

UNIVERSITÉ DE LILLE

FACULTE INGENIERIE ET MANAGEMENT DE LA SANTE (ILIS)

MASTER INGENIERIE DE LA SANTE

PARCOURS CLINICAL RESEARCH & HEALTHCARE BUSINESS

SPECIALITE CLINICAL RESEARCH

Tracy TARLET

**LES NOUVELLES PISTES EN RECHERCHE CLINIQUE :**

**FOCUS SUR LE SEQUENÇAGE GENETIQUE.**

*Sous la direction du Dr Garcia Fernandez*

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE LA 2<sup>EME</sup> ANNEE DE MASTER

HEALTHCARE BUSINESS & CLINICAL RESEARCH

SPECIALITE RECHERCHE CLINIQUE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

Composition du jury :

- Président du jury : Professeur Marc Lambert, Responsable de spécialité.
- Directrice de mémoire : Docteur Garcia Fernandez, PhD Maître de conférences.
- Troisième membre : Madame Stéphanie Batista, Coordinatrice d'études cliniques.

Date de soutenance : 08 Octobre 2019 à 16h.

Faculté d'Ingénierie et Management de la Santé – ILIS

42 rue Ambroise Paré

59120 LOOS

## Remerciements

Je tiens à remercier mes parents d'avoir cru en moi il y a déjà huit ans et de m'avoir permis de faire mes études à 8 000km du cocon familial. Je tiens à remercier toute ma famille et mon entourage pour leur patience et leurs encouragements tout au long de ces années.

Je remercie le Pr Philippe Vérité responsable de la Sixième année de Pharmacie de la Faculté de pharmacie de l'Université de Rouen ainsi que toute l'équipe pédagogique de la 2<sup>ème</sup> année de Master Ingénierie de la Santé parcours Healthcare Business and Clinical Research spécialité Clinical Research, de m'avoir permis d'effectuer ce double cursus dans des conditions optimales.

Je remercie ma directrice de mémoire Madame Garcia Fernandez pour son encadrement même en dehors de ses heures professionnelles. Merci pour vos conseils et vos relectures.

Je remercie tous les experts de la médecine, de la génétique et des essais cliniques que j'ai rencontré dans le cadre de l'élaboration de mon mémoire.

Je remercie Madame Stéphanie Batista, coordinatrice d'études cliniques, mon mentore durant cette année, pour la transmission de son savoir-faire et la qualité des enseignements partagés. Je remercie toute l'équipe de Pharm-Research, en particulier Monsieur ElJarroudi de m'avoir accordé votre confiance il y a un an, grâce à vous je ressors grandit de cette immersion dans le monde de la recherche clinique.

Enfin, je remercie le Professeur Marc Lambert pour la présidence de mon Jury.

# Sommaire

Remerciements.....	
Glossaire .....	
Abréviations.....	
Introduction.....	1
I. Etat de l'art .....	2
II. Réglementation des études génétiques en recherche clinique .....	19
III. Analyse.....	23
IV. Critique de l'outil .....	30
V. Complexité de la génétique.....	36
VI. Analyse.....	40
VII. Conclusion .....	44
VI. Bibliographie.....	45
Tables des Figures.....	50
VII. Table des matières.....	51
VIII. Annexes .....	I
Résumé .....	
Abstract .....	

## Glossaire

L'ensemble des termes définis ci-dessous sont indiqués lors de leur première mention par un \*.

**Critère de jugement principaux** : critère qui va servir à répondre à la problématique.

**Cytochrome P450** : Enzyme responsable du métabolisme oxydatif de molécule [1].

**Diffraction par rayon X** : Technique d'analyse de structure cristalline.

**Double aveugle** : Méthode utilisée dans les essais cliniques pour réduire les risques de biais [2]. Par cette méthode le médecin et le patient ne savent pas si ce dernier reçoit le traitement.

**Entérocyte** : Cellule de l'intestin.

**Enzyme de phase I** : protéine dites enzymes de « fonctionnalisation », elles catalysent essentiellement les réactions d'oxydo-réduction et d'hydrolyse [3].

**Enzyme de phase II** : protéine dites enzymes de « conjugaison », elles catalysent les réactions de conjugaison [3].

**Epissage** : Phénomène de modification structurales et conformationnelles de séquences cibles de l'ADN (acide désoxyribonucléique). [4].

**Essais cliniques** : Etudes scientifiques réalisées sur la personne humaine, en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales [5].

**Exon** : partie du gène qui s'exprime.

**Génome** : Ensemble du matériel génétique d'un organisme [6].

**Hépatocyte** : Cellule du foie.

**Intron** : partie du gène qui ne s'exprime pas. En effet, cette portion du gène est transcrite en Acide Ribonucléique mais est ensuite éliminée par excision.

**Kinases et Phosphatases** : Ce sont des protéines à structures modulaires comportant un domaine catalytique responsable de l'activité enzymatique et un domaine régulateur capable de contrôler cette activité [7].

**Pharmacocinétique** : Etude du devenir du médicament dans l'organisme [8].

**Pharmacodynamique** : Etude de l'effet du médicament sur le site d'action [9].

**Pharmacogénétique** : Etude du lien entre gène et réponse au médicament [10].

**Phénotype** : ensemble des caractères observables d'un individu.

**Placebo** : Traitement présenté comme efficace alors qu'il est dénué d'activité pharmacologique [11].

**Polymorphisme génétique**: Variabilité biologique innée de l'homme expliqué par le fait que seuls 5% des 2.85milliards de nucléotides (Adénosine, Cytosine, Guanine et Thimine) qui compose le génome sont exprimés en protéines [12].

**Posologie** : Quantité de médicament prescrite.

**Randomisation** : Méthode de répartition fondée sur le hasard [13].

**Récepteurs canaux** : Protéines membranaires permettant le passage sélectif de certains éléments chimiques [14].

## Abréviations

<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>ANSM</b>	Agence National de Sécurité du Médicament
<b>ARN</b>	Acide RiboNucléique
<b>A,T,C,G</b>	Adénine, Thymine, Cytosine, Guanine
<b>AURAGEN</b>	Auvergne Rhône-Alpes Génomique
<b>AVK</b>	AntiVitamine K
<b>BPC</b>	Bonnes Pratiques Cliniques
<b>C-HDL</b>	Cholesterol High Density Lipoprotein
<b>C-LDL</b>	Cholesterol Low Density Lipoprotein
<b>CCNE</b>	Comité Consultatif National d’Ethique
<b>CETP</b>	Cholesteryl Ester Transferase
<b>CODECOH</b>	Conservation d’élément du corps humain
<b>CNIL</b>	Comité National de l’Informatique et des Libertés
<b>CPP</b>	Comité de Protection des Personnes
<b>CSIC</b>	Consejo Superior de Investigaciones Cientificas
<b>CSP</b>	Code de la Santé Publique
<b>CTA</b>	ChimioThérapie Adjuvante
<b>CYP</b>	Cytochromes P450
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FDG-PET/CT</b>	Tomographie par Emission de Positrons-FluoroDésoxyGlucose
<b>FMD</b>	Flow Mediated Dilatation
<b>HAS</b>	Haute Autorité de Santé
<b>HDL</b>	High Density Lipoprotein
<b>HPV</b>	Human PapillomaVirus
<b>HUGO</b>	Human Genome Organisation
<b>ICH</b>	Conseil International pour l’harmonisation
<b>IDIBAPS</b>	Institut de Recherche biomédical August Pi i Sunyer
<b>IGSR</b>	International Genetic Samples Ressource
<b>INSERM</b>	Institut National de la Santé et de la Recherche Médical
<b>IRS</b>	Inhibiteur de la Recapture de Serotonine

<b>LCAT</b>	Lécithine Cholesterol AcétylTransférase
<b>LDLR</b>	Récepteur de Low Density Lipoprotein
<b>LEEM</b>	LEs Entreprises du Médiacement
<b>MAPA</b>	Mesure Ambulatoire de la Pression Artérielle
<b>MSER</b>	Ministère de l'Education National et de l'Enseignement Supérieur
<b>NAT</b>	N-AcetylTransferase
<b>NGS</b>	New Generation Sequencing
<b>NHGRI</b>	National Human Genom Research Institute
<b>NO</b>	Monoxyde d'azote
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>RIHN</b>	Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclature
<b>SCA</b>	Syndrome Coronarien Aigu
<b>SEQQiA</b>	SEQuencing, Omics, Information Analysis
<b>SNP</b>	Site on Nucleotid Polymorphisme
<b>SR-B1</b>	Scavenger Receptor class B type1
<b>VLDL</b>	Very Low Density Lipoprotein

## Introduction

La recherche clinique se veut l'un des modèles qui prouve l'excellence du système de santé d'une nation. A l'heure où la compétition entre les puissances mondiales ne faiblit pas, la qualité au sein de la recherche clinique mondiale détermine la performance des investigateurs des principaux pays impliqués. Alors que les grandes puissances mondiales se disputent une reconnaissance vis-à-vis de leurs paires, outre la puissance de feu, c'est bien par leurs cerveaux qu'elles comptent se démarquer.

C'est à celle qui trouvera la première ou qui sera précurseur d'une méthode innovante et pourquoi pas révolutionnaire de soin. Toutes les dimensions du « soin » sont à prendre en compte : les soins curatifs, pour déterminer de nouveaux traitements axés sur les voies de signalisation en cause dans la pathologie ciblée ; les parcours de soins, pour optimiser le schéma thérapeutique ; les soins palliatifs, comme en enzymothérapie où la génétique détermine le choix de l'enzyme pour pallier à l'insuffisance ; ainsi que les soins préventifs. La définition de ce dernier explique toute l'importance qui lui est accordée : trouver une solution afin d'éviter que le problème n'apparaisse. C'est notamment en cela que l'apport de la génétique devient intéressant dans le domaine des essais cliniques\*.

Reposant sur le principe de balance bénéfique/risque pour le patient, la recherche clinique ne néglige pas l'intérêt du patient vis-à-vis du progrès de l'état de l'art. Fort de son histoire bien moins glorieuse que l'état actuel de la pratique, cette science se veut en accord avec l'acceptabilité éthique du monde actuel. Ainsi, la réglementation en reste l'un des piliers et se veut en accord avec le progrès des autres sciences. C'est en alliant les différentes sciences que les scientifiques aspirent à accéder à un niveau toujours plus poussé de connaissances.

En ce qui concerne l'apport de la génétique dans les essais cliniques, elle paraît évidente. Ce sujet n'est pas nouveau, il existe depuis la découverte de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et du séquençage génétique. Quelle est la part actuelle du séquençage génétique dans les études cliniques, et qu'elle en sera-t-elle demain ? Ce mémoire vous présente les nouvelles pistes en essais cliniques : un focus sur le séquençage génétique.

# I. Etat de l'art

## I.1. Historique des essais cliniques et du séquençage génétique

### I.1.A. La recherche clinique

La recherche clinique peut être définie comme une recherche par expérimentation humaine engendrant un essai d'une thérapeutique clinique : médicament ou acte visant à traiter, prévenir, ou guérir un état pathologique.

Le premier essai clinique aurait été enregistré en 562 av. J.-C. – 1537 dans le « Livre de Daniel » dans La Bible. Cette expérimentation menée par le roi Nebucadnetsar contraint la population de ne manger que de la viande et de ne boire que du vin, car il pense que ce régime pourrait la maintenir en bonne condition physique. Certains membres de la royauté préférèrent alors suivre un régime de légumineuses et d'eau pendant 10 jours. À la fin de l'expérience, les végétariens semblaient mieux nourris que les mangeurs de viande [15,16].

En 1025, Avicenne recommande d'étudier deux cas de types opposés et d'étudier le temps d'action et la reproductibilité des effets. En 1537, Ambroise Paré utilise un digestif à base d'œuf, d'huile rose et de térébenthine pour soigner les plaies des blessés de guerre et observe de bons résultats. Deux cents dix ans plus tard, James Lind conduit un essai comparatif du traitement le plus efficace contre le scorbut. Il sélectionne douze marins malades « semblables » réunis en un même endroit et ayant un régime identique. Ces douze malades sont séparés en six groupes, chaque groupe reçoit un traitement différent. Il observe alors une rapidité d'action et une efficacité supérieure pour le traitement à base d'oranges et de citrons. Il publie en 1757 ses résultats avec une analyse de la littérature sur le scorbut. James Lind pose alors les bases de la méthodologie des essais cliniques [15, 17,18,19].

En 1863 Austin Flint compare un remède factice à un traitement actif. Son étude inclut 13 patients souffrant de rhumatisme avec un extrait à base de plantes « remède placeboic », conseillé à la place d'un remède établi [15,20].

Le Medical Research Council (MRC) du Royaume-Uni lance en 1943 une étude nationale incluant plus d'un millier d'individus malades en double aveugle\* (le patient et le médecin ignore le traitement) sur la patuline (un extrait de *Penicillium patulinum*) dans le traitement contre le rhume. Il effectue des contrôles simultanés dans la population générale. L'analyse des données ne montre aucun effet protecteur de la patuline [15,21,22].

En 1946 la MRC réalise le premier essai contrôlé randomisé sur la streptomycine dans la tuberculose pulmonaire. Le schéma de randomisation du Dr Hill est alors préférable à la procédure en alternance car il élimine la « dissimulation d'allocation » des patients. De plus cet essai effectue des mesures objectives telles que l'interprétation des rayons X par des experts aveugles du traitement du patient [24,25,26].

Il y a 74 ans (le 24 Novembre 1945), 24 hauts responsables nazis sont condamnés pour crime de guerre. Ce grand moment historique pose les bases des concepts légaux, moraux et éthiques concernant l'expérimentation humaine. Désormais le consentement libre et éclairé du sujet est fondamental. De plus c'est l'intérêt du patient qui prime sur le progrès de la science. Il paraît inconcevable de mener des études pour lesquelles le risque serait pour le patient supérieur au bénéfice espéré pour ce dernier. La base de la bioéthique actuelle est alors posée par le code de Nuremberg [15].

Au niveau international, l'association médicale mondiale adopte, en 1964, la déclaration d'Helsinki. Elle trace les recommandations à l'intention des médecins et autres professionnels intervenant dans la recherche médicale sur des êtres humains. Le respect de l'être humain et la protection de la santé et des droits sont mis en avant et des précisions concernant les personnes vulnérables sont alors apportées. D'après les articles L-1125-5 à 1121-8, L-1122-1-2 du code de la santé publique (CSP) les personnes vulnérables sont : « Femmes enceintes, parturientes et mères qui allaitent ; personnes privées de liberté par une décision judiciaire ou administrative ; personnes en détention provisoire ou détenues à la suite d'une condamnation ; malades à qui le Procureur de la République a enjoint de suivre une cure de désintoxication ou qui sont hospitalisés sans leur consentement du fait de troubles mentaux ; mineurs ; personnes majeures hors d'état d'exprimer leur consentement ; majeurs faisant l'objet d'une mesure de protection légale (tutelle, curatelle) ; personnes qui ne sont pas en état d'exprimer un consentement ; personnes en situation d'urgence ».

En France, la loi Huriet-Sérusclat du 20 décembre 1988 garantit la protection des personnes se prêtant à la recherche biomédicale. En 1990, le premier Conseil international pour l'harmonisation des exigences techniques relatives aux produits pharmaceutiques à usage humain (ICH) est organisé sous la co-responsabilité des Etats-Unis, de l'Europe et du Japon. Il réunit les autorités de réglementation et l'industrie pharmaceutique pour élaborer des « lignes directives » et discuter des aspects scientifiques et techniques de

l'enregistrement des médicaments. De ces conférences naissent les Bonnes Pratiques Cliniques (BPC) guide ICH [27,28].

En Europe, en 1996, la convention sur les Droits de l'Homme et la biomédecine du conseil de l'Europe garantit la dignité et l'intégrité à l'égard de toute recherche impliquant une intervention sur l'être humain. De nouveaux principes sont alors posés notamment le Consentement spécifique pour les personnes vulnérables comme « les mineurs non émancipés, la consultation et adhésion personnelle recherchée [...] l'Autorisation écrite des titulaires de l'autorité parentale ou du seul titulaire de l'autorité parentale présent lorsque la recherche ne comporte que des risques et des contraintes négligeables, n'a aucune influence sur la prise en charge médicale du mineur qui s'y prête, est réalisée à l'occasion d'actes de soins et l'autre titulaire de l'autorité parentale ne peut donner son autorisation dans des délais compatibles avec les exigences méthodologiques de la recherche ». D'autres principes sont posés comme le consentement en cas d'urgence [29,30,31].

Selon l'article L1121-4 du Code de la Santé Publique (CSP) art L 1121-4 CSP, les essais doivent être soumis à l'avis d'un Comité de Protection des Personnes (CPP). « La recherche ne peut commencer qu'après avis favorable du comité d'éthique » Art L 1121-4 du CSP [32]. Au 1<sup>er</sup> Juillet 2014, le CSP est choisi de manière aléatoire par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM).

En ce qui concerne la collecte d'échantillons biologiques, ces actes sont également régis par des lois. En effet, il existe un système de déclaration au ministère de la santé. Le CPP doit en plus donner son avis sur l'information et le consentement destinés aux patients. Le Comité National de l'Informatique et des Libertés (CNIL) créé en 1978, a homologué une méthodologie de référence (procédure MR001) pour le traitement des données personnelles mis en œuvre dans le cadre de recherche. Cette méthodologie de référence a été issue de la délibération du 3 Mai 2018. Le promoteur prend ainsi un engagement de conformité.

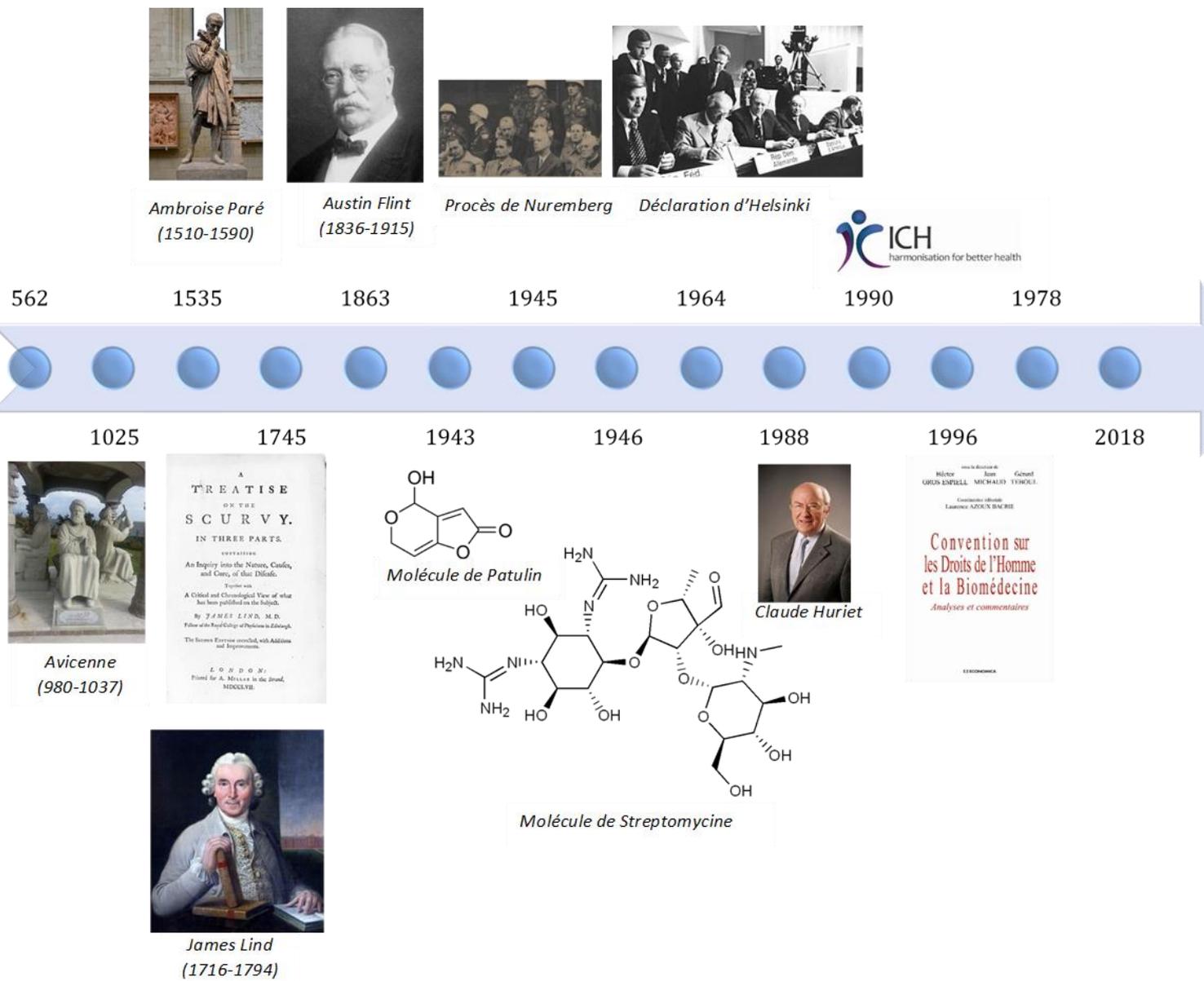


Figure 1. Frise chronologique des grandes avancées en recherche clinique

### I.1.B. L'anamnèse du séquençage génétique

Selon la littérature, les premières théories sur l'hérédité sont émises par Aristote. Il suppose qu'il existe une transmission parent-enfant, selon *Hist. Anim. VII 585 b 29 – 586 a 4* « De parents déficients naissent des enfants déficients, par exemple de boiteux naissent des boiteux, d'aveugles des aveugles et en règle générale les enfants ressemblent aux parents pour les anomalies ; ils ont des marques semblables, par exemple des excroissances et des cicatrices » [33]. Bien que sa théorie ne soit pas tout à fait aboutie, il pose les prémisses de théories plus plausibles.

Plusieurs siècles plus tard, en 1865 Johann Gregor Mendel publie « Recherche sur des hybrides végétaux » il s'agit de la naissance des lois de Mendel :

– la première loi dite *d'uniformité des hybrides de 1ère génération* décrit les caractères dominants et récessifs. Il observe le croisement d'une lignée pure de petits pois à graines lisses avec une lignée pure de petits pois à graines ridées. La génération suivante il obtient uniquement des petits pois à graines lisses. D'après G. Mendel ce caractère est dominant sur le caractère graine lisse qui est lui récessif.

– la deuxième loi est dite de *disjonction des allèles*. La génération obtenue précédemment, contenant uniquement des pois à graines lisses, s'auto-reproduit. La génération suivante est composée de 3/4 de petits pois à graines lisses et 1/4 de petits pois à graines ridées.

– Enfin la troisième loi dite *d'indépendance des caractères ou échiquier de Punnett*. Les caractères couleur (jaune ou vert) et forme (ridés ou lisses) des petits pois ne sont pas liés. En effet, on peut trouver aussi bien des petits pois jaune lisses comme jaune ridés en seconde génération par exemple. Mendel décrit pour la première fois dans l'histoire de la génétique le fait que chaque caractère est créé par des gènes différents [34, 35].

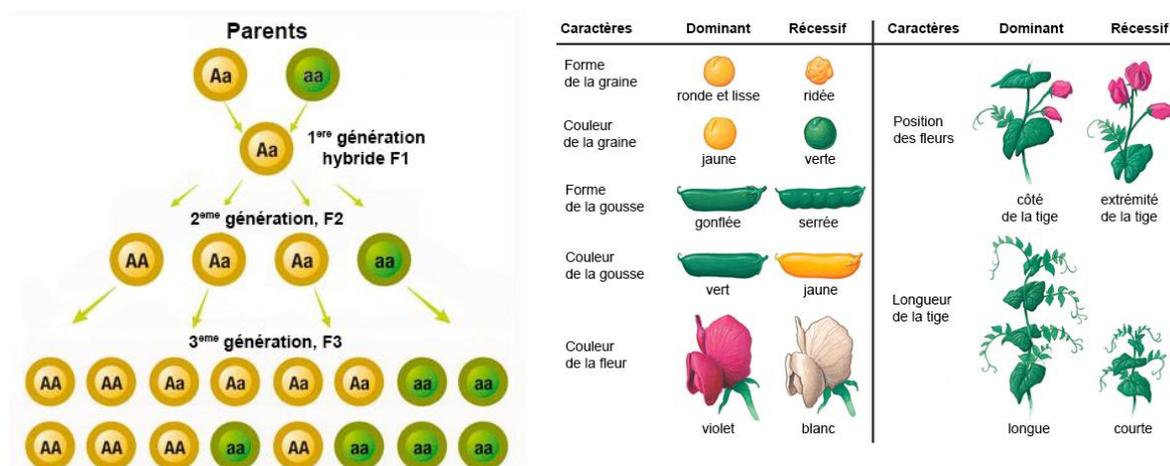


Figure 2. Illustration des lois de Mendel [36]

Quatre ans plus tard, Friedrich Miescher, découvre « la nucléine ». Il isole pour la première fois l'ADN, à partir de leucocytes (globules blancs) puis retrouve cette molécule dans d'autres cellules telles que des cellules du rein, du foie, de levure, ou encore d'œuf de poule. Il prouve que cet élément est acide et contient du phosphore, cet élément est alors nommé acide désoxyribonucléide (ADN). « diese erfahrungen werden einiges licht auf die stellung des phosphors im nuclein ». F. Miescher analyse du sperme de saumon et remarque la présence d'une quantité importante de nucléine dans ces cellules. « so habe ich denn die alesten meiner schulden, das sperma und das nuclein seit mitte februar mit

macht vorgenommen und eine menge, so gut als muglich, reiner praparet hergestellt, welche nunmehr analysirt » [37].

En 1882, Walther Flemming observe le « chromosome » au microscope. Le mot chromosome vient du grec ancien khroma qui signifie couleur et soma pour corps. Il tient son nom de la technique d'observation microscopique utilisée par Flemming. En effet la coloration que Flemming utilisait pour observer les cellules au microscope se fixait sur les chromosomes. Il observe ensuite le devenir des chromosomes tout au long de la division cellulaire : les paires de chromosomes de la cellule mère se séparent en deux, chacun de ces chromosomes est attribué à une cellule fille, cette cellule fille copie le chromosome de la mère pour en avoir une paire identique [35,38].

En 1909, Wilhelm Johannsen effectue des recherches sur les caractères héréditaires des haricots. Il arrive à la conclusion que la transmission des caractéristiques physiques, de génération en génération, est due à des petits éléments présents dans la cellule qu'il appelle « gène ». Il émet l'hypothèse qu'un caractère pourrait être contrôlé par plusieurs gènes [35,39].

L'année suivante, Thomas Morgan isole le premier cas de *Drosophile* mutant. La drosophile appelée « mouche du vinaigre » est alors un modèle facile d'élevage, son cycle de reproduction est très court (9 jours à 25°C). Ce modèle ne possède que quatre paires de chromosomes et une femelle pond plusieurs centaines d'œufs, un nombre considérable d'individus pour la descendance. En 1911, Alfred Sturtevant, alors chercheur de premier cycle au laboratoire de Thomas Hunt Morgan, cartographie les emplacements des gènes de *Drosophila melanogaster* dont les mutations [40, 41].

En 1920, Hans Winkler, invente le terme de « génome\* » en contractant les mots « gène » et « chromosome ». Le génome est alors défini comme l'ensemble du matériel génétique d'un organisme [42].

Dix ans plus tard, Max Von Laue crée la radiocristallographie et permet à William Astbury de démontrer la structure en long filament de l'ADN et sa composition par une succession de bases s'enchaînant selon un espace régulier de 0,34nm. Outre la structure de l'ADN, les chercheurs s'intéressent également à la transmission des caractères. En 1932 Fred Griffith constate que des pneumocoques virulents morts pouvaient transmettre certains

de leurs caractères à des pneumocoques vivants non virulents, véhiculant ainsi la maladie [43,44, 45].

En 1944, Oswald Theodore Avery utilise deux types différents de bactéries *PNEUMOCOCCUS* : la souche R qui est inoffensive et la souche S qui provoque des pneumonies. Une expérience précédente avait montré que, lorsque l'on fait chauffer les bactéries S à 60°C, ces dernières deviennent inoffensives. Cependant quand on mélange ces bactéries inactives avec des bactéries R, ces dernières deviennent alors capables d'induire des pneumonies. O.T Avery récupère une solution contenant les protéines, l'ADN et l'ARN des bactéries S, puis a mélangé cette solution avec des bactéries R. Ces dernières ont alors provoqué des pneumonies. Après analyse des résultats, il en conclut que l'ADN des bactéries S a donné la capacité de provoquer des pneumonies aux bactéries R. Il prouve ainsi le rôle essentiel de l'ADN dans la transmission héréditaire entre individus [46] [Figure 4].

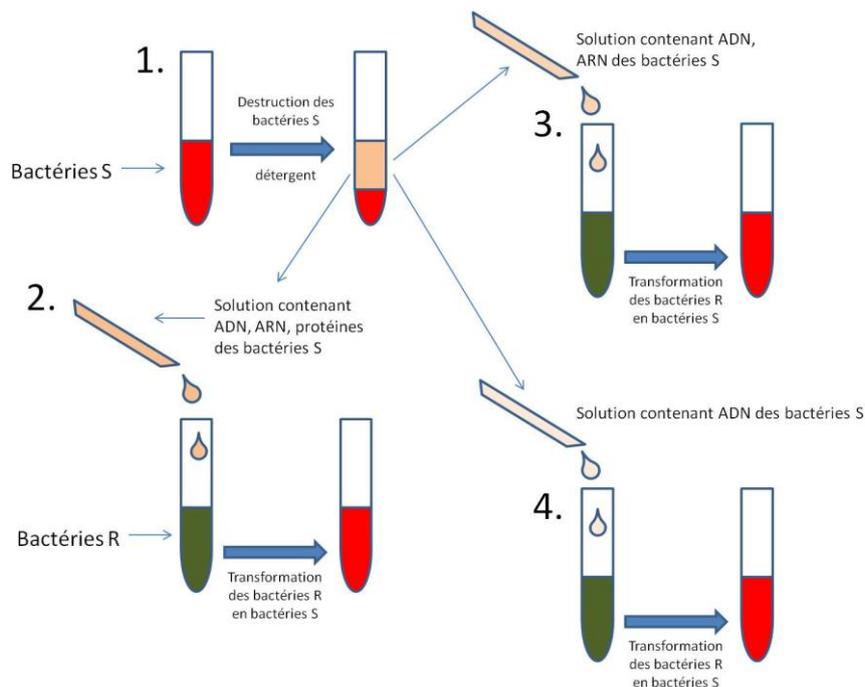


Figure 3. Schéma de l'expérience d'Avery<sup>[46]</sup>

James Watson et Francis Crick publient le premier dessin de la structure en double hélice de l'ADN, il est alors réalisé par la femme de Crick en 1953 [46,47,48] [figure 4].

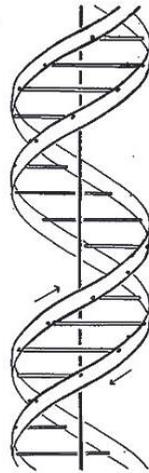


Figure 4. Dessin de la structure en double hélice de l'ADN par Odile Crick<sup>[47]</sup>

Cette découverte aurait certainement été impossible sans Rosalind Franklin, cette grande scientifique oubliée. Au cours de ses recherches R. Franklin effectua la première photographie de la structure de l'ADN par diffraction de rayon X\* [49,50]. Il est donc établi que l'ADN est une structure de double hélice enroulée autour d'un axe.

Fredérick Sanger décrit la séquence complète des deux chaînes qui forment cette macromolécule. Il conclut que les protéines peuvent être considérées comme une matière amorphe, et sont constituées d'une séquence d'acides aminés. Il se lance alors dans une autre aventure : la course au séquençage de l'Acide RiboNucléique (ARN). Ses travaux sur la structure des protéines, spécialement sur l'insuline, sont alors récompensés en 1958 par le prix Nobel de chimie [51,52][Annexe1].

En 1961, Marshall Nirenberg, Har Gobind Khorana et Robert Holley démontrent que les protéines sont produites à l'aide du code génétique. Ils ont découvert que des codons composés de trois lettres (A, T, C ou G), sont lus puis traduits en un des 20 acides aminés. Ces acides aminés sont alors ficelés ensemble dans l'ordre déterminé par la séquence d'ADN puis arrangés sous forme complexe pour former une protéine spécifique.

En 1967, Frédéric Sanger et ses collègues produisent une séquence de 120 nucléotides d'un ARN de transfert provenant de la bactérie *E.coli*. Il décide alors de s'attaquer au séquençage de l'ADN. Il développera deux méthodes. La première, bien que laborieuse, conduira au séquençage du premier génome entier, celui du bactériophage phi X 174 (5 386 nucléotides) [53,54].

F. Sanger met au point en 1977 un système plus rapide, dit "dideoxy", qui sera bientôt adopté par les laboratoires du monde entier sous le nom de "méthode Sanger". Mais c'est Kary Bank Mullis qui invente la technique d'amplification de l'ADN la plus connue et la plus utilisée à l'heure actuelle, la Polymerase Chain Reaction (PCR) en 1983. C'est l'heure de nouvelles premières avancées : séquences complètes d'un ADN mitochondrial humain (16 569 paires de bases) et du virus bactériophage lambda. En 1987, Rebecca Louise Cann, Mark Stoneking et Allan Charles compare l'ADN mitochondrial de différentes populations humaines à travers le monde. Ils expliquent que toutes les populations humaines ont un ancêtre commun en Afrique d'environ 200 000 ans [53,55][Annexe 2].

En 1989, le Human Genome Organisation (HUGO) est chargé de coordonner les travaux internationaux pour le séquençage du génome humain. La direction du projet « Human genome project » est alors confiée au National Institutes of Health (NIH) et le projet surnommé « Projet Apollo de la biologie ». En Juin 2000, Bill Clinton annonce le séquençage brut du génome. Mais c'est en Avril 2003 que les travaux sont véritablement « finis ». Ainsi aujourd'hui la version complète et précise à 99,9% de la séquence du génome humain est accessible en ligne avec 3.2 milliards de nucléotides séquencés. En Juillet 2001 a lieu une réunion pour discuter du « International HapMap project », cette carte d'haplotype du génome humain permettrait de retrouver les gènes liés à la santé et à la maladie. Durant cette réunion les questions éthiques entourant cette recherche sont également discutées. En effet l'application de la génétique dans la recherche médicale est indéniable mais soulève de nombreuses questions éthiques [56].

Entre 2008 et 2015 s'est déroulé « le projet des 1000 génomes » créant le plus grand catalogue public de données sur la variation humaine et le génotype. La ressource internationale d'échantillons génomiques (IGSR) est créée et vise à assurer l'accès aux données du projet, incorporer des données génomiques supplémentaires sur les 1000 échantillons et également inclure de nouvelles populations non représentées dans les 1000 génomes. [Figure 1]. Ce catalogue a pour but d'améliorer les études futures sur la démographie des variants structuraux, l'impact fonctionnel et l'association de maladies [56].



Populations: ● - African; ● - American; ● - East Asian; ● - European; ● - South Asian;

Figure 5. IGSR et le projet 1000 Genomes<sup>[45]</sup>

## 1.2. Répartition des études par aires thérapeutiques et par pays

Pour avoir une approche des nouvelles pistes en essais cliniques, il est important de faire une analyse de l'état de l'art. D'après l'étude du LEEM (Les Entreprises du Médicament) parue en octobre 2018, l'oncologie reste l'aire thérapeutique prédominante en essais cliniques, devant les maladies métaboliques, et l'infectiologie. Alors que le domaine cardiovasculaire semble bénéficier d'une hausse, la neurologie poursuit son recul par rapport à 2014 [Figure 6] [57].

Selon une exploitation de la base gouvernementale listant toutes les études cliniques autorisées au niveau international ou national, Clinicaltrials, seulement 8% des études en cours utilisent la génomique. De même que pour les futures pistes de recherche clinique, il serait intéressant de se focaliser davantage sur l'aspect génétique des pathologies.

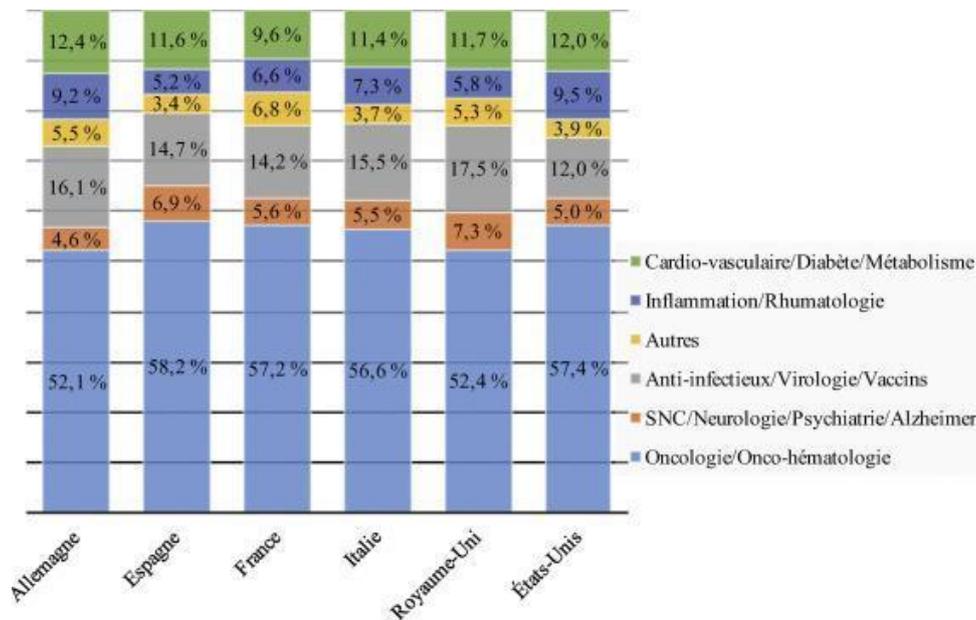


Figure 6. Répartition des études par aire thérapeutique et par pays

En oncologie, pour l'analyse des tumeurs, l'un des tests les plus avancés est le séquençage nouvelle génération (NGS). Cette technologie permet de séquencer l'ADN beaucoup plus rapidement que la méthode de Sanger. La NGS permet l'analyse de plusieurs gènes et plusieurs patients en même temps. Elle se fait sur des échantillons fixés et inclus en paraffine fournis. L'ADN correspondant à près de 300 gènes est isolé par une technique d'hybridation, puis séquencé à une redondance élevée (500x), et les variations trouvées sont analysées pour déterminer si elles suggèrent une possibilité de traitement par un médicament déjà approuvé ou en cours d'essais cliniques. D'autres tests sont déjà utilisés pour guider le traitement de patients, en particulier ceux qui ont subi plusieurs traitements successifs et sont en échec thérapeutique. Des essais sont en cours pour en définir les meilleures conditions d'utilisation de ces techniques comme SAFIR02\_Breast en France. C'est une étude visant à évaluer l'efficacité de l'analyse du génome en tant qu'outil de décision thérapeutique chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique. [58].

La génomique s'avère un espoir dans le domaine médical. Cette discipline qui permet l'annotation et l'identification des séquences informatives, se divise en deux parties : la génomique structurale et la génomique fonctionnelle. Historiquement il existe déjà cette démarcation entre les connaissances structurales et les connaissances fonctionnelles, deux aspects étroitement liés mais assez complexes et qui, pris séparément, s'avèrent plus accessibles à la compréhension de leurs différents aspects. Ainsi les techniques de séquençage peuvent être effectuées et améliorées pour une analyse fonctionnelle plus

poussée. La génomique structurale analyse la structure des gènes et autres parties du génome. La génomique fonctionnelle analyse comme son nom l'indique la fonction des gènes et autres parties du génome, ainsi elle inclut l'analyse de la transcription.

### 1.3. Utilisation de la génétique dans les essais cliniques

La détection d'ADN est une méthode bien connue pour mettre en évidence la présence d'agent infectieux et donc de prédire leur potentielle influence sur l'apparition ou l'évolution d'une maladie. Par exemple, la présence du papillomavirus humain (HPV) est détectée via la recherche d'une séquence d'ADN spécifique.

« Genetic variability and oncogenic risk association of human papillomavirus type 58 E6 and E7 genes in Taizhou area, China » est une étude dont l'objectif était d'évaluer la diversité des variants génétiques de HPV58 en séquençant l'ensemble des gènes *E6* et *E7*. Des arbres phylogénétiques ont été construits par la méthode du maximum de vraisemblance avec le logiciel MEGA 5.05. Un arbre phylogénétique est établi à partir de données précises, il est donc accompagné de la matrice taxons/caractères (avec indication des états dérivés de chaque caractère) qui a été exploitée pour le construire, ainsi que les innovations évolutives justifiant chaque entre-nœud. C'est une véritable cartographie héréditaire du patrimoine génétique du HPV [44].

L'intérêt d'une connaissance approfondie des pathologies est de la traiter de manière optimale, en appréhendant tous ses aspects, toutes ses caractéristiques, toutes les connaissances possibles sur le sujet. De cette démarche est née la thérapie génique, mais elle peut également donner lieu à l'élaboration d'un schéma thérapeutique préventif. Ce dernier pourrait être réalisé en fonction du risque avéré de développer une pathologie avec des caractéristiques connues et corrélées à une séquence génétique connue. Elle pourrait également aider aux choix du traitement curatif optimal, et à la stratégie thérapeutique présentant la meilleure balance bénéfice risque ainsi que la surveillance des patients à risques.

En janvier 2019, la HAS (Haute Autorité de Santé) a émis un rapport dont l'objectif était d'évaluer, en vue d'un remboursement par l'Assurance Maladie, l'utilité clinique de signatures génomiques des cancers du sein prises en charge de façon temporaire et dérogatoire dans le cadre du Référentiel des actes innovants hors nomenclatures (RIHN). Ces signatures sont utilisées en vue d'optimiser la décision d'administrer ou non une

chimiothérapie adjuvante (CTA) dans certains cas de cancer du sein de stade précoce, ainsi que les modalités de surveillance.

La HAS a conclu que les signatures génomiques n'avaient pas vocation à se substituer aux critères cliniques et anatomopathologiques traditionnels. Cependant, la HAS a identifié une population d'intérêt de taille restreinte et bien définie chez qui il y aurait un intérêt potentiel à utiliser les signatures génomiques en complément des critères cliniques et anatomopathologiques traditionnels notamment dans des cas d'incertitude décisionnelle de CTA, sans discordance clinico-pathologique majeure, et présentant des caractéristiques particulières précisées dans le rapport émis.

En conclusion la HAS considère prématuré de préconiser l'utilisation en routine de signatures génomiques dans le cancer du sein de stade précoce et est défavorable à leur remboursement par l'Assurance Maladie. Néanmoins, au regard de l'intérêt potentiel précédemment évoqué, la HAS souligne la nécessité de colliger les données prospectives et comparatives dans la population restreinte d'intérêt, et ce dans un contexte de recherche clinique ou de soutien à l'innovation (RIHN) afin de permettre, à terme, en complément des études cliniques internationales en cours, une réévaluation par la HAS en vue du remboursement par l'Assurance Maladie. C'est pourquoi, la HAS recommande la poursuite de la prise en charge dérogatoire au titre du RIHN pour les signatures génomiques évaluées et éligibles à cette modalité de financement [60].

Aux Etats-Unis, l'alliance de la génomique et de la médecine se nomme la médecine génomique. En effet, le National Human Genome Research Institute (NHGRI) définit la médecine génomique comme "une discipline médicale émergente qui implique l'utilisation de l'information génomique des individus comme part entière de leur prise en charge clinique (par exemple pour le diagnostic ou le choix thérapeutique), avec des conséquences sur la santé et des implications dans les recommandations pour l'utilisation clinique" [58]. Les espoirs de la médecine génomique sont tels que le NHGRI estime qu'un nombre important de patients affectés par des maladies rares ou des cancers bénéficieront, grâce au séquençage en routine de leur génome, d'une prise en charge personnalisée. Ainsi le pronostic intrinsèque des cancers et la réponse aux traitements pourront être optimisés grâce à cette nouvelle discipline. Une personnalisation du traitement liée aux caractéristiques moléculaires de la tumeur, de la génétique constitutionnelle du malade et de la capacité du malade à développer une réponse immunitaire anti-tumorale.

L'Institut Mondial McKinsey a classé en 2017 le séquençage nouvelle génération (NGS) comme la 7<sup>e</sup> révolution technologique la plus importante au monde. Il est attendu que l'intégration avec succès de la médecine génomique dans la pratique clinique aura un impact économique substantiel, diminution du nombre de bilans inadaptés, imprécis et onéreux, réduction des délais d'analyse, choix du juste traitement ayant le meilleur rapport efficacité/toxicité et suppression des médicaments inutiles, élimination des effets secondaires à long terme parfois handicapants, gain d'années de vie. Le déploiement de la médecine génomique apparaît ainsi comme un enjeu de santé publique majeur car elle révolutionnait le développement de la recherche clinique, la prise en charge thérapeutique, le parcours de soin, et donc l'organisation de la santé publique [61].

#### 1.4. La pharmacogénétique

« La pharmacogénétique\* est l'étude de l'influence de la variabilité du génome dans la réponse aux médicaments. » La pharmacogénétique étudie les modifications de séquences de notre génome. La pharmacogénomique étudie le profil d'expression de nos gènes impliqués dans la susceptibilité aux maladies et la réponse aux médicaments au niveau d'une cellule, d'un tissu, d'un individu ou d'une population [62].

La pharmacogénétique est apparue en 1953 avec la description du phénotype\* acétyleur lent de l'isoniazide, un antituberculeux. Ce phénotype était associé à une augmentation de la neurotoxicité de cet antituberculeux. De plus, dans les années 1950 des syndromes particuliers rattachés au déficit de certaines protéines impliquées dans le métabolisme ou le catabolisme des médicaments sont décrit (exemple du déficient en glucose-6-phosphate déshydrogénase) [63].

Ces découvertes donnent suite, dix ans plus tard, au recueil d'effets indésirables survenus chez des patients avec certains médicaments. Ces effets indésirables sont alors associés à des concentrations circulantes très élevées de ces médicaments. Ces patients sont appelés « les métaboliseurs lents ». En effet, ces concentrations élevées de médicaments dans leur organisme sont associées à une élimination particulièrement lente chez ces patients. C'est ainsi que certaines enzymes hépatiques ont été découvertes : les cytochromes P450\* ou CYP [63].

La pharmacogénétique s'est d'abord focalisée sur des protéines intervenant dans l'absorption, le métabolisme (enzymes de phase I et II \*) et l'élimination de certains

médicaments. Puis la pharmacogénétique s'est étendue aux gènes codant pour la cible des médicaments (récepteurs, récepteurs canaux\*, enzymes) et aux protéines assurant la transduction du signal (protéine G, kinase\*, phosphatase\*, cholinestérase) [63].

En 2003 La FDA est la première agence d'enregistrement à exiger et à mentionner dans le résumé caractéristique du produit les tests pharmacogénétique avant l'introduction de certains médicaments « à risque » pouvant entraîner des effets indésirables graves. C'est le cas notamment pour le TPMT (6-mercaptopurine), UGT1A1 (irinotecan), CYP2C19 (voriconazole), CYP2C9 et VKORC1(antivitamine K) [63].

### Quelques grands noms de la pharmacogénétique

Le parcours du médicament dans l'organisme humain se résume en quatre phases : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination. Un médicament doit atteindre sa cible pour agir il y a donc un mécanisme mettant en jeu des transporteurs vers les récepteurs de la cible.

L'histoire de la pharmacogénétique est marquée par l'histoire de l'isoniazide. Cet antituberculeux introduit en 1953 a permis la découverte de la notion d'acétyleur lent. En effet chez les patients traités par l'isoniazide une élimination par voie urinaire variable d'un sujet à l'autre est observée [63].

Cette variabilité est telle que les acétyleurs lents sont plus à risque de neurotoxicité. Les enquêtes familiales ont mis en évidence une transmission autosomale récessive. Cette découverte est corroborée par les résultats d'Evans. En effet, il identifie les 2 groupes par dosage sérique de l'isoniazide 6 heures après l'ingestion du médicament. En 1991 sont identifiés deux allèles de la N-acétyl-transférase 2 : NAT2\*5 et NAT2\*6, mis en évidence chez 90% des acétyleurs lents [64].

Les sources de variabilité de réponses aux médicaments sont diverses. Les intervenants (enzymes du métabolisme, cytochromes P450 (CYP), transporteurs, récepteurs) peuvent être sujets à une variabilité d'expression (variabilité génétique) et d'activité. Ils peuvent être induits ou à l'inverse inhibés.

La pharmacogénétique trouve son utilité dans la détermination du statut « répondeur » ou « non répondeur », pour la prédiction de posologie\* personnalisée, ainsi que l'identification des sujets à risque pour la survenue d'effets indésirables.

Le polymorphisme est une source prévisible de variation de la réponse à l'administration d'un médicament chez l'homme, d'où son intérêt en pharmacogénétique. Pour parler de polymorphisme génétique\*, il faut que le phénotype le moins fréquent soit supérieur à 1% de la population générale, et que la transmission suive un mode Mendélien.

Le séquençage trouve une utilité lorsqu'il permet d'identifier un « Single Nucleotid Polymorphism » (SNP). Le séquençage du patient permet de caractériser les homozygotes sauvages, les hétérozygotes et les homozygotes mutés. Par la suite les enquêtes familiales servent à l'interprétation du variant (correspondance entre le variant et un phénotype particulier).

La codéine est métabolisée par le CYP 2D6 en morphine. Chez un métaboliseur normal, la codéine est transformée en morphine. Les métaboliseurs lents sont des sujets non répondeurs [65].

Le tamoxifène est une molécule utilisée dans le cancer du sein. C'est une pro-molécule c'est-à-dire que c'est le métabolisme qui lui permet d'avoir une activité anticancéreuse. Chez les métaboliseurs lents, on retrouve le même effet que le placebo\*.

Ainsi, avant d'initier un traitement, il peut s'avérer nécessaire de rechercher certains génotypes.

### 1er exemple d'application : Tacrolimus et polymorphisme génétique du CYP 3A5

Le tacrolimus est un immunosuppresseur utilisé contre le rejet des greffes. Ce médicament est utilisé à différentes doses, chez différents patients, pour avoir un effet thérapeutique correct. Il y a une hétérogénéité au niveau des patients. Ils ne répondent pas tous au même dosage optimal.

#### Polymorphisme génétique du 3A5 :

Le tacrolimus est un substrat du cytochrome 3A5. Les patients homozygotes exprimant le génotype CYP 3A5\*1/\*1 et les patients hétérozygotes ayant le génotype 3A5\*1/\*3 nécessitent des doses de tacrolimus plus élevées que les patients non expresseurs de ces génotypes. [66]

## 2ème exemple d'application : maladies cardiovasculaire et polymorphisme génétiques du CYP 2C9 (AVK) et CYP 2C19 (clopidogrel)

### Les AVK

Les anti vitamine K (AVK), sont des médicaments anti coagulants. Ils agissent en inhibant la carboxylation des acides glutamiques, empêchant ainsi la régénération de la vitamine K. Les génotypes des principaux polymorphismes génétiques CYP2C9 et VKORC1 permettent d'expliquer près de 54 % de la variabilité de la dose de warfarine, alors que les facteurs cliniques seuls n'en expliquent que 17 à 21 %.[67].

Ces données sont importantes car les anticoagulants oraux font partie des premiers médicaments responsables de iatrogénie médicamenteuse. Les métaboliseurs lents s'exposent donc à un risque de surdosage.

### Le clopidogrel

Le clopidogrel est un **pro-médicament**, anti agrégant plaquettaire. C'est-à-dire, qu'il est activé par le CYP 2C19. Le métabolite issu de la métabolisation du clopidogrel par le CYP 2C19 bloque, par une cascade de réaction, le récepteur du fibrinogène (facteur d'agrégation plaquettaire), ce qui lui confère sa propriété d'anti agrégant-plaquettaire. Les métaboliseurs lents présentent un risque de thrombose plus important.[68]

## 3ème exemple : Voriconazole et polymorphismes génétiques du CYP 2C19

Le voriconazole est un antifongique à large spectre, utilisé dans le traitement des aspergilloses invasives, infections invasives graves à *Candida*, résistants aux Fluconazole. Les effets indésirables fréquents dues au surdosage sont principalement des atteintes hépatiques, troubles cutanés chez les métaboliseurs lents. On peut génotyper le CYP 2C19 afin d'adapter la posologie en Voriconazole [Annexe 4.].

Des études ont été menées pour déterminer le pourcentage de métaboliseurs lents, intermédiaires, rapides ou ultra-rapides chez certaines populations ethniques. Mais quelle en est la valeur aujourd'hui ? A l'heure à laquelle le brassage génétique est de plus en plus important en outre grâce aux mouvements de population. Ce mémoire prend le parti de ne pas exposer ces résultats, mais de se concentrer sur la base des apports historiques et fondamentaux de la génétique. Une vision consciente des efforts de la génétique dans la

détermination de groupes génétiquement similaires et projetant des propositions de réponses pour la pérennité de cet art de la recherche génétique en recherche clinique.

## II. Réglementation des études génétiques en recherche clinique

### II.1. La recherche clinique

La recherche clinique repose sur des principes éthiques. Notamment sur des droits fondés sur le respect de la dignité et de la primauté de l'être humain participant à la recherche. D'après l'article L. 1121-2 du CSP aucune recherche ne peut être effectuée « si elle ne se fonde pas sur le dernier état des connaissances scientifiques et sur une expérimentation pré-clinique suffisante », « si le risque prévisible encouru par les personnes qui se prêtent à la recherche est hors de proportion avec le bénéfice escompté pour ces personnes ou pour l'intérêt de cette recherche », « si elle ne vise pas à étendre la connaissance scientifique de l'être humain et les moyens susceptibles d'améliorer sa condition », « si la recherche n'a pas été conçue de telle façon que soit réduit au minimum la douleur, les désagréments, la peur et tout autre inconvénient prévisible lié à la maladie, ou à la recherche en tenant compte particulièrement du degré de maturité pour les mineurs et de la capacité de compréhension pour les majeurs hors d'état d'exprimer leur consentement ». C'est donc que « l'intérêt des personnes qui se prêtent à une recherche biomédicale prime toujours sur les seuls intérêts de la science et de la société » [69].

Un essai clinique est mis en place s'il satisfait à l'examen des conditions de validité de la recherche par le Comité de Protection des Personnes (CPP). Le CCP est désigné de manière aléatoire par l'Agence National de Sécurité du Médicament (1er juillet 2014). Le CPP est agréé par le ministre en charge de la santé et est composé de membres pluridisciplinaires et indépendants.

Pour rendre son avis il prend en compte : pertinence de la recherche, le caractère satisfaisant de l'évaluation des bénéfices /risques attendus, l'adéquation entre objectifs poursuivis et moyens mis en œuvre, la protection des participants, l'adéquation, exhaustivité et intelligibilité des informations écrites à fournir ainsi que procédure à suivre pour obtenir le consentement éclairé, la qualification du ou des investigateurs, ainsi que les modalités de recrutement des participants. En cas de doute sur la qualification d'une recherche, le CPP peut saisir pour avis l'ANSM.

Concernant l'autorisation de l'autorité compétente. Bien que l'ANSM soit la seule autorité compétente en matière de recherche interventionnelle, son autorisation n'est pas nécessaire pour les recherches interventionnelles à risques et contraintes minimales ne portant pas sur les médicaments et recherches non interventionnelles.

La Loi Jardé garantit la possibilité de faire des recherches impliquant des personnes non affiliées ou non bénéficiaires d'un régime de sécurité sociale. Ainsi les personnes bénéficiant de l'aide médicale de l'Etat et les étrangers en situation irrégulière peuvent obtenir une autorisation motivée (art L1121-11 modifié). Ceci permet le recrutement d'un large panel de patient.

La loi Jardé garantit également la prise en charge de l'assurance maladie limitée aux recherches interventionnelles à finalité non commerciale, c'est-à-dire, les recherches interventionnelles publiques mais pas la recherche privée. Le but est de permettre aux structures publiques de contribuer également à l'effort de recherche clinique.

La réalisation d'une recherche suppose le respect des bonnes pratiques cliniques pour les médicaments, des recommandations de bonnes pratiques pour les autres recherches et sur la vigilance vis-à-vis des événements et effets indésirables. Les effets indésirables et notamment les effets indésirables graves sont des données extrêmement importantes. Un effet indésirable grave est un effet entraînant la mort, mettant en danger la vie de la personne qui se prête à la recherche, nécessitant une hospitalisation ou la prolongation de l'hospitalisation, provoquant une incapacité ou un handicap important ou durable, ou bien se traduisant par une anomalie ou une malformation congénitale. L'investigateur, la ou les personnes physiques qui dirigent et surveillent la réalisation de la recherche, doit notifier au promoteur sans délai tous les événements indésirables graves (sauf ceux recensés dans le protocole ou dans la brochure pour l'investigateur comme ne nécessitant pas une notification immédiate) et tous les événements indésirables. Le promoteur, la personne physique ou morale qui prend l'initiative de la recherche biomédicale, doit notifier les EEI à l'autorité compétente et au CPP, il doit également les informer sans délai des faits nouveaux intéressant la recherche et susceptibles de porter atteinte à la sécurité des personnes qui s'y prêtent, et le cas échéant des mesures prises (arrêt de la recherche, modification substantielle).

En cas d'arrêt prématuré de la recherche, le promoteur informe l'autorité compétente et le CPP et indique les raisons qui motivent cet arrêt. A la fin de la recherche, le promoteur et l'investigateur doivent rédiger un rapport final dans l'année qui suit la fin de la recherche.

Le résumé du rapport final qui contient les résultats de la recherche est transmis par le promoteur à l'autorité compétente.

Dans les pays en développement la recherche clinique nécessite de mettre en place la « double revue éthique » par un comité du pays promoteur. Elle est encadrée par des textes internationaux tels que la Déclaration universelle sur les droits de l'Homme de l'Unesco et les lignes directrices internationales de l'OMS (LD 3).

En France les dispositions ne s'appliquent qu'aux recherches mises en œuvre sur le territoire national. La loi Jardé garantit un mécanisme national d'examen éthique des protocoles de recherche financés et menés dans les pays étrangers (hors UE). Ainsi le promoteur peut soumettre le protocole à l'avis d'un CPP national. Ce CPP peut ainsi vérifier consentement libre et éclairé, protection des personnes vulnérables.

## II.2. La recherche génétique en essai clinique

La recherche clinique a été encadrée par des lois et des principes éthiques après un procès de crime contre l'humanité. Il en devient donc évident de la nécessité d'une réflexion et d'un encadrement éthique pour toutes nouvelles applications ou techniques introduites dans le domaine de la recherche clinique.

Afin de faire l'examen des nouvelles pistes en essais clinique, et plus particulièrement un focus sur le séquençage génétique, il est indispensable de rappeler l'encadrement législatif et éthique de cette application particulière touchant au matériel génétique. Le matériel génétique est considéré comme l'essence, l'identité de l'humain, il fait référence à son existence, ses prédispositions, son héritage génétique.

Les avancées scientifiques qui pourraient découler de l'application de la génétique dans les essais clinique, suscitent inéluctablement des questions à la fois fondamentales comme sur l'inexactitude de la science génomique et éthiques telles que la décision de la poursuite d'une grossesse, de la sélection génétique.

Le focus dont fait référence ce mémoire se concentre sur les applications génomiques comme complément à la recherche clinique dans un but de prévention ou d'amélioration du parcours de soin. Néanmoins, il convient de discuter les aspects entourant ces applications.

L'éthique biomédicale et la législation permettent de poser un cadre juridique strict. Selon le code de la santé publique Art. L. 1243-3 et L. 1243-4 CSP, le participant à la

recherche signe avant de participer à l'étude un consentement libre et éclairé. L'information donnée au patient doit lui être adaptée, elle doit lui être accessible à la compréhension et complète. Elle ne doit négliger aucun aspect, tant dans les protocoles, la description des visites et l'énoncé des examens invasifs ou non, l'objectif de l'étude et le traitement des données. En France, récemment a été promulguée la loi de protection des données. Cette loi insiste sur la protection des données des participants à la recherche, la confidentialité des données et l'anonymisation des documents sources [70].

C'est la recherche clinique dans ses aspects protocolaires, les applications et les découvertes qui en découlent qui sont encadrées. L'exploitation des résultats dans le cadre d'une activité commerciale, pour un usage scientifique, y compris à des fins de recherche génétique est mentionnée dans les articles Art. L. 1243-3 et L. 1243-4 du code de la santé publique. La « collection d'échantillons biologiques » est définie comme la « réunion, à des fins scientifiques, de prélèvements biologiques effectués sur un groupe de personnes identifiées et sélectionnées en fonction des caractéristiques cliniques ou biologiques d'un ou plusieurs membres du groupe, ainsi que des dérivés de ces prélèvements ». En effet, la constitution d'une collection à visée de recherche peut nécessiter : la collecte de résidus opératoires issus d'opérations de soins, de produits du corps humain (selles, urines, salive, sueur etc.), et également un prélèvement invasif pour les besoins de la recherche (prise de sang, etc.) [70].

Pour ces différents actes, le participant doit évidemment donner son autorisation ou sa non-opposition par le biais du consentement. Dans le cas d'un prélèvement invasif, la balance bénéfice-risques est calculée et importante. Ce protocole est soumis à l'ANSM et également au CPP en France (ou comité d'éthique pour les autres pays). Dans le consentement sont inscrits les conditions de réutilisation des échantillons même à d'autres fins que celles initialement prévues, ce qui vaut pour les études génétiques. Ce consentement est soumis à l'avis du CPP.

Il existe des procédures spécifiques avec l'Agence de la biomédecine notamment dans le cadre de prélèvements d'embryons, de fœtus, de cellules souches embryonnaires humaines. La conservation et la transformation d'éléments et produits du corps humain, incluant la constitution et l'utilisation de collections d'échantillons biologiques humains à des fins de recherche génétique, sont régies par les Art. L. 1243-3 et L. 1243-4 CSP.

Le cadre est posé, les sanctions en cas de dérive le sont également « Le ministre chargé de la recherche et, le cas échéant, le directeur général de l'agence régionale de

santé territorialement compétent peuvent à tout moment suspendre ou interdire les activités qui ne répondent plus à ces exigences » Art. L. 1243-3.

Au niveau mondial, les pays se sont penchés sur cette question des applications génétiques pour le progrès de la médecine. Le constat en est que des valeurs universelles ont été définies. En effet, la dignité, l'intégrité et la non-discrimination ressortent de manière générale dans la bibliographie.

Dans les années 1990, le screening génétique et la thérapie génique sont encadrées par des lois : aux Pays-Bas, la « population screening Act » de 1992 et 1996, en Australie, la « *Genetechnik law* » de 1994. La même année, la Norvège promulgue la « *Act relating to the application of biotechnololgy in medecin* ». En France, il y a notamment les lois de bioéthique de 1994 à 2019 et la convention des droits de l'Homme et de la biomédecine de 1997. Ces lois évoluent grâce à une succession d'amendement venant apporter des précisions selon les besoins de l'évolution de la recherche. Ainsi cette thématique n'est pas nouvelle et tend à évoluer encore dans les prochaines années.

### III. Analyse

#### III.1. Et la France ?

La France est le premier pays à avoir constitué un Comité Consultatif National d'Éthique (CCNE) pour les sciences de la vie et de la santé décrété le 23 Février 1983 par le Président de la République François Mitterrand. Cette institution indépendante strictement consultative a pour but de créer une réflexion sur le versant éthique des avancées médicales en créant notamment des débats publics sous forme d'états généraux. Il produit des avis et des rapports sur les questions pour lesquelles il est saisi.

En 2015, le premier ministre français demande à Alliance Aviesan l'examen de la mise en place et la prospective sur 10 ans des conditions de l'accès au diagnostic génétique en France, cette demande est appelée « Le plan France Médecine Génomique 2025 ». Le Plan France Médecine Génomique 2025 vise à intégrer la médecine génomique dans le parcours de soins et la prise en charge des pathologies rares ou communes. Le ministre de la santé lance en décembre 2016 un appel à projets national. Deux plateformes génomiques à visée diagnostique et de suivi thérapeutique sont alors financées. Dix autres sont encore attendues.

Concernant les deux projets retenus, il s'agit des projets SEQOIA (Sequencing, Omics, Information Analysis) porté par l'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP) et AURAGEN (AUvergne Rhône-Alpes Génomique). Les deux projets sont encore en cours de réalisation mais montrent bien une volonté de la France à s'inscrire aux côtés des Etats-Unis comme une grande puissance impliquée dans l'avancée de la biomédecine et confiante dans la médecine personnalisée [71].

Après cette revue des textes législatifs et de la progression du gouvernement sur l'utilisation de l'outils de la génétique en médecine, poursuivons par un cas pratique pour comprendre le raisonnement logique conduisant à l'utilisation du séquençage génétique en essai clinique.

### III.2. Cas pratique : Dal-HEART Program

Le programme « Dal-HEART » initiée par le laboratoire Roche a pour but d'explorer les effets du Dalcetrapib [figure 3] sur la fonction vasculaire et la progression de l'athérosclérose.

L'athérosclérose est une maladie de l'artère. C'est l'une des causes majeures de morbi-mortalité dans les pathologies cardiovasculaires. Elle se résume en un dépôt de lipides (notamment du cholestérol) entre la couche de cellules musculaires lisses de l'artère (la média) et l'endothélium (revêtement de la paroi interne de l'artère). Ce dépôt de lipides est appelé "plaque d'athérome". Cette plaque d'athérome perturbe le bon fonctionnement de l'endothélium et provoque un rétrécissement de l'artère. Ce rétrécissement de l'artère perturbe le flux sanguin et peut engendrer la formation de thrombus. Le thrombus a un impact physiologique non négligeable car il peut provoquer un infarctus du myocarde (notamment si le thrombus apparaît dans une coronaire), un accident vasculaire cérébral ou une embolie périphérique [72].

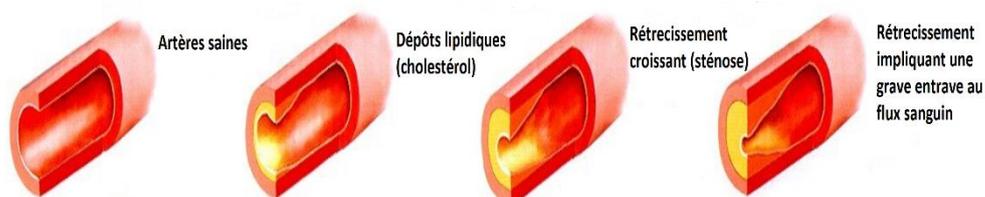


Figure 7. Schéma d'une artère sclérosée

Le programme Dal-HEART inclut plusieurs études avec des critères de jugement différents selon l'étude. Par conséquent ce programme se veut d'offrir une vision la plus large possible des effets du Dalcetrapib en prenant en compte les facteurs environnementaux pouvant intervenir dans l'action de ce médicament. Ce cas pratique illustre une application de l'outil génétique en essais cliniques. L'application de la génétique dans le programme Dal-HEART n'est pas apparue en première ligne. En effet le but de ce programme est principalement de prouver que le dalcetrapib n'a pas d'effet pro-inflammatoire, n'affecte pas la pression artérielle et est généralement bien toléré.

Il est intéressant d'observer la progression de ce programme vers l'outil de la génétique. Il est d'abord évident de commencer cette analyse par un résumé des études du programme Dal-HEART. Ce dernier comprend plusieurs études : deux phases IIb (dal-VESSEL et dal-PLAQUE) sur deux ans ; une étude de phase III (dal-ACUTE).

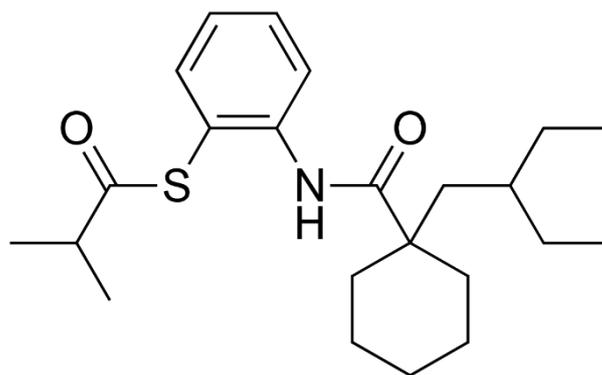


Figure 8. Structure chimique du Dalcétrapib<sup>[73]</sup>

Le Dalcetrapib est un inhibiteur de la cholesteryl ester transferase (CETP). La CETP est une protéine plasmatique qui permet l'échange d'ester de cholestérol des High Density Lipoprotein (HDL) avec les triglycérides des Very Low Density Lipoprotein (VLDL). Ce transfert diminue la concentration du HDL cholestérol anti-athérogène et augmente celle des VLDL pro-athérogènes et du LDL cholestérol, expliquant que la CETP soit potentiellement athérogène [73,74,75].

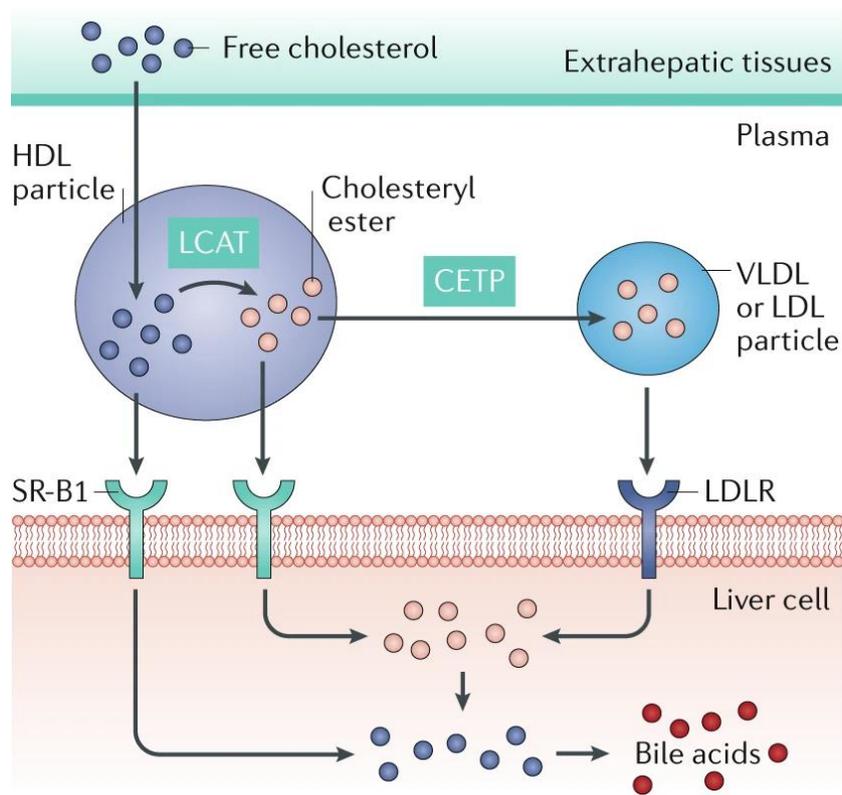


Figure 9. Mécanisme d'action de la CETP<sup>[76]</sup>

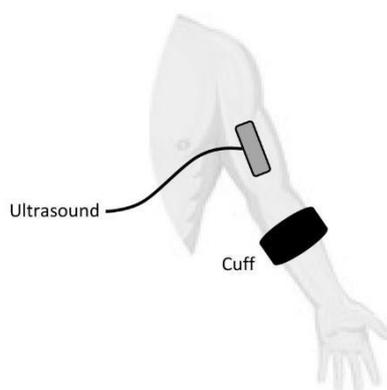
Les particules HDL sont des lipoprotéines sans cholestérol synthétisées dans les hépatocytes\* et les entérocytes\*. Les tissus extrahépatiques éliminent l'excès de cholestérol en le transférant sous forme de cholestérol libre aux particules de HDL. Ce cholestérol libre est ensuite envoyé soit directement au foie par un processus dépendant du récepteur de piègeur hépatique B1 (SR-B1), soit indirectement par conversion en esters de cholestérol par la lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT). Les esters de cholestérol sont transportés vers le foie soit par une voie directe, mais mineure, dépendante de SR-B1, soit par une voie principale indirecte impliquant le transfert vers des particules de lipoprotéine de très faible densité.

VLDL et de LDL par la protéine de transfert d'esters de cholestérol (CETP). L'ester de cholestérol est ensuite absorbé par le foie à partir de ces particules via le récepteur LDL (LDLR). L'inhibition de la CETP augmente les taux de cholestérol HDL et diminue la quantité de cholestérol dans les particules de VLDL et de LDL athérogènes de l'apolipoprotéine B [75,76,77,78].

En inhibant l'action de la CETP, le Dalcetrapib entraînerait donc de manière indirecte l'augmentation de la concentration de HDL, ce qui ralentirait la progression des plaques athéroscléreuses et ainsi la prévention des évènements cardiovasculaires.

### III.2.A. Dal-VESSEL

Dal-Vessel est une étude de phase IIb contre placebo randomisée en double aveugle, qui a pour objectif d'évaluer l'effet du dalcetrapib sur la fonction endothéliale en utilisant une dilatation induite par le flux brachial (FMD) [figure 5] chez les patients recevant du dalcetrapib ou du placebo après 12 semaines de traitement.



*Figure 10. Schéma de la FMD*

La FMD est une technique non invasive, utilisant des ultra-sons à haute fréquence pour mesurer le flux sanguin de l'artère brachiale.

L'étude dal-VESSEL (NCT00655538) a exploré les effets du Dalcétrapib sur la pression artérielle, les marqueurs inflammatoires et les lipides chez les patients présentant un risque de maladie coronarienne ou présentant un risque de cette maladie. Pour cette étude 476 patients ont été randomisés.

Les patients ont reçu 600 mg de Dalcétrapib par jour ou un placebo pendant 36 semaines en plus d'un traitement standard incluant les statines. Les critères de jugement principaux\* étaient le changement de la dilatation médiée par le flux (% FMD) de l'artère brachiale droite à 12 semaines et la surveillance ambulatoire de la pression artérielle (MAPA) à 24 semaines.

Les critères de jugement secondaire incluaient la modification de la MAPA à 12 et 36 semaines, la modification des taux des C-HDL, C-LDL et des triglycérides, la modification

de l'activité de la CETP. Après 4, 24 et 36 semaines de traitement par le Dalcétrapib, l'activité de la CETP a diminué de 51, 53 et 56% (tous les  $p < 0,0001$ ). A la 4<sup>e</sup>, 12<sup>e</sup> et 36<sup>e</sup> semaines, le taux de C-HDL a augmenté de 25, 27 et 31% (tous les  $p < 0,0001$ ). Les taux de cholestérol à lipoprotéines de basse densité n'ont pas changé. Au départ, la MAPA était de  $125 \pm 12/74 \pm 8$  mmHg dans le groupe placebo et de  $128 \pm 11/75 \pm 7$  mmHg dans le groupe dalcétrapib ( $P = 0,3372$  et  $0,1258$ , respectivement) et n'a pas changé jusqu'à 36 semaines.

Les biomarqueurs de l'inflammation, du stress oxydatif et de la coagulation n'ont pas changé pendant le suivi, à l'exception des niveaux de masse de Lp-PLA (2) qui ont augmenté de 17%.

L'étude dal-VESSEL a ainsi établi la tolérance et l'innocuité de l'inhibition de la CETP par le dalcétrapib chez les patients atteints de coronaropathie ou exposés à ce risque. Le dalcétrapib a réduit l'activité de la CETP et augmenté les taux de C-HDL sans affecter la fonction endothéliale du NO, la pression artérielle ou les marqueurs de l'inflammation et du stress oxydatif [73].

### III.2.B. Dal-Acute

L'étude Dal-ACUTE ([NCT01323153](#)) est une étude multicentrique de phase III en double aveugle, randomisée, contrôlée contre placebo. Elle évalue l'efficacité et l'innocuité du dalcétrapib sur les lipides, les lipoprotéines, les apolipoprotéines et les marqueurs du risque cardiovasculaire chez 300 patients hospitalisés pour un syndrome coronarien aigu (SCA) ayant débuté un traitement dans la semaine suivant le SCA et pour une période de 25 semaines.

Durant cette étude, les taux de Cholesterol HDL (C-HDL) ont été comparés à l'initiation du traitement par Dalcétrapib (dans la semaine suivant le SCA) versus après 4 semaines de traitement. Lors de la randomisation\*, les patients éligibles seront randomisés pour recevoir un traitement avec 600 mg par jour de dalcétrapib ou un placebo pendant 20 semaines.

Le critère d'évaluation principal était la variation en pourcentage du C-HDL après 4 semaines. Les critères d'évaluation secondaires comprenaient les taux d'apolipoprotéines, les marqueurs de la fonction des C-HDL et l'inflammation. Le traitement par Dalcetrapib a entraîné une augmentation de 33,7 et 11,8%, respectivement, du taux de C-HDL et de l'apolipoprotéine A ( $p < 0,001$ ) et de 9,5% de l'efflux de cholestérol total ( $p = 0,003$ ) après 4

semaines. Les concentrations de HDL obtenues par inhibition de la CETP avec le dalcétrapib améliore l'efflux de cholestérol.

### III.2.C. Dal-PLAQUE

L'étude Dal-PLAQUE (NCT00655473) est une étude de phase IIb contre placebo. L'objectif était d'évaluer l'effet du dalcétrapib sur les plaques d'athérosclérose chez 130 patients sous traitement hypolipémiant. Cette étude visait à étudier la relation entre un large spectre de biomarqueurs inflammatoires (interleukine 6, selectine P et E solubles, molécule d'adhérence intracellulaire ainsi que la molécule d'adhérence cellulaire vasculaire) du sérum et l'inflammation de la plaque évaluée par Tomographie par Emission de Positrons-FluoroDésoxyGlucose / Tomodensitométrie (FDG-PET / CT) de l'aorte et de l'artère carotide.

Les chercheurs ont évalué les concentrations en biomarqueurs de l'inflammation au screening et tous les 3 mois. Les résultats de cette étude démontrent que, chez les patients atteints de coronaropathie ou présentant un risque élevé de coronaropathie sous traitement hypolipémiant stable, les taux de myéloperoxydase en circulation sont associés à une inflammation de la plaque carotidienne.

### III.2.D. Dal-OUTCOMES

L'étude Dal-OUTCOMES (NCT00658515) est une étude de morbi-mortalité de phase III contre placebo incluant 15871 patients ayant récemment eu un SCA. Ils ont reçu le dalcétrapib, inhibiteur de la CETP, à une dose de 600 mg par jour, ou un placebo. L'objectif était d'évaluer l'efficacité du Dalcetrapib sur la réduction d'infarctus du myocarde et d'Accident Vasculaire Cérébral (AVC) chez des patients atteints de coronaropathie ayant récemment eu un syndrome coronarien aigu.

En conclusion, l'analyse statistique de l'étude menée par Roche a démontré que chez les patients ayant récemment eu un SCA, le taux de cholestérol HDL a augmenté mais le Dalcétrapib n'a pas réduit le risque d'événements indésirables cardiovasculaires [73].

C'est justement en raison de cette dernière démonstration que Roche a décidé en 2012 d'arrêter l'étude Dal-OUTCOME.

### III.2.E. Dal-GENE

Tout au long du programme Dal-HEART, Roche a exploré un large panel d'activité de sa molécule. Suite à l'analyse statistique des sous-groupes de patients corrélant les réponses physiologiques aux génomes d'intérêt intra-groupe, en observant symptômes, marqueurs biologiques, et épisodes coronariens et ou cardiaques, le laboratoire Roche a isolé une catégorie de population spécifique permettant l'exploitation du traitement. Néanmoins, pour des raisons économiques, ce n'est pas le laboratoire Roche qui sont promoteurs de l'étude Dal-GENE. Cette étude est promue par le laboratoire DalCore pharmaceutical.

L'étude Dal-GENE est une étude de phase III randomisée contre placebo qui évalue l'efficacité du traitement sur les événements cardiovasculaires cliniques chez 6000 patients porteurs du génotype AA spécifique au gène ADCY9 et ayant récemment eu un syndrome coronarien aigu [73].

## IV. Critique de l'outil

### IV.1. Limites

Dans un but de connaissance sur les facteurs de risque, ou la prédominance de certaines maladies dans certaines populations, bon nombre d'étude utilise des questionnaires patients dans leur protocole et pose la question suivante : « origine ethnique : ? ». Cependant, cette question engendre certaines difficultés chez les patients ayant plusieurs origines. Il est difficile de les classer dans une population spécifique. Cette question très répandue admet donc des limites.

Ne serait-ce pas plus exact d'utiliser l'outil de la génétique pour établir des facteurs de risque liés à l'origine de l'individu ? Ainsi la signature génétique renseignera les facteurs de risques originels de l'individu, des facteurs liés à son héritage génétique et également aux différents facteurs environnementaux ayant eu une influence sur l'empreinte génétique du patient.

De plus, en laissant le patient répondre à cette question à prime abord toute simple, cela pourrait provoquer certains biais, dont le biais d'attrition ou encore un biais de confusion. A l'heure où le Case Report Form (CRF) papier tend à disparaître, les nouvelles études ont en général un eCRF (CRF électronique) où sont codées les réponses. Le data

manager laisse donc un choix limité quant à la réponse de cette question. Si aucun champ proposé ne correspond à l'ethnicité du patient, il est d'accoutumé de laisser un champ en « blank » c'est-à-dire sans aucune réponse. Il s'agit là d'un biais d'attrition : le manque de donnée engendrant une erreur systématique dans l'exploitation statistique de la donnée. Un facteur limitant vient ainsi engendrer indirectement un biais. L'utilisation de la génétique pour répondre de manière scientifique et exacte à cette question éviterait alors un biais des analyses statistiques. En effet, fixer les facteurs génétiques comme un critère précis permettrait une analyse statistique plus complète en réduisant les biais possibles. Bien que l'outil de la génétique soit conséquent au niveau du coût, il est indéniable que d'un point de vue scientifique la question de l'ethnicité deviendrait alors obsolète.

## IV.2. Avantages

Il en devient évident qu'en ce qui concerne la médecine personnalisée, c'est l'intérêt du patrimoine génétique qui est au premier plan. La lecture de ces facteurs est alors claire et les statistiques peuvent révéler de véritables découvertes concernant les gènes responsables, ou totalement ou en partie d'une maladie. Ces gènes sont donc classés comme constituant un facteur de risque ou à l'inverse un facteur protecteur.

En outre de limiter les biais, l'outil de la génétique permettrait d'augmenter le niveau de preuve des études et renforcer la pertinence clinique des essais.

Le choix thérapeutique adapté au patient c'est là l'avenir des essais cliniques. Il est désormais question de se concentrer sur le gène d'intérêt de la maladie. L'approche de facteurs de risque « population » n'est pas mise à l'écart mais peut être précisée et tendrait plus vers une population dite « génétique ».

## IV.3. Axes d'amélioration

Le problème reste dans la formulation de certains questionnaires de certaines études où l'origine ethnique des participants est demandée, sans prendre en compte les facteurs environnementaux, comme des habitudes culturelles culinaires qui prévaudraient. Des facteurs de risque alimentaires favorisent certaines maladies (exemple : manger trop salé pour l'hypertension artérielle ou s'exposer trop au soleil qui prévaut pour le cancer de la peau). L'origine ethnique de certaine population très métissée pourrait également être vue sans fondement car le brassage génétique de ces populations étant très important leur profil

généétique ne correspondait à aucun profil ethnique déjà défini dans une base. Ainsi, l'approche visant à déterminer des profils génétiques à risque pour une pathologie donnée paraît plus adaptée. L'intérêt serait alors porté sur des facteurs de risques spécifiques à une maladie, plutôt qu'une empreinte génétique dite de population.

Il faut avoir en tête, les mouvements de populations de plus en plus importants, ainsi que le brassage génétique qu'ils engendrent. Dans les années à venir ; il sera difficile de constituer un génotype ethnique type. En raison des mutations génétiques engendrées par les facteurs environnementaux, il sera important de revoir cette vision.

La médecine personnalisée est donc un espoir en soins préventifs et également pour améliorer le parcours de soins des patients. Il paraît désormais indispensable d'inclure la dimension génétique dans les études cliniques pour la santé du patient, valoriser la prise en charge et le choix du parcours de soin. Ce qui permettrait de tendre ainsi vers un parcours de soin adapté ou au mieux personnalisé grâce à l'union de ces deux sciences. Une réflexion plus pointue sur la réglementation de cette application dans le domaine des essais cliniques est donc nécessaire. L'examen de l'utilité du séquençage génétique en essais cliniques démontre bien l'importance du cadre législatif et l'évolution qui tend à s'accélérer dans le domaine.

#### IV. 4. Cadre juridique et éthique du séquençage génétique dans les essais cliniques

Il est intéressant de confronter le cadre réglementaire juridique et éthique du séquençage génétique dans les essais cliniques. La génétique médicale est reconnue comme spécialité médicale par la loi n° 95-116 du 4 février 1995. Le décret en Conseil d'État (art. 2) précise les conditions où la génétique médicale s'applique.

Le cadre juridique de la génétique médicale est posé notamment pour le diagnostic prénatal. Il est vrai qu'il est possible de diagnostiquer une maladie avant même que l'être ne naisse. Il va de soi que le cadre soit posé pour éviter toutes dérives et que l'outil ne serve qu'à des fins d'amélioration du parcours de soins pour la mère et l'enfant. Ainsi, les « analyses de cytogénétique et de biologie en vue d'établir un diagnostic prénatal », peuvent être réalisées que « dans des établissements publics de santé et des laboratoires d'analyses de biologie médicale autorisés » ; les autorisations « sont délivrées pour une période de cinq ans et sont accordées après avis de la Commission nationale de médecine et de biologie de la reproduction et du diagnostic prénatal » [79].

Pour l'utilisation de la génétique dans la recherche, le patient aura besoin d'être informé de manière précise et rigoureuse. L'utilisation de la génétique dans un but d'optimisation des soins soulève également des questions dans la prise de décision du patient.

L'annonce du résultat du test génétique est également encadrée par la loi. « Le médecin consulté délivre une attestation certifiant qu'il a apporté à la personne concernée les informations définies ci-dessus et qu'il en a recueilli le consentement » article L. 145-15-4. De plus, le praticien « ne doit communiquer les résultats de l'examen des caractéristiques génétiques qu'à la personne concernée, ou à celle titulaire de l'autorité parentale s'il s'agit d'un mineur, et à son représentant légal s'il s'agit d'un majeur sous tutelle » (art. R. 145-15-14 du CSP) [80,81].

La loi n° 94-654 insère un titre VI intitulé « Médecine prédictive et identification » qui deviendra par la suite « Médecine prédictive, identification génétique et recherche génétique », dans le livre 1er du Code de la santé publique ainsi que les articles L. 145-15 à L. 145-21. L'article L. 145-15 précise que « l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne, ou son identification par empreintes génétiques, lorsqu'elle n'est pas réalisée dans le cadre d'une procédure judiciaire, ne peut être entrepris qu'à des fins médicales ou de recherche scientifique et qu'après avoir recueilli son consentement ». « Lorsque cet examen ou cette identification est effectué à des fins médicales, le consentement est recueilli par écrit » [82].

L'utilisation de la médecine génétique dans un but d'optimisation du parcours de soin n'a pas un but prédictif principalement. Cependant, en séquençant le patrimoine génétique d'un patient, le risque est de dépister fortuitement une maladie génétique.

Les aspects éthiques de la médecine prédictive légitiment les usages de l'information produite par des tests capables d'identifier chez un individu des caractéristiques génétiques le prédisposant à une maladie future alors qu'il existe peu ou pas de mesures préventives ou curatives.

#### IV.5.A. Consensus international

Il existe un consensus international autour de cinq principes fondamentaux : autonomie ; respect de la vie privée ; justice ; équité ; qualité. Le principe d'autonomie implique la participation volontaire et le consentement éclairé. Le patient doit être informé

des implications de l'analyse de son génotype. L'article L. 145-16 précise que « sont seules habilitées à procéder à des identifications par empreintes génétiques à des fins médicales ou de recherche scientifique les personnes ayant fait l'objet d'un agrément dans des conditions fixées par décret en Conseil d'État ». La problématique pouvant se poser est celle du niveau de connaissance du patient au sujet des études cliniques [83].

Ainsi le principe de l'égalité des droits est garanti à travers l'information au patient. Il doit avoir connaissance comme tous les autres patients des implications de la recherche.

Le respect de la vie privée sous-entend la non intervention des conséquences du suivi sur la vie privée du patient. Le patient est protégé car il est inclus dans une étude. Cette protection s'étend également hors études cliniques, grâce aux articles 16-10 du Code civil et article L.145-15 du Code de la santé publique. La loi garantit au patient la non divulgation de ses résultats génétiques. En effet, auprès de l'assureur l'information génétique est particulièrement sensible. Il n'a donc pas le droit de demander ces informations, ni de les utiliser s'elles étaient portées à sa connaissance. En effet ces actes seraient une discrimination sur caractéristique génétique. Le patient est donc protégé.

L'équité garantit l'égalité d'accès aux tests et à l'information génétique et l'absence de contraintes. La qualité quant à elle, est garantie par la rigueur qui s'impose dans la pratique. La procédure est standardisée « d'un protocole type de prise en charge et être déclarée au ministère chargé de la santé » (art. R. 145-15-5 du CSP) [84].

#### IV.5.B Droit de ne pas savoir

Avec cet outil la question qui peut se poser est d'effectuer également le test génétique chez la famille en évaluant le lien de parenté. Cette décision pouvant engendrer d'autre décision allant du diagnostic à l'inclusion dans un protocole de soins, relève une des limites de cet outil. En effet, ouvrir d'une telle manière les champs de possibilité dans la connaissance du patrimoine génétique d'un individu, laisse au patient le choix de décider ou non de la connaissance d'un diagnostic. Ainsi, toutes les questions éthiques liées à l'exploitation des outils génétiques et des informations obtenues grâce à cet outil doivent être analysées et prises en compte.

La réflexion sur ce sujet est donc primordiale et doit être collégiale avec l'ensemble des professionnels de santé et également avec les patients car il en est de leur droit d'être libre de savoir ou non leurs prédispositions génétiques.

Si cet outil est admis comme un outil pouvant être utilisé dans des procédures de routine, cela pourrait mettre la pratique au-devant de quelques difficultés. Dans tous les cas, le consentement libre et éclairé du patient serait indispensable à la réalisation de ces tests. Ainsi il aurait le choix de cette analyse. Dans un même temps, si cette procédure est utilisée pour l'optimisation de son parcours de soins, le choix qui se pose au patient est une chose toute relative. En effet son choix sera orienté vers ce qui pourrait lui sauver la vie et le dépistage en découlerait. Le CSP précise pour « étudier les caractéristiques génétiques d'un ou plusieurs membres de la famille, il appartient à la personne concernée, sur les conseils du médecin prescripteur, d'obtenir le consentement de chacun d'entre eux » (art. R. 145-15-4 du CSP). « La personne concernée peut refuser que les résultats lui soient communiqués : dans ce cas, le refus doit être consigné par écrit dans le dossier du malade ». Un des fondements de la recherche clinique serait alors appliqué en routine pour l'utilisation de cet outil.

#### IV.5.C. Cadre éthique

En France, le Comité Consultatif National d'éthique (CCNE) envisage la généralisation d'exams génétiques auprès d'un grand nombre de sujets. Selon les articles R. 145-15-6 à R. 145-15-13 du CSP, les praticiens doivent être agréés et les structures (établissement de santé et laboratoires) pratiquant les tests génétiques doivent obtenir une autorisation.

Une analyse de cytogénétique (qui étudie les chromosomes) et une analyse de génétique moléculaire (qui étudie les gènes) sont considérées au même titre comme un test génétique, que leur prescription ait lieu chez une personne symptomatique ou asymptomatique (art. R. 145-15-2 du CSP). Ainsi l'utilisation de cet outil pourrait tendre à se développer, le cadre réglementaire étant posé.

Contrairement aux autres analyses médicales, seul le prescripteur peut rendre le résultat. La sensibilité de cette donnée sous-entend que les études de catégorie 3 sont à l'heure actuelle dans l'impossibilité d'utiliser cette donnée. En effet, en l'état de l'art actuel et selon la réglementation en vigueur, le généticien clinicien ayant effectué l'examen de génétique ne peut répondre sur ce sujet à la sollicitation d'un de ses confrères. Néanmoins l'évolution technologique et informatique ainsi que le progrès de la sécurisation des données pourraient permettre une avancée.

Les tests génétiques ont été véritablement encadrés dans les années 2000, malgré des différences notables avec l'encadrement des tests prédictifs. Les analyses présymptomatiques sont très encadrées par la loi. Il faut tout d'abord une consultation avec un généticien, une avec le spécialiste d'organe en lien avec la pathologie testée et un avec une psychologue au minimum, suivi d'un délai de réflexion. Dans ce cadre, seuls les généticiens ou les spécialistes en lien avec une équipe de génétique médicale ont le droit de prescrire.

Il est important de relever cette volonté de distinguer la réglementation de ces deux applications de la génétique dans le domaine. Pour ces études il existe une Commission consultative nationale en matière d'examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales (art. R. 145-15-16 du CSP), différente de la Commission nationale de médecine et de biologie de la reproduction et du diagnostic prénatal (art. L. 184-3 du CSP et décret n° 95-558). L'une ayant une répercussion directe sur l'avancé de la connaissance médicale, l'autre ayant un impact direct sur la vie du patient.

## V. Complexité de la génétique

### V.1. La génétique

L'ADN d'un individu correspond le plus souvent à un héritage à part égale de son père et de sa mère. En fonction du mécanisme génétique, certaines maladies peuvent se transmettre selon différents modes. Il existe trois principaux modes de transmission: autosomique dominant, autosomique récessif, lié à l'X.

Certaines variations géniques ne sont pas héritées mais résultent d'une variation *de novo* survenant de façon accidentelle, lors de la fabrication des gamètes (spermatozoïdes ovocytes) ou bien très tôt après la fécondation. L'anomalie génétique peut survenir dans une autre cellule qu'un gamète. Elle ne concerne alors que quelques cellules au sein de l'organisme. Selon le mécanisme affecté par la variation acquise, les cellules peuvent alors être à l'origine de cancers. Ce sont des maladies génétiques somatiques, acquises par le patient au cours de sa vie.

Autant le séquençage génétique permet un résultat exact de la séquence d'ADN d'un individu, autant son interprétation est le résultat de plusieurs études expérimentales rassemblant expertise, observation de pathologies et d'individus. Ainsi l'interprétation de la

séquence d'ADN d'un individu est une pratique complexe qui doit nécessiter la prise en compte de plusieurs facteurs.

La complexité de la méthode ainsi que les outils de haute performance justifient le caractère onéreux de cette pratique. Un inconvénient non négligeable lorsque l'on connaît, en France par exemple la situation de notre système de remboursement. Les examens de génétique ne sont pas remboursés selon la base des autres examens courants de biologie. En effet, il s'agit d'une enveloppe ministérielle qui est divisé entre les différents centres de génétiques. Les analyses sont facturées soit au service prescripteur soit au patient. Les généticiens sont donc limités chaque année par le montant de cette enveloppe en nombre d'analyses réalisées.

La médecine personnalisée est donc une science extrêmement sensible et se veut d'être encadrée de manière stricte pour éviter toutes dérives. En effet, les aspects éthiques de la connaissance de l'empreinte génétique et l'utilisation de ces connaissances nécessitent une confidentialité assurée afin que seul le patient et son praticien aient ces informations en leur possession.

A l'heure où la sécurité de données patientes se voit renforcée avec notamment la loi relative à la protection des données personnelles promulguée le 20 Juin 2018. Devant le bénéfice que cela apporterait à l'adaptation du parcours de soins, cette nouvelle piste en essais cliniques devrait tendre à se développer car elle est applicable et réglementairement encadrée.

## V.2. Réglementation

Depuis la loi Jardé, en France, la création d'une collection biologique dans le cadre d'un projet de recherche nécessite l'avis du CPP, plus la déclaration au Ministère de l'éducation supérieur et de la recherche (MESR) [85].

Cet outil ne limiterait pas le recrutement de patients et permettra un recrutement hétérogène au niveau ethnicité et le focus sur le gène d'intérêt de la maladie. Bien que la génétique ait prouvé que chez certaines populations, il y avait une prévalence pour un SNP donné, l'analyse d'empreinte génétique de patients d'ethnicités multiples pourrait révéler d'autres aspects de la pathologie ou de la réponse au traitement selon certains SNP. En effet, tous les individus ont les gènes. Ce sont les variations au sein de ces gènes qui différencient les individus.

Avec l'évolution de la société, de ses mœurs, de l'interdit et du permis, (culturellement et/ou socialement construites), la médecine génomique ou médecine personnalisée tend à se développer et voir son utilisation se généraliser.

### V.3. Retour d'expérience

Les applications de la génétique ont déjà contribué à de grandes avancées dans le domaine du médicament. En effet les scientifiques sont dorénavant capables d'injecter au patient des vecteurs (tel que des virus désactivés) pour cibler des cellules spécifiques et y insérer des facteurs capables de réarrangement génétique, suppression ou ajout de séquence génétique : c'est la thérapie génique.

L'application de la génétique tel qu'exposée dans mon mémoire est également un espoir dans les maladies rares. En effet dans ces maladies trop peu connues, les avancées et découvertes génétique pourraient permettre à la médecine personnalisée de prendre en charge de manière optimale ces pathologies rares.

L'information prédictive obtenue grâce à l'exploitation des résultats du séquençage génétique implique la responsabilité déontologique du médecin. La sensibilité de ces informations peut amener à des dérives telles que la discrimination dans la vie sociale. Ainsi les aspects éthiques de la médecine génomique garantissent au patient son droit à une information complète mais également son droit de ne pas savoir. En France le médecin a le droit de ne pas tout dire « quand la révélation peut s'avérer dangereuse et destructrice pour le sujet, son environnement, sans bénéfice réel attendu » [86].

Un comité du gouvernement britannique autorise les assureurs à demander les résultats du test de la maladie de Huntington. Cependant en France, « le fait de détourner de leurs finalités médicales ou de recherche scientifique les informations recueillies sur une personne au moyen de l'étude de ses caractéristiques génétiques » est condamnable (art. L. 145-17 du CSP et art. 226-26 du Code pénal) [87].

L'objectif d'un test générique peut être : confirmer le diagnostic d'une maladie génétique chez une personne symptomatique, améliorer le conseil génétique, dire si un sujet asymptomatique, mais exposé à développer une maladie, est porteur ou non d'une anomalie identifiée sur un gène comme étant responsable d'une pathologie. L'article L. 145-15-1[88].

Interrogés sur le sujet, des professionnels de santé à travers le monde restent unanimes. L'utilisation accrue de la génétique dans les essais cliniques serait un véritable tremplin pour les découvertes médicales et par conséquent le progrès de la prise en charge thérapeutique des patients. Néanmoins la complexité de cette science et la connaissance des facteurs génétiques protecteurs ou facteurs de risques liés à des maladies, privilégieraient certaines pathologies pour lesquels la connaissance génétique est déjà bien avancée. Ceci n'empêche pas la progression de la recherche dans les autres pathologies. En effet, dans des pathologies multifactorielles comme l'hypercholestérolémie, la présence de nombreux facteurs de risque pousse à privilégier une recherche axée sur ces facteurs de risque au détriment des facteurs génétiques, et ce sûrement à raison lorsque l'on sait qu'une prédisposition génétique peut être sujette à des variations dans le phénotype qu'elle provoque, notamment par les phénomènes de méthylation. Dans ce cas, il est certes préférable de travailler sur des facteurs de risque connus et que l'on peut maîtriser.

Là où l'exploitation de l'outil génétique ressort lors de l'interview des professionnels de santé c'est l'aspect éthique comme évoqué précédemment. En effet, lorsque cette question est posée, la réponse est encore unanime. Certes il est très sensible de poser la question de l'ethnicité, mais l'on sait que part des phénomènes de sélection génétique, l'environnement du sujet à une grande importance, en plus du fait que chaque population ait un bassin de variation qui lui est propre. C'est sûrement pour cela que dans un premier temps les généticiens ont eu tendance à catégoriser les sujets dans des groupes ethniques. Cependant aujourd'hui les discours sont plus sensibles sur l'aspect éthique, on notera une volonté de catégoriser cette fois par région [Annexe 5].

D'autre part, le retour d'expérience montre que dans certains CRF le terme "race" apparaît pour catégoriser l'ethnicité du patient. Un terme condamné notamment par le Pr Sablonnière. Cette terminologie pouvant être sujet à polémique peut ne pas être comprise par le patient. De ce fait, en 2019 une question peut demeurer, pourquoi trouve-t-on encore ce terme dans notre littérature ?

## VI. Analyse

### VI. 1. L'utilité de l'utilisation du séquençage génétique dans la recherche clinique

Afin d'étayer cette analyse, l'avis d'un panel de 6 professionnels de santé venant de différentes régions du monde a été recueilli. L'interprétation des résultats de ces interviews se veut qualitative. Etant donné l'effectif des professionnels interrogés, le but n'est pas d'établir des statistiques mais d'analyser comment à l'international cette question peut être traitée.

Le mardi 09 avril 2019, Manuel Cossio, chercheur en génétique médicale à l'Institut de recherche biomédicale August Pi i Sunyer (IDIBAPS) et généticien médical à la clinique hospitalière de Barcelone, a accepté de répondre à une interview écrite via une interface professionnelle.

L'avis de ce généticien médical est légitime de par sa profession mais également ses lieux d'exercice. En effet l'Institut de recherche biomédicale August Pi i Sunyer (IDIBAPS) est un centre de recherche d'excellence fondé en 1996. C'est le principal centre de recherche biomédicale de l'Etat. Il regroupe la « Generalitat de Catalunya », l'Hôpital Clinique de Barcelone, la Faculté de médecine de l'Université de Barcelone et l'Institut de recherche biomédicale de Barcelone de la CSIC.

Cet institut combine la recherche fondamentale et la clinique afin de transférer plus efficacement les avancées scientifiques obtenues en laboratoire aux patients.

Sur le sujet de l'utilité du séquençage génétique dans les essais cliniques, Manuel Cossio aborde tout naturellement le sujet des thérapies géniques. Bien que ce ne soit pas le sujet de ce mémoire, il est intéressant de voir l'apport du séquençage génétique en recherche clinique. Ce point de vue est intéressant lorsque l'on sait que la thérapie génique consiste en l'introduction d'un matériel génétique dans des cellules à des fins curatives. Ce qui a permis l'avènement de cette méthode, c'est bien sûr l'utilisation du séquençage génétique dans les essais cliniques.

Pouvoir attribuer à une pathologie une séquence génétique donnée, et pouvoir par la même occasion connaître la séquence génétique physiologique a permis de connaître la correction à apporter. Les corrections passent par exemple par l'insertion de codon stop pour inhiber un gène ou l'utilisation de ciseaux moléculaire pour supprimer ou insérer une séquence via des vecteurs tels que des virus ou des plasmides. Les chercheurs ont ainsi

pu développer des techniques in vivo ou ex vivo, tel que le « saut d'exon\* » utilisé dans le traitement de la myopathie de Duchenne [89].

Cette technique se développe de plus en plus, l'INSERM recense plus de 700 essais en cours dans ce domaine. Manuel Cossio, explique ainsi l'utilité du séquençage génétique dans les essais cliniques de par l'impact des découvertes dans le développement d'outils thérapeutiques.

La même question a été posée au Dr Victor Raggio, professeur associé, département de génétique, faculté de médecine, Montevideo, Uruguay. Ce dernier expose deux aspects : le premier est l'importance du séquençage génétique dans le diagnostic ou la détermination de facteurs de risque. En effet, bien que la médecine génétique soit une science complexe devant prendre en compte de multiples facteurs. L'outil du séquençage génétique est indéniablement un outil qui a fait ses preuves dans la précision du diagnostic ainsi que dans la prévention de certaines maladies dites « maladies génétiques ».

Il est intéressant de prendre connaissance de la réponse d'étudiants pour encore une fois répondre plus exactement à la même question. Stanley Otoboh, étudiant en médecine génétique à l'université de Glasgow, explique que le séquençage génétique est un outil qu'il qualifie comme « viable » en essais cliniques. Il s'explique en rappelant que cet outil peut être utilisé pour tous les patients et évoque dans le même temps la médecine personnalisée.

La médecine personnalisée est vue par certains comme la médecine de demain, une médecine adaptée à chaque patient qui prend en compte le temps, l'environnement du patient mais également ses prédispositions génétiques.

Perrine Brunelle, interne en médecine généticienne à Lille, France, évoque également la médecine personnalisée et souligne l'importance de la communication entre les corps de métier (médecin/généticien/biologistes/chercheurs) pour la prise en charge des patients, ainsi que l'importance de l'information au patient, « le patient doit être tenu au courant des résultats qu'il peut obtenir via cette médecine personnalisée ».

Fabiola Paoli Monteiro, généticienne médicale, consultante, vient confirmer les avis analysés précédemment.

Enfin le Pr Bernard Sablonnière médecin biologiste, chercheur en neurobiologie et Professeur de Biochimie et de Biologie moléculaire à la Faculté de Médecine de Lille et Responsable d'un laboratoire de Neurobiologie au Centre de Biologie et Pathologie du Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille, explique toute la légitimité de

l'application du séquençage génétique en essais cliniques. Il explique comment l'association de l'outil génétique en essais cliniques permet l'accroissement des connaissances dans le domaine médical « On peut profiter des connaissances que l'on a acquis en génétique » [Annexe 5].

## VI. 2. La question de l'ethnicité dans les informations recueillies

Aborder la question de l'ethnicité lorsque l'on parle de séquençage génétique est une chose établie. Enfin tout au long de l'histoire de la génétique, les scientifiques généticiens ont tenté de trouver des similitudes entre les espèces d'une même population. Par le passé les scientifiques employaient le terme de « race » pour catégoriser les populations. Ce terme est anodin lorsque l'on parle d'espèces animales, mais prend une tout autre connotation lorsque l'on parle de l'Homme. L'analyse de ce versant du séquençage génétique est nécessaire pour éliminer les freins de l'utilisation de cet outil.

Tout comme Manuel Cossio, tous les professionnels interrogés sur cette question sont unanimes. « Ethnicity, on the other hand, is very delicate. It is important to know the ethnical background of patients for some genetic diseases because some allele linked to disease phenotype could be more prevalent in some populations. However, questions must be only included when the information is going to be relevant for the therapeutic aspect “Manuel Cossio.

Dr Victor Raggio propose un meilleur terme : “geographic ancestry”. Il explique “Another issues are those related to “ancestry mapping” (of genes) and association studies or polygenic scores, which ca (should) vary between mayor ethnicities (“geographic ancestry”)”.

Le Pr Sablonnière est clair sur la question « Est-ce pour le mettre dans une catégorie? Avec le risque que la catégorie soit plus ou moins appréciée [...]. Ce dont on a le plus besoin c'est la nationalité du patient plutôt que son origine ethnique. Le terme de race j'ai horreur de ça ».

Le discours est ainsi clair et sans équivoque, plus qu'un groupe ethnique, il est primordial de repérer des groupes de population géographique. En effet le matériel génétique est réceptif à son environnement, et surtout à un ancêtre commun.

A l'heure où les mouvements de population sont un sujet d'actualité, la notion d'ancêtre commun est une information primordiale. Au lieu de recueillir une « ethnicité » il

serait plus approprié de demander au patient l'origine géographique de son plus ancien parent. C'est la solution qu'apporte ce mémoire pour répondre à ce que le Pr Sablonnière qualifie comme « faux problème ».

Il est indéniable que cette information est utile à la compréhension de la variabilité génomique mais il est primordial de ne pas faire d'amalgame et d'être le plus clair possible et accessible à la compréhension du patient [Annexe 5].

### VI.3. Les nouvelles pistes en essais cliniques

En proposant un focus sur le séquençage génétique, c'est tout naturellement que les professionnels interviewés ont mentionné le domaine de la génétique. Ceci reflète tout de même le fait que dans le domaine de la recherche clinique, ce versant est très prometteur. Il l'était déjà historiquement mais les recherches sont loin de s'essouffler.

Retenons les progrès et connaissances que le séquençage génétique continuera à apporter dans la connaissance des pathologies, l'élaboration d'outils thérapeutiques comme la thérapie génique, l'amélioration du parcours de soin en permettant une médecine personnalisée, le développement d'outil technologique de plus en plus performant.

D'après le Pr Sablonnière, le séquençage génétique en essais cliniques a un avenir certain surtout dans la cancérologie. De solides connaissances en génétique dans le domaine de l'oncologie sont déjà admises mais d'autres restent encore à découvrir [Annexe 5].

## VII. Conclusion

L'utilisation du séquençage génétique en essais cliniques fait partie intégrante des progrès en sciences médicales. Elle a été rendue possible grâce aux progrès des sciences technologiques indispensable dans l'élaboration de nouveaux outils toujours plus performants.

Cette union de connaissances en biologie moléculaire, en médecine et en sciences pharmaceutiques a rythmé l'histoire des grandes découvertes en pharmacogénétique. Ce flow de connaissance a rendu possible la médecine personnalisée et le développement de nouvelles thérapies comme la thérapie génique.

Le séquençage génétique fait assurément partie des nouvelles pistes en essais cliniques. La réglementation qui lui est propre est en constant renouvellement. Les progrès de la science rythment l'évolution législatif. Le cadre éthique défini par la société et ses mœurs sont là pour pallier au manque de cadre législatif.

La complexité des applications de la génétique en médecine a créé une certaine méfiance auprès de l'opinion publique. Des progrès sont donc à venir. Par l'examen de l'état de l'art, les solutions que propose ce mémoire sont de prendre en compte les spécificités du séquençage génétique en essais clinique. Les enjeux sont de considérer dans leur totalité les cadre législatifs et éthiques. L'important est de proposer la meilleure utilisation possible de la pharmacogénétique dans l'intérêt du patient. Dès lors les praticiens devront effacer cette peur que pourrait avoir les patients en expliquant par des termes claires et simples le bénéfice dans le traitement, la prévention des maladies.

L'intérêt de la génétique dans l'adaptation posologique doit être connu du grand public. Il est important de faire attention à la terminologie lors des entretiens avec les patients ainsi que dans les questionnaires patients (très utilisés en recherche clinique). Une alternative à la pratique courante serait de ne plus demander une « origine ethnique » mais « une origine géographique des plus anciens parents connus ». Les aprioris du patient pourront ainsi s'amoinrir. Ce dernier comprendra l'intérêt d'une médecine personnalisée, adaptée à l'individu.

Toutes ces propositions pourront in fine améliorer le parcours de soin.

## VI. Bibliographie

1. Cytochrome P450 - Société Chimique de France [Internet]. Societechimiquedefrance.fr. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <http://www.societechimiquedefrance.fr/Cytochrome-P450.html>
2. Double aveugle - EUPATI [Internet]. EUPATI. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.eupati.eu/fr/glossary/double-aveugle/>
3. [Internet]. Irsn.fr. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.irsn.fr/FR/Larecherche/publications-documentation/aktis-lettre-dossiers-thematiques/envirhom/xenobiotique/Pages/xeno1.aspx#.XXvHvWY69PY>
4. Dujardin G, Dagueneat É, Bernard D, Flodrops M, Durand S, Chauveau A et al. L'épissage des ARN pré-messagers : quand le spliceosome perd pied. médecine/sciences. 2016;32(12):1103-1110.
5. Comprendre la recherche clinique | Inserm - La science pour la santé [Internet]. Inserm - La science pour la santé. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.inserm.fr/recherche-inserm/recherche-clinique/comprendre-recherche-clinique>
6. [Internet]. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/genetique-genome-154/>
7. [Internet]. Ipubli.inserm.fr. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: [http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2630/1994\\_4\\_408.pdf?sequence=1](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2630/1994_4_408.pdf?sequence=1)
8. Etapes du devenir du médicament [Internet]. Pharmacomedicale.org. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinetique/36-etapes-du-devenir-du-medicament>
9. [Internet]. Unf3s.cerimes.fr. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: [http://unf3s.cerimes.fr/media/paces/Grenoble\\_1112/stanke\\_labesque\\_francoise/stanke\\_labesque\\_francoise\\_p01/stanke\\_labesque\\_francoise\\_p01.pdf](http://unf3s.cerimes.fr/media/paces/Grenoble_1112/stanke_labesque_francoise/stanke_labesque_francoise_p01/stanke_labesque_francoise_p01.pdf)
10. Tests pharmacogénétiques : bientôt avant chaque prescription ? [Internet]. Revue Médicale Suisse. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.revmed.ch/RMS/2008/RMS-165/Tests-pharmacogenetiques-bientot-avant-chaque-prescription>
11. Placebo [Internet]. Pharmacomedicale.org. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://pharmacomedicale.org/66-pharmacologie/medicaments-alternatifs/placebo>.
12. POLYMORPHISME, biologie [Internet]. Encyclopædia Universalis. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/polymorphisme-biologie/6-polymorphisme-genetique-humain/>
13. Larousse É. Encyclopédie Larousse en ligne - randomisation [Internet]. Larousse.fr. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/randomisation/15747>
14. Mennier E. Canaux [Internet]. Pharmacomedicale.org. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacologie-medicale-vue-d-ensemble/32-differents-types-de-structure-sur-lesquelles-agissent-les-medicaments/59-canaux>
15. Perspect Clin Res. 2010;1:6–10
16. Collins J, Flint P, VanEpps C. The book of Daniel. Boston: Brill Academic Publishers; 2002.

17. Janssens J, Smet D. Avicenna and his heritage. Leuven: Leuven University Press; 2002.
18. Paré A, Malgaigne J. Œuvres complètes d'Ambroise Paré. Paris: J-B Ballière; 1841.
19. Lind J. A treatise of the scurvy. Edinburgh: Printed by Sands, Murray, and Cochran. For A. Kincaid & A. Donaldson; 1753.
20. Flint A. A contribution toward the Natural History of Articular Rheumatism; consisting of a report of thirteen cases treated solely with palliative measures. The American Journal of the Medical Sciences. 1863;46(91):17-36.
21. Stansfeld J, Francis A, Stuart-Harris C. LABORATORY AND CLINICAL TRIALS OF PATULIN. The Lancet. 1944;244(6316):370-372.
22. Stuart-Harris C, Francis A, Stansfeld J. PATULIN IN THE COMMON COLD. The Lancet. 1943;242(6274):684.
23. ARMSTRONG B, FUNK W, WILSON B, COUNTRY J. Bed Rest, Collapse, and Streptomycin in the Treatment of Pulmonary Tuberculosis. Diseases of the Chest. 1950;17(5):503-508.
24. ARMSTRONG B, COLMORE J, DRORBAUGH J. Bed Rest, Collapse, and Streptomycin in the Treatment of Pulmonary Tuberculosis. Diseases of the Chest. 1950;17(1):11-32.
25. Streptomycin Treatment of Pulmonary Tuberculosis: A Medical Research Council Investigation. BMJ. 1948;2(4582):769-782.
26. Loi n° 88-1138 du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales
27. History : ICH [Internet]. Ich.org. 2019 [cited 7 July 2019]. Available from: <https://www.ich.org/about/mission.html>
28. Convention pour la protection des Droits de l'Homme et de la dignité de l'être humain à l'égard des applications de la biologie et de la médecine: Convention sur les Droits de l'Homme et la biomédecine. Oviedo; 1997.
29. Article L1122-2 du code de la santé publique
30. Mendel G, Bennett J, Fisher R. Experiments in plant hybridisation. Edinburgh: Oliver & Boyd; 1965.
31. Art I 1121-4 du CSP
32. Wit H, Baudière A. Histoire du développement de la biologie. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes; 1992. P174
33. Miescher-Rüsch F. Die histochemischen und physiologischen Arbeiten. Leipzig: Verlag von F.C.W. Vogel; 1897. p81
34. . L'histoire de l'ADN : dossier Podcast Science | Les dessous de la science [Internet]. Dessousdescience.cafe-sciences.org. 2019 [cited 4 August 2019]. Available from: <https://dessousdescience.cafe-sciences.org/lhistoire-de-ladn-dossier-podcast-science/>
35. La théorie de l'évolution [Internet]. Astrosurf.com. 2019 [cited 7 September 2019]. Available from: <http://www.astrosurf.com/luxorion/bioastro-evolsysvivants4.htm>
36. Miescher-Rüsch F. Die histochemischen und physiologischen Arbeiten. Leipzig: Verlag von F.C.W. Vogel; 1897. p105
37. Flemming W. Zur Kenntniss der sensiblen Nervenendigung. Archiv für Mikroskopische Anatomie. 1880;19(1):513-522.
38. Johansen W. Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre. 1909;2(1):136-137.
39. Morgan T.H Chromosomes and Heredity. The American Naturalist. 1910;44(524):449-496.

40. Sturtevant A. The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *Journal of Experimental Zoology*. 1913;14(1):43-59.
41. Hans Winkler *Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis im Pflanzen- und Tierreiche*, (Verlag Fischer, Jena). 1920
42. The Human Genome Project [Internet]. Genome.gov. 2019 [cited 31 July 2019]. Available from: <https://www.genome.gov/human-genome-project>
43. Piouffre G, Coz A. *Les grandes inventions*. Paris: First; 2013.
44. 1000 Genomes | A Deep Catalog of Human Genetic Variation [Internet]. Internationalgenome.org. 2019 [cited 31 July 2019]. Available from: <https://www.internationalgenome.org/>
45. Watson J. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. 1953. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1993;269(15):1966-1967.
46. Crick F. The double helix: a personal view. *Nature*. 1974;248(5451):766-769.
47. Hevesi D. Odile Crick, Who Drew Iconic Double Helix, Dies at 86 [Internet]. *Nytimes.com*. 2019 [cited 4 August 2019]. Available from: <https://www.nytimes.com/2007/07/30/science/30crick.html>
48. Keller E. *Watson's Needle: Rosalind Franklin and DNA*, by Anne Sayre. *Change: The Magazine of Higher Learning*. 1975;7(10):59-59.
49. Biography 19: Rosalind Elsie Franklin (1920-1958) :: DNA Learning Center [Internet]. *Dnalc.org*. 2019 [cited 4 August 2019]. Available from: <https://www.dnalc.org/view/16439-Biography-19-Rosalind-Elsie-Franklin-1920-1958-.html>
50. The Nobel Prize in Chemistry 1958 [Internet]. *NobelPrize.org*. 2019 [cited 4 August 2019]. Available from: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1958/summary/>
51. SÉQUENÇAGE D'ADN, en bref - Encyclopædia Universalis [Internet]. *Encyclopædia Universalis*. 2019 [cited 4 August 2019]. Available from: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/sequencage-d-adn-en-bref/>
52. Sanger F, Air G, Barrell B, Brown N, Coulson A, Fiddes J et al. Nucleotide sequence of bacteriophage  $\phi$ X174 DNA. *Nature*. 1977;265(5596):687-695.
53. Frederick Sanger, pionnier du séquençage génétique, est mort [Internet]. *Le Monde.fr*. 2013 [cited 4 August 2019]. Available from: [https://www.lemonde.fr/sciences/article/2013/11/20/frederick-sanger-pionnier-du-sequencage-genetique-est-mort\\_3517463\\_1650684.html](https://www.lemonde.fr/sciences/article/2013/11/20/frederick-sanger-pionnier-du-sequencage-genetique-est-mort_3517463_1650684.html)
54. Cann R, Stoneking M, Wilson A. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*. 1987;325(6099):31-36.
55. Galaup A, Barthélémy P, Pouletty-Lefebvre B, Béhier J, Zetlaoui J, Borel T. Attractivité de la France pour la recherche clinique internationale : résultats de la 8e enquête du Leem. *Therapies*. 2018;73(5):367-376.
56. Search of: SAFIR02 - List Results - ClinicalTrials.gov [Internet]. *Clinicaltrials.gov*. 2019 [cited 1 August 2019]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=SAFIR02&cntry=&state=&city=&dist=>
57. Yu J, Shi W, Zhou M, Liu J, Han Q, Xu H. Genetic variability and oncogenic risk association of human papillomavirus type 58 E6 and E7 genes in Taizhou area, China. *Gene*. 2019;686:171-176.
58. Haute Autorité de Santé. *Utilité clinique des signatures génomiques dans le cancer du sein de stade précoce. Rapport d'évaluation technologique*. FRANCE: Collège de la Haute Autorité de Santé; 2019.

59. Institute G. Qu'est-ce que la médecine génomique ? [Internet]. Gimi-institute.org. 2019 [cited 31 July 2019]. Available from: <http://www.gimi-institute.org/plus-dinfos/medecine-genomique.html>
60. [Internet]. Ipubli.inserm.fr. 2019 [cited 1 August 2019]. Available from: [http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/107/Chapitre\\_4.html#Chap4-bib7](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/107/Chapitre_4.html#Chap4-bib7)
61. Interactions médicamenteuses et cytochromes - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. Ansm.sante.fr. 2019 [cited 3 August 2019]. Available from: [https://www.ansm.sante.fr/Dossiers/Interactions-medicamenteuses/Interactions-medicamenteuses-et-cytochromes/\(offset\)/1](https://www.ansm.sante.fr/Dossiers/Interactions-medicamenteuses/Interactions-medicamenteuses-et-cytochromes/(offset)/1)
62. Plan France médecine génomique 2025 [Internet]. aviesan.fr. 2019 [cited 1 August 2019]. Available from: <https://www.aviesan.fr/aviesan/accueil/toute-l-actualite/plan-france-medecine-genomique-20252>
63. [Internet]. Ipubli.inserm.fr. 2008 [cited 5 September 2019]. Available from: [http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/107/Chapitre\\_4.html](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/107/Chapitre_4.html)
64. code de la santé publique Art. L. 1243-3
65. Le polymorphisme génétique du cytochrome P450 2D6 : le Bon, l'Ultraparapide, l'Intermédiaire et le Lent [Internet]. Revue Médicale Suisse. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.revmed.ch/RMS/2004/RMS-2476/23775>
66. Haufroid V, Wallemacq P, Vankerckhove V. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates : guidelines from an experimental study. Am J Transplant 2006 ; 6 : 2706-13.
67. [Internet]. Edimark.fr. 2019 [cited 14 September 2019]. Available from: <https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/20013.pdf>
68. [Internet]. Pharmactuel.com. 2019 [cited 15 September 2019]. Available from: <https://pharmactuel.com/index.php/pharmactuel/article/viewFile/776/443>
69. code de la santé publique Art. L.1121-2CSP
70. code de la santé publique Art. L. 1243-4 CSP
71. Plan France médecine génomique 2025 [Internet]. aviesan.fr. 2019 [cited 1 August 2019]. Available from: <https://www.aviesan.fr/aviesan/accueil/toute-l-actualite/plan-france-medecine-genomique-20252>
72. Athérosclérose | Inserm - La science pour la santé [Internet]. Inserm - La science pour la santé. 2019 [cited 8 September 2019]. Available from: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/atherosclerose>
73. Dalcetrapib [Internet]. Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. 2019 [cited 3 August 2019]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6918540#section=Structures>
74. Lüscher T, Taddei S, Kaski J, Jukema J, Kallend D, Münzel T et al. Vascular effects and safety of dalcetrapib in patients with or at risk of coronary heart disease: the dal-VESSEL randomized clinical trial. European Heart Journal. 2012;33(7):857-865.
75. Stroes E, Kastelein J, Bénardeau A, Kuhlmann O, Blum D, Campos L et al. Dalcetrapib: no off-target toxicity on blood pressure or on genes related to the renin-angiotensin-aldosterone system in rats. British Journal of Pharmacology. 2009;158(7):1763-1770.
76. Nephrology N. Fig. 3: Role of CETP in cholesterol transport. | Nature Reviews Nephrology [Internet]. Nature.com. 2019 [cited 4 August 2019]. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41581-018-0072-9/figures/3>
77. Schwartz G, Ballantyne C, Barter P, Kallend D, Leiter L, Leitersdorf E et al. Association of Lipoprotein(a) With Risk of Recurrent Ischemic Events Following Acute Coronary Syndrome. JAMA Cardiology. 2018;3(2):164

78. Schwartz G, Olsson A, Abt M, Ballantyne C, Barter P, Brumm J et al. Effects of Dalcetrapib in Patients with a Recent Acute Coronary Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(22):2089-2099.
79. Le décret en Conseil d'État (art. 2)
80. Article L. 145-15-4 du code de la santé publique
81. Article R. 145-15-14 du code de la santé publique
82. Article L. 145-15 code de la santé publique
83. Article L. 145-16 code de la santé publique
84. Briard M. Encadrement juridique de la génétique en France. *adsp*. 2001;(34):38-44.
85. [Internet]. Anrs.fr. 2019 [cited 15 September 2019]. Available from: <http://www.anrs.fr/sites/default/files/2018-10/Typologie%20et%20limites%20des%20RIPH.pdf>
86. Article L. 145-17 du code de la santé publique
87. Article 226-26 du Code pénal
88. Article L. 145-15-1 du code de la santé publique
89. Le «saut d'exon» dans la myopathie de Duchenne\* [Internet]. *Revue Médicale Suisse*. 2019 [cited 15 September 2019]. Available from: <https://www.revmed.ch/RMS/2008/RMS-140/Le-saut-d-exon-dans-la-myopathie-de-Duchenne>
90. BIOTECHNOLOGIE Séquençage de Sanger BIOTECH 101. *Parlons sciences*. 2019;(2013):1
91. La PCR - biotechnologie [Internet]. *biotechnologie*. 2018 [cited 4 August 2019]. Available from: <http://www.technobio.fr/article-17071980.html>
92. GÉNÉT - Les outils de génétique moléculaire [Internet]. *Genet.univ-tours.fr*. 2019 [cited 16 September 2019]. Available from: [http://genet.univ-tours.fr/gen001300\\_fichiers/GEN05D3/GEN05D3EC7.HTM](http://genet.univ-tours.fr/gen001300_fichiers/GEN05D3/GEN05D3EC7.HTM)
93. Résumé des caractéristiques du produit - VORICONAZOLE SANDOZ 50 mg, comprimé pelliculé - Base de données publique des médicaments [Internet]. *Base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr*. 2019 [cited 15 September 2019]. Available from: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=68566713&typedoc=R>
94. Cancer I. Définition tomographie par émission de positons [Internet]. *E-cancer.fr*. 2019 [cited 15 September 2019]. Available from: <https://www.e-cancer.fr/Dictionnaire/T/tomographie-par-emission-de-positons>.
95. Scanner - Tomodensitométrie - *LeCancer.fr* [Internet]. *Lecancer.fr*. 2019 [cited 15 September 2019]. Available from: <https://lecancer.fr/dossiers/le-cancer-ce-qu-il-faut-savoir/prevention-depistage-examens/scanner-tomodensitometrie/>

## Tables des Figures

Figure 1. Frise chronologique des grandes avancées en recherche clinique .....	5
Figure 2. Illustration des lois de Mendel.....	6
Figure 3. Schéma de l'expérience d'Avery.....	8
Figure 4. Dessin de la structure en double hélice de l'ADN par Odile Crick .....	9
Figure 5. IGSR et le projet 1000 Genomes.....	11
Figure 6. Répartition des études par aire thérapeutique et par pays .....	12
Figure 7. Schéma d'une artère sclérosée .....	24
Figure 8. Structure chimique du Dalcétrapib.....	25
Figure 9. Mécanisme d'action de la CETP.....	26
Figure 10. Schéma de la FMD .....	27

## VII. Table des matières

Glossaire et abréviations .....	
Introduction.....	1
I. Etat de l'art .....	2
I.1. Historique des essais cliniques et du séquençage génétique .....	2
I.2. Répartition des études par aires thérapeutiques et par pays.....	11
I.3. Utilisation de la génétique dans les essais cliniques .....	13
I.4. La pharmacogénétique.....	15
II. Réglementation des études génétiques en recherche clinique .....	19
II.1. La recherche clinique.....	19
II.2. La recherche génétique en essai clinique.....	21
III. Analyse.....	23
III.1. Et la France ?.....	23
III.2. Cas pratique : Dal-HEART Program.....	24
IV. Critique de l'outil .....	30
IV.1. Limites .....	30
IV.2. Avantages .....	31
IV.3. Axes d'amélioration .....	31
IV. 4. Cadre juridique et éthique du séquençage génétique dans les essais cliniques .....	32
V. Complexité de la génétique.....	36
V.1. La génétique.....	36
V.2. Réglementation .....	37
V.3. Retour d'expérience.....	38
VI. Analyse.....	40
VI.1. L'utilité de l'utilisation du séquençage génétique dans la recherche clinique .....	40
VI.2. La question de l'ethnicité dans les informations recueillies .....	42
VI.3. Les nouvelles pistes en essais cliniques .....	43
VII. Conclusion .....	44
VI. Bibliographie.....	45
VII. Table des matières.....	51
VIII. Annexes .....	I
Résumé .....	
Abstract .....	

## VIII. Annexes

## **Annexe 1. La méthode Sanger**

Le séquençage génétique de Sanger permet de déterminer l'ordre des quatre nucléotides dans un brin d'ADN. Cette méthode de Sanger consiste à copier des brins d'ADN puis d'identifier les nucléotides ajoutés. Les amorces, les quatre nucléotides et une enzyme, l'ADN polymérase qui incorpore de nouvelles bases de nucléotides, synthétisent un nouveau brin d'ADN identique à l'original. Puis, les échantillons sont soumis à l'électrophorèse en gel, afin de séparer les nouveaux brins d'ADN sur une base en gel à l'aide de courant électrique. Les brins d'ADN peuvent alors être vus à l'aide de rayons X ou de lumière ultraviolette. Des avancées ultérieures dans cette méthode ont incorporé l'utilisation de fluorophores, qui sont de petits composés chimiques dégageant des lumières colorées. En ajoutant un fluorophore coloré différent à chaque nucléotide, le séquençage peut être effectué en une seule réaction avec une seule colonne de gel pour représenter les brins d'ADN; la couleur de la bande indique la base située à l'extrémité du fragment d'ADN (Figure 1B). Cette innovation en automatisation (*via* les ordinateurs et les machines) a rendu possible le séquençage de beaucoup plus de brins d'ADN. Aujourd'hui ces machines peuvent séquencer l'ADN complet d'une personne (3 milliards de bases) en quelques jours [90].

## Annexe 2. La PCR

La Polymérase Chain Reaction est une technique d'amplification génétique in-vitro. Ainsi elle permet l'amplification de plusieurs millions de fois une séquence spécifique d'acide nucléique qui peut être minoritaire voir très rare ( $10^{-2}$ pg). Elle utilise l'ADN polymérase afin de synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice. Pour initier le processus, des amorces (ou *primer*) s'hybrident de part et d'autre de la séquence à amplifier. Cette configuration permet à l'ADN polymérase de répliquer les 2 monobrans dans le sens 5' vers 3' et ainsi aboutir à la synthèse de nouveaux ADN doubles brins. La PCR s'effectue sur 3 étapes. Tout d'abord la dénaturation thermique de l'ADN à 95°C afin de rompre les liaisons d'hydrogènes et de séparer les 2 brins de l'ADN. Ainsi l'ADN passe sous forme simple brin dans le milieu. Puis l'hybridation des amorces à 50°C-65°C le milieu réactionnel contient 2 amorces en excès, chacune complémentaire d'un des 2 brins. Enfin l'extension des amorces à 72°C grâce à la la taq polymérase (ADN polymérase) qui incorpore les désoxyribonucléiques complémentaires de la séquence de la matrice auquel elle est hybridée [91].

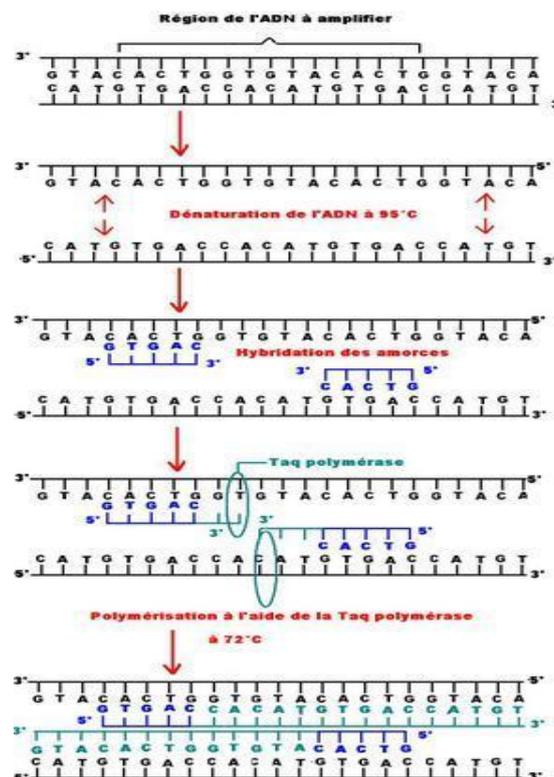


Figure 3. Schéma d'amplification [91]

Après  $n$  cycles, on augmente le nombre d'ADN de  $2^n$ . En pratique, le nombre de brins est limité par la quantité de réactifs, l'augmentation de la viscosité du milieu et la baisse de l'activité de l'ADN polymérase thermostable. A l'issue de la PCR, on obtient des fragments de taille identique correspondant à la distance en base qui sépare les amorces. La technique PCR se réalise par le biais d'un appareil programmable appelé un thermocycleur dans lequel sont placés les microtubes contenant le mélange réactionnel. Lorsque la quantité de produits d'amplification est suffisante, une électrophorèse en gel d'agarose est nécessaire afin à la lecture de la séquence d'ADN [91].

L'électrophorèse consiste à faire migrer les acides nucléiques au travers du gel additionné de BEt (Bromure d'éthyldium: produit intercalant qui se glisse entre les bases des acides nucléiques faisant apparaître à la molécule d'ADN une fluorescence orange sous illumination par des UV courts (environ 30 nm)). La vitesse de migration étant dépendant de la masse de la molécule, donc du nombre de bases de l'ADN testé, la présence et la taille des amplicons peuvent être facilement vérifiable sur le gel [91].

### **Annexe 3. Le séquençage de Maxam-Gilbert**

Des fragments d'ADN (<200pb) sont marqués à leurs extrémités 5' par l'action de l'enzyme poly nucléotide kinase et du  $\gamma$ -[32P]-ATP. Les deux brins sont dénaturés à la chaleur, puis séparés en gel d'acrylamide. Chaque brin est soumis à quatre réactions d'hydrolyse partielle qui vont cliver la molécule après A, T, C, G. Puis les produits sont séparés par l'électrophorèse en gel d'acrylamide contenant de l'urée. Le gel est autoradiographié : on verra que les molécules ayant l'extrémité 5' marquée. La séquence est lue directement sur l'autoradiographie [92].

#### Annexe 4. Tableau des interactions médicamenteuses

Médicament [Mécanisme de l'interaction]	Interaction Changements de la moyenne géométrique (%)	Recommandations en cas d'administration concomitante
Carbamazépine et barbituriques d'action longue (p.ex., phénobarbital, méphobarbital) [puissants inducteurs du cytochrome P450]	Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études, la carbamazépine et les barbituriques d'action longue sont susceptibles de diminuer significativement les concentrations plasmatiques du voriconazole.	Contre-indiqué
Efavirenz (inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse) [inducteur du CYP450 ; inhibiteur et substrat du CYP3A4]  Efavirenz 400 mg une fois par jour administré avec 200 mg de voriconazole deux fois par jour *  Efavirenz 300 mg par jour administré avec 400 mg de voriconazole deux fois par jour*	Efavirenz C <sub>max</sub> ↑ 38 % Efavirenz ASCt ↑ 44 % Voriconazole C <sub>max</sub> ↓ 61 % Voriconazole ASCt ↓ 77 %  Comparativement à 600 mg d'efavirenz une fois par jour, Efavirenz C <sub>max</sub> ↔ Efavirenz ASCt ↑ 17 %  Comparativement à 200 mg de voriconazole deux fois par jour, Voriconazole C <sub>max</sub> ↑ 23 % Voriconazole ASCt ↓ 7 %	L'utilisation de doses standards de voriconazole avec des doses d'efavirenz de 400 mg une fois par jour ou plus est contre-indiquée.  Le voriconazole peut être administré avec l'efavirenz, si la dose d'entretien du voriconazole est augmentée à 400 mg deux fois par jour et la dose d'efavirenz est diminuée à 300 mg une fois par jour.  Lorsque le traitement par voriconazole est arrêté, la dose initiale d'efavirenz doit être rétablie.
Alcaloïdes de l'ergot de seigle (p. ex. ergotamine et dihydroergotamine) [substrats du CYP3A4]	Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études, le voriconazole est susceptible d'augmenter les concentrations plasmatiques des alcaloïdes de l'ergot de seigle et d'entraîner de l'ergotisme.	Contre-indiqué.

<p>Rifabutine [inducteur puissant du CYP450]</p> <p>300 mg une fois par jour</p> <p>300 mg une fois par jour (administré avec 350 mg de voriconazole deux fois par jour) *</p> <p>300 mg une fois par jour (administré avec 400 mg de voriconazole deux fois par jour)*</p>	<p>Voriconazole C<sub>max</sub> ↓ 69 %</p> <p>Voriconazole ASCt ↓ 78 %</p> <p>Comparativement à 200 mg de voriconazole deux fois par jour,</p> <p>Voriconazole C<sub>max</sub> ↓ 4 %</p> <p>Voriconazole ASCt ↓ 32 %</p> <p>Rifabutine C<sub>max</sub> ↑ 195 %</p> <p>Rifabutine ASCt ↑ 331 %</p> <p>Comparativement à 200 mg de voriconazole deux fois par jour,</p> <p>Voriconazole C<sub>max</sub> ↑ 104 %</p> <p>Voriconazole ASCt ↑ 87 %</p>	<p>L'administration concomitante de voriconazole et de rifabutine doit être évitée sauf si le bénéfice attendu est supérieur au risque encouru.</p> <p>La dose d'entretien du voriconazole peut être augmentée à 5 mg/kg par voie intraveineuse deux fois par jour ou de 200 mg à 350 mg par voie orale deux fois par jour (100 mg à 200 mg par voie orale deux fois par jour chez les patients de moins de 40 kg) (voir rubrique 4.2).</p> <p>Une surveillance étroite de la numération globulaire complète et des effets indésirables liés à la rifabutine (p.ex. uvéite) est recommandée en cas d'administration concomitante de rifabutine et de voriconazole.</p>
<p>Rifampicine (600 mg une fois par jour) [puissant inducteur du CYP450]</p>	<p>Voriconazole C<sub>max</sub> ↓ 93 %</p> <p>Voriconazole ASCt ↓ 96%</p>	<p>Contre-indiqué.</p>
<p>Ritonavir (inhibiteur de la protéase) [puissant inducteur du CYP450 ; substrat et inhibiteur du CYP3A4]</p> <p>Dose élevée (400 mg deux fois par jour)</p> <p>Dose faible (100 mg deux fois par jour)*</p>	<p>Ritonavir C<sub>max</sub> et ASCt ↔</p> <p>Voriconazole C<sub>max</sub> ↓ 66 %</p> <p>Voriconazole ASCt ↓ 82 %</p> <p>Ritonavir C<sub>max</sub> ↓ 25 %</p> <p>Ritonavir ASCt ↓ 13 %</p> <p>Voriconazole C<sub>max</sub> ↓ 24 %</p> <p>Voriconazole ASCt ↓ 39 %</p>	<p>L'administration concomitante de voriconazole et de ritonavir à dose élevée (400 mg et plus deux fois par jour) est contre-indiquée.</p> <p>L'administration concomitante de voriconazole et de ritonavir à faible dose (100 mg deux fois par jour) doit être évitée, sauf si une évaluation du rapport bénéfice/risque pour le</p>

		patient justifie l'utilisation du voriconazole.
Millepertuis [inducteur du CYP450, inducteur de la glycoprotéine P]  300 mg trois fois par jour (administré avec une dose unique de 400 mg de voriconazole)	D'après la publication d'une étude indépendante, Voriconazole ASC <sub>0-∞</sub> ↓ 59 %	Contre-indiqué.
Évérolimus [substrat du CYP3A4, substrat de la glycoprotéine P]	Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études, le voriconazole est susceptible d'augmenter significativement les concentrations plasmatiques d'évérolimus.	L'administration concomitante de voriconazole et d'évérolimus n'est pas recommandée car le voriconazole augmente significativement les concentrations d'évérolimus.
Fluconazole (200 mg une fois par jour) [inhibiteur du CYP2C9, CYP2C19 et du CYP3A4]	Voriconazole C <sub>max</sub> ↑ 57 % Voriconazole ASCt ↑ 79 %  Fluconazole C <sub>max</sub> non déterminée  Fluconazole ASCt non déterminée	La réduction de la dose et/ou de la fréquence du voriconazole et du fluconazole qui permettrait d'éliminer cet effet n'ont pas été établies. Une surveillance des effets indésirables associés au voriconazole est recommandée si le voriconazole est administré à la suite du fluconazole.
Phénytoïne [substrat du CYP2C9 et inducteur puissant du CYP450]  300 mg une fois par jour  300 mg une fois par jour (administré avec 400 mg de voriconazole deux fois par jour)*	Voriconazole C <sub>max</sub> ↓ 49 % Voriconazole ASCt ↓ 69 %  Phénytoïne C <sub>max</sub> ↑ 67 % Phénytoïne ASCt ↑ 81 %  Comparativement à 200 mg de Voriconazole deux fois par jour,  Voriconazole C <sub>max</sub> ↑ 34 % Voriconazole ASCt ↑ 39 %	L'administration concomitante de voriconazole et de phénytoïne doit être évitée, sauf si le bénéfice attendu est supérieur au risque encouru.  Une surveillance étroite des taux plasmatiques de phénytoïne est recommandée.  La phénytoïne peut être administrée simultanément

		<p>au voriconazole si la dose d'entretien du voriconazole est augmentée à 5 mg/kg deux fois par jour par voie intraveineuse ou de 200 mg à 400 mg par voie orale deux fois par jour (ou de 100 mg à 200 mg par voie orale deux fois par jour chez les patients de moins de 40 kg).</p>
<p>Anticoagulants</p> <p>Warfarine (30 mg en dose unique, administré avec 300 mg de voriconazole deux fois par jour) [substrat du CYP2C9]</p> <p>Autres coumarines orales (p. ex. phenprocoumone, acénocoumarol) [substrats du CYP2C9 et du CYP3A4]</p>	<p>Le temps de prothrombine a été augmenté au maximum d'environ 2 fois.</p> <p>Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études, le voriconazole est susceptible d'augmenter les concentrations plasmatiques des coumarines et donc d'augmenter le temps de prothrombine.</p>	<p>Une surveillance étroite du temps de prothrombine ou d'autres tests appropriés de l'anticoagulation est recommandée et la posologie des anticoagulants doit être ajustée en conséquence.</p>
<p>Benzodiazépines (p. ex., midazolam, triazolam, alprazolam) [substrats du CYP3A4]</p>	<p>Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études cliniques, le voriconazole est susceptible d'augmenter les concentrations plasmatiques des benzodiazépines qui sont métabolisées par le CYP3A4 et d'induire une action sédatrice prolongée.</p>	<p>Une réduction de la dose des benzodiazépines doit être envisagée.</p>
<p>Immunosuppresseurs [substrats du CYP3A4]</p> <p>Sirolimus (dose unique de 2 mg)</p> <p>Ciclosporine (Chez des transplantés rénaux stables, recevant un traitement chronique de ciclosporine)</p> <p>Tacrolimus (dose unique de 0,1 mg/kg)</p>	<p>D'après la publication d'une étude indépendante,</p> <p>Sirolimus <math>C_{max}</math> ↑ 6,6 fois</p> <p>Sirolimus <math>ASC_{0-\infty}</math> ↑ 11 fois</p> <p>Ciclosporine <math>C_{max}</math> ↑ 13 %</p> <p>Ciclosporine <math>ASC_t</math> ↑ 70 %</p> <p>Tacrolimus <math>C_{max}</math> ↑ 117 %</p> <p>Tacrolimus <math>ASC_t</math> ↑ 221 %</p>	<p>L'administration concomitante de voriconazole et de sirolimus est contre-indiquée.</p> <p>Lorsqu'un traitement par voriconazole est initié chez un patient déjà traité par ciclosporine, il est recommandé de diviser par deux la dose de ciclosporine et de</p>

		<p>surveiller étroitement les concentrations de ciclosporine. Des concentrations élevées de ciclosporine ont été associées à une néphrotoxicité.</p> <p>Quand le traitement par voriconazole est interrompu, les concentrations de ciclosporine doivent être étroitement surveillées et la dose augmentée si nécessaire.</p> <p>Lorsqu'un traitement par voriconazole est initié chez un patient déjà traité par tacrolimus, il est recommandé de diviser par trois la dose de tacrolimus et de surveiller étroitement les concentrations du tacrolimus. Des concentrations augmentées de tacrolimus ont été associées à une néphrotoxicité.</p> <p>Quand le traitement par voriconazole est interrompu, les concentrations de tacrolimus doivent être étroitement surveillées et la dose augmentée si nécessaire.</p>
<p>Oméprazole (40 mg une fois par jour)* [inhibiteur du CYP2C19 ; substrat du CYP2C19 et du CYP3A4]</p>	<p>Oméprazole C<sub>max</sub> ↑ 116 %  Oméprazole ASCt ↑ 280 %  Voriconazole C<sub>max</sub> ↑ 15 %  Voriconazole ASCt ↑ 41 %  D'autres inhibiteurs de la pompe à protons,</p>	<p>Aucune adaptation de la posologie du voriconazole n'est recommandée.</p> <p>Lorsqu'un traitement par voriconazole est initié chez un patient recevant déjà de l'oméprazole à des doses de 40 mg ou plus, il</p>

	substrats du CYP2C19, peuvent également être inhibés par le voriconazole et ce qui peut entraîner des augmentations des concentrations plasmatiques de ces médicaments.	est recommandé de diviser par deux la dose d'oméprazole.
Contraceptifs oraux * [substrats du CYP3A4 ; inhibiteur du CYP2C19]  Noréthisterone/éthinyloestradiol (1 mg/0,035 mg une fois par jour)	Ethinyloestradiol C <sub>max</sub> ↑ 36 % Ethinyloestradiol ASCt ↑ 61 % Noréthisterone C <sub>max</sub> ↑ 15 % Noréthisterone ASCt ↑ 53 % Voriconazole C <sub>max</sub> ↑ 14 % Voriconazole ASCt ↑ 46 %	Une surveillance des effets indésirables liés à l'administration des contraceptifs oraux, en plus de ceux associés au voriconazole, est recommandée.
Statines (p.ex. lovastatine) [substrats du CYP3A4]	Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études cliniques, le voriconazole est susceptible d'augmenter les concentrations plasmatiques des statines qui sont métabolisées par le CYP3A4 et qui pourraient entraîner une rhabdomyolyse.	Une réduction de la posologie des statines doit être envisagée.
Sulfonylurées (p.ex. tolbutamide, glipizide, glyburide) [substrats du CYP2C9]	Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études, le voriconazole est susceptible d'augmenter les concentrations plasmatiques des sulfonylurées et donc de provoquer une hypoglycémie.	Une surveillance étroite de la glycémie est recommandée.  Une réduction de la posologie des sulfonylurées doit être envisagée.
Alcaloïdes de la pervenche (p.ex., vincristine et vinblastine) [substrats du CYP3A4]	Bien que n'ayant pas fait l'objet d'études, le voriconazole est susceptible d'augmenter les concentrations plasmatiques des	Une réduction de la posologie des alcaloïdes de la pervenche doit être envisagée.

	alcaloïdes de la pervenche et provoquer une neurotoxicité.	
Autres inhibiteurs de la protéase du VIH (p.ex., saquinavir, amprenavir et nelfinavir)* [substrats et inhibiteurs du CYP3A4]	N'a pas été cliniquement étudié.  Des études in vitro ont montré que le voriconazole pouvait inhiber le métabolisme des inhibiteurs de la protéase du VIH et que le métabolisme du voriconazole pouvait être inhibé par les inhibiteurs de la protéase du VIH.	Une surveillance étroite des signes de toxicité médicamenteuse et/ou de perte d'efficacité et un ajustement de la dose peuvent être nécessaires.
Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) (p.ex. delavirdine, névirapine)* [substrats du CYP3A4 ; inducteurs ou inhibiteurs du CYP450]	N'a pas été cliniquement étudié.  Des études in vitro ont montré que le métabolisme du voriconazole pouvait être inhibé par les INNTI et que le voriconazole pouvait inhiber le métabolisme des INNTI. Les résultats de l'effet de l'éfavirenz sur le voriconazole suggèrent que le métabolisme du voriconazole pourrait être induit par les INNTI.	Une surveillance étroite des signes de toxicité médicamenteuse et/ou de perte d'efficacité et un ajustement de la dose peuvent être nécessaires.
Cimétidine (400 mg deux fois par jour)  [inhibiteur non spécifique du CYP450 et augmente le pH gastrique]	Voriconazole $C_{max}$ ↑ 18 %  Voriconazole ASCt ↑ 23 %	Aucune adaptation posologique
Indinavir (800 mg trois fois par jour)  [inhibiteur et substrat du CYP3A4]	Indinavir $C_{max}$ ↔  Indinavir ASCt ↔  Voriconazole $C_{max}$ ↔  Voriconazole ASCt ↔	Aucune adaptation posologique

<p>Antibiotiques du groupe des macrolides</p> <p>Erythromycine (1 g deux fois par jour) [inhibiteur du CYP3A4]</p> <p>Azithromycine (500 mg une fois par jour)</p>	<p>Voriconazole <math>C_{max}</math> et ASCt ↔</p> <p>Voriconazole <math>C_{max}</math> et ASCt ↔</p> <p>L'effet du voriconazole sur l'érythromycine ou l'azithromycine n'est pas connu.</p>	<p>Aucune adaptation posologique</p>
<p>Ranitidine (150 mg deux fois par jour) [augmente le pH gastrique]</p>	<p>Voriconazole <math>C_{max}</math> et ASCt ↔</p>	<p>Aucune adaptation posologique</p>

## **Annexe 5. Tomographie par Emission de Positrons-FluoroDésoxyGlucose / Tomodensitométrie (FDG-PET / CT)**

Examen d'imagerie médical qui permet d'obtenir des images précises du corps en trois dimensions sur un écran d'ordinateur. Une tomographie par émission de positons ou TEP est une scintigraphie effectuée après avoir injecté dans une veine un sucre (un traceur) faiblement radioactif : le fluorodéoxyglucose (en abrégé [18F]-FDG). Ce traceur va se fixer au niveau des cellules cancéreuses et émettre, de façon temporaire, des rayonnements que l'on peut suivre dans l'organisme du patient grâce à une caméra spéciale, une caméra TEP. Le médecin peut proposer une tomographie par émission de positons à différentes étapes de la maladie : pour le diagnostic, le suivi du traitement ou la surveillance. On parle aussi de PET scan [94].

La tomodensitométrie (TDM) est une technique d'imagerie médicale qui consiste à calculer une reconstruction 3D des tissus en soumettant le patient au balayage d'un faisceau de rayons X. Les données obtenues sont ensuite traitées par ordinateur, ce qui permet de recomposer des vues en coupe ou des vues en trois dimensions. On peut faire ressortir certains tissus, en particulier les vaisseaux sanguins, en injectant un produit dit « de contraste » (souvent un complexe de l'iode) qui a la propriété de fortement absorber les rayons X et donc de rendre très visibles les tissus où ce produit est présent (qui apparaissent alors hyperdenses) [95].

Le couplage de ces deux techniques d'imagerie (tomodensitométrie) permet une amélioration de la qualité des images.

**Annexe 6. Interviews menées par Tracy TARLET dans le cadre du MEMOIRE DU DIPLOME DE MASTER 2 HEALTHCARE BUSINESS & CLINICAL RESEARCH DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE INSTITUT LILLOIS D'INGÉNIERIE DE LA SANTÉ intitulé "Les Nouvelles pistes en recherche Clinique : focus sur le séquençage génétique"**

**Mardi 09 Avril 2019 : Manuel Cossio -Medical Geneticist Researcher - Institut d'investigacions biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS) and Medical geneticist in Hospital Clinic de Barcelona**

"-What do you think about the use of genetic sequencing in clinical trials?"

Sequencing in clinical trials is very important, specially when you are testing drugs for targeted therapy. What do I mean with targeted therapy? When for example, you have a monoclonal antibody that binds to a receptor and that stops the growing of a tumor. Some receptor have mutations in their active site, so you need to sequence their DNA first to know if the antibody is going to work.

"-What do you think about the issue of ethnicity in patient questionnaires?"

Ethnicity, on the other hand, is very delicate. It is important to know the ethical background of patients for some genetic diseases because some allele linked to disease phenotype could be more prevalent in some populations. However, questions must be only included when the information is going to be relevant for the therapeutic aspect. If not, it is advisable that they not appear at all.

"-For you, what are the new leads in clinical trials? I would like to have your opinion about the new research topics or the new scientific tools which will be explore in coming year."

Well from the information I am managing right now CT (Clinical Trial) are changing deeply. Firstly you have more targeted therapy and the recruitment of patients requires genomic information with biomarkers identification. Secondly a lot of drugs already tested, are being utilized for other diseases, so drug discovery is not as invested as in the past. Thirdly, new approaches are coming to CT, as gene therapy, and that requires a reeducation of all the stakeholders (Approval agents, healthcare professionals, pharma industry) to face the challenges in an era of precision medicine.

"-Finally, can you summarize your activity of medical geneticist?"

A medical geneticist is the health professional that is mainly linked to the diagnosis of genetic diseases. We are the ones that understand what kind of test need to be performed according

to the clinical background the patient presents. For example, if you have a neurological genetic condition, you could start by a karyotype and if it returns negative, you could start and array CGH or other technique. And once all the information is completed, we analyze with the healthcare team and think about the possible disease affecting the patient!"

**Mercredi 10 Avril : Dr Victor Raggio, Associate Professor, Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay.**

"-What do you think about the use of genetic sequencing in clinical trials?"

There are at least two sides to this question:

2. Trials on people with genetic diseases or genetics risks (cancer mainly) where sequencing seems unavoidable. Both to have a "fine grain" diagnosis and to have an adequate stratification and grouping of patients.
3. Common complex disease where genetic pathway analysis or, more simply, some genetic polymorphisms, allow for "subgrouping" of patients who may have a different therapeutic response, both from "classic" pharmacogenomics as well as for different etiological and pathophysiological mechanisms underlying the "same" disease (which can determine a different response to treatment). Here genomic analysis seems at least desirable if "precision medicine" is to be developed (this is especially true for some disease).

"-What do you think about the issue of ethnicity in patient questionnaires?"

Is undeniable that ethnicity can affect risks, prognosis and response to treatment. It has been demonstrated extensively. But if you have extensive genotyping (not to mention whole exome or genome sequence) you can analyse individual variation at that level, which is way better than using less well defined substitutes as ancestry or "ethnicity" (plus additional problem that you would have to rely on self-reported ethnicity).

Another issues are those related to "ancestry mapping" (of genes) and association studies or polygenic scores, which ca (should) vary between mayor ethnicities ("geographic ancestry" is a better term IMO).

"-For you, what are the new issues or scientific tools in clinical trials?"

Well, that's way beyond my expertise, but I think that taking in consideration individual variability on clinicals trials cannot be stressed enough. In this regard one should not forget

that there is a lot of individual variation not accounted for by genetics alone : epigenetics, transcriptomics, metabolism, environmental exposures, microbiome... as well as complex interactions. I guess in some cases many of these could be important and should be taken in consideration if some form of precision or individualized medicine is to be fully achieved.”

**Jeudi 11 Avril 2019 : Stanley Otoboh Student in medical geneticist University of Glasgow**

“-What do you think about the use of genetic sequencing in clinical trials?”

I believe genetic sequencing is a viable tool in clinical trials, particularly in screening for patients who will take part in clinical trials. Genetic sequencing would allow for the selection of most appropriate and effective patient, overcome some limitations when relying on info based on patients molecular profile via GS would make way for precise clinical trial parameters and personalized treatment, thus could lead to overall progression/success of each trial stage, reduce cost and shorten time for drug approval

-What do you think about the issue of ethnicity in patient questionnaires?

Info of a patient ethnicity aims to address the disparity/biais in the quality of care given. The “minority” group seems to receive lesser level of care compared to the major ethnic groups, hence such data is important for assessing the amount of care given per ethnicity, and may allow for consistency, equal services and improvement of healthcare.

-For you, what are the new issues or scientific tools in clinical trials?

Use of technology in clinical trial.. read about app-accompanied randomized Clinical trials (smartRCTs)”

**Jeudi 11 Avril 2019 : Perrine BRUNELLE interne médecine généticienne, Lille.**

-Que pensez-vous de l'utilisation du séquençage génétique dans les essais cliniques ?

Cela peut permettre des avancées. Bien évidemment le patient doit être tenu au courant, et lui demander s'il veut les résultats si on trouve quelque chose. Cette pratique est en train de se développer. En effet, si on n'intègre pas dans la médecine on risque de rater un pan de physiopathologie.

La médecine personnalisée est connue en France. Il existe un DU de Médecine personnalisée par exemple. La France est en effet beaucoup plus axée sur la Médecine personnalisée que sur les analyses de masse. La médecine personnalisée permet de développer une expertise.

-Que pensez-vous de la question de l'ethnicité dans les questionnaires patients ?

La question de l'ethnicité est très importante. En fonction de la population un même variant n'a pas la même interprétation. C'est un outil d'interprétation. Les bases de données d'individus sains sont essentiellement des Européens ou Américains. Il faudrait plus de données sur les populations d'Afrique, d'Asie... Cela sera une aide importante pour les études multicentriques. Il y a une inégalité entre les pays.

Bien sûr avec la migration de population on assiste à un lissage génétique.

Que devrait répondre un patient métissé à la question de l'ethnicité?

Il devrait, à mon avis, renseigner son origine provenant de la population la plus ancienne possible. En effet, l'Afrique étant le berceau de l'humanité, il y existe une diversité importante de variants dans le génome de personnes saines. Savoir que les personnes viennent de cette région permet de prendre du recul sur les variants observés chez elle. Dans le cas où le patient aurait des origines africaines il faudrait renseigner celle-là. Il faudrait élargir les propositions dans les questionnaires. L'ethnicité aide à l'interprétation. Certains variant génétique correspondent à une origine géographique plus qu'à une pathologie ou à un statut métaboliseur.

-Selon vous quelles sont les nouvelles pistes en essais cliniques ?

Dans les essais cliniques la description génétique pourrait être intéressante. Pour cela, il faudrait des patients et surtout des témoins, pour chaque population étudiée. Par exemple, dans les études pharmacogénétiques, l'activité enzymatique peut être influencée par des SNP et donc leur connaissance peut avoir un intérêt; Les examens génétiques sont très sensibles pour cela ; Typiquement, ce genre de résultats n'est pas rendu, puisque pas d'effet sur la vie future du patient, mais seulement sur sa réponse au traitement testé dans l'étude ; Ce genre d'étude doit être bien encadrée, avec des précautions prévues à l'avance, notamment en cas de découverte fortuite d'un variant pouvant avoir une influence directe sur la santé du patient.

-Selon vous, quelles difficultés pourraient être rencontrées par l'utilisation du séquençage génétique dans les essais cliniques ?

Difficulté financière.

-Concernant votre profession ?

Il n'y a pas beaucoup de médecins généticiens en France et il y a encore beaucoup de méconnaissance du grand public sur les tenants et les aboutissants des analyses de génétique.

Les essais thérapeutiques proposent le plus souvent des tests pharmacogénétiques qui sont plus facile à appréhender, à prendre en charge, que les tests recherchant des variations pathogènes, dans le cadre d'un diagnostic par exemple. En effet, la réglementation dans ce dernier cadre est très stricte. Par exemple, c'est le médecin qui prescrit un test génétique qui doit rendre le résultat, et dans certains cadres, seuls des généticiens, ou des médecins en lien avec une équipe de généticiens peuvent prescrire les examens de génétique (cas des diagnostics pré-symptomatiques). Dans notre système de santé, c'est d'abord le médecin généraliste qui oriente vers un médecin généticien.

Concernant mon parcours : j'ai effectué des études de médecine, avec un internat en génétique médicale. Dans ce cadre, j'ai pu réaliser des stages dans des services de génétique clinique ; cytogénétique; biologie moléculaire.

Lors d'une consultation de génétique, il faut voir le patient connaître son histoire et l'histoire de la famille.

La plupart du temps, on effectue un examen pan génomique s'il n'y a pas d'hypothèse, et un examen ciblé s'il y a une hypothèse. Notre travail passe par l'analyse des dossiers et de la littérature. Nous apportons une réponse à certains questionnements de patients, tout en respectant les lois éthiques.

L'utilisation de la génétique pour optimiser les traitements sont un atout important : par exemple en infectiologie, afin de déterminer la capacité de réponse à un traitement contre les hépatites virales.

**Fabiola Paoli Monteiro, Medica Geneticista - Medical Geneticist, Consultorio Particular Dimanche 14 Avril 2019**

“-What do you think about the use of genetic sequencing in clinical trials?”

I believe it is very important if not absolutely necessary, so that the patient has a definite confirmation of a certain disease as well as elucidation of the accurate molecular mechanism (as some mutations respond and some don't to certain treatments) before inclusion in a clinical trial.

-What do you think about the issue of ethnicity in patient questionnaires?

As a medical geneticist, I know that some ethnic populations have higher frequencies of specific diseases and also certain mutations are almost exclusive to certain population groups, therefore I believe this information is relevant to diagnostic evaluation.

-For you, what are the new issues or scientific tools in clinical trials?

Difficult question... I think many clinical trials are important in their very own way. Nevertheless therapeutic clinical trials are the ones that probably have a more direct impact in changing the natural history of a certain disease.

-Finally, can you summarize your activity of medical geneticist?

I clinically evaluate patients who have a suspicion of any genetic condition, so as to try and establish the accurate etiology, as well as individuals who have a family history of a genetic disorder or that have an already established genetic diagnosis for genetic counseling. I am also a next-generation sequencing specialist working at a diagnostic lab.

### **Lundi 15 Avril 2019 : Pr Sablonnière, interview physique, pôle recherche, directeur de l'école doctorale biologie santé de l'université de Lille.**

Cette interview intervient dans le cadre de la rédaction de mon mémoire de M2 appelé : "Les nouvelles pistes en essais cliniques : focus sur le séquençage génétique".

Cette idée m'est venue, parce que, dans le cadre de ma formation (Pharmacien spécialisé dans les études cliniques), je suis ARC (Attachée de Recherche Clinique). Sur une de nos études, on a eu la question de l'ethnicité sur un de nos questionnaires et on s'est retrouvé face à un patient métissé qui ne savait pas quoi répondre et qui n'a finalement pas répondu à la question. Quand nous avons entrés les données sur le ecrf nous avons été contraint de blanker (on n'a pas mis de réponse), le champs "ethnicity". C'est là que j'ai compris que c'était une piste à explorer une piste à explorer, j'ai fait donc rédiger mon mémoire sur les nouvelles pistes en essais clinique en faisant un focus sur le séquençage génétique.

Quelle est votre avis, que pensez-vous de l'utilisation de la génétique dans les essais cliniques ?

Dans un essai clinique, si on étudie, par exemple, le pronostic d'une maladie ou si on souhaite étudier l'effet d'un traitement, généralement, on tient compte de l'interrogatoire des patients. On essaie de les catégoriser, au niveau social, la qualité de vie, l'environnement proche, c'est-à-dire les caractéristiques propres du patient. Est ce qu'il est en bonne santé ? Son poids, sa taille, ce qu'il mange, est ce qu'il fait du sport. Et forcément depuis une quinzaine d'année on est obligé d'ajouter des facteurs de prédisposition génétique qui peuvent être des facteurs qui vont influencer favorable ou défavorablement le pronostic vital.

Depuis une quinzaine d'année, il y a de plus en plus d'étude d'association sur le génome entier c'est ce qu'on appelle le JOAS qui sont réalisées. On a déjà beaucoup de données. Même si on ne va pas inclure le patient dans une nouvelle étude clinique JOAS, on peut, avec quelques variants génétiques bien connues comme étant fortement associé à tel ou tel pathologie, faire une petite étude génétique sur ce patient pour voir dans quelle catégorie il se trouve.

Lorsque c'est une recherche clinique dont le but principal n'est pas une étude génétique. On peut profiter des connaissances qu'on a acquis en génétique pour voir un peu... Un exemple que je donnais très simple c'est pour des études qui sont faite dans des essais thérapeutiques pour la maladie d'alzheimer. Vous savez qu'il y a un facteur génétique qui est le gène ApoE. Or ça sert a rien de dire à un patient à 20ans : "vous êtes porteur d'apoE4 donc vous multipliez votre risque par 2 de développer la maladie d'Alzheimer", puisque de toute façon l'âge multipliera ce risque par 20.

Le fait de posséder un variant E4 va être contributif si le patient est déjà malade. S'il n'est pas malade ça sert a rien de lui faire peur avec ça. Il y a d'autres exemples avec des prédispositions au diabète. Par exemple, avec quelques gènes majeurs on peut voir s'il y a déjà une prédisposition génétique même sans trop manger de sucre ni trop manger de graisse.

-J'oriente mon mémoire vers l'optimisation du parcours de soin, certaines études ont montré qu'avec certains facteurs génétiques on observe plus ou moins une réponse à un traitement donné.

Oui, très bien ! Ca c'est la pharmacogénétique.

-C'est cela, oui.

-L'un des grands spécialistes c'est mon collègue Franck Broly. Là c'est différent puisqu'on ne réagit pas tous de la même façon face à l'effet d'un médicament. Chez certains à cause de facteurs génétiques, les enzymes diminuant la concentration active du médicament vont être plus efficace, ils vont dégrader plus vite un médicament via le foie, vont l'éliminer sous forme soluble dans l'urine. Donc effectivement, chez ces patients il faudra augmenter la dose pour avoir un même effet thérapeutique alors que chez d'autres ce sera l'effet inverse on aura un variant génétique de l'enzyme du foie qui diminue le métabolisme du médicament donc à dose identique, il aura un effet plus marqué et éventuellement un effet secondaire plus marqué.

Cela se fait déjà beaucoup. Dans le laboratoire du service toxicologie toxicogénétique auquel j'appartiens, il y a déjà pas mal de marqueur qui sont fait comme des gènes de l'acétylation un certain nombre de molécule. On dit qu'il y a des acétylateurs lents et des acétylateurs rapides ce qui fait que la réponse au médicament n'est pas la même.

-C'est très intéressant la pharmacogénétique, surtout maintenant que la loi sur la protection des données est passé. On voit beaucoup de consentement qui sont reformulés parce que les fondements restent les mêmes. La génétique c'est quelque chose de très sensible, sur le même temps je vais vous poser la question de l'ethnicité dans les questionnaires. Que pensez-vous de la question de l'ethnicité dans les questionnaires patients ?

Il y a un principe de départ du consentement, qui fait qu'au lieu de faire signer rapidement des tas de chose que le patient ne comprend pas. Les consentements doivent d'abord être éclairés et oraux. C'est à dire il faut vraiment que le médecin prenne du temps pour expliquer pourquoi on va lui prendre un peu de sang pour faire tel analyse génétique et c'est bien cadré. C'est à dire qu'il y a des consentements qui sont dans un but diagnostique pour diagnostiquer une maladie dont souffre le malade. C'est un cas bien particulier. C'est à dire que le généticien doit rechercher que le gène éventuellement en cause ou un panel de gènes, si doit bien prévenir.

Si c'est une étude prospective dans un but de pronostic ou thérapeutique, si il étudie des variants, il faut qu'il explique au malade quel variant il va étudier. Il n'a pas le droit d'étudier tout le génome comme on fait dans une étude de JOAS qui est avec un consentement complètement différent.

Alors après pour l'ethnicité, ce que vous voulez dire c'est quoi ? C'est considérer le malade comme étant dans un groupe ethnique particulier et donc il y a des variants génétique un peu plus particulière dans les groupes ethniques ou c'est autre chose ?

-C'est la question des groupes ethniques. Concrètement, le cas pratique c'est : on a un questionnaire, et la question est : "ethnicité : " le patient doit répondre.

-C'est pour le mettre dans une catégorie ? -Avec le risque que la catégorie est plus ou moins apprécié selon ce que l'on met derrière avec Africo-américain.

Je ne suis pas directement concerné par cela parce que je n'ai pas été en face d'un tel problème dans les quelques études de recherche clinique que j'ai faite. Je dirais que maintenant ça devient de plus en plus un faux problème. Alors qu'au début les études de JOAS était faite surtout sur des occidentaux, maintenant depuis qu'il y a une des études mondiales qui s'appelle 1000 génomes, on est a plus de 26000 génomes. On connaît la distribution des variantes dans énormément de pays et dans beaucoup d'ethnie.

Ce dont on a le plus besoin c'est la nationalité du patient plutôt que son origine ethnique.

Le terme de race j'ai horreur de ça. Que ce soit la couleur de la peau ou des cheveux. On appartient à un pays qui a ses propres prérogatives et donc on connaît la distribution d'un certain nombre de variants génétique quelques soit le pays. Ce problème ne doit plus être un barrage avec une condition ethnique c'est une condition d'appartenance étatique à tel ou tel pays. Par exemple ça peut être Nationalité Française et mettre d'origine DOM-TOM en précisant Guadeloupe, Martinique, Réunion comme ça il n'y a pas de négativisme associé.

-Et du coup tous les problèmes ethniques qui en découle, on éclaircit ce point ?

-Ou bien ça peut être français descendance nigérienne du père. Mais on met bien un pays en face et non pas une espèce d'ethnie coupée en quatre ou il y a des asiatiques, des africains, des Européens, sous entendue des notions de race et de couleur de peau que je n'aime pas non plus.

- Selon vous quelles sont les nouvelles pistes en recherche clinique ?

Ou la génétique a vraiment son importance ? Qui sont novateurs ?

Dans le domaine de la cancérologie il y a de nouvelles pistes. On développe le domaine de la médecine personnalisée. Même si ce sont des mutations somatiques ou des mutations qui peuvent être transmises, quelques fois, on sait que selon le type de mutation l'orientation du traitement sera différente.

Ça offre de nouvelles pistes effectivement. Même si ça part de l'analyse de tumeur ça ouvre des pistes. Maintenant il y a toute l'exomique, c'est à dire qu'on peut regarder les ARN on peut regarder des protéines dans un tissu donné.

Chez des patients à partir d'une biopsie d'une tumeur on a une caractérisation extrêmement fine de la personne. A partir de ces nouvelles techniques qui vont au-delà du génome puisque ça peut être des ARN, des protéines, même des petits ARN, la méthylation de l'ADN.

Là ça se complexifie beaucoup et il faut être très prudent car c'est comme si on allait au fin fond du patient pour caractériser tout un tas de marqueurs. Ça se développe et il y a des précautions éthiques à prendre en compte car même si ce sont des prélèvements qui ne sont pas extrêmement invasif.

En recherche clinique il y a des catégories selon des actes invasifs ou pas vis -à-vis du patient même si ce n'est pas très invasif il faut que le patient soit bien informé de ce que on va utiliser à partir de ces caractéristiques propres qui dérivent de la génétique puisque finalement quand on regarde des ARN et quand on regarde des protéines ça provient des ARN.

-La dernière question c'est concernant votre activité. J'ai vu que vous avez contribué à beaucoup d'articles dans le domaine notamment des travaux sur parkinson et Alzheimer votre ressenti sur votre métier ?

Je me suis spécialisé dans les maladies neurodégénératives depuis une quinzaine d'année. A l'hôpital on développe le séquençage d'exome, notamment le séquençage du panel des gènes, notamment dans le parkinson. Je pense que c'est important car c'est une pathologie pour laquelle, les différences entre les patients.

Il y a des facteurs de risques génétiques qui commencent à être connus... Si on peut permettre de découvrir ces facteurs de risque et même parfois des mutations très rare... C'est très utile pour le patient parce que ça permet d'étiqueter tout de suite non pas forcément une gravité, mais ça permet de prendre en charge à 100%.

Avec une mutation bien déterminée, il peut s'orienter vers une association de malade et dire "ben oui moi je connais un certain nombre de famille qui ont la même mutation comment ça se passe". Ça peut permettre de le rassurer, à la fois pour orienter son style de vie depuis qu'il sait qu'il est malade et également orienter sur des pistes thérapeutiques.

On sait qu'il y a environ 10% des parkinsons qui ont une preuve génétique. Pour ces patients on a une conduite thérapeutique qui est un peu différente du parkinson classique pour lequel il y a aucune mutation trouvée.

Nous c'est ce que l'on fait au laboratoire on a à peu près une 100aine d'analyse par an et on trouve des mutations dans 5 à 10% des cas quand même donc ce n'est pas complètement anodin.

-Dans quel cas vous faites des analyses génétiques ?

Ce n'est pas nous, c'est le clinicien. Les signes d'appel c'est le caractère atypique : démarrant plus tôt, ou par des formes plus graves, soit le patient à des parents atteints dans la famille. Ce n'est pas nous biologiste c'est bien le clinicien qui prescrit les tests génétiques.

-Par curiosité : Dalgene? Etude sur le dalcetrapib impliquant un gène. Ils ont prouvé que le taux d'HDL ne modifie pas considérablement la morbi-mortalité. Mais d'autres études de Dal pharmaceutical vont dans le sens d'une exploitation génétique

-Dans les hypercholestérolémies : sélectionner le malade en fonction des facteurs génétique je ne pense pas que ce soit une bonne chose. Des gènes qui agissent aussi fortement il y en a peu.

-Il y a des pathologies où cette application de la génétique a un réel intérêt et d'autre ou ...?

-Je ne pense pas que ce sont des pathologies comme l'hypercholestérolémie ou les gènes majeurs permettraient d'être repérés d'emblée. Je ne pense pas que cela va augmenter beaucoup, parce que dans ces pathologies c'est polygénique. On a un bon exemple dans le diabète. Finalement dans le diabète il y a 200 variants génétiques. A part quelques variants génétiques géographiques dans certains pays. C'est vraiment extrêmement rare et très localisé dans la plupart des cas ce sont des facteurs de risque qui sont distribués dans le monde entier.

Ça a de l'intérêt vraiment dans des pathologies qui sont très spécifiques.

-Dans les années avenir pensez-vous que l'outil génétique va entrer dans les essais cliniques ?

Oui, pour la médecine personnalisée notamment dans les pathologies troubles cardiovasculaires, dans la prévention des accidents vasculo-cérébraux. Là, il y a des progrès, notamment pour la prévention des AVC. La génétique avance et probable qu'un jour ce sera un peu au-devant de la scène. Notamment chez les femmes, le risque d'AVC

augmente beaucoup à la ménopause. Si on peut faire une prévention plus serrée, plus particulièrement chez certaines femmes ayant des risques : soit d'hypercoagulation, soit au contraire des défauts de coagulation.

Des facteurs génétiques qui commencent à être bien connus. Dans ces pathologies, la connaissance des facteurs génétiques peut apporter un avantage personnel à ces patients. Il ne s'agit pas de dire à des patients "vous faites partie d'un génotype particulier et globalement ça nous intéresse" mais là d'avoir vraiment un intérêt personnalisé pour le patient. Cela commence à se développer dans les pathologies cardiovasculaires.

-Merci beaucoup de m'avoir accordé cette interview

-Merci à vous et bon courage pour votre mémoire."

### **Meagan FARMER INTERVIEW Ecrite**

-What do you think about the use of genetic sequencing in clinical trials ?

Genetic sequencing of patients/participants (germline testing) or their tumors (somatic testing) will allow researchers to better match people with appropriate clinical trials. If genetic testing is performed on clinical trial participants, there is growing pressure to responsibly return these results to them, not just use the data for trials purposes. This is difficult to do in a scalable way, which is one thing my company (My Gene Counsel) can help with

-What do you think about the issue of ethnicity in patient questionnaires?

I understand the sensitivity around asking about ethnicity in patient questionnaires as well as the subjectivity of these questions – they can often be difficult to accurately answer with limited multiple choice options. From genetics standpoint, it's also important to remember how much more limited genetic data we have for non-European Caucasian individuals and why having ethnicity information can be helpful. However, people of color and from other diverse backgrounds may be less likely to participate in genomic research due to wrong committed as part of past unethical research (e.g Tuskegee experiments). Some large studies are attempting to responsibly, ethnically collect data from diverse populations (e.g All of Us study).

-For you, what are the new issues or scientific tools in clinical trials?

Using big data to more efficiently match participants with trials is a popular topic. Check out this Forbes article for examples. Full disclosure, it was written by my company's CEO, Ellen Matloff.

**Andrew McCarty, MS, CGC**

-What do you think about the use of genetic sequencing in clinical trials ?

I think it's useful for gene discovery but I do think there is a \*major\* bias on the sampling in regards to ethnicity which in turn can cause disparities further down the line in transnational medicine and future treatments

-What do you think about the issue of ethnicity in patient questionnaires?

I think there is a bias in regards to how questionnaires are often phrased, I can speak too much beyond that in regards to my opinion however.

-For you, what are the new issues or scientific tools in clinical trials?

One area of focus I believe will be the use of broad-based population testing to target useful populations for particular studies.



## LES NOUVELLES PISTES EN RECHERCHE CLINIQUE : FOCUS SUR LE SÉQUENÇAGE GÉNÉTIQUE

### Résumé

La recherche clinique a permis d'établir et de vérifier des données de pharmacocinétique, de pharmacodynamique, et de thérapeutique. Le séquençage génétique, lui, a permis de décrypter le génome humain. L'alliance de ces deux sciences a donné naissance à la médecine personnalisée. Cette analyse du séquençage génétique dans les nouvelles pistes en recherche clinique vous propose de redécouvrir comment la génétique a contribué au progrès et à l'innovation médicale. A cette rétrospective s'incrémente une révision des pratiques et de la réglementation dans le but d'identifier et surpasser les obstacles à l'apogée du séquençage génétique en recherche clinique. L'exploitation des outils de la génétique et la pharmacogénétique, l'étude de l'implication des caractéristiques génétiques des individus dans la réponse à un traitement, sont encore nécessaires aujourd'hui et sont identifiées comme faisant partie des nouvelles pistes en essais cliniques. Grâce au séquençage génétique en essais cliniques, vous pourrez entrevoir l'avenir encore plein de découvertes et la promesse de prise en charge améliorée du patient en matière de soins curatifs et préventifs.

Mots clés : Recherche clinique, séquençage génétique, médecine personnalisée, pharmacogénétique.

## THE NEW PATHS IN CLINICAL RESEARCH: FOCUS ON GENETIC SEQUENCING

### Abstract

Clinical research has established and verified pharmacokinetic, pharmacodynamic, and therapeutic data. Genetic sequencing has enabled the understanding of the human genome. Both sciences led to personalized medicine. This analysis of the genetic sequencing in the new leads in clinical research offers you to rediscover how genetics has contributed to progress and medical innovation. Also, a review of practices and regulations is being developed with the aim of identifying and overcoming the obstacles of genetic sequencing in clinical research. Today, the exploitation of the tools of genetics and pharmacogenetics, the study of the implication of the genetic characteristics of individuals in the response to a treatment, are still needed and identified as part of the new leads in clinical trials. With genetic sequencing in clinical trials, you can understand the future and the promise of improved patient care in terms of curative and preventative care.

Key words: Clinical research, genetic sequencing, personalised medicine, pharmacokinetics.