pratique, mais qui pourrait être l'une des voies de développement des biomarqueurs dans les années à venir [61-62].

Dans cette section, nous allons introduire la notion d'essais cliniques adaptatifs puis décrire les différents types d'essais cliniques adaptatifs avant de se concentrer sur la catégorie des essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs pour mettre en place leurs variations.

1. Notion d'essais cliniques adaptatifs

Les essais cliniques conventionnels sont conçus autour d'un objectif principal et d'un critère d'évaluation clinique principal pour aboutir à une conclusion soumise à un intervalle de confiance défini. Dans ces essais cliniques, tous les paramètres de l'étude sont prédéfinis et fixes.

Tel que nous l'avons mentionné dans la première partie de ce document, les promoteurs sont confrontés à certaines difficultés avec ces essais cliniques conventionnels: leurs coûts de réalisation ne cessent d'augmenter, le recrutement de patients est plus difficile du fait des caractéristiques exigées pour les populations de ces études, les techniques d'analyse des critères d'évaluation clinique se compliquent... Les Autorités de santé sont conscientes du besoin de nouvelles méthodes en recherche clinique pour pallier certaines de ces difficultés. L'une des solutions suggérées est le recours aux essais cliniques dits « adaptatifs ». A l'inverse d'un essai clinique conventionnel, le principe de l'essai clinique adaptatif est d'adapter certains paramètres de l'étude en fonction de données de l'étude rassemblées en temps réel, tout en préservant l'intégrité des résultats de l'étude [61].

a. Définition et objectifs des essais cliniques adaptatifs

Un essai clinique adaptatif est défini comme « un essai clinique incluant dans son protocole des modifications éventuelles de certains paramètres du plan expérimental ou des hypothèses de l'étude, établies à l'avance et fonction de l'analyse de données intermédiaires. L'analyse de données intermédiaires est réalisée à un moment préétabli dans le protocole, peut être réalisée à l'aveugle ou non, et consister ou non à tester une hypothèse statistique » [63].

Dans cette définition, les modifications éventuelles désignent « des modifications prévues à l'avance et dont les détails sont disponibles dans le protocole avant que les données intermédiaires ne soient évaluées. » L'analyse de données intermédiaires désigne « toute évaluation de données de l'étude alors

que l'étude est en cours de réalisation. Cela ne concerne pas uniquement des comparaisons de données entre les groupes de sujets de l'étude mais peut aussi être l'étude des données de base de l'ensemble de la population, l'étude des données d'un biomarqueur pour l'ensemble de la population de l'étude en cours... » La gamme des modifications éventuelles des paramètres du plan expérimental à la suite de l'analyse de données intermédiaires est étendue et peut inclure : une modification des critères d'inclusion ou d'exclusion, une modification de la stratégie de randomisation, une modification des modalités de traitement des différents groupes de l'étude (dose administrée, durée du traitement), une modification de la taille de la population de l'étude, une modification affectant le critère d'évaluation principal de l'étude, une modification des méthodes analytiques appliquées à l'évaluation du critère d'évaluation principal... [63]

L'utilisation du principe des essais cliniques adaptatifs pour modifier le plan expérimental d'une étude en cours d'évaluation était déjà utilisé pour certaines études dès les années 1970, mais le concept n'était ni formalisé ni reconnu par les autorités de santé et se limitait essentiellement à des modifications de la stratégie de randomisation [64]. L'objectif de la notion conceptualisée d'essai clinique adaptatif est une optimisation par rapport aux essais cliniques conventionnels menant à la même conclusion de façon plus efficace (ex : durée plus courte, nombre de patients exposés à une substance inefficace ou à une surdose inférieure) ou avec plus d'informations (ex : plus de doses étudiées).

b. Intérêts des essais cliniques adaptatifs par rapport aux essais cliniques conventionnels

Dans de nombreux programmes de développement clinique, l'intégralité des données utiles n'est pas forcément disponible au moment où le plan expérimental d'une nouvelle étude est établi. En effet, les essais cliniques, recrutement et suivi à long terme compris, s'étendent sur des années. Même avec un programme de Phase II mené le plus scrupuleusement possible, il n'est pas rare que certaines incertitudes concernant des paramètres du plan expérimental demeurent au moment où débute la phase III. Dans le cas de la conception d'un essai clinique conventionnel, on formule alors des hypothèses et des estimations, au sujet de ces informations manquantes pour déterminer certains paramètres de l'étude. Une fois l'essai clinique conventionnel débuté, ces paramètres sont fixés et ne peuvent plus être modifiés. En revanche, un essai clinique adaptatif et son analyse intermédiaire permettent de s'assurer en cours d'étude que le plan expérimental de l'étude de phase III reste approprié pour atteindre les objectifs de l'étude ou indiquent qu'une modification serait nécessaire (tableau 6) [63, 68].

Un autre intérêt potentiel des essais cliniques adaptatifs est de pouvoir fournir plus de données qu'avec des essais cliniques conventionnels en y appliquant les mêmes contraintes de limite de temps et de ressources. Or, réduire le temps et le budget nécessaires pour évaluer chaque option permet l'évaluation d'un plus grand nombre d'options. Ce surplus de connaissances sur la substance étudiée doit, finalement, améliorer les probabilités de succès d'un programme de développement clinique. Par exemple, la recherche de la dose optimale quotidienne d'une nouvelle substance à administrer nécessite, dans l'approche conventionnelle, une étude dose-effet en groupes parallèles pour un large éventail de doses. Dans cette approche, un certain nombre de sujets recevra une dose insuffisante tout au long de l'étude. Dans cette situation, un essai clinique adaptatif permettrait d'arrêter l'étude pour les

groupes pour lesquels l'insuffisance de la dose serait démontrée à un moment déterminé de l'étude. De même, il paraît possible de réduire le nombre de sujets à recruter pour chaque groupe après une estimation initiale trop prudente de la variance. Avec un essai clinique adaptatif réalisé de manière adéquate, la diminution de la quantité d'informations rassemblées, et les réductions des coûts et des ressources concomitantes ne modifieraient pas l'exactitude de la conclusion finale sur la dose quotidienne optimale [63].

La comparaison des principales caractéristiques des essais adaptatifs par rapport aux essais conventionnels se trouve résumée dans le tableau 6.

Tableau 6: Tableau comparatif des caractéristiques habituelles d'un essai clinique conventionnel et des caractéristiques habituelles d'un essai clinique adaptatif. D'après [64]

Caractéristique	Essai clinique conventionnel	Essai clinique adaptatif
Plan expérimental	Fixe	Flexible
Bras expérimentaux	2 à 3 bras maximum	Nombreux bras expérimentaux en simultané possible
Hypothèses	Test d'une hypothèse prédéfinie	Test d'hypothèses pouvant être ajustées par les données en cours d'acquisition
Analyses intermédiaires	Non	Oui
Modifications du plan expérimental	Non autorisé, excepté via amendement substantiel évalué et autorisé	Autorisées, prédéfinies à l'avance dans le protocole
Phases de développement	Dédié à une phase du développement spécifique	Un essai clinique adaptatif peut couvrir plusieurs phases du développement
Analyses statistiques	Utilise l'approche statistique classique	Peut utiliser l'approche statistique Bayésienne
Préparation et organisation	Relativement simple, modèles expérimentaux définis	Complexe, nécessite des simulations avant mise en pratique

c. Risques potentiels avec les essais cliniques adaptatifs

Lors du développement clinique, on peut distinguer deux phases principales : la phase exploratoire correspondant aux études des phases I et II et la phase confirmatoire correspondant aux dernières études de phase II et aux études de phase III. De fait, les études de phase III ont pour but de confirmer les résultats des études pré-cliniques, des études de tolérance ou encore des études de recherche des doses. Ainsi, l'éventualité de modifier le plan expérimental d'un essai clinique de phase III peut sembler en contradiction avec la nature confirmatoire de ces essais. Tout en considérant leur intérêt potentiel décrit précédemment, les essais cliniques adaptatifs ne doivent donc pas être un moyen de s'affranchir de la rigueur nécessaire lors de la mise en place des études de phase III. Les modifications éventuelles doivent être précisément décrites et justifiées dans le protocole. Toute modification du plan expérimental, non pré-définie dans le protocole d'un essai clinique conçu pour être confirmatoire conduira à considérer l'essai clinique comme exploratoire et non confirmatoire. Les Autorités de santé accompagnent le développement des essais cliniques adaptatifs, mais restent soucieuses quant aux risques sur la validité et l'intégrité de ces essais tels l'introduction de biais ou la possibilité d'aboutir à des conclusions incorrectes, en particulier pour les essais cliniques confirmatoires. Pour les Autorités de santé, les essais cliniques adaptatifs doivent être utilisés surtout dans le cas de situations expérimentales difficiles, en particulier « lorsque la réponse des sujets au placebo est compliquée à

prévoir, en cas de populations de petite taille liées à des maladies orphelines ou en cas de restrictions éthiques à la mise en place d'une expérimentation » [68].

L'évaluation des données cliniques d'une étude devant aboutir à la conclusion nécessite, entre autres éléments, un examen des sources de biais possibles ayant pu affecter l'étude. L'introduction d'analyse(s) intermédiaire(s) au cours de l'étude est une de ces sources potentielles de biais : biais statistique ou biais opérationnel.

Un pré-requis indispensable pour que la méthode statistique appliquée et, en conséquence, pour que les résultats d'un essai clinique puissent être acceptés par les autorités est la maîtrise du risque de première espèce, parfois aussi dénommé « erreur de type I ». Le risque de première espèce est symbolisé par le caractère alpha « α » : il correspond à la probabilité de mettre en évidence une différence qui n'existe pas ou à la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle alors qu'elle est vraie en réalité. Ce risque de première espèce conduit à détecter des faux positifs.

Lors d'un essai clinique adaptatif, le nombre d'analyses intermédiaires et de modifications éventuelles doit être limité, particulièrement s'il s'agit d'un essai clinique de phase III. Chaque modification éventuelle doit être précisément décrite et étayée dans le protocole, en rappelant les connaissances manquantes au moment de la mise en place de l'étude, en démontrant que l'interprétation de l'étude ne risque pas d'être compromise par l'introduction de l'analyse intermédiaire souhaitée... En effet, toute analyse intermédiaire nécessite un ajustement des seuils de risque α propres à chaque analyse intermédiaire afin de maintenir inchangé le seuil de risque α global de l'essai clinique. Dans le cas contraire, sans ajustement des seuils de risque α propres à chaque analyse intermédiaire, l'augmentation du nombre d'options étudiées parmi plusieurs éléments (plus de doses, plus de sous-populations, plus de critères d'évaluation) conduirait à une augmentation des possibilités de mettre en évidence un effet du traitement qui n'existe pas, ce qui correspond à une augmentation non maîtrisée du risque de première espèce. Ainsi, pour un essai clinique adaptatif, il est essentiel que toute modification éventuelle du plan expérimental soit effectuée en maîtrisant le risque de première espèce [63,68].

Certaines modifications éventuelles du plan expérimental peuvent nécessiter une levée de l'aveugle pour les analystes chargés de mettre en œuvre ces modifications. Lors de la mise en place du protocole de l'étude il est alors important de veiller à ce que ces analystes ne puissent en aucune mesure influencer les investigateurs dans leur manière de conduire l'étude ni influencer les sujets de l'étude, spécialement si ces derniers sont amenés à réaliser des auto-évaluations de leur état. Autant que possible, il est ainsi recommandé de ne pas avertir les investigateurs de la modification du plan expérimental appliqué. En effet, la connaissance des résultats de l'analyse intermédiaire ou de la modification de plan expérimental appliquée pourrait influencer les investigateurs dans leur manière de traiter, évaluer et suivre les patients, par exemple en identifiant plus ou moins fréquemment des événements correspondants aux critères de jugement principal et secondaires. Cela constituerait alors un biais opérationnel qui affecterait la justesse des conclusions de l'essai clinique. Or, ces biais opérationnels n'étant pas de nature statistique, la méthode statistique utilisée lors de l'essai clinique ne peut pas corriger ce biais ou être ajustée pour compenser ce biais.

De manière générale, un promoteur doit toujours chercher à éviter la levée de l'aveugle au cours d'un essai clinique adaptatif. En effet, avec une levée de l'aveugle pour une analyse intermédiaire, il est

toujours difficile de convaincre de l'absence absolue de risque de communication des résultats des analyses intermédiaires malgré toutes les mesures introduites dans le protocole pour réduire ce risque. Si la levée de l'aveugle est inévitable par rapport à la nature des données intermédiaires à analyser, les autorités de santé recommandent la constitution d'un Comité de pilotage des modifications du plan expérimental, indépendant du Comité de surveillance des données. Il est essentiel que le nombre de personnes ayant accès aux données décodées de l'étude intermédiaire soit restreint, idéalement seul un statisticien indépendant transmettra les résultats des analyses intermédiaires au Comité de pilotage des modifications du plan expérimental chargé de mettre en place les modifications. Il est également important que le promoteur ne fasse pas partie de ce Comité de pilotage des modifications du plan expérimental afin de préserver l'intégrité de l'essai clinique en cours. De la même manière, pour pouvoir exercer son activité de manière indépendante jusqu'à la fin de l'essai clinique, le Comité de surveillance des données ne doit pas avoir connaissance des données de l'analyse intermédiaire sauf dans le cas où il s'agirait de données de sécurité importantes [61,63,68].

En raison de ces risques potentiels liés aux essais cliniques adaptatifs et de leur complexité, les autorités de santé incitent les promoteurs, en plus de se référer aux lignes directrices émises à ce sujet, à multiplier les échanges avec les autorités de santé lors de la préparation d'un essai clinique adaptatif en sus des échanges habituels prévus lors de la mise en place d'essais cliniques conventionnels. La FDA suggère si besoin de recourir à des réunions spéciales d'évaluation du protocole (« Special Protocol Assessment ») en plus des habituelles réunions en fin de phase de développement (End-of-Phase II meeting, End-of-Phase III meeting). En Europe, il est toujours possible de solliciter un Avis Scientifique (« Scientific Advice meeting ») pour la mise en place d'un essai clinique adaptatif [63].

2. Catégories d'essais cliniques adaptatifs

Les essais cliniques adaptatifs peuvent être classés selon le type de modification éventuelle appliqué au plan expérimental, selon l'objectif de la modification (sélection de la population appropriée, sélection du traitement approprié, recherche de dose, arrêt éventuel de l'essai clinique) ou la phase du développement lors de laquelle ils sont utilisés (phase exploratoire ou phase confirmatoire). On dénombre actuellement sept catégories principales d'essais cliniques adaptatifs d'après le type de modification éventuellement appliquée:

- Essai clinique adaptatif avec réévaluation de la taille de la population de l'étude

La décision d'augmenter ou de réduire la taille de la population de l'étude peut reposer sur l'analyse intermédiaire de données en aveugle (données de référence, données sur un critère d'évaluation chez l'ensemble des sujets randomisés au moment de l'analyse intermédiaire) ou de données décodées (différence d'effet du traitement sur le critère d'évaluation principal entre les groupes). Une augmentation de la taille de la population de l'étude peut être nécessaire pour permettre de mettre en évidence une différence significative entre les différents groupes, tandis qu'une diminution de la taille de la population peut éviter d'engager des ressources humaines et financières non indispensables dans un essai clinique. Dans leurs lignes directrices, les autorités de santé avertissent qu'une réévaluation unique de la taille de la population de l'étude doit avoir lieu pour ces essais cliniques adaptatifs, sous peine d'être perçue comme une perte de la maîtrise des conditions expérimentales [64, 68].

- Essai adaptatif avec modification éventuelle des paramètres de randomisation

La modification des paramètres de randomisation concerne essentiellement les modifications des rapports de randomisation entre les différents groupes à la suite de l'analyse intermédiaire. Un rapport de randomisation 1/1, souvent utilisé pour démontrer la supériorité du traitement en cours de développement par rapport au traitement de référence ou au placebo, n'est pas forcément la méthode la plus efficace dans le cas d'essais cliniques de non-infériorité. D'autre part, si la cohérence statistique est préservée, il peut être intéressant d'inclure d'avantage de patients dans le groupe recevant le traitement en cours de développement du point de vue de la sécurité clinique, car normalement le profil de sécurité des traitements de référence est déjà connu [64, 68].

➤ Essai clinique adaptatif à élimination séquentielle (« Drop-the-loser design »)

Pour ce type d'essai clinique adaptatif, les patients des groupes identifiés lors de l'analyse intermédiaire comme ayant reçu une des options de traitement les moins efficaces selon des critères prédéfinis sont exclus de l'étude ou redistribués dans les autres groupes. Pour ces essais cliniques adaptatifs à élimination séquentielle, seules les hypothèses sélectionnées à la suite de l'analyse intermédiaire et étudiées lors de la deuxième phase de l'essai clinique pourront être utilisées pour la conclusion. Si une dose a été éliminée en fin de première phase, mais si sa supériorité au placebo est établie *a posteriori*, il n'est cependant pas possible de conclure sur cette dose [64, 68].

Ces deux derniers types de modification sont utiles pour les plans expérimentaux des études de Phase II de recherche de dose, particulièrement lorsque des incertitudes persistent sur les doses devant être testées à la suite des premières étapes du développement. Ces études de recherche de dose ont pour objectif de mettre en évidence la dose maximale tolérée (DMT) et la dose minimale efficace (Figure 18).

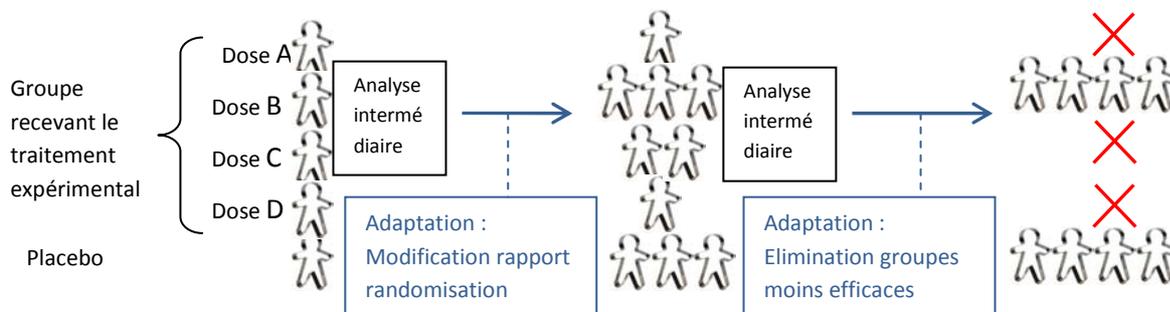


Figure 18: Illustration du plan expérimental d'un essai adaptatif multiple possible pour un essai clinique de recherche de dose : modification des paramètres de randomisation et élimination séquentielle. D'après [64].

➤ Essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs (« Biomarker-adaptive threshold design »)

Cette catégorie d'essais cliniques adaptatif ayant la particularité de recourir aux biomarqueurs, leurs principales caractéristiques seront détaillées dans une section spécifique en V.3.

➤ Essais cliniques adaptatifs avec réévaluation de la méthode statistique

Différents types d'ajustements de la méthode statistique liés au résultats de l'analyse intermédiaire peuvent être spécifiés dans le protocole. Néanmoins, de manière générale, les autorités de santé sont

plutôt réfractaires aux essais cliniques adaptatifs avec réévaluation de la méthode statistique. L'exemple le plus caractéristique d'essai clinique adaptatif avec réévaluation de la méthode statistique est le basculement d'un essai clinique de non-infériorité à un essai clinique de supériorité, en augmentant la taille de la population de l'étude. Dans tous les cas, le basculement inverse d'un essai de supériorité à un essai de non-infériorité n'est pas acceptable. Même dans le premier cas, les autorités sont plutôt favorables à refaire l'étude de non-infériorité identique à la première puis de combiner les données des deux études de non-infériorité dans une méta-analyse ayant pour but de démontrer une supériorité, plutôt que de réaliser un essai clinique adaptatif avec modification de la méthode statistique [64, 68].

➤ Essais cliniques adaptatifs combinés de phase II-III

Dans ce type d'essai clinique adaptatif, les objectifs d'un essai clinique de Phase IIb et d'un essai clinique de Phase III sont combinés dans un essai clinique unique. Les deux phases de l'essai clinique décrites sont une phase d'acquisition de données (correspondant à un essai de Phase IIb) et une phase confirmatoire (correspondant à un essai de Phase III). Les essais cliniques adaptatifs combinés de phase II-III sont réalisables lorsque la sélection des doses à tester a été convenablement effectuée en Phase IIa et que l'on anticipe d'utiliser des populations aux caractéristiques strictement identiques et les mêmes critères d'évaluation principaux dans les essais des phases IIb et III. L'intérêt majeur des essais cliniques adaptatifs combinés de phase II-III est une économie en temps de développement par rapport à un programme de développement classique, la transition entre les deux phases s'effectuant quasi immédiatement (Figure 20). Néanmoins, cet avantage constitue aussi une limite à cette méthode, soulignée par les Autorités de santé. En effet, il est parfois préférable de disposer d'un temps de réflexion suffisant pour exploiter l'ensemble des données issues des essais cliniques de phase II et de se laisser la possibilité d'apporter des ajustements non prévus initialement à un essai clinique de Phase III séparé pour se prémunir d'un échec en phase III. L'essai clinique adaptatif combiné de phase II-III permet d'autres avantages. Ainsi, de par ses caractéristiques, il permet d'inclure et donc d'évaluer davantage de patients lors de la première phase du choix de la dose efficace que lors d'une étude de phase IIb séparée. C'est aussi un moyen d'éclaircir certains aspects encore incertains du développement pour éviter de mettre en place des études de phase III longues et coûteuses en présence de ces incertitudes [62, 64,68].

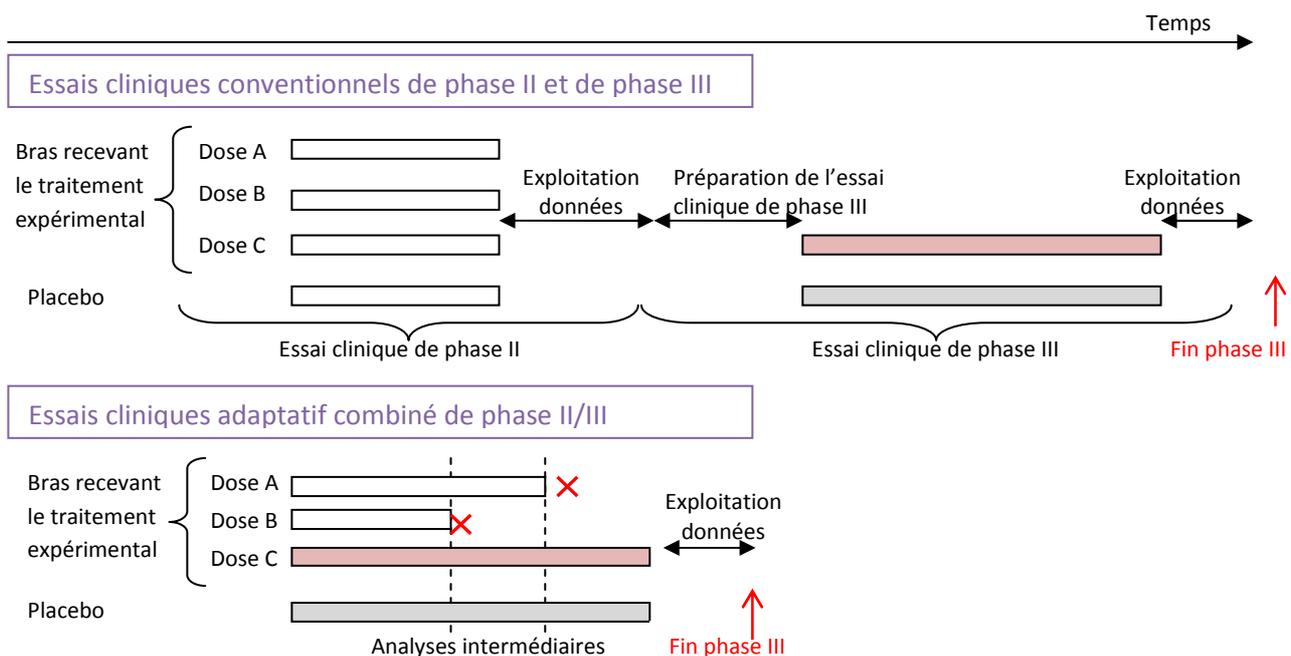


Figure 19: Mise en évidence du gain de temps théorique autorisé par le recours à un essai clinique adaptatif combiné de phase II/III par comparaison à des essais cliniques successifs de phase II et de phase III. D'après [64].

➤ Essais cliniques adaptatifs multiples

Ce sont des essais cliniques qui ont recours à une combinaison des différents types d'adaptation décrits ci-dessus, comme dans l'exemple présenté dans la figure 18 [64].

3. Essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs

Les essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs (« Biomarker-adaptive threshold design ») sont décrits de manière simple comme des « essais cliniques ayant recours à un biomarqueur au cours d'une analyse intermédiaire des données en cours d'acquisition afin d'apporter d'éventuelles modifications au plan expérimental » [65].

Comme nous l'avons décrit précédemment, l'expansion de la pharmacogénomique s'accompagne du développement d'un certain nombre de traitements qui se veulent être des thérapies ciblées actives sur un gène ou sur le produit d'expression d'un gène spécifique. Or, pour ces traitements ciblés, les essais cliniques conventionnels qui évaluent l'effet du traitement sur l'ensemble de la population atteinte par la pathologie concernée ne sont pas toujours adaptés, les manifestations cliniques de réponse aux traitement chez les patients aux caractéristiques génomiques ciblées pouvant être contrebalancées par l'absence de mise en évidence de bénéfice chez les patients non répondeurs. Des protocoles permettant en plus d'observer l'effet du traitement dans une population enrichie définie par une caractéristique génétique commune à tous ses membres pourraient être avantageux. C'est l'objectif des essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs : évaluer l'effet du traitement en cours de développement dans la population générale de l'étude, ou à défaut évaluer l'existence d'un bénéfice du traitement dans une sous-population de patients identifiables par un biomarqueur génomique. Ces essais cliniques adaptatifs

doivent être différenciés des recueils d'échantillons en cours d'essais cliniques en vue d'études *a posteriori* de biomarqueurs génomiques définis comme un objectif exploratoire lors des essais cliniques conventionnels. Dans ce cas, ces études *a posteriori* sont réalisées dans un but exploratoire afin de développer de nouveaux biomarqueurs, alors que les essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs s'inscrivent dans une phase confirmatoire de développement d'un nouveau traitement ; le statut du biomarqueur génomique concerné est connu au moment de commencer l'essai clinique [66, 67].

Il est possible que la méthode de dosage visant à identifier les patients sensibles au traitement ne soit pas disponible au moment où pourrait débuter l'essai clinique, voire que la validation du biomarqueur génomique ne soit pas complètement achevée. De la même manière, au moment de débuter l'essai clinique, le promoteur peut disposer ou non d'un faisceau d'éléments scientifiques établissant que la population présentant la caractéristique génomique détectée par le biomarqueur est plus à même de répondre au traitement. En conséquence, les promoteurs sont confrontés à trois situations principales avec les essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs (Figure 20) que nous allons détailler par la suite :

- Soit on dispose d'un biomarqueur validé pour lequel des éléments scientifiques démontrent que les sujets exprimant ce biomarqueur sont de meilleurs répondeurs au traitement, cela correspond alors à une méthode d'enrichissement de la population,
- Soit on dispose de biomarqueur(s) validé(s) mais on ne possède pas d'éléments scientifiques démontrant que les sous-populations exprimant ce(s) biomarqueur(s) répondent mieux au traitement,
- Soit on ne dispose pas d'un biomarqueur totalement validé.

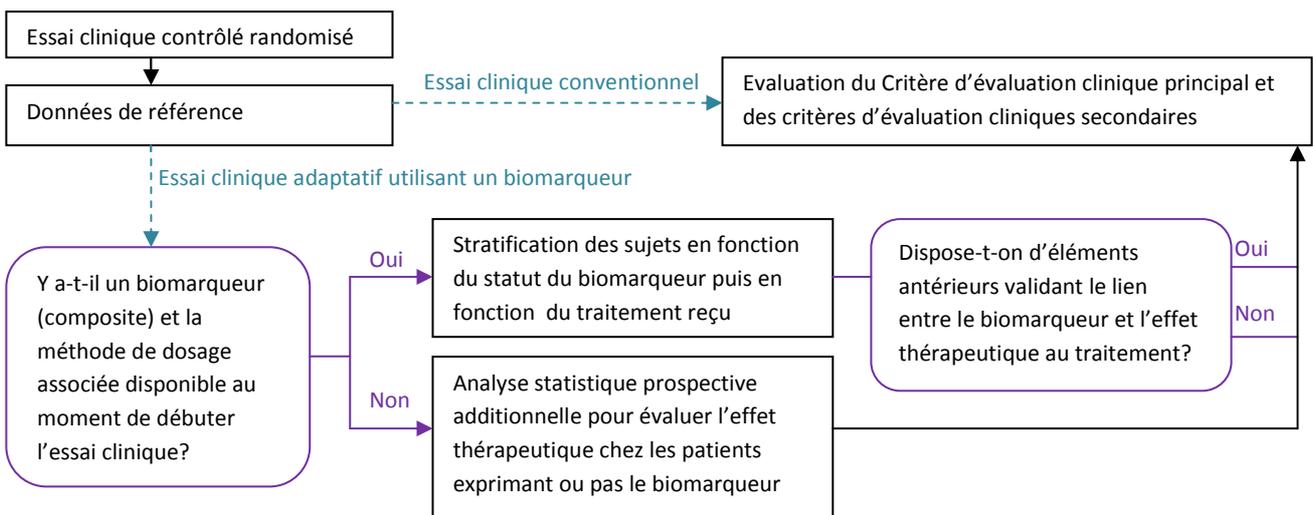


Figure 20: Arbre décisionnel de l'utilisation d'un biomarqueur dans un essai clinique adaptatif. D'après [66].

a. Essais cliniques adaptatifs par enrichissement de la population suite à l'évaluation du statut d'un biomarqueur

Ce type d'essai clinique adaptatif n'est possible que si des données scientifiques antérieures à l'essai clinique adaptatif (conclusion d'un essai clinique réalisé sur une plus faible population, publications...) démontrent que le bénéfice du nouveau traitement est limité à une sous-population de patients présentant une caractéristique biologique spécifique reflétée par le biomarqueur.

Dans ce cas, le statut du biomarqueur est évalué chez l'ensemble des sujets de l'essai clinique mais seuls les sujets exprimant le biomarqueur seront randomisés dans le groupe de traitement ou dans le groupe comparateur (Figure 21). Cela correspond à une méthode d'enrichissement de la population de l'essai clinique mais tous les essais cliniques usant d'une méthode d'enrichissement de population par l'évaluation d'un biomarqueur ne sont pas pour autant des essais cliniques adaptatifs. En effet, pour des raisons techniques ou logistiques, il peut ne pas être possible de réaliser une analyse intermédiaire du statut du biomarqueur en cours d'étude. Dans ce cas, il ne s'agit pas d'un essai adaptatif puisque l'ensemble des sujets sont randomisés, qu'ils expriment ou non le biomarqueur, bien qu'à la fin de l'essai clinique les données entre les différents groupes soient comparées. Si plusieurs nouvelles thérapeutiques sont développées en parallèle pour traiter une même pathologie, leurs bénéfices peuvent être évalués en parallèle qu'elles disposent toutes ou non d'un biomarqueur associé, et comparés dans un essai clinique adaptatif à groupes multiples par enrichissement de la population. L'intérêt du caractère adaptatif de l'essai clinique est ici un engagement moindre de ressources nécessaires à la réalisation de l'essai clinique grâce à l'exclusion des sujets n'exprimant pas le biomarqueur. La limite possible de ce type d'essai clinique adaptatif est que la méthode d'enrichissement ne participe pas à la validation du biomarqueur. Il est donc absolument nécessaire de s'assurer que le biomarqueur utilisé a été correctement validé au préalable, ces essais cliniques adaptatifs n'apportant aucune indication sur l'efficacité pour la sous-population n'exprimant pas le biomarqueur [65].

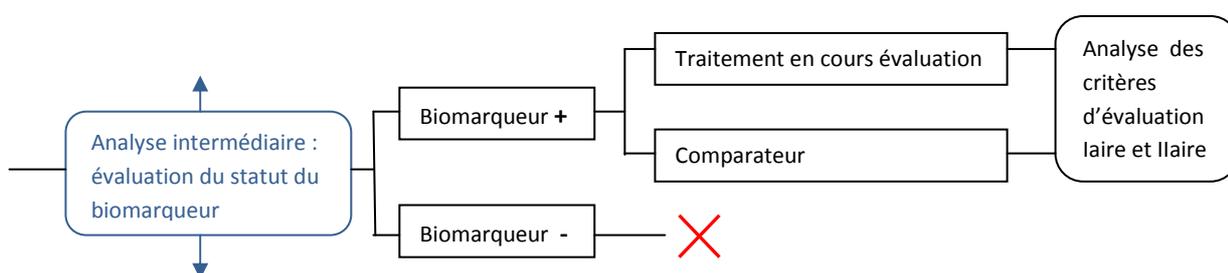


Figure 21: Plan expérimental possible d'essai clinique adaptatif par enrichissement de la population suite à l'évaluation du statut d'un biomarqueur. D'après [65].

b. Essais cliniques adaptatifs utilisant un biomarqueur pour lequel on ne possède pas d'éléments scientifiques démontrant que les sous-populations exprimant ce(s) biomarqueur(s) répondent mieux au traitement

Contrairement à la situation décrite précédemment, dans le cas où l'on ne possède pas suffisamment d'éléments scientifiques démontrant que les sous-populations exprimant ce biomarqueur répondent mieux au traitement, l'adaptation ne porte pas sur la randomisation de l'essai clinique : tous les sujets de l'étude sont randomisés, quel que soit leur état pour le biomarqueur. Il existe plusieurs options de modifications éventuelles pouvant être mises en place pour l'essai clinique adaptatif dans cette situation, selon le degré de confiance accordé au biomarqueur pour identifier des sous-populations davantage susceptibles de répondre au traitement. Dans tous les cas, au moment de débiter l'étude, l'ensemble des sujets inclus sont randomisés, préférablement stratifiés en premier lieu selon leur statut pour le biomarqueur afin d'assurer un équilibre entre la sous-population exprimant le biomarqueur et la population n'exprimant pas le biomarqueur. L'analyse intermédiaire concerne une ou plusieurs sous-populations séparément dans le but de ne poursuivre la deuxième phase de l'essai clinique que dans les groupes pour lesquels l'hypothèse de présence ou d'absence d'un effet thérapeutique demeure non résolue. Cela permet ainsi de redistribuer les ressources allouées vers les groupes poursuivant l'essai clinique lors de la deuxième phase.

Différentes analyses intermédiaires sont possibles : analyse du profil de sécurité dans la sous-population de patients n'exprimant pas le biomarqueur, évaluation de l'effet du traitement dans la sous-population de patients exprimant le biomarqueur, évaluation du besoin d'augmenter la taille de la sous-population de patients exprimant le biomarqueur... Pour cette catégorie d'essais cliniques adaptatifs, il faut noter que l'hypothèse principale à étudier tout au long de l'étude est la présence ou l'absence d'effet thérapeutique pour les différents groupes de patients ; la comparaison des effets thérapeutiques entre les patients exprimant le biomarqueur et les patients n'exprimant pas le biomarqueur est un objectif secondaire. Un exemple intéressant d'utilisation d'un essai clinique adaptatif pour lequel on ne possède pas de suffisamment d'éléments scientifiques démontrant que les sous-populations exprimant ce biomarqueur répondent mieux au traitement est l'essai clinique IPSY-2 que nous rapporterons dans la partie VI «Exemples d'illustration » [65, 66].

Un des risques encourus et soulignés par les autorités de santé avec l'utilisation d'un biomarqueur dans un essai clinique adaptatif, qu'il s'agisse d'un biomarqueur dont on possède ou non des éléments démontrant que le bénéfice potentiel de la nouvelle thérapeutique est limité à une sous-population de patients, est le risque d'introduire un biais statistique. Ce biais statistique possible trouve son origine dans l'analyse intermédiaire ajoutée au protocole, que cette analyse soit l'évaluation du statut d'un biomarqueur ou celle d'un critère d'évaluation clinique intermédiaire. Il est dû à la corrélation plus ou moins importante existant entre le biomarqueur et le critère d'évaluation clinique final. En conséquence, cette source de biais potentielle doit être anticipée lors de la préparation du protocole, en y introduisant des mesures appropriées de contrôle du risque de première espèce. [63]

c. Essai clinique adaptatif utilisant un biomarqueur non totalement validé

Lors du développement de nouvelles molécules chimiques ou biologiques, le biomarqueur que l'on souhaiterait utiliser pour déterminer une sous-population de patients peut ne pas être disponible au

moment de la préparation de l'essai clinique. L'évaluation de l'effet thérapeutique de la nouvelle molécule chimique ou biologique combinée à la validation d'un biomarqueur dans un même essai clinique, aussi dénommée validation, est complexe à réaliser techniquement et fortement déconseillée par les Autorités de santé, surtout s'il s'agit d'une étude pivot du programme de développement. Cependant, les essais cliniques adaptatifs utilisant des biomarqueurs pourraient permettre d'intégrer la validation d'un biomarqueur destiné à identifier une sous-population répondant au traitement à un essai clinique adaptatif de phase III pour lequel l'effet thérapeutique pourrait toujours être détecté, s'il existe. A l'heure actuelle, on ne dispose pas d'exemple concret de tels essais cliniques adaptatifs utilisant un biomarqueur non totalement validé. Néanmoins certains modèles d'essais cliniques adaptatifs remplissant ces critères ont été proposés dans des publications scientifiques. Des simulations de ces modèles avec des biomarqueurs déjà qualifiés ont été réalisés afin de vérifier la crédibilité de ces propositions et se sont révélées concluantes : la capacité du test statistique à déceler un effet thérapeutique dans la population générale n'est pas compromise. D'autre part, il semblerait que certains des modèles décrits puissent être appliqués à des biomarqueurs composites ayant plusieurs valeurs seuils, mais les simulations ne sont pas encore finalisées pour cette dernière configuration [65, 67].

Un des modèles proposés consiste à introduire une seconde hypothèse statistique dans le cas où le premier test statistique ayant valeur d'analyse intermédiaire ne serait pas concluant. Dans un essai clinique pivot conventionnel, le test statistique cherche à rejeter une hypothèse nulle, dénommée H_0 : le traitement n'a pas d'effet sur le critère d'évaluation clinique principal. C'est l'opposé de l'hypothèse alternative H_1 : le traitement a un effet sur le critère d'évaluation clinique principal. Cette hypothèse nulle est étudiée selon un risque de première espèce α . Dans ce modèle d'essai clinique adaptatif utilisant un biomarqueur non totalement validé, comme pour la catégorie d'essais cliniques adaptatifs précédente, l'ensemble des patients est randomisé et stratifié selon leur statut pour le biomarqueur et selon le traitement reçu (traitement expérimental ou traitement comparateur/placebo). La seconde hypothèse alternative H_2 introduite dans ce modèle est : le traitement a un effet sur le critère d'évaluation clinique principal pour une sous-population de patients identifiés par une valeur du biomarqueur supérieure ou égale à la valeur seuil x . Ainsi, si lors de l'analyse intermédiaire, le test statistique évaluant l'effet thérapeutique dans la population générale ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H_0 à un risque de première espèce α_1 , un algorithme est utilisé pour étudier l'effet du traitement dans une sous-population définie par une valeur du biomarqueur supérieure ou égale à x à un risque de première espèce α_2 . Le but de l'algorithme décisionnel est de définir la valeur seuil x du biomarqueur utilisée pour étudier la seconde hypothèse, ce qui constitue la principale difficulté de ce modèle. Ce modèle a été construit pour respecter le principe de maîtrise du risque de première espèce. Ainsi, il utilise un risque de première espèce α_1 pour le premier test statistique et éventuellement un risque de première espèce α_2 pour le second test statistique tels que : $\alpha_2 = \alpha - \alpha_1$. Les concepteurs de ce modèle recommandent une valeur de α_1 proche de 80% de la valeur de α et une valeur de α_2 proche de 20% de la valeur de α [67].

L'objectif de cette approche des essais cliniques adaptatifs utilisant un biomarqueur non totalement validé est là aussi un gain de temps du développement et des ressources engagées. En effet, la nécessité d'attendre la finalisation du processus de qualification d'un biomarqueur avant de pouvoir débiter les essais cliniques de phase III ayant recours à ce biomarqueur peut être chronophage. Dans le cas du développement de lapatinib par exemple, dont l'indication est restreinte aux patientes atteintes de

cancer du sein avec surexpression des récepteurs HER2 (ErbB2), 3 essais cliniques séparés ont été nécessaires. Un premier essai clinique dans une population de patientes atteintes de cancer du sein ne montrait pas de différence significative entre les patientes ayant reçu lapatinib et celles ne l'ayant pas reçu. Néanmoins, une analyse *a posteriori* a mis en évidence une différence en faveur des patientes surexprimant le récepteur HER2. Un autre essai clinique exploratoire a permis de valider la capacité du biomarqueur utilisé à détecter les patientes présentant le récepteur HER2. Enfin, un dernier essai clinique confirmatoire a démontré une différence significative de la survie moyenne chez les patientes surexprimant le récepteur HER2. Appliquée au développement de lapatinib, l'approche des essais cliniques adaptatifs utilisant un biomarqueur non totalement validé aurait pu éventuellement permettre de condenser les deux premiers essais cliniques en un seul essai clinique adaptatif [67].

VII. Exemples d'illustration : biomarqueurs utilisés au cours d'essais cliniques

1. Illustration du potentiel des biomarqueurs à réduire le taux d'échec des essais cliniques : bucindolol

De par leur capacité à identifier les patients bénéficiant le plus des effets bénéfiques d'un médicament, les biomarqueurs pourraient permettre de réduire les taux d'échecs des programmes de développement, voire de redonner une chance à des composés chimiques ou biologiques dont le développement avait été interrompu. Le bucindolol est un exemple encore non concluant à ce jour mais qui illustre cette capacité potentielle des biomarqueurs. Cette molécule est un représentant de la classe des bêta-bloquants. Les bêta-bloquants inhibent l'action des médiateurs du système adrénergique, tels que l'adrénaline par antagonisme compétitif, dans la prévention de l'insuffisance cardiaque. [14]

A la fin des années 1990, le développement de bucindolol avait été interrompu. En effet, lors de différents essais cliniques, notamment l'essai clinique BEST, d'autres bêta-bloquants avaient un effet supérieur au bucindolol pour réduire la mortalité chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque. L'essai clinique BEST («Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial») avait été mis en place pour évaluer la capacité de bucindolol à réduire la mortalité chez 10 000 patients atteints d'insuffisance cardiaque sévère par rapport au placebo. Cet essai clinique a été interrompu prématurément alors que seuls 2960 patients avaient été randomisés, du fait de l'absence de différence significative en faveur du bêtabloquant sur la taux de mortalité toutes causes confondues (30% pour le groupe bucindolol et 33% pour le groupe placebo). Concernant les critères d'évaluation secondaires, une réduction significative des décès cardiovasculaires et des hospitalisations pour insuffisance cardiaque avait cependant été constatée [14, 82].

Malgré ces résultats, certains investigateurs de l'étude BEST restaient convaincus que certains patients atteints d'insuffisance cardiaque sévère avaient tiré un bénéfice substantiel du traitement par bucindolol, et même supérieur à celui qui pourrait être obtenu par d'autres bêta-bloquants. Or, dans un objectif exploratoire, l'essai clinique BEST prévoyait de recueillir des échantillons sanguins afin de disposer de l'ADN de chaque participant. A partir de ces échantillons, il a été possible d'identifier *a posteriori* des variations génétiques chez les patients répondeurs au bucindolol par rapport aux patients non répondeurs. Les gènes identifiés constituaient alors des biomarqueurs pharmacogénomiques. Les promoteurs de BEST ont ensuite cherché à mettre au point un test génétique permettant d'évaluer le profil génomique des biomarqueurs pharmacogénomiques identifiés. Le but était de restreindre l'indication à la sous-population de patients présentant ce profil génétique favorable, permettant de bénéficier d'un effet thérapeutique significatif. Une étude clinique supplémentaire démontrait une diminution du risque de mortalité toutes causes confondues de 48% après deux années de traitement dans une sous-population de patients au profil génétique favorable ayant reçu du bucindolol comparativement à des patients traités par d'autres bêta-bloquants et une diminution de 44% des hospitalisations pour insuffisance cardiaque. Ces différences significatives n'étaient pas retrouvées chez les patients ayant un profil différent des biomarqueurs pharmacogénomiques identifiés [82, 83].

Sur la base de ces données issues d'une analyse *a posteriori* de l'essai clinique BEST, une demande d'autorisation de mise sur le marché (NDA) avait été déposée auprès des autorités américaines en

septembre 2008. Cependant, cette demande a été rejetée en juin 2009, la FDA considérant que les données fournies n'étaient pas suffisantes pour justifier d'un bénéfice dans cette sous-population définie par les biomarqueurs génomiques et que des données cliniques supplémentaires devaient être fournies.

2. Illustration de l'intégration des biomarqueurs dans les phases précoces du développement clinique : essai clinique de Phase I de recherche de la dose maximale tolérée par escalade de doses pour PLX4032 dans le traitement du mélanome malin métastatique.

a. Introduction

Comparé aux progrès significatifs réalisés dans le domaine de l'oncologie en général, avec l'introduction des chimiothérapies cytotoxiques et des thérapies ciblées notamment, le traitement des mélanomes malins métastatiques a peu évolué au cours des deux dernières décennies. Hors geste chirurgical, les trois seuls traitements autorisés par les autorités de santé avec une indication dans le traitement des mélanomes malins métastatiques sont la dacarbazine (Deticene®), les interférons alpha-2a et alpha-2b (RoferonA®, IntronA®) après intervention chirurgicale et uniquement aux Etats-Unis l'interleukine-2 à haute dose (Proleukin®). Pour chacun de ces traitements, le taux des répondeurs est estimé entre 10% et 20% et le taux de rémission complète est encore plus faible. Ainsi, au cours d'essais cliniques, la survie moyenne de patients atteints de mélanome malin métastatique et traités par dacarbazine était de 8 mois [72, 73].

Physiologiquement, l'oncogène Raf intervient par la protéine enzymatique RAF dans la voie de transduction des MAP kinases ("Mitogen-Activated Protein kinases") qui a pour but de transmettre le stimulus mitogène reçu au niveau des récepteurs de facteur de croissance extracellulaires (figure 22). Différentes isoformes de RAF sont exprimées dont RAF1, la plus fréquente, et BRAF. Des études épidémiologiques chez des patientes atteintes de mélanomes malins métastatiques ont démontré que la prévalence des mutations du gène codant RAF1 est faible tandis que la prévalence des mutations du gène codant BRAF est en moyenne de 50% (de 30% à 70% selon les études) [90-92]. Une corrélation inverse entre l'âge des patients atteints de mélanomes malins métastatiques et la présence de mutations du gène codant BRAF a été démontrée. D'autres études ont démontré que la prévalence de la mutation du gène codant BRAF est de 7% pour les patients atteints de cancer, quel que soit le type de cancer [72]. Ces études épidémiologique suggèrent ainsi un rôle potentiel des mutations du gène codant BRAF dans les mécanismes physiopathologiques de survenue de cancer, en particulier pour les mélanomes malins métastatiques. Le gène BRAF est exprimé essentiellement dans les tissus neuronaux, les mélanocytes et les cellules hématopoïétiques. La protéine kinase BRAF est une sérine-thréonine kinase dont l'unique substrat connu est le MAP kinase-kinase (MEK) qui appartient également à la voie de transduction des MAP kinases [72].

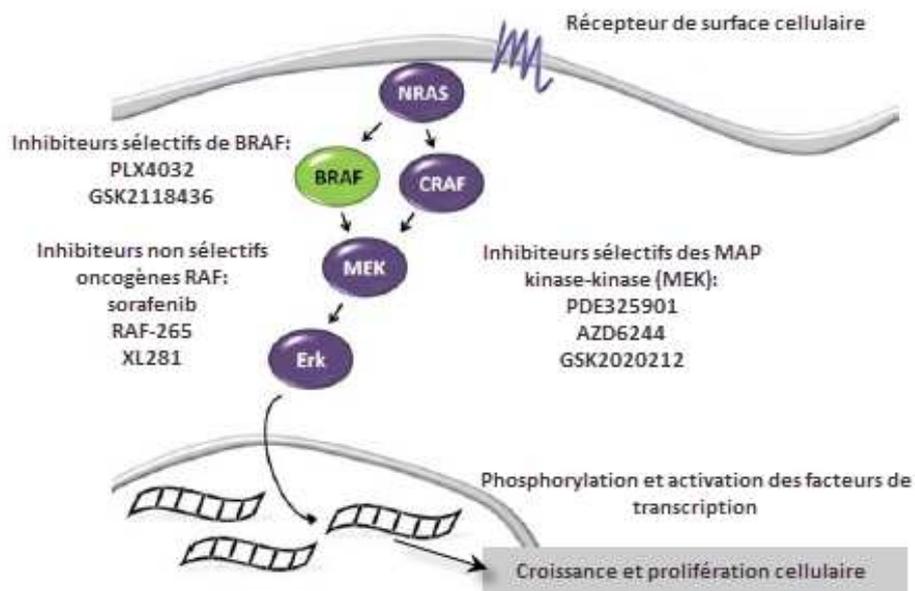


Figure 22: Schématisation de la voie de transduction des MAP kinases. D'après [72].

Parmi les différentes mutations possibles du gène codant BRAF, la mutation V^{600E} BRAF qui correspond au remplacement d'un acide glutamique (E) par une valine (V) à la position 600 de la séquence aminée est la plus fréquente : elle correspond à 97,3% des mutations de BRAF. La mutation V^{600E} BRAF, comme la plupart des autres mutations minoritaires, provoque une hyperactivité de la kinase BRAF et, en conséquence, une hyperactivation de la voie de transduction des MAP kinases et une prolifération cellulaire anormalement élevée à l'origine des mécanismes de cancérogénèse, avec notamment la transformation de cellules indifférenciées en fibroblastes aboutissant à un mélanome. V^{600E} BRAF semble donc constituer une cible thérapeutique d'intérêt dans le traitement du mélanome malin métastatique [72].

b. Présentation de PLX4032

Parmi les molécules disponibles, le sorafenib (Nexavar®) indiqué dans le traitement des carcinomes rénaux et hépatocellulaires était le plus susceptible de cibler V^{600E} BRAF grâce à sa propriété d'inhiber les kinases RAF. Cependant, il a été développé pour cibler l'isoforme RAF1⁵⁵. Son activité est au moins dix fois moindre et donc insuffisante pour cibler V^{600E} BRAF. Il a donc été nécessaire de synthétiser des inhibiteurs de haute affinité de la kinase V^{600E} BRAF à partir de sa structure microcristalline afin qu'ils puissent interagir avec la conformation activée de V^{600E} BRAF. PLX4032 est un des représentants de cette classe de molécules synthétisées dans le but d'inhiber spécifiquement l'activité de V^{600E} BRAF chez les patients atteints de mélanomes malins métastatiques. Les études pré-cliniques ont démontré *in vitro* la capacité de PLX4032 à inhiber l'activité kinase de V^{600E} BRAF à des concentrations nanomolaires, supprimant la transduction du signal issu des facteurs de croissance par la voie des MAP kinases et provoquant l'arrêt de la prolifération cellulaire anormale des cellules porteuses de la mutation V600E du gène BRAF. *In vivo*, l'administration par voie orale de PLX4032 à des souris immunodéprimées auxquelles avaient été transplantées des tumeurs mélanocytaires humaines a conduit à l'inhibition de la

croissance de ces tumeurs, voire même à une régression de la taille de ces tumeurs à des doses plus élevées. Ces effets n'ont pas été constatés chez les souris auxquelles avaient été transplantées des tumeurs mélanocytaires humaines ne portant pas la mutation ^{V600E}BRAF [71-73].

c. Essai clinique de phase I de recherche de la dose maximale tolérée par escalade de doses pour PLX4032 chez des patients atteints de mélanome malin métastatique

L'objectif des essais cliniques de phase I est de déterminer la dose thérapeutique recommandée pour poursuivre en phase II, en définissant la Dose Maximale Tolérée (DMT). La dose initiale à administrer est établie à partir des données pré-cliniques, en y appliquant une marge de sécurité suffisante. La dose administrée aux différentes cohortes est ensuite augmentée par paliers, une fois l'absence de toxicité majeure d'un palier affirmée. La DMT correspond au palier de la dose le plus élevé sans toxicité limitante, c'est-à-dire au palier de la dose auquel pas plus d'un patient a présenté un effet indésirable majeur dû à la prise du traitement. Pour PLX4032, l'essai clinique de Phase I avait ainsi comme objectifs de déterminer les caractéristiques de sécurité et les caractéristiques pharmacocinétiques du traitement administré selon un protocole bi-quotidien, de déterminer la DMT (correspondant à la dose recommandée pour la phase II) ; puis, dans une extension de l'essai clinique, de déterminer le taux de patients répondeurs et la durée de la réponse chez les patients porteurs de ^{V600E}BRAF et recevant la dose recommandée pour la phase II [73].

Les sujets inclus dans cet essai clinique de phase I étaient des patients adultes porteurs d'une tumeur solide confirmée histologiquement et réfractaires à l'ensemble des autres thérapeutiques disponibles ou sans autre thérapeutique. Lors de la phase d'escalade de doses, les patients étaient inclus qu'ils soient porteurs ou non de la mutation ^{V600E}BRAF, avec pour critère d'évaluation clinique principal : l'évaluation de la sécurité du traitement. L'évaluation de la sécurité du traitement reposait sur un examen physique, un ECG et diverses analyses médicales (sanguines et urinaires) aux jours 0, 8, 15 et 30 puis tous les mois, en plus du report en continu des effets indésirables. Lors de la phase d'extension de l'essai clinique, seuls les patients atteints de mélanomes malins métastatiques porteurs de la mutation ^{V600E}BRAF étaient inclus. Le critère d'évaluation principal était le taux de répondeurs au traitement. Pour s'assurer de la présence de la mutation ^{V600E}BRAF, la PCR a été utilisée [73].

55 patients dont 49 atteints de mélanome malin métastatique ont été inclus dans la phase d'escalade de doses. A l'issue de cette phase, la DMT de PLX4032 identifiée, correspondant à la dose recommandée pour la phase II, était de 960 mg par voie orale administrée deux fois par jour. Les manifestations de toxicité limitante pour les doses supérieures consistaient en des éruptions cutanées de grade 2 ou 3, de la fatigue et des arthralgies. Pour évaluer la réponse au traitement, une tomographie assistée par ordinateur était réalisée toutes les 8 semaines pour chaque patient et les critères RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumor) étaient appliqués aux images obtenues pour déterminer la présence ou non d'une réponse au traitement. Une rémission complète était définie comme une disparition complète de toutes les lésions ciblées et une réponse partielle par une diminution d'au moins 30% du plus grand diamètre de chaque lésion ciblée. Lors de cette phase d'escalade de doses, parmi les 49 patients atteints d'un mélanome malin métastatique, 16 patients étaient porteurs de la mutation ^{V600E}BRAF et ont reçu une dose de PLX4032 supérieure ou égale à 240 mg deux fois par jour : 10 de ces patients ont eu une réponse partielle au traitement et 1 patient a présenté une rémission complète.

Lors de la phase d'extension de l'essai clinique, parmi les 32 patients inclus, 24 ont présenté une réponse partielle au traitement et 2 une rémission complète. La durée moyenne de survie sans progression de l'ensemble des patients ayant présenté une réponse au traitement était de 7 mois [73].

Suite à cette essai clinique de phase I, le développement de PLX4032 s'est poursuivi. Un essai clinique pivot de phase III (BRIM3) utilisant PLX4032 à la dose recommandée de 960 mg administrée par voie orale deux fois par jour a été mis en place pour comparer l'efficacité de PLX4032 à l'efficacité de la dacarbazine en premier traitement. Pour cet essai clinique pivot de phase III, l'inclusion du premier patient atteint de mélanome malin métastatique (FPFV) a eu lieu le 8 janvier 2010. En parallèle, un essai clinique de phase II a été initié dès septembre 2009 afin d'évaluer l'effet thérapeutique de PLX4032 chez 100 patients atteints de mélanome malin métastatique malgré le recours à un autre traitement antérieurement [75].

d. Intérêt des biomarqueurs lors de l'essai clinique de phase I de recherche de la dose maximale tolérée par escalade de doses pour PLX4032

En plus des paramètres de sécurité et d'efficacité décrits ci-dessus, divers biomarqueurs de pharmacodynamie ont été mesurés durant l'essai clinique. Ainsi, l'ensemble des sujets admis dans cet essai clinique ont été soumis aux jours 0 et 15 à une tomographie par émission de positons au 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose marqué au fluor 18 (FDG-PET) et une biopsie tumorale. Ces biopsies tumorales étaient utilisées pour doser la présence de protéines kinases ERK, l'antigène Ki-67 et la cycline D1 par méthode immunohistochimique. Ces biomarqueurs ne sont pas des biomarqueurs qualifiés dans le contexte de suivi des mélanomes malins [73].

Les biomarqueurs de pharmacodynamie sont utilisés dans les phases précoces du développement, en particulier lors des essais cliniques de phase I, afin de confirmer l'activité biologique de la thérapeutique en cours de développement (atteinte de la cible, et/ou activité fonctionnelle, et/ou efficacité thérapeutique). Ils sont utilisés pour contribuer à répondre aux questions : est-ce que la molécule a atteint sa cible ?, est-ce que le processus physiopathologique a été modifié ? est-ce que les paramètres cliniques/symptômes ont été améliorés ? Ces biomarqueurs de pharmacodynamie sont généralement analysés dans leur capacité à évoluer proportionnellement à la dose administrée, qu'il s'agisse d'une augmentation ou d'une diminution. Ils peuvent ainsi permettre une modélisation détaillée du mécanisme d'action du traitement en cours de développement. Ainsi, les biomarqueurs de pharmacodynamie sont une aide pour approfondir la connaissance du mécanisme d'action moléculaire de la thérapeutique en cours de développement dans le but d'optimiser les décisions du choix de protocole(s) et de dose(s) utilisés lors de la phase II [74].

Dans le cas de PLX4032, la tomographie par émission de positons au 18F-fluorodésoxyglucose est une technique d'imagerie médicale qui permet d'examiner, par un examen unique, l'ensemble du corps. Cette propriété est intéressante pour le suivi des mélanomes malins métastatiques dont la distribution des métastases est aléatoire dans le corps. Grâce à l'activité métabolique glucidique élevée des mélanomes malins, la FDG-TEP permet une bonne discrimination entre tissu tumoral et tissus normaux ainsi qu'une résolution spatiale satisfaisante. Elle a une grande sensibilité pour déceler les métastases asymptomatiques et différencier un tissu cicatriciel d'une rechute. Ce biomarqueur de pharmacodynamie semble donc compléter de façon efficace la tomographie assistée par ordinateur

dans le suivi de l'évolution des mélanomes chez les patients traités au PLX4032 lors de cet essai clinique [73].

L'antigène Ki-67 est une protéine nucléaire exprimée par les cellules prolifératives en phase de division active (phase G1, S, G2 et M) aussi bien pour les cellules tumorales que pour les cellules non tumorales. L'antigène Ki-67 n'est pas exprimé dans les cellules différenciées ou en phase de quiescence (phase G0). Sa fonction précise n'est pas connue. Elle participerait au maintien du pouvoir prolifératif ou au contrôle du cycle cellulaire. L'antigène Ki-67 peut être détecté par l'utilisation d'anticorps Ki-67 dans des techniques d'immunohistochimie et d'immunofluorescence. En pratique l'index de marquage par le Ki-67 représente le pourcentage de noyaux colorés par l'anticorps Ki-67 [73].

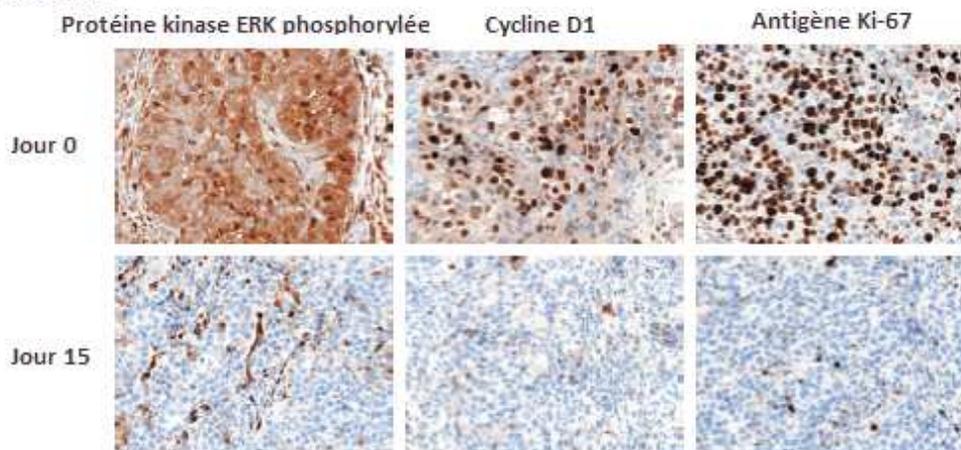
La cycline D1 est une protéine qui permet à la cellule de passer le point de restriction R du cycle cellulaire, ce qui correspond à l'entrée dans le cycle cellulaire. Or, plus l'entrée d'une cellule dans le cycle cellulaire est favorisée, plus sa prolifération est favorisée. En outre, une augmentation du niveau d'expression de la cycline D1 par des mutations géniques pourrait contribuer au mécanisme de résistance des mélanomes malins métastatiques réfractaires aux thérapies ciblées inhibitrices de BRAF.

Le suivi de ces deux biomarqueurs de pharmacodynamie (l'antigène Ki-67 et la cycline D1) est donc intéressant pour déceler les tissus continuant de présenter des taux de prolifération cellulaire important malgré l'administration de PLX4032 et d'explorer un mécanisme éventuel de résistance au traitement [73].

La protéine kinase ERK (« Extracellular signal-Regulated Kinase »), dont il existe en réalité deux isoformes (ERK1 et ERK2), est le dernier intermédiaire dans la voie de transduction des MAP kinases à laquelle appartient BRAF. Il y a donc en principe un lien entre l'activité inhibitrice exercée par PLX4032 sur ^{V600E}BRAF et les répercussions sur la protéine ERK [73].

A l'issue de l'essai clinique, les concentrations des trois biomarqueurs de pharmacodynamie (protéines kinases ERK, antigène Ki-67 et cycline D1) ont diminué dans les tissus tumoraux biopsiés au jour 15 par rapport aux tissus tumoraux biopsiés au jour 0 de l'essai clinique (Figure 23). De la même manière, une diminution de la fixation de fluorodéoxyglucose au cours du temps a été observée par tomographie par émission de positons (Figure 23). Grâce aux biomarqueurs de pharmacodynamie, ces observations ont donc confirmé que ^{V600E}BRAF était une cible thérapeutique valable dans le traitement des mélanomes malins métastatiques et que PLX4032 agit sur cette cible en inhibant la voie de transduction des MAP kinases, ce qui conduit à une diminution de la concentration de la cycline D1 et de la prolifération cellulaire [73-74].

Biopsie tumorale



Tomographie par émission de positons au 18F-fluorodéoxyglucose

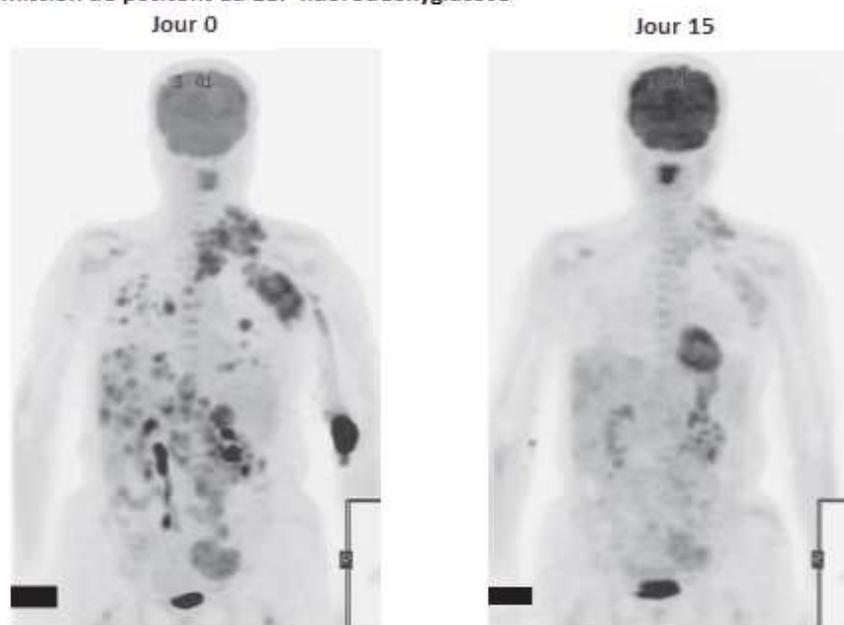


Figure 23: Evaluation des biomarqueurs de pharmacodynamie lors de l'essai clinique de phase I de recherche de la DMT par escalade de dose pour PLX4032. Adapté de [73].

3. Illustration d'un essai clinique adaptatif utilisant des biomarqueurs : l'essai clinique I-SPY 2

a. Présentation et objectifs

L'essai clinique I-SPY 2 ("Investigation of serial studies to predict your therapeutic response with imaging and molecular analysis 2") est une étude ayant pour objectif d'identifier les nouvelles substances chimiques ou biologiques les plus prometteuses en médecine personnalisée pour le traitement du cancer du sein chez les patientes les plus à risque de développer un cancer du sein agressif, à progression rapide. Au cours des vingt dernières années, de réels progrès ont été réalisés dans la détection et la prise en charge du cancer du sein. Ainsi, grâce aux améliorations des traitements adjuvants, les femmes diagnostiquées en stade I ou stade II ont désormais un bon pronostic vital et un

risque moindre de récurrence. Mais 10% à 15% des nouveaux cas de cancer du sein sont des cancers du sein non métastatique à un état avancé pour lesquels le pronostic est plus réservé et le nombre d'options thérapeutiques reste limité. Les recherches fondamentales ont permis de démontrer au cours des dernières années que le cancer du sein n'est pas une maladie dont le mécanisme physiopathologique est unique. Il existe donc un besoin d'améliorer l'adaptation du traitement aux différentes sous-populations de patientes atteintes de cancer du sein, notamment ces patientes ayant un risque élevé de développer un cancer du sein à progression rapide. Cependant, la plupart des essais cliniques de phase II ou de phase III actuels sont destinés à évaluer de nouvelles substances chimiques ou biologiques dans la population générale des patientes atteintes de cancer du sein métastatique. C'est la sous-population majeure de patientes atteintes de cancer du sein, donc la plus ciblée par les promoteurs. Cette démarche ne tient pas assez compte de la disparité des mécanismes moléculaires physiopathologiques impliqués dans le développement du cancer du sein [69].

Cet essai clinique I-SPY 2 est un essai clinique adaptatif de phase II utilisant des biomarqueurs. C'est un essai clinique d'efficacité destiné à évaluer l'effet thérapeutique d'une série de nouveaux traitements de chimiothérapie néoadjuvante en fonction du taux de rémission clinique complète chez des femmes atteintes de cancer du sein non métastatique de taille très étendue (>3cm dans sa plus grande dimension). Son promoteur est le « Biomarker consortium », un partenariat public-privé associant la FDA, le National Institutes of Health américain et une vingtaine de compagnies pharmaceutiques. Cet essai clinique a commencé en mars 2010 et doit durer 5 ans. Son coût est estimé à 26 millions de dollars US. Il se déroule uniquement dans des centres cliniques américains. Avant sa mise en route, cet essai clinique adaptatif utilisant des biomarqueurs a reçu une autorisation quelque peu particulière de la part de la FDA. En effet, habituellement aux Etats-Unis, le promoteur reçoit une autorisation pour son dossier de développement (IND, « Investigational New Drug ») qui incorpore tous les protocoles d'essais cliniques d'une substance chimique ou biologique définie. Or, dans le cadre d'I-SPY 2, différentes substances chimiques ou biologiques nouvelles vont être étudiées ; toutes ont déjà un IND ouvert suite à des études préalables de Phase I avec un promoteur différent de celui de l'étude I-SPY 2. La FDA a alors émis une autorisation pour un dossier de développement global (« Global Investigational New Drug ») [69-70].

b. Place et apport des biomarqueurs dans l'essai clinique I-SPY 2

Alors que les biomarqueurs permettraient de mieux maîtriser les différents aspects du développement de nouvelles thérapies en oncologie, faire aboutir la qualification de ces biomarqueurs pour les intégrer à temps au développement d'une nouvelle substance chimique ou biologique se révèle excessivement difficile en pratique. L'essai clinique I-SPY2 se veut innovateur pour tenter de surmonter cet écueil en tentant à la fois d'identifier de nouvelles substances chimiques ou biologiques aptes à être essayées dans des études pivots et de qualifier de nouveaux biomarqueurs au cours d'un même essai clinique. Pour ce faire, I-SPY2 intègre des représentants des trois classes de biomarqueurs : 1 - des biomarqueurs qualifiés et les méthodes de dosage associées qui sont utilisés en tant que critères d'inclusion et de randomisation de l'essai clinique ; 2 - des biomarqueurs et/ou des méthodes de dosage en cours de qualification pour lesquels on possède d'ores et déjà des données de validation et I-SPY 2 constitue une étude clinique confirmatoire et 3 - des biomarqueurs exploratoires. [69]

L'essai clinique I-SPY 2 fait suite à l'essai clinique I-SPY 1 qui avait pour but de mettre en évidence de nouveau(x) modèle(s) d'évaluation d'agents de chimiothérapie en mettant en relation des paramètres

cliniques et des paramètres biologiques par des modèles mathématiques et des outils bioinformatiques, ainsi que de développer ou améliorer les normes pour le recueil d'échantillons et le traitement des données associées à ces techniques. Cet essai clinique a ainsi permis de mettre en évidence un certain nombre de biomarqueurs qui sont réutilisés dans I-SPY 2, notamment de confirmer l'intérêt de l'imagerie à résonance magnétique (IRM) en tant que biomarqueur de réponse au traitement par l'évaluation du changement de volume de la tumeur.

Dans l'essai clinique I-SPY 2, les biomarqueurs sont des outils indispensables pour atteindre l'un des objectifs définis : personnaliser et adapter les protocoles des traitements de chimiothérapie en cours de développement. Pour ce faire, un profil d'expression de biomarqueurs est établi pour chaque patiente incluse dans l'essai clinique. Ce profil d'expression correspond à l'état de la patiente pour sept biomarqueurs différents prédéfinis, ce qui correspond à 256 profils d'expression de biomarqueurs différents possibles. Un grand nombre de ces profils d'expression de biomarqueurs devrait avoir un faible intérêt clinique du fait de leur faible prévalence dans la population étudiée et des caractéristiques de réponse au traitement semblables à la population générale. Cependant, avant même le début de l'étude, 14 profils d'expression de ces sept biomarqueurs ont été identifiés comme ayant un intérêt potentiel du fait de leur prévalence supposée importante dans la population de l'étude et/ou correspondant à des situations de besoin médical non satisfait (ex : patientes ayant un cancer du sein triple négatif au pronostic extrêmement réservé actuellement. Ces femmes ont un profil négatif pour 3 biomarqueurs : surexpression du récepteur des oestrogènes, surexpression du récepteur de la progestérone, surexpression du récepteur HER2). L'intérêt est ensuite de sélectionner le nouveau traitement de chimiothérapie le plus adapté à chaque sous-population de patientes caractérisées par leur profil d'expression des biomarqueurs [65, 69].

L'introduction de biomarqueurs apporte également les bénéfices habituels liés à leur emploi : gain de temps et de ressources. Combinés au caractère adaptatif de l'essai clinique, ces effets se trouvent renforcés pour apporter à l'essai clinique un maximum de flexibilité. En effet, les biomarqueurs ne seront pas seulement utilisés pour déterminer les sous-populations les plus susceptibles de bénéficier du traitement en fin d'étude, lors de l'exploitation des données. En cours d'étude, les analyses intermédiaires seront fondées sur l'évaluation de biomarqueurs prédictifs de la réponse au traitement afin de moduler le plan expérimental : augmentation ou diminution du nombre de patientes recevant un traitement en cours de développement, voire retrait d'un traitement en cours de développement de l'essai clinique pour être remplacé par un autre traitement également en cours de développement et à évaluer, modification des rapports de randomisation entre les différents groupes [65, 69].

c. Plan expérimental

Cinq nouvelles substances chimiques ou biologiques, développées pour intégrer les protocoles standards de chimiothérapie néoadjuvante du traitement des cancers du sein non métastatique, ont été sélectionnées pour débiter l'essai clinique I-SPY 2. Néanmoins, durant la durée de l'essai clinique et selon son déroulement, jusqu'à douze nouvelles substances chimiques ou biologiques pourront être essayées. Les cinq premières substances chimiques ou biologiques étudiées sont:

- ABT-888 (veliparib), inhibiteur de la Poly ADP ribose polymérase (PARP inhibitor) qui stimule l'auto-destruction des cellules cancéreuses

- AMG 655 (conatumumab), un anticorps monoclonal humain dirigé contre le domaine extracellulaire du récepteur TRAIL 2 («Tumor necrosis factor-Related Apoptosis Inducing Ligand») également dans le but de stimuler l'auto-destruction des cellules cancéreuses
- AMG 386 inhibiteur de l'angiogénèse
- CP-751,871 (figitumumab), un anticorps monoclonal humain dirigé contre le récepteur du facteur de croissance analogue à l'insuline de type 1 (IGFR-1) dans le but de s'opposer à la croissance cellulaire de la tumeur
- HKI-272 (neratinib), inhibiteur de tyrosine kinase inhibant l'activité de Her2 et EGFR dans le but de s'opposer à la croissance cellulaire de la tumeur [70].

Pour être incluses dans l'essai clinique I-SPY 2, les nouvelles molécules chimiques ou biologiques candidates devaient avoir déjà été testé au moins au cours d'un essai clinique de sécurité de phase I en association à un taxane (ou en association à un taxane et trastuzumab pour les patientes HER2+) et présenter un potentiel dans le traitement du cancer du sein non métastatique selon des données cliniques ou pré-cliniques. Les molécules chimiques ou biologiques candidates ont ensuite été sélectionnées par un ensemble d'experts. Pour débiter l'essai clinique, ces experts se sont attachés à retenir un représentant unique par mécanisme d'action pour les cinq premières substances utilisées, en considérant que les conclusions issues de ces représentants pourront être extrapolées aux substances de la même classe thérapeutique au mécanisme d'action similaire [69].

Les patientes pourront être incluses dans l'essai clinique I-SPY 2 selon les résultats d'une biopsie initiale et de leur profil pour certains biomarqueurs qualifiés dans le suivi du cancer du sein : surexpression du récepteur des oestrogènes (+/-), surexpression du récepteur de la progestérone (+/-), surexpression du récepteur HER2 (+/-), score au test MammaPrint® (2= + / 1 ou 0= -). Pour chaque patiente admise dans l'étude, le profil d'expression de sept biomarqueurs, incluant les quatre biomarqueurs qualifiés ci-dessus mais également trois biomarqueurs en cours de qualification, est déterminé et utilisé pour randomiser les patientes entre les différents groupes de l'essai clinique. I-SPY 2 comporte 7 groupes : 2 groupes témoins (un pour les patientes au statut HER2+ et un pour les patientes HER2-) et 5 groupes expérimentaux intégrant chacun l'un d'un traitement en cours de développement aux protocoles de chimiothérapie administrés. Le protocole d'I-SPY 2 est configuré de manière à ce qu'en début d'étude, les patientes dont le profil d'expression des sept biomarqueurs identiques soient réparties de manière équilibrée entre les différents groupes de l'étude. Ce paramètre pourra éventuellement évoluer en cours d'étude en fonction des analyses intermédiaires. Dans chaque groupe, les patientes reçoivent un protocole de chimiothérapie néoadjuvante de 12 cycles hebdomadaires de paclitaxel (et trastuzumab pour les patientes HER2+) auquel peut être ajouté l'un des traitements expérimentaux, puis un protocole de chimiothérapie néoadjuvante de 4 cycles associant doxorubicine et cyclophosphamide avant l'exérèse chirurgicale de la tumeur (figure 24). Chaque groupe intégrera entre 20 et 120 patientes en fonction du recrutement de l'étude mais aussi en fonction des ajustements de la population prévus pour un groupe en cours d'étude [69].

Le critère d'évaluation clinique principal à partir duquel seront émises les conclusions pour I-SPY 2 est le taux de rémission clinique complète définie par l'absence de lésion tumorale dans les tissus prélevés au cours de l'exérèse chirurgicale. Les critères d'évaluation cliniques secondaires sont le taux de survie

globale et le taux de survie sans récurrence pendant une période de suivi de dix ans. Afin d'identifier le plus efficacement possible les traitements expérimentaux ayant un effet thérapeutique non négligeable dans une ou plusieurs sous-population de patientes, les données seront analysées en temps réel. Ainsi, les données sur les critères d'évaluation clinique des premières patientes achevant l'étude seront mises en relation avec les informations de référence et les informations issues de différents biomarqueurs (IRM et biopsie aux semaines 0,3,12 et avant exérèse chirurgicale) rassemblées en cours d'étude, à l'aide de modèles mathématiques complexes. D'une part, les rapports de randomisation entre les différents traitements expérimentaux pourront être ajustés en fonction de l'analyse de ces données en temps réel : si un traitement semble plus efficace que les protocoles standards et les autres traitements expérimentaux pour une sous-population de patientes caractérisée par un profil spécifique d'expression de biomarqueurs, durant la suite de l'étude les patientes présentant ce profil d'expression de biomarqueurs seront préférentiellement incluses dans le groupe correspondant à ce traitement. D'autre part, à un stade intermédiaire de l'étude pré-défini, dans le protocole, le(s) traitement(s) démontrant une probabilité d'efficacité dans une ou plusieurs sous-population(s), voire dans la population générale de l'étude, pourra être promu avec une augmentation du nombre de patientes soumises au traitement, voire sera arrêté dans l'étude I-SPY 2 pour passer en essai clinique Phase III. A l'inverse pour le(s) traitement(s) dont la probabilité de produire un effet thérapeutique sera inférieure à des seuils statistiques pré-définis pour les différents profils d'expression des biomarqueurs, le nombre de patientes soumise au traitement sera diminuée ou ce traitement sera exclu de l'étude et remplacé par un autre traitement expérimental nouveau dans l'étude [69].

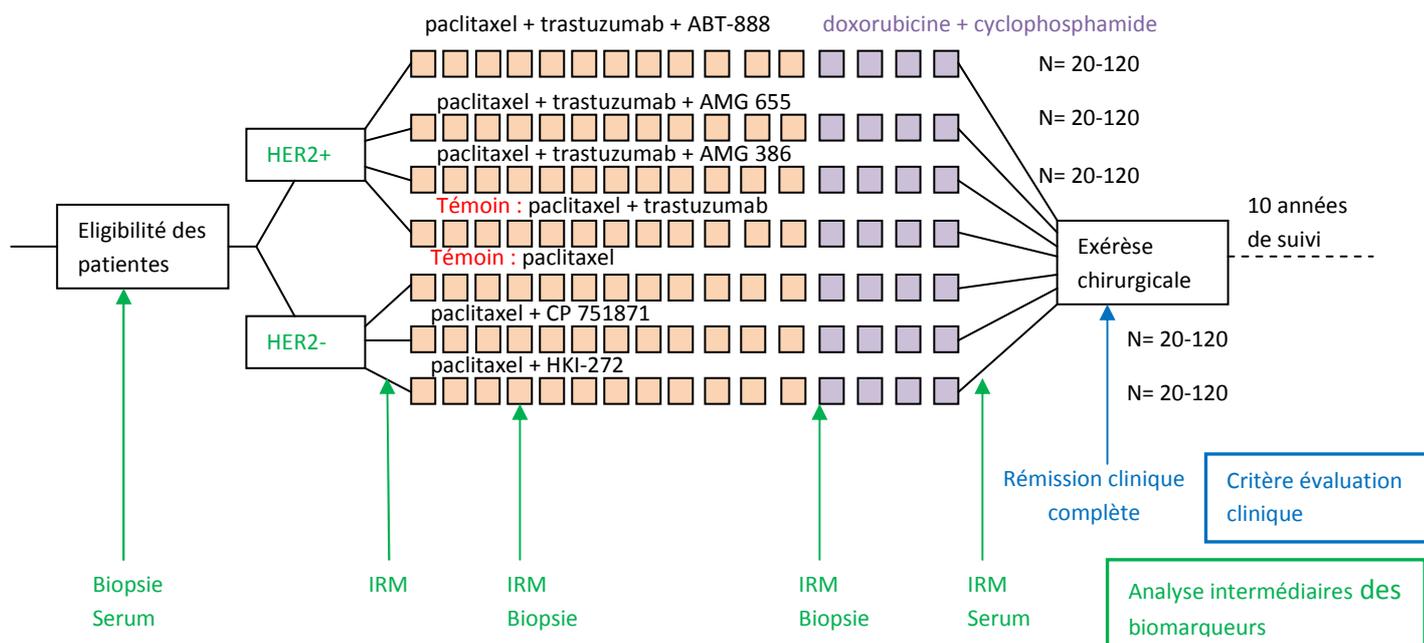


Figure 24: Plan expérimental de l'essai clinique I-PSY 2. Adapté de [69].

4. Illustration du rôle des biomarqueurs dans les essais cliniques pivots de phase III et le processus d'enregistrement : l'exemple de la mise sur le marché de gefitinib (Iressa®) dans le traitement du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) en Europe

a. Introduction

Le cancer du poumon est la forme la plus courante de cancer puisque sa prévalence dans le monde est la plus élevée. Le taux de mortalité par cancer du poumon est le plus élevé parmi l'ensemble des cancers pour les hommes et c'est le second taux de mortalité après le cancer du sein pour les femmes. Ainsi, en 2006 en Europe, on estimait à 386300 cas, le nombre de nouveaux cas de cancer du poumon diagnostiqués et à 334800 décès le nombre de décès annuel causés par la maladie [76].

La majorité des cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) avancés ou métastatiques continuent à progresser malgré l'administration d'une chimiothérapie de première ligne et le pronostic reste réservé pour les patients. En l'absence de traitement, la survie moyenne de 4 à 5 mois. Actuellement, hormis gefitinib (1^{ère}, 2^{ème} ou 3^{ème} ligne de traitement), la stratégie thérapeutique du CBNPC inclut les chimiothérapies à base de sels de platine et de bévacicumab (1^{ère} ligne de traitement), de docétaxel (2^{ème} ligne de traitement) ou les chimiothérapies à base de docétaxel associé au cisplatine (1^{ère} ligne de traitement), de pemetrexed (1^{ère} et 2^{ème} lignes de traitement) et d'erlotinib (2^{ème} et 3^{ème} lignes de traitement) [76].

Le facteur de croissance épidermique (EGF) et son récepteur (EGFR = HER1 = ErbB1) ont été identifiés comme étant des facteurs importants dans le processus physiopathologique de la croissance cellulaire et de la prolifération des cellules normales et cancéreuses (figure 25), notamment dans le

développement des cancers épithéliaux tel le CBNPC. La mutation activatrice de l'EGFR dans une cellule cancéreuse est un facteur important dans la croissance de la cellule tumorale par blocage de l'apoptose, augmentation de la production de facteurs angiogéniques et en facilitant les processus de métastase. L'inhibition de l'activité du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) semble donc être une des cibles thérapeutiques possibles pour s'opposer à la progression du CBNPC [77].

Ainsi, au même titre que l'erlotinib, gefitinib est une petite molécule inhibitrice sélective de la tyrosine kinase associée au récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). Elle inhibe la phosphorylation de la tyrosine par inhibition compétitive avec l'ATP. [77]

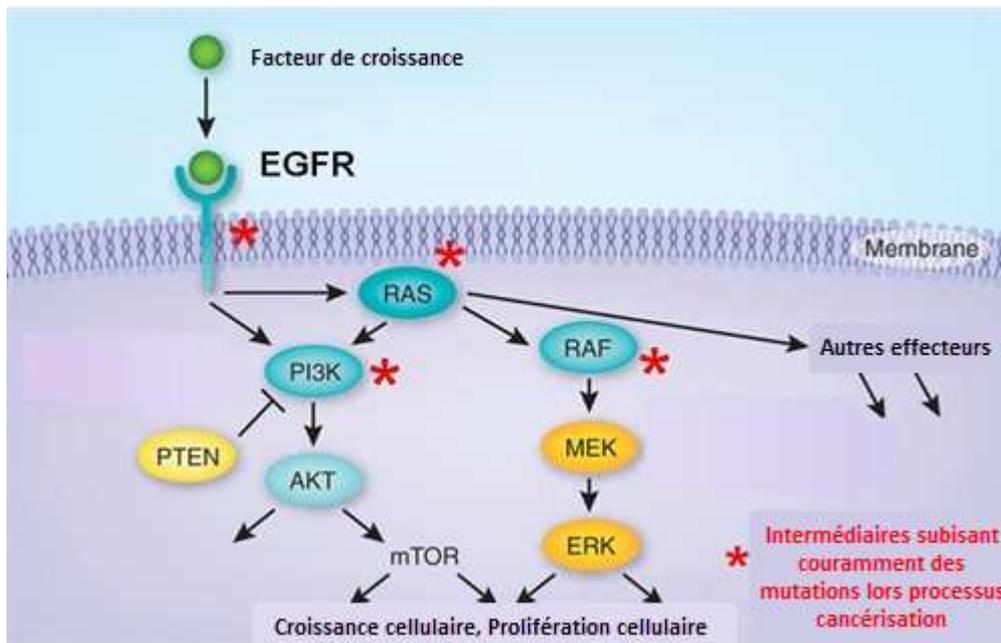


Figure 25: Voie de transduction du signal du facteur de croissance épidermique. Adapté de [77].

RAS, RAF : Oncogènes ; PI3K, MEK, ERK : Kinases

b. Parcours réglementaire suivi par géfitinib en Europe

Le promoteur avait déposé un premier dossier de demande d'AMM selon la procédure centralisée en février 2003 auprès de l'EMA pour géfitinib (Iressa®) dans l'indication : « traitement du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) localement avancé ou métastatique chez les patients réfractaires aux chimiothérapies à base de sel de platine et docetaxel ». A ce moment là, le géfitinib était déjà autorisé pour cette même indication au Japon depuis juillet 2002. Peu de temps après le dépôt de ce dossier auprès des autorités européennes, le géfitinib recevait une AMM par la FDA et par les autorités australiennes (avril-mai 2002). Néanmoins, sans que l'on dispose des détails, le dossier avait été jugé insuffisant lors de son examen par l'EMA. En conséquence, le promoteur avait retiré sa demande d'AMM avant de recevoir un avis négatif, en janvier 2005 [76].

Une seconde demande d'AMM pour le géfitinib (Iressa®) était déposée par le promoteur auprès de l'EMA en mai 2008 avec un intitulé d'indication souhaitée quelque peu modifié : « traitement du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) localement avancé ou métastatique chez les adultes aptes à recevoir une chimiothérapie supplémentaire après une première chimiothérapie à base de sel de

platine». Entre temps, le géfitinib avait été mis sur le marché dans 34 autres pays (Canada, Chine, Nouvelle-Zélande, Russie...) et le promoteur avait sollicité et obtenu des réunions d'avis scientifique avec l'EMA concernant la partie clinique du dossier en juin 2006 et en octobre 2006. La partie clinique du second dossier de demande d'AMM comportait alors les résultats d'une étude pivot de Phase III (INTEREST) qui n'était pas incluse dans le premier dossier, en plus des résultats des études déjà présentées dans le premier dossier : IPASS, une étude de Phase III pour le géfitinib en tant que première ligne de traitement ; V-15-32 et Istana, deux études de Phase III et ISTANA, étude de Phase II de sécurité. Au terme de cette procédure centralisée ayant comporté une réunion de clarification après émission de la liste de questions au jour 120 (« clarification meeting ») et une réunion d'explication orale après émission de la liste des questions en suspens au jour 180 (« oral hearing »), le CHMP a finalement accordé une opinion positive à la mise sur le marché du géfitinib en avril 2009 mais pour une indication différente de celle qui était requise par le promoteur : « IRESSA est indiqué chez les adultes dans le traitement du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) localement avancé ou métastatique avec mutations activatrices de l'EGFR ». Cette indication finalement validée par le CHMP était en phase avec la conclusion de l'Avis scientifique de juin 2006 mentionnant « qu'une indication large et sans restriction serait problématique si le requérant n'était pas en mesure d'apporter des éléments supplémentaires relatifs au bénéfice clinique apporté dans la population générale des patients atteints de CBNPC . »

Au cours du paragraphe suivant, nous allons donc revenir en détail sur le programme clinique de Phase III mené pour le géfitinib. Nous nous efforcerons de souligner l'importance du biomarqueur pharmacogénomique : « présence/absence de mutation pour EGFR » dans l'analyse de l'efficacité thérapeutique au cours de ces essais cliniques ayant abouti à une autorisation de mise sur le marché restreinte à la sous-population de patients exprimant ce biomarqueur. [76]

c. Description des essais cliniques pivots de Phase III et importance des biomarqueurs pour ces études pivots

Tel que mentionné précédemment, le dossier d'enregistrement soumis comportait trois essais cliniques de phase III (figure 27):

- l'essai clinique IPASS dans le traitement de première ligne du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC)
- les essais cliniques ISEL et INTEREST chez les patients atteints de CBNPC prétraités.

Ces trois essais cliniques étaient soutenus par d'autres essais cliniques de Phase II et de Phase III réalisés sur des populations plus restreintes (V15-32, SIGN, ISTANA, IDEAL I, IDEAL II).

Essai clinique	Phase	Ligne de traitement	Dosage	géfitinib (N)	Contrôle (N)	Critère principal	Statut EGFR M connu (N)
IDEAL I&II	II	2 ^{ème} et 3 ^{ème}	250 mg vs 500mg od	424	0	-	-
ISEL	III	2 ^{ème} et 3 ^{ème}	250 mg od vs placebo	1129	563	SG	1,5% (26)
INSTEP	II	1 ^{ère}	250 mg od vs placebo	100	101	-	-
INTEREST	III	2 ^{ème} et 3 ^{ème}	250 mg od vs docetaxel 75mg/m ²	733	733	SG	21,8%(249)
V-15-32	III	2 ^{ème} et 3 ^{ème}	250 mg od vs docetaxel 60mg/m ²	245	244	-	-
SIGN	II	2 ^{ème}	250 mg od vs docetaxel 75mg/m ²	71	70	-	-
ISTANA	II	2 ^{ème}	250 mg od vs docetaxel 75mg/m ²	78	83	SSP	-
IPASS	III	1 ^{ère}	250 mg od vs carboplatine/paclitaxel	609	608	SSP	35,9%(437)
OPTIMAL	III	1 ^{ère}	250 mg od vs gemcitabine/cisplatine	159	150	SG	31,1%(96)

Figure 26: Vue d'ensemble du programme clinique mené pour géfitinib dans le traitement du CBNPC. D'après [76, 77].

➤ Essai clinique IPASS

L'essai clinique IPASS était une étude réalisée dans une population enrichie selon des facteurs biologiques identifiés lors des essais préalables ISEL et IDEAL comme susceptibles d'améliorer la réponse au traitement pour les patients traités par le géfitinib : sujets d'origine asiatique, femmes, non fumeurs. C'était un essai clinique randomisé, ouvert, réalisé dans des centres Asiatiques, comparant IRESSA à l'association carboplatine/paclitaxel chez des patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique (stade IIIb ou IV) dont l'histologie était de type adénocarcinome, non pré-traités. Dans la population ITT (N=1217), le gain absolu de la médiane de survie sans progression (SSP) (critère principal) par le géfitinib était de 0,1 mois par rapport au comparateur (5,8 mois pour le géfitinib et 5,7 mois pour le comparateur ; HR=0.74, IC95% [0.65-0.85], p<0.0001). Le pourcentage de réponses objectives au traitement était de 43% dans le groupe géfitinib et de 32% dans le groupe carboplatine associé au paclitaxel (p=0,0001). Néanmoins, la médiane de survie globale (SG) n'était significativement pas différente entre les deux groupes (18,6 mois dans le groupe IRESSA et 17,3 mois dans le groupe comparateur) [76].

L'essai clinique IPASS prévoyait une étude exploratoire pour des biomarqueurs d'intérêt. Ainsi, 683 patients parmi les 1217 patients randomisés avaient accepté de fournir un échantillon destiné à une étude exploratoire de biomarqueurs. Tous les biomarqueurs évalués se rapportaient au récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) : évaluation du nombre de copies du gène EGFR par la technique de fluorescence avec hybridation in situ (FISH) (EGFR FISH), évaluation de la présence de mutation(s) du gène EGFR par séquençage de l'ADN selon la méthode de Sanger (EGFR M), évaluation du taux d'expression de la protéine EGFR (EGFR exp). A partir de seuil prédéfini préalablement pour chacun de ces biomarqueurs, les patients étaient alors classés comme ayant un statut positif ou négatif pour ces biomarqueurs (EGFR FISH+/EGFR FISH- ; EGFR M+/EGFR M- ; EGFR exp+/EGFR exp-) [76-77].

Une corrélation significative a alors pu être mise en évidence entre la réponse au traitement par le géfitinib et le profil de mutation de l'EGFR pour la survie sans progression. Ainsi, chez les patients ayant une mutation de l'EGFR (EGFR M+), un gain de 3,2 mois en valeur absolue sur la survie sans progression a été observé dans le sous-groupe géfitinib par rapport au groupe comparateur (9,5 mois et 6,3 mois ; HR = 0,48, IC95% [0,36-0,64], p <0,0001) alors que chez les patients sans mutation de l'EGFR (EGFR M-), la survie sans progression a été plus faible que dans le groupe comparateur (1,5 mois et 5,5 mois ; HR = 2,85, IC95% [2,05-3,98], p <0,0001). Dans une analyse *a posteriori*, le pourcentage de réponses au traitement a également été étudié en fonction du profil de mutation de l'EGFR et un constat similaire a pu être établi : un pourcentage de réponse (ORR) supérieur chez les patients EGFR M+ traités par le géfitinib (71,2% et 47,3% ; p=0,0001) et inférieur chez les patients EGFR M- traités par le géfitinib (1,1% et 23,5% ; p=0,0013). Une corrélation similaire a été observée entre le nombre de copies du gène EGFR (EGFR FISH) et la réponse au traitement concernant la survie sans progression chez les patients EGFR FISH+, mais la différence n'était pas statistiquement significative chez les patients EGFR FISH-. Une analyse *a posteriori* a alors été mise en place pour étudier s'il y avait un lien entre le profil du biomarqueur EGFR FISH et le profil au biomarqueur EGFR M: la survie sans progression a été plus forte dans le groupe géfitinib que dans le groupe comparateur chez les patients EGFR FISH+ et EGFR M+ (HR=0,48, IC95% [0,34-0,67]) mais elle était significativement plus faible chez les patients EGFR FISH- et EGFR M+ (HR=3,85, IC95% [2,09-7,09]). Le biomarqueur EGFR FISH n'est donc pas considéré comme un biomarqueur adéquat pour prédire la réponse du patient au géfitinib. Enfin, aucune corrélation n'a pu être démontrée entre le statut du taux d'expression de la protéine EGFR (EGFR exp) et SSP ou ORR: le biomarqueur EGFR exp n'est donc pas un biomarqueur adéquat pour prédire la réponse du patient au géfitinib [76].

➤ Essai clinique INTEREST

L'essai clinique INTEREST était un essai clinique randomisé ouvert de Phase III, ayant pour but de comparer l'efficacité du géfitinib (250mg) au docétaxel (75mg/m²) chez 1466 patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique et ayant reçu préalablement une chimiothérapie à base de sels de platine. Dans la population générale, le géfitinib a une non-infériorité par rapport au docétaxel mais aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre le géfitinib et le docétaxel pour la survie globale, la survie sans progression et le taux de réponses objectives. Ainsi, par exemple la médiane de survie globale était de 7,6 mois pour le groupe le géfitinib et de 8,0 mois pour le groupe docétaxel (HR=1,02 ; IC96% [0,905-1,150]). [76]

Mais l'élément intéressant concernant l'étude INTEREST est la modification du plan expérimental en cours d'étude. A l'origine, cette étude intégrait des analyses de biomarqueurs uniquement à titre exploratoire : évaluation des trois biomarqueurs identiques à ceux de l'étude IPASS (EGFR FISH ; EGFR M ; EGFR exp) et également évaluation de la présence de mutation(s) du gène KRAS codant pour la protéine kinase KRAS. En effet, dans la voie de transduction impliquant l'EGF et l'EGFR, l'oncogène KRAS se trouve en aval et peut donc potentiellement être intéressant à surveiller pour s'assurer de l'effet d'inhibition sur l'EGFR. Suite à la réunion d'Avis scientifique de juin 2006 avec l'EMA, un amendement substantiel au protocole de cet essai clinique a permis d'ajouter un co-critère principal d'évaluation reposant sur un biomarqueur. Ainsi, en plus du critère d'évaluation principal consistant à « évaluer la non-infériorité du géfitinib par rapport au docétaxel per protocole (PP) sur la survie globale dans la population générale et, si celle-ci était établie, effectuer un test de supériorité en intention de traiter

(ITT) dans la population générale », cet amendement y ajoutait « une évaluation de la supériorité du géfitinib par rapport au docétaxel en intention de traiter (ITT) sur la survie globale dans la population EGFR FISH+ ». Pour ce faire, tout en préservant la maîtrise du risque de première espèce global de l'étude à 5%, selon la méthode de Hochberg, une correction a été apportée avec un risque de première espèce de 4% pour l'évaluation menée sur la population générale et un risque de première espèce de 1% appliqué à l'évaluation menée sur la sous-population EGFR FISH+. Ce même amendement incorporait aussi l'évaluation de la survie sans progression dans la population EGFR FISH+ en tant que critère d'évaluation secondaire. En fin d'étude, la médiane de survie sans progression était de 7,5 mois pour le groupe géfitinib EGFR FISH+ et de 8,4 mois pour le groupe docétaxel EGFR FISH+. Ce résultat confirmait donc l'absence de corrélation entre le profil pour le biomarqueur EGFR FISH+ et le pronostic de survie en cas de traitement par le géfitinib [76].

Lors de l'analyse exploratoire en sous-groupes en fonction des autres biomarqueurs, l'analyse des patients ayant une tumeur avec mutation de l'EGFR (EGFR M+) a concerné 44 patients. Pour ces patients, il n'a pas été observé de différence entre les deux groupes sur la survie globale (HR = 0,832 ; IC95% [0,414 - 1,670] ; p= 0,6043) mais la survie sans progression (7,0mois vs 4,1mois ; HR = 0,16 ; IC95% [0,05-0,49] ; p=0,001) et le pourcentage de réponses objectives (42,1% vs 21,1% ; p=0,0361) étaient significativement supérieurs pour les patients EGFR M+ traités par le géfitinib par rapport aux patients traités par docétaxel. Enfin, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre le profil d'expression de la protéine kinase EGFR (EGFR exp) ou le profil de mutation du gène KRAS et la réponse au traitement par le géfitinib : les médianes de survie globale et de survie sans progression étaient similaires quel que soit le profil pour ces deux biomarqueurs. [76]

➤ Essai clinique ISEL

L'essai clinique ISEL était un essai clinique de Phase III, randomisé, en double aveugle contre placebo chez 1692 patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique ayant reçu préalablement une ou plusieurs lignes de chimiothérapie et réfractaires ou intolérants à leur dernier traitement. Pour cette étude, l'objectif principal n'avait pas été atteint : la survie globale n'était pas différente entre les deux groupes (5,6 mois dans le groupe géfitinib et traitement symptomatique optimal vs 5,1 mois dans le groupe placebo et traitement symptomatique optimal ; p=0,087) [76].

Dans cette étude aussi, une analyse exploratoire des trois biomarqueurs liés à EGFR (EGFR FISH, EGFR M, EGFR exp) était prévue, mais uniquement chez les patients volontaires pour subir une biopsie du tissu tumoral, cette biopsie n'étant pas nécessaire pour l'analyse des critères d'évaluation principaux et secondaires définis par le protocole. L'analyse en sous-groupes selon le profil des biomarqueurs liés à EGFR a concerné 26 des 1 692 patients inclus (1,5%) et n'a pas permis de tirer de conclusions [76].

➤ Processus d'autorisation de le géfitinib

L'ensemble des données cliniques fournies a permis aux évaluateurs de constater une hétérogénéité de la réponse au traitement dans la survie sans progression (SSP) et le taux de réponses objectif au traitement (ORR) selon la sous-population à laquelle appartient le patient. Pour certaines sous-populations, le résultat obtenu avec le géfitinib est meilleur alors que d'autres ont de meilleurs résultats avec le docétaxel. Ainsi, les profils identifiés comme étant les plus favorables pour bénéficier du traitement par le géfitinib sont : les femmes, d'origine asiatique, présentant une tumeur avec une

histologie de type adénocarcinome, non fumeuses, dont la tumeur présente un nombre élevé de copies du gène EGFR (EGFR FISH+), et surtout la présence de mutations du gène EGFR dans la tumeur (EGFR M+). L'étude INTEREST incluant essentiellement des patients d'origine asiatique puisqu'elle avait été réalisée uniquement dans des centres cliniques asiatiques, les évaluateurs ont sollicité une analyse dans la sous-population des patients d'origine caucasienne pour la comparer à la population générale de l'étude. Les conclusions de l'analyse pour la sous-population d'origine caucasienne étaient en accord avec les résultats obtenus dans la population générale de l'étude INTEREST, à savoir que le taux de réponse objective (ORR) était plus élevé chez les patients FISH+ que chez les patients FISH- ou chez les non fumeurs que chez les fumeurs. Néanmoins, dans une analyse poolée incluant ces données cliniques et d'autres données publiées, on a pu constater un meilleur taux de répondeurs au géfitinib (SG, SSP et ORR) chez les patients d'origine asiatique que chez les patients d'origine non-asiatique pour la sous-population des patients dont la tumeur présente des mutations du gène EGFR (EGFR M+). Pour autant, le taux de réponse objective de 56% (N=243 ; quelle que soit la ligne de traitement) chez les patients d'origine non-asiatique EGFR M+ était suffisant pour que le géfitinib reste considéré par les évaluateurs comme une option thérapeutique valable dans cette sous-population. L'hypothèse a été avancée que cette différence de niveau de réponse au géfitinib entre la sous-population d'origine asiatique et la sous-population d'origine caucasienne pourrait être due à la différence du taux de patients présentant des mutations d'EGFR, et non au nombre de copies du gène EGFR qui était le biomarqueur suivi en premier lieu lors de l'étude INTEREST. Or la prévalence de patients EGFR M+ est de 40% pour la sous-population d'origine asiatique comparé à 10% pour la sous-population d'origine caucasienne, ce qui pourrait contribuer à expliquer la meilleure efficacité observée dans la sous-population d'origine asiatique EGFR M+ [76].

Le Comité de consultation scientifique spécialisé en Oncologie (« Oncology Scientific Advisory Group ») de l'EMA a été sollicité par les évaluateurs pour émettre un avis sur la recevabilité de conclure à un bénéfice clinique pour une sous-population définie par un biomarqueur pharmacogénomique chez les caucasiens en extrapolant les données provenant d'une population d'origine essentiellement asiatique. Le comité a d'abord souligné les nombreux manques du programme clinique mené, en particulier le manque d'anticipation pour l'identification et le suivi de biomarqueurs d'enrichissement de population. Malgré ces manquements, le Comité s'est accordé sur le fait que l'ensemble des données cliniques fournit un élément de preuves suffisant pour établir l'efficacité de géfitinib chez les patients dont le tissu tumoral présente des mutations du gène EGFR (EGFR M+). Le Comité a donc conseillé de restreindre l'indication du géfitinib à la sous-population de patients EGFR M+, recommandation suivie par le CHMP pour aboutir à une A.M.M. avec l'indication « traitement chez les adultes du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) localement avancé ou métastatique avec mutations activatrices de l'EGFR ». De plus, les autorités de santé européennes n'ont pas jugé nécessaire la réalisation d'un essai clinique chez les patients d'origine caucasienne préalable à la délivrance de l'AMM pour confirmer ces conclusions. Cependant, elles ont fait inscrire la réalisation de cet essai clinique parmi les mesures de suivi devant être réalisées pour permettre le maintien de l'AMM [76].

d. Apport des biomarqueurs pour la mise sur le marché du géfitinib

Dans le cas de le géfitinib, la définition d'un biomarqueur compagnon associé au géfitinib pour discriminer une sous-population particulièrement sensible à son effet thérapeutique s'est donc révélée primordiale : sans lui, la mise sur le marché de cette molécule n'aurait pas été autorisée en Europe en

raison d'un rapport bénéfice/risque jugé insuffisant dans la population générale des patients atteints de CBNPC. Suite aux études menées pour mettre en évidence ce biomarqueur pharmacogénomique par la procédure européenne centralisée, les AMM qui avaient été délivrées précédemment dans d'autres pays avec une indication concernant la population générale des patients atteints de CBNPC ont été révisées. Deux grands types de révisions ont été entreprises : les autorités de santé de certains pays comme l'Australie ont révisé l'indication du géfitinib pour la restreindre à la sous-population de patients EGFR M+ à l'image de l'indication européenne ; les autorités de santé d'autres pays comme les Etats-Unis et le Canada n'ont pas révisé l'indication du géfitinib mais ont émis en juin 2005 avec le titulaire de l'AM.M. un courrier aux professionnels de santé (« Dear doctor letter ») pour les informer qu'après la revue de nouvelles données cliniques (étude ISEL), la prescription du géfitinib était désormais limitée aux patients en cours de traitement par le le géfitinib, ayant déjà bénéficié de le géfitinib par le passé ou réfractaire à toutes les autres thérapeutiques [78].

Conclusion : Intérêts des biomarqueurs dans les essais cliniques

Les coûts de la phase de Recherche et Développement nécessaire à la mise sur le marché de nouveaux médicaments ne cessant d'augmenter de manière exponentielle, l'intérêt principal et direct des biomarqueurs est bien entendu de permettre comme la réduction de la durée et des coûts des essais cliniques. Cet effet de réduction de la durée et des coûts des essais cliniques s'exerce :

- par la capacité des biomarqueurs à constituer des critères d'évaluation objectifs supplémentaires pour l'efficacité ou la toxicité, en plus des critères d'évaluation cliniques habituels permettant une meilleure sélection des candidats médicaments
- par la capacité des biomarqueurs à différencier les patients pour lesquels le traitement en cours de développement représente un bénéfice et constitue ainsi des facteurs d'enrichissement de population
- par la capacité de certains biomarqueurs à se substituer à un critère d'évaluation clinique nécessitant un suivi long et/ou coûteux pour être évalué.

Grâce aux propriétés décrites ci-dessus, les biomarqueurs peuvent permettre à un promoteur de distinguer plus rapidement les composés chimiques ou biologiques n'apportant probablement pas un effet thérapeutique favorable afin d'arrêter au plus vite le développement. Ainsi, les ressources disponibles en terme humain et financier pourront être consacrées au développement d'autres composés identifiés comme pouvant probablement apporter un effet thérapeutique. De manière concomitante, le surplus d'informations collectées grâce aux biomarqueurs devrait permettre une diminution du taux d'échecs de programmes de développement, voire une diminution du taux d'essais cliniques non concluants, grâce à une meilleure mise en place à l'aide des informations rassemblées.

Il est ainsi admis que l'intégration de biomarqueur(s) au cours de la phase clinique du développement est un des moyens d'améliorer la compréhension du mécanisme d'action des molécules en cours de développement et de discerner les patients les plus à même d'en bénéficier. Dans la mesure du possible, il est alors souvent suggéré d'inclure les biomarqueurs le plus précocement possible au cours de la phase clinique afin de pouvoir bénéficier au maximum des avantages liés à leur utilisation. [74]

Les essais cliniques de phase I sont réalisés de manière conventionnelle dans la population générale ou chez des patients inclus selon des paramètres cliniques, voire pratiques, empiriques. Or, pour les essais cliniques de phase I destinés à étudier les caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la nouvelle molécule et déterminer la dose maximale tolérée, le taux de réponses au traitement demeure souvent faible. Une analyse plus spécifique des caractéristiques moléculaires par les biomarqueurs pourrait améliorer les résultats grâce à une meilleure sélection des patients inclus dans ces essais cliniques de phase I. De la même manière, l'intégration concertée de biomarqueurs dans les essais de phase II, afin de mieux comprendre les caractéristiques des patients répondeurs au traitement, à l'aide de l'analyse de paramètres non cliniques, peut permettre une mise en place plus efficace des essais cliniques de phase III. Or, la réalisation des essais cliniques de phase III est, de loin, la phase la plus coûteuse du développement clinique [74, 81].

Néanmoins, cette recommandation d'inclure précocement des biomarqueurs dans les essais cliniques se heurte parfois à des contraintes techniques telles que la disponibilité de méthodes de dosage

satisfaisantes du biomarqueur au moment de la mise en place de ces essais cliniques de phase I ou II. D'autre part, cette démarche n'est qu'en phase d'expérimentation et prête encore à discussion et à amélioration. Concernant l'intégration de biomarqueurs dans les essais cliniques de phase I, suite à la publication d'une meta-analyse de 2458 essais cliniques de phase I, certains scientifiques ont souligné le risque d'utilisation de méthodes de dosage de biomarqueurs non validées. De même, les coûts finaux pourraient être fortement augmentés comparativement à un essai conventionnel sans biomarqueur, des problèmes éthiques survenir avec la multiplication de gestes de prélèvement d'échantillons tels que des biopsies et surtout le développement de certaines thérapies efficaces pourrait être arrêté en raison d'une sélection incorrecte des patients guidée par les biomarqueurs [74].

Pour remédier à certaines de ces difficultés, de nombreux partenariats public-privé se sont constitués, généralement regroupés par pathologie ou aire thérapeutique, dans le but de développer puis de qualifier des biomarqueurs. C'est le cas en particulier des biomarqueurs de toxicité, au contexte d'utilisation étendu et pouvant être utilisés lors des phases cliniques précoces, voire lors de la phase pré-clinique : « C.O.P.D. biomarker qualification consortium » pour la broncho-pneumopathie chronique obstructive, A.D.N.I. (« Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative ») pour la maladie d'Alzheimer, C.S.R.C. (« Cardiac Safety Research Consortium »), P.S.T.C. (« Predictive Safety Testing Consortium »)...

Mais l'intérêt de l'introduction des biomarqueurs dans les essais cliniques ne se limite pas à une réduction de la durée et des coûts des essais cliniques. De nombreux autres intérêts indirects en découlent. Il est désormais établi que tous les patients atteints d'une pathologie ne répondent pas tous de la même façon à un traitement, d'où le développement du concept de médecine personnalisée afin de rationaliser l'usage du médicament. Les gouvernements et les organismes payeurs accompagnent cette transition vers la médecine personnalisée. Ainsi, soumis à des restrictions budgétaires, les organismes de remboursement s'orientent vers une approche thérapeutique fondée sur le résultat : au Royaume-Uni notamment, certains traitements ne sont remboursés qu'à la condition qu'un effet thérapeutique soit démontré chez le patient par un test prédéfini pratiqué *a posteriori*. Cette pratique devrait se généraliser à l'avenir. Or, les biomarqueurs sont indissociables du concept de médecine personnalisée. La médecine personnalisée repose sur des thérapies ciblées et des outils tels que les biomarqueurs permettant de déterminer si le patient est susceptible de bénéficier du traitement ou si un autre traitement serait mieux adapté. Des biomarqueurs qui pourraient également être utilisés lors de tests prédéfinis pour établir *a posteriori* l'existence d'un effet thérapeutique chez le patient.

Le développement de traitements ciblant plus particulièrement des sous-populations définies grâce aux biomarqueurs devrait conduire à une meilleure efficacité et/ou à un profil d'effets secondaires réduit, d'où résulterait une meilleure observance aux traitements de la part des patients. Cet effet devrait se révéler en premier lieu dans le traitement des pathologies chroniques. Jusqu'à présent le nombre de données sur cet aspect est insuffisant mais une étude a par exemple démontré que le taux d'observance des patients à un traitement contre l'hypercholestérolémie, incluant une modification du style de vie et un traitement médicamenteux était de 86%, deux années après la première réalisation d'un test pour un biomarqueur pharmacogénomique, contre 38%, deux années après l'initiation au traitement chez des patients n'ayant pas eu à réaliser de test pour un biomarqueur pharmacogénomique [14].

LISTE DES REFERENCES

- [1] Fraser GA, Meyer RM. Biomarkers and the design of clinical trials in cancer. *Biomark Med.* 2007; 1(3):387-97.
- [2] Spinella DG Biomarkers in clinical drug development : realizing the promise. *Biomark Med.* 2009; 3(6):667-69.
- [3] Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95.
- [4] De Gruttola VG, Clax P, De Mets DL et al. Considerations in the evaluation of surrogate end points in clinical trials : summary of a National Institutes of Health Workshop. *Control Clin. Trials* 2001; 22(5):485-502.
- [5] Food and Drug Administration. Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labels [en ligne] . Disponible sur: <http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm> (Consulté le 25 Mars 2011)
- [6] Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med.* 2001; 7(5):201-4.
- [7] Ritcher Wolf S., Imaging biomarkers as surrogate endpoints for drug developement. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* 2006; 33(16): 6-10
- [8] LEEM Comité biotech, Bionest partner. Le biomarqueur comme outil de diagnostic compagnon de produits thérapeutiques. Impacts sur la R&D et sur les modèles économiques des industriels de la santé. Etude 2010. [en ligne] Février 2010. Disponible sur : <http://www.ariis.fr/2011/02/11/etat-des-lieux-des-biomarqueurs-etude-2010/> (Consulté le 25 mars 2011)
- [9] Marrer E. Promises of biomarkers in drug development – A reality check. *Chem Biol Drug Des.* 2007; 69: 381-94
- [10] Carney W. On target? The challenge of integrating biomarker research in drug development. *Biomarkers in Medicine.* 2007; 1(1): 17-21
- [11] European Medicines Agency The European Medicines Agency Road Map to 2015: The Agency's Contribution to Science, Medicines, Health. January 2010
- [12] European Federation of Pharmaceuticals Industries and Associations. The Pharmaceuticals Industry in figures Edition 2010 [en ligne]. Disponible sur: <http://www.efpia.eu/Content/Default.asp?PageID=559&DocID=9158> (Consulté le 25 mars 2011)
- [13] Shankaran V. Conference presentation at the Gastrointestinal Cancers Symposium January 2009. San Francisco, California. [en ligne] Disponible sur: <http://www.medscape.com/viewarticle/586946> (Consulté le 14 avril 2009)

- [14] Personalized Medicine Coalition. The case for personalized medicine [en ligne]. Mai 2009. Disponible sur: <http://www.personalizedmedicinecoalition.org/about/about-personalized-medicine/the-case-for-personalized-medicine> (Consulté le 11 septembre 2010)
- [15] European Medicines Agency. Vectibix® Summary of Product Characteristics [en ligne]. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000741/human_med_001128.jsp&murl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WC0b01ac058001d125 (Consulté le 11 septembre 2010)
- [16] European Medicines Agency. Erbitux® Summary of Product Characteristics [en ligne]. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000558/human_med_000769.jsp&murl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WC0b01ac058001d125 (Consulté le 11 septembre 2010)
- [17] Food and Drug Administration. Vectibix® Product Information [en ligne]. Disponible sur: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125147s080lbl.pdf (Consulté le 11 septembre 2010)
- [18] Food and Drug Administration. Erbitux® Product Information [en ligne]. Disponible sur: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125084s167lbl.pdf (Consulté le 11 septembre 2010)
- [19] Mangravite LM, Thorn CF, Krauss RM. Clinical implications of pharmacogenomics of statin treatment. *Pharmacogenomics J.* 2006; 6(6): 360-74.
- [20] Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med.* 2005; 352: 2285-93.
- [21] Terra SG, Hamilton KK, Pauly DF, et al. Beta1-adrenergic receptor polymorphisms and left ventricular remodeling changes in response to beta-blocker therapy. *Pharmacogenet Genomics.* 2005; 15(4): 227-34.
- [22] Margaret A., Francis S. The Path to Personalized Medicine. *N Engl J Med.* 2010; 363(4): 434-8.
- [23] President's Council of Advisors on Science and Technology. Priorities for Personalized Medicine [en ligne]. September 2008. Disponible sur: http://www.ostp.gov/galleries/PCAST/pcast_report_v2.pdf (Consulté le 9 octobre 2010)
- [24] Shannon JA. The renal excretion of creatinine in man. *J Clin Invest.* 1935; 14(4): 403-10.
- [25] Sundal A. A creatinin tolerance test for renal function. *Acta Paediatr.* 1953; 42(6): 535-9.
- [26] Goldman R. Creatinine excretion in renal failure. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1954; 85(3): 446-8.
- [27] Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976; 16 (1): 31-41

[28] Johnson WJ, Hagge WW, Wagoner RD, Dinapoli RP, Rosevear JW. Effects of urea loading in patients with far-advanced renal failure. *Mayo Clin Proc.* 1972; 47(1): 21-9.

[29] Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al: Prognosis in acute organ system failure. *Ann Surg.* 1985; 202: 685-93

[30] Froissard M, Robert J How to improve estimation of renal function in the elderly. *Rev Prat.* 2005; 55(20): 2223-9.

[31] Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP et al. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int.* 1985; 28(5): 830-8.

[32] International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Final Business Plan E16: Genomic Biomarkers Related to Drug Response: Context, Structure and Format of Qualification Submissions [en ligne]. Avril 2008 Disponible sur:

http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E16/Business_plan/E16_Business_Plan.pdf (Consulté le 13 janvier 2011)

[33] International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. The Value and Benefits of ICH to Drug Regulatory Authorities - Advancing Harmonization for Better Health [en ligne]. 2010 Disponible sur:

http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/News_room/C_Publications/ICH_20_anniversary_Value_Benefits_of_ICH_for_Regulators.pdf (Consulté le 13 janvier 2011)

[34] U.S. Food and Drug Administration. Qualification process for drug development tools [en ligne]. 2010 Disponible sur:

<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM230597.pdf> (Consulté le 20 janvier 2011)

[35] European Medicines Agency. Qualification of novel technologies for drug development : guidance to applicants [en ligne]. Janvier 2009 Disponible sur:

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2009/10/WC500004201.pdf(Consulté le 20 janvier 2011)

[36] Pharmaceutical and Medical Devices Agency. Current PMDA projects to promote global drug development including Japan presentation. DIA 22nd annual EuroMeeting March 2010 [en ligne] Disponible sur: http://www.pmda.go.jp/english/presentations/pdf/presentations_20100308-10-3.pdf

[37] U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: Pharmacogenomic data submission [en ligne]. Mars 2005. Disponible sur:

<http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/ucm126957.pdf> (Consulté le 20 janvier 2011)

[38] European Medicines Agency, European Commission, U.S. Food and Drug Administration. General principles Processing Joint FDA EMEA Voluntary Genomic Data Submissions (VGDSs) within the framework of the confidentiality arrangement [en ligne]. Mai 2009. Disponible sur:

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003887.pdf (Consulté le 25 janvier 2011)

[39] Dieterle F, Sistare F, Goodsaid F et al. Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMA and Predictive Safety Testing Consortium. *Nat Biotechnol.* 2010; 28(5): 455-62.

[40] Goodsaid F, Frueh F, Mattes W. The Predictive Safety Testing Consortium: A synthesis of the goals, challenges and accomplishments of the Critical Path. *Drug Discovery Today: Technologies.* 2007; 4(2): 47-50.

[41] European Medicines Agency. Final conclusions on the pilot joint EMEA/FDA VXDS experience on qualification of nephrotoxicity biomarkers [en ligne]. 2009. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2009/10/WC500004205.pdf (Consulté le 25 janvier 2011)

[42] U.S. Food and Drug Administration. Attachment to guidance on pharmacogenomic data submission. Examples of Voluntary Submissions or Submissions Required Under 21 CFR [en ligne]. Mars 2005
Disponible sur: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm079851.pdf> (Consulté le 26 janvier 2011)

[43] European Medicines Agency. Reflection paper on co-development of pharmacogenomic biomarkers and assays in the context of drug development. Draft. [en ligne] June 2010 Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/07/WC500094445.pdf (Consulté le 26 janvier 2011)

[44] Cummings J, Ward TH, Greystoke A et al. Biomarker method validation in anticancer drug development. *Br J Pharmacol.* 2008; 153(4): 646-56.

[45] Cummings J, Ward TH, Dive C. Fit-for-purpose biomarker method validation in anticancer drug development. *Drug Discov Today.* 2010; 15(19-20): 816-25.

[46] Legras B. *Eléments de statistiques à l'usage des étudiants en Médecine et en Biologie.* 1998. 222p. Edition Ellipses.

[47] International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1) [en ligne] 2005 Disponible sur: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf (Consulté le 2 février 2011)

[48] PIPAME Réflexion prospective autour des biomarqueurs [en ligne]. 2009 Disponible via : <http://www.industrie.gouv.fr/p3e/etudes/bio/biomarqueurs.pdf> (Consulté le 2 février 2011)

[49] U.S. Food and Drug Administration. Drug-diagnostic co-development concept paper [en ligne]. 2005
Disponible via : <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/UCM116689.pdf> (Consulté le 2 février 2011)

- [50] Jost MM. Surrogate end points: how well do they represent patient-relevant end points? *Biomark Med.* 2007; 1(3): 437-51.
- [51] Berns B, Démolis P, Scheulen ME. How can biomarkers become surrogate endpoints? *EJC Supplements.* 2007; 5(9): 37-40.
- [52] Temple R. Complexities in drug trials: enrichment, biomarkers and surrogates. Interview with Robert Temple. *Biomark Med.* 2008; 2(2): 109-12.
- [53] Richter WS. Imaging biomarkers as surrogate endpoints for drug development. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006;33 Suppl 1: 6-10.
- [54] Duivenvoorden R, de Groot E, Stroes ESG et al. Surrogate markers in clinical trials—Challenges and opportunities. *Atherosclerosis.* 2009; 206(1): 8-16.
- [55] Fleming TR, DeMets DL. Surrogate end points in clinical trials: are we being misled? *Ann Intern Med.* 1996; 125(7): 605-13.
- [56] De Gruttola VG, Clax P, DeMets DL et al. Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials. summary of a National Institutes of Health workshop. *Control Clin Trials.* 2001; 22(5): 485-502.
- [57] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Résumé des Caractéristiques du Produit : INEGY 10 mg/20 mg, comprimé [en ligne]. Disponible via : <http://afssaps-prd.afssaps.fr/php/ecodex/frames.php?specid=60371679&typedoc=R&ref=R0165249.htm> (Consulté le 17 février 2011)
- [58] U.S. Food and Drug Administration. Avandia (rosiglitazone) Product information label [en ligne]. Disponible via : http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/021071s038lbl.pdf (Consulté le 20 février 2011)
- [59] European Medicines Agency. Avandia European Public Assessment Report [en ligne]. Juillet 2004. Disponible via : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/human/000268/WC500029103.pdf (Consulté le 20 février 2011)
- [60] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Questions/Réponses : Suspension de l'AMM des médicaments antidiabétiques contenant de la rosiglitazone (Avandia®, Avandamet® et Avaglim®) [en ligne]. Septembre 2010. Disponible via : <http://www.sfhta.net/IMG/pdf/QR-rosiglitazone.pdf> (Consulté le 20 février 2011)
- [61] Vastag B. New clinical trials policy at FDA. *Nat Biotechnol.* 2006; 24(9): 1043.
- [62] European Medicines Agency, European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations. EMA/EFPIA 2nd workshop Adaptive Design in Confirmatory Trials [en ligne]. Mars 2010 Disponible via : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Minutes/2010/04/WC500089206.pdf (Consulté le 23 février 2011)
- [63] U.S. Food and Drug Administration. Adaptive Design Clinical Trials for Drugs and Biologics. Draft guidance [en ligne]. Février 2010 Disponible via :

<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm201790.pdf> (Consulté le 23 février 2011)

[64] Mahajan R, Gupta K. Adaptive design clinical trials: Methodology, challenges and prospect. *Indian J Pharmacol.* 2010; 42(4): 201-7.

[65] Freidlin B, Korn EL. Biomarker-adaptive clinical trial designs. *Pharmacogenomics.* 2010; 11(12): 1679-82.

[66] Wang SJ. Utility of adaptive strategy and adaptive design for biomarker-facilitated patient selection in pharmacogenomic or pharmacogenetic clinical development program. *J Formos Med Assoc.* 2008; 107(12 Suppl): 19-27.

[67] Jiang W, Freidlin B, Simon R. Biomarker-adaptive threshold design: a procedure for evaluating treatment with possible biomarker-defined subset effect. *J Natl Cancer Inst.* 2007; 99(13): 1036-43.

[68] European Medicines Agency. Reflection paper on methodological issues in confirmatory clinical trials planned with an adaptive design [en ligne]. Octobre 2007 Disponible via : http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003616.pdf (Consulté le 28 février 2011)

[69] Barker AD, Sigman CC, Kelloff GJ et al. I-SPY 2: an adaptive breast cancer trial design in the setting of neoadjuvant chemotherapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2009; 86(1): 97-100.

[70] Foundation for the National Institutes of Health, The Biomarkers consortium. The biomarkers consortium launches I-SPY 2 breast cancer clinical trial. Press release. Mars 2010. Disponible via : http://www.biomarkersconsortium.org/press_release_istry2_clinical_trial.php (Consulté le 4 mars 2011)

[71] Karasarides M, Chioleches A, et al. B-Raf is a therapeutic target in melanoma. *Oncogene.* 2004; 23(37): 6292-8.

[72] Flaherty KT, McArthur G. BRAF, a target in melanoma: implications for solid tumor drug development. *Cancer.* 2010; 116(21): 4902-13.

[73] Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010; 363(9): 809-19.

[74] Carden CP, Sarker D, Postel-Vinay S et al. Can molecular biomarker-based patient selection in Phase I trials accelerate anticancer drug development? *Drug Discov Today.* 2010; 15(3-4): 88-97.

[75] Plexxikon Inc. Plexxikon Announces First Patient Dosed in Phase 3 Trial of PLX4032 (RG7204) for Metastatic Melanoma. Press release [en ligne]. Janvier 2010. Disponible sur: <http://www.plexxikon.com/view.cfm/74/Press-Releases> (Consulté le 5 mars 2011)

[76] European Medicines Agency. Iressa European Public Assessment Report [en ligne]. Juillet 2007. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/001016/WC500036361.pdf (Consulté le 12 mars 2011)

- [77] Gridelli C, De Marinis F, Di Maio M et al. Gefitinib as first-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer with activating epidermal growth factor receptor mutation: Review of the evidence. *Lung Cancer*. 2011; 71(3): 249-57.
- [78] U.S. Food and Drug Administration. FDA alert for Healthcare Professionals: Gefitinib (marketed as Iressa) [en ligne] Disponible sur: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm126182.pdf> (Consulté le 12 mars 2011)
- [79] Sakanyan V, Arnaud MC. Protein arrays and perspectives of medical applications. 2007; 28(5-6): 187-93.
- [80] Scaros O, Fidler R. Biomarker technology roundup: from discovery to clinical applications, a broad set of tools is required to translate from the lab to the clinic. *Biotechniques*. 2005;Suppl:30-2.
- [81] McShane LM, Hunsberger S, Adjei AA. Effective incorporation of biomarkers into phase II trials. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(6): 1898-905.
- [82] Kolata G. A Tale of Two Drugs Hints at Promise for Genetic Testing [en ligne]. *New York Times* July 11, 2006. Disponible via : http://www.nytimes.com/2006/07/11/health/11pros.html?_r=1&oref=slogin (Consulté le 22 mars 2011)
- [83] Tate CW, Robertson AD, Zolty R et al. Quality of life and prognosis in heart failure: results of the Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial (BEST). *J Cardiac Failure*. 2007; 13(9): 732-7.
- [84] Frank R, Hargreaves R. Clinical biomarkers in drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov*. 2003; 2(7): 566-80.
- [85] International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH Topic E16 Genomic Biomarkers Related to Drug Response: Context, Structure and Format of Qualification Submissions [en ligne]. Disponible sur: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E16/Step4/E16_Step_4.pdf (Consulté le 20 mars 2011)
- [86] Prentice RL. Surrogate endpoints in clinical trials: definition and operational criteria. *Stat Med*. 1989; 8(4): 431-40.
- [87] U.S. Food and Drug Administration. The critical path initiative: Transforming the way FDA-regulated products are developed, evaluated, manufactured, and used [en ligne]. 2009. Disponible sur: <http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/SpecialTopics/CriticalPathInitiative/UCM186110.pdf> (Consulté le 20 mars 2011)
- [88] Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 2004; 141: 421-31.
- [89] Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, et al. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 358: 2545-59.

[90] Bamford S, Dawson E, Forbes S, et al. The COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) database and website. *Br J Cancer*. 2004; 91: 355-8.

[91] Brose MS, Volpe P, Feldman M, et al. BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res*. 2002; 62: 6997-7000.

[92] Yazdi AS, Palmedo G, Flaig MJ, et al. Mutations of the BRAF gene in benign and malignant melanocytic lesions. *J Invest Dermatol*. 2003; 121: 1160-2.

N° d'identification :

TITRE

INTERETS DES MARQUEURS BIOLOGIQUES DANS LES ESSAIS CLINIQUES

Thèse soutenue le 5 juillet 2011

Par Julien ROMANETTO

RESUME :

Lors des essais cliniques, les biomarqueurs participent à l'évaluation de l'efficacité thérapeutique en particulier dans les maladies pour lesquelles un examen clinique ne suffit pas. Ils peuvent même se substituer à un critère d'évaluation clinique. Ils peuvent également conduire à différencier les bons des mauvais répondeurs au traitement en cours de développement et ainsi permettre de sélectionner les patients les plus susceptibles de bénéficier du traitement (enrichissement de la population). Pour cette utilisation dans les essais cliniques, les biomarqueurs doivent néanmoins être validés et qualifiés par les autorités de santé et leurs méthodes de dosage disponibles et validées.

Ce travail bibliographique s'attache à décrire les procédures de validation et de qualification des biomarqueurs et à traiter d'exemples concrets d'essais cliniques ayant eu recours à des biomarqueurs. Les bénéfices consécutifs à l'emploi des biomarqueurs seront développés, y compris dans le cas des essais cliniques adaptatifs.

MOTS CLES : Médicaments, , Essais cliniques, Biomarqueurs, Réglementation, Pharmacogénomique, Essais cliniques adaptatifs, Thèses et écrits académiques

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Mme le Professeur Michèle GERMAN	Université Paris-Sud XI – Faculté de Pharmacie – Laboratoire d'Immunologie	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>

Thèmes 3 – Médicament

