

Évaluation de la toxicité des nouvelles molécules médicamenteuses

Principes généraux et limites actuelles

François Ballet

Résumé

La toxicité est la cause de plus de 50 % des arrêts de développement des nouvelles molécules médicamenteuses au stade préclinique ou clinique et ce taux reste inchangé depuis de nombreuses années. Dans ce contexte, l'évaluation de la toxicité doit être la plus précoce possible au cours du processus de R & D car la mise en évidence d'une toxicité rédhibitoire évite un développement inutile et coûteux et permet d'allouer les ressources sur la sélection de nouvelles molécules candidates. Lorsque le profil de tolérance du produit permet d'envisager son développement, il est essentiel de mettre en œuvre les études nécessaires pour permettre une évaluation approfondie des risques en s'efforçant notamment de détecter les effets indésirables potentiels à un stade précoce/réversible, et si possible d'identifier s'il existe des circonstances favorisant et/ou des facteurs de susceptibilité individuels. À toutes les étapes de la R & D, il est impératif d'évaluer le niveau de risque en fonction du bénéfice thérapeutique attendu pour décider de la poursuite ou non du développement de la molécule. Enfin, les agences réglementaires exigent de plus en plus souvent la mise en place d'un plan de gestion des risques, c'est-à-dire de stratégies nécessaires pour réduire les risques liés à un nouveau médicament quand il est mis sur le marché.

Mots-clés

Toxicologie, candidat médicament, sécurité du médicament, processus de R & D, évaluation du risque, bénéfice/risque, plan de gestion des risques.

Abstract

Toxicity assessment of new pharmaceuticals: general principles and current limits

Toxicity is responsible for more than 50% of project terminations of new pharmaceuticals and this rate remains unchanged for many years. In this context, toxicity assessment should be done as early as possible during the R&D process as identification of any serious toxicity leads to project termination and allows reassigning resources in the selection of new drug candidates. When the preclinical toxicity profile of the drug candidate meets the criteria for entering into clinical development, it is essential to put in place a thorough clinical safety monitoring plan aiming at detecting the potential side effects of the compound at an early/reversible stage, and if possible, identifying any contributing circumstance(s) and/or individual susceptibility factor(s). At each stage of the R&D process, it is imperative to assess the level of risk in perspective with the expected benefit of the drug in order to take an appropriate go/no go decision. Finally the regulatory agencies are requesting more and more frequently a formal risk management plan, *i.e.* an appropriate strategy to mitigate the safety risks associated with a new drug after launch.

Keywords

Toxicology, drug candidate, drug safety, R&D process, risk assessment, benefit/risk, risk management plan.

Malgré les progrès considérables accomplis en biologie et le développement sans précédent des nouvelles technologies d'investigation du vivant, la toxicité des molécules reste un facteur limitant important dans la découverte et le développement de nouveaux médicaments. La toxicité d'une molécule est la cause de plus de 50 % des arrêts de développement des nouvelles molécules au stade préclinique (2/3 des cas) ou clinique (1/3 des cas) [1]. Par ailleurs, une stratégie inadéquate dans ce domaine peut être lourde de conséquence pour le patient (effet secondaire grave se traduisant par des séquelles irréversibles, voire le décès du patient) et/ou pour le laboratoire (retrait du marché, conséquences judiciaires et financières, impact sur la valorisation boursière, l'image, etc.).

Cet article a pour objectif de discuter les principes généraux de l'évaluation toxicologique des nouvelles molécules médicamenteuses au cours des différentes phases de R & D – recherche, développement préclinique et clinique – et d'indiquer quelles en sont les limites actuelles.

Évaluation de la toxicité en phase de recherche

Il est important de souligner que le fait de disposer très tôt, au cours du processus de R & D, d'informations clés sur le profil toxicologique d'une molécule est un avantage stratégique majeur pour une entreprise. En effet, les décisions d'arrêt de développement (« no go ») peuvent être prises

plus précocement, ce qui évite d'engager des études inutiles et coûteuses et permet de réallouer le budget sur la recherche de nouvelles molécules (« back-ups »), et par ailleurs, ces informations sont des éléments clés pour élaborer la stratégie de développement et permettent de mieux positionner le produit par rapport à la concurrence.

Littérature scientifique et environnement concurrentiel

Avant même qu'une molécule soit découverte, l'analyse de la littérature peut donner des informations importantes sur sa toxicité potentielle à partir de la connaissance de la cible moléculaire ou de la voie de signalisation visée par le médicament, notamment quand des médicaments ont déjà été développés dans la même famille pharmacologique. Par exemple, les molécules qui inhibent des récepteurs impliqués dans l'angiogénèse*, tels que le récepteur au VEGF (« vascular endothelial growth factor »), sont associées à un risque de toxicité vasculaire (hypertension artérielle) ou cardiaque. Les inhibiteurs du récepteur EGF (« epidermal growth factor ») sont souvent à l'origine d'une toxicité cutanée.

Relation structure-activité (QSAR) et approches *in silico*

Certains logiciels permettent d'étudier la relation structure-activité à partir de certaines structures chimiques à risque (structures alerte ou toxicophores*). Une autre approche consiste à utiliser des systèmes experts (par exemple DEREK) capables de prédire la toxicité à partir d'un certain nombre de règles préétablies validées sur un grand nombre de molécules. Par ailleurs, de nouvelles approches se développent permettant de prédire le potentiel d'interaction avec des cibles pouvant être responsables d'effets secondaires potentiels [2-4]. L'analyse est fondée sur le degré de similarité avec d'autres molécules ayant des effets secondaires établis ou avec des pharmacophores* connus pour interagir avec certaines cibles. Un aspect particulièrement intéressant de ces tests est de pouvoir découvrir de nouvelles propriétés pharmacologiques d'une molécule, et ainsi de la « repositionner » dans d'autres indications thérapeutiques [4].

Criblage moléculaire

Les tests *in vitro* de liaison aux récepteurs, aux canaux ioniques, à certaines enzymes et autres cibles moléculaires pharmacologiques ou toxiques potentielles donnent des indications capitales sur le profil toxicologique potentiel d'une nouvelle molécule en développement [5]. En effet, un mécanisme important de toxicité est la fixation de la molécule sur une autre cible que celle visée pour obtenir l'effet thérapeutique (effet « off target »). Il peut s'agir d'une cible proche : un exemple classique est celui de la toxicité digestive des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui résulte de l'inhibition de la cyclooxygénase de type 1 (Cox1), alors que l'activité anti-inflammatoire est liée à l'inhibition de la cyclooxygénase de type 2 (Cox2). Un exemple plus récent est celui des valvulopathies cardiaques induites par les dérivés de la fenfluramine utilisés dans le traitement du diabète ou de l'obésité qui résultent d'une activation du récepteur 5-HT2B au niveau des valves cardiaques. Des sociétés de service spécialisées permettent de réaliser ces tests sur des centaines de récepteurs ou cibles potentielles pouvant être associés à des effets indésirables.

Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque* dans le texte sont définis ci-dessous.

Affection intercurrente : maladie qui se déclenche au cours d'une autre maladie.

Agoniste : molécule qui active certains récepteurs (protéines).

Angiogenèse : processus décrivant la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants. C'est un processus physiologique normal, que l'on retrouve notamment lors du développement embryonnaire. Mais c'est aussi un processus pathologique, primordial dans la croissance des tumeurs malignes et le développement des métastases.

Cellules souches pluripotentes induites (iPS) : cellules adultes reprogrammées pour retrouver les mêmes potentialités que les cellules souches embryonnaires.

Cholestase : diminution ou arrêt de la sécrétion biliaire pouvant conduire à un ictère (jaunisse).

Clastogène : se dit d'un agent qui provoque des cassures de chromosomes.

Idiosyncrasie (du grec *idiosugkrasia* : tempérament particulier) : comportement particulier d'un individu face aux influences de divers agents extérieurs ; par exemple, on parle d'idiosyncrasie immunitaire lorsque deux individus réagissent différemment à un agent pathogène.

Immunohistochimie : méthode de localisation de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu, par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps.

Néoantigène : antigène normalement non exprimés dans les tissus.

Pharmacophore : ensemble d'atomes disposés selon un arrangement spatial constituant une partie pharmacologiquement active d'une molécule ; les pharmacophores servent de modèles dans la conception de médicaments.

Pharmacovigilance : a pour objet la surveillance du risque d'effet indésirable résultant de l'utilisation des médicaments et produits à usage humain (article R. 5121-150 du Code de la santé publique).

Pléiotropie (du grec *pleion* : plus, et *tropê* : changement) : qualifie un gène qui détermine plusieurs caractères phénotypiques ; le phénotype induit par une mutation de ce gène n'est donc pas le reflet de l'effet sur une seule et unique fonction induite par ce gène, mais la combinaison des effets sur plusieurs de ces caractères.

Polymorphisme (du grec *poly* : plusieurs, et *morphê* : forme) : coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou locus donné, conduisant, pour une espèce au sein d'une même population, à plusieurs individus aux caractères phénotypiques différents ; ces variations sont liées aux mutations génétiques et aux différentes adaptations.

Système HLA : les molécules du système HLA (« huma leucocyte antigen »), également appelé « complexe majeur d'histocompatibilité » (CMH), sont des molécules à la surface des cellules qui permettent l'identification par le système immunitaire.

Toxicophore (ou structure alerte) : fonction ou groupe au sein d'une molécule considéré comme responsable des propriétés toxiques.

D'autres exemples de relation entre la fixation à une cible moléculaire et un effet indésirable sont présentés dans le tableau.

Il est important de souligner qu'une forte affinité *in vitro* pour une cible moléculaire connue pour pouvoir déclencher un effet indésirable constitue un signal d'alerte, mais ne signifie pas pour autant que la toxicité sera limitante pour le développement.

Exemples de cibles moléculaires associées à des effets indésirables potentiels.

Agoniste : molécule qui a les mêmes propriétés qu'une autre molécule et qui active certains récepteurs ; dyskinésie : activité motrice involontaire.

Cible	Nature	Effet moléculaire	Toxicité
hERG	canal K ⁺	inhibition	cardiaque : prolongation de l'intervalle QT, torsades de pointe
5HT2b	récepteur sérotoninergique	agoniste	valvulopathie cardiaque
ER	récepteur aux œstrogènes	agoniste	effet œstrogénique, altération de la fonction de reproduction
Cox1	enzyme (cyclooxygénase)	inhibition	toxicité digestive
Canal Na ⁺	canal Na ⁺	inhibition	effet proconvulsivant
CB1	récepteur cannabinoïde	agoniste	dépression
Dopamine D2	récepteur dopaminergique	agoniste	dyskinésie

Transport cellulaire, métabolisme et métabolites réactifs

L'interaction des molécules médicamenteuses avec les transporteurs cellulaires, les enzymes du métabolisme et les récepteurs qui les modulent (Ah, PXR, FXR...) peut conduire à des effets toxiques [6-8].

Ainsi, il a été montré que certains polymorphismes* du gène codant pour le transporteur hépatique des statines (OATP1B1) étaient associés à un risque accru de toxicité musculaire et que ce risque était lié à une augmentation des concentrations plasmatiques [6].

Le cytochrome P450 représente une famille d'enzymes extrêmement diversifiée (57 P450 dont cinq majoritaires chez l'homme) qui est responsable d'environ 75 % du métabolisme de l'ensemble des médicaments. Ces enzymes catalysent des réactions d'oxydation des substrats dites de phase 1 ; ils sont localisés dans de nombreux organes et sont particulièrement abondants au niveau du foie et de l'intestin grêle. L'activité du P450 peut conduire à la production de métabolites réactifs électrophiles et peut varier sous l'effet de différents mécanismes : polymorphisme des gènes codant pour l'enzyme, induction ou inhibition.

Une inhibition du cytochrome P450 peut être la conséquence du métabolisme du produit lui-même (par exemple en cas de fixation covalente d'un métabolite réactif) ou d'un autre produit administré de façon concomitante et également métabolisé par le P450 [7]. Celle-ci peut entraîner une augmentation des taux circulants et l'apparition d'effets indésirables liés à un effet pharmacologique exagéré [9].

L'interaction d'une molécule avec certains récepteurs nucléaires comme Ah, CAR, PXR et PPAR peut entraîner une induction de certains P450 [8]. De façon concomitante, ces récepteurs peuvent stimuler la prolifération cellulaire hépatique et conduire dans certaines

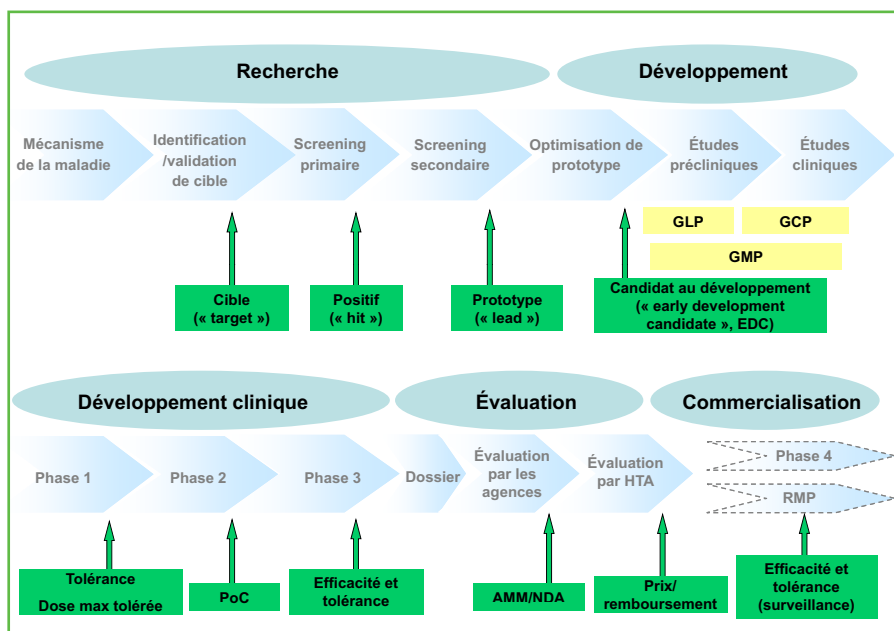
espèces animales, en particulier chez le rongeur, à une hypertrophie et à une hyperplasie du foie susceptibles de favoriser l'apparition de carcinomes hépatocellulaires après administration prolongée [10]. Il est maintenant bien établi que ces effets pléiotropiques* sont spécifiques du rongeur et ne sont pas corrélés à un risque carcinogène chez l'homme. Ceci est bien démontré pour les agonistes* du récepteur PPAR alpha comme les fibrates, prescrits chez l'homme depuis plus de trente ans.

Enfin, des effets toxiques peuvent résulter d'une inhibition de certains transporteurs en charge de l'efflux cellulaire des molécules. Ainsi au niveau du foie, une toxicité hépatique peut résulter de l'inhibition de BSEP, transporteur des acides biliaires dans la bile, qui entraîne une accumulation d'acides biliaires dans l'hépatocyte et une cholestase* [11].

Les métabolites réactifs sont une cause fréquente de toxicité [12]. La mise en évidence de métabolites réactifs est un signal d'alerte, mais ne traduit pas nécessairement un potentiel de toxicité particulier. En effet, certains médicaments largement prescrits peuvent donner lieu à une fixation covalente aux protéines alors qu'ils ne posent pas de problème de toxicité particulier [12]. Il est vraisemblable qu'un élément déterminant dans le potentiel toxique des métabolites réactifs est non pas le niveau global de fixation covalente aux protéines, mais plutôt leur capacité à se fixer sélectivement sur certaines protéines critiques pour le fonctionnement cellulaire, conduisant ainsi à la mort cellulaire [13]. Un autre mécanisme est l'alkylation d'une protéine particulière conduisant à la formation d'un néoantigène* susceptible de déclencher une réaction immunoallergique accompagnée d'auto-anticorps spécifiques [14].

Toxicologie génétique

Certains tests permettent de détecter le pouvoir mutagène ou clastogène* des molécules au stade de recherche



Principales étapes de la R & D pharmaceutique.

AMM/NDA : autorisation de mise sur le marché pour un nouveau médicament ; GCP : « good clinical practices » ; GLP : « good laboratory practices » ; GMP : « good manufacturing practices » ; HTA : « health technology assessment » (évaluation du service médical rendu) ; PoC : preuve de concept ; RMP : « risk management plan » (plan de gestion des risques).

– habituellement au stade de prototype (« lead ») [15]. Les deux tests les plus utilisés sont le test d'Ames, qui détecte des mutations de l'ADN, et le test du micronoyau *in vitro* sur cellules de lymphome de souris, qui détecte des anomalies chromosomiques. L'avantage de ces tests est qu'ils nécessitent peu de produits et peuvent être automatisés.

Tests de toxicité cellulaire *in vitro*

Les développements récents des méthodes de culture de cellules ainsi que les progrès accomplis dans le domaine des cellules souches permettent actuellement de disposer de modèles cellulaires *in vitro* représentatifs de nombreux tissus dans lesquels de nombreuses fonctions différenciées sont maintenues pendant plusieurs jours ou même parfois semaines [16-17]. Les modèles humains peuvent être établis à partir de cellules isolées de fragments de tissus obtenus à partir de biopsies ou de résections chirurgicales. Une autre approche beaucoup plus récente est l'utilisation de cellules de lignées différenciées d'origine humaine obtenues par la technologie des cellules souches pluripotentes induites* (iPS) [18].

Certaines technologies récentes permettent l'analyse simultanée de nombreux paramètres cellulaires morphologiques ou biochimiques en utilisant des marqueurs d'imagerie cellulaire (techniques de « high content screening ») [19].

En pratique, il est rare que ces tests soient réalisés en routine de façon systématique au cours du développement d'une nouvelle molécule [17]. En effet, ils sont difficiles à mettre en œuvre, leur reproductibilité n'est souvent pas optimale et surtout, en l'absence de données chez l'animal, leur valeur prédictive est insuffisante pour prendre la décision d'arrêter le développement de la molécule. En revanche, lorsqu'une nouvelle molécule est arrêtée en raison d'une toxicité d'organe mise en évidence par des études sur l'animal ou au cours des essais cliniques, ces tests peuvent permettre de sélectionner une nouvelle molécule dans une autre série chimique. Un point essentiel pour que cette stratégie puisse être mise en œuvre est la nécessité de valider le modèle cellulaire par la molécule toxique, en montrant qu'il est possible de reproduire *in vitro* la toxicité observée *in vivo* à des concentrations pertinentes par rapport aux données *in vivo* [17].

Études de toxicologie courtes

De nombreux effets toxiques réhibitoires peuvent être détectés par des études de toxicologie d'une semaine chez le rat [1]. Ces études sont conduites selon les principes habituels des études de toxicologie et sont souvent suffisantes pour mettre en évidence une toxicité d'organe, par exemple hépatique ou rénale, et déterminer si la marge de sécurité est suffisante. Elles nécessitent une quantité limitée de produit et ne sont pas aussi lourdes que les études qui font partie du « package » réglementaire avant les études cliniques de phase 1. En particulier, elles ne nécessitent pas l'utilisation d'un lot de produit fabriqué selon des normes de bonnes pratiques de fabrication (BPF). Il est habituel de compléter ces études chez le rat par une étude sur une espèce non rongeur, en général le chien, à doses croissantes par paliers de quelques jours. Ces deux types d'étude sont habituellement conduits au stade de prototype (« lead ») et font partie des critères décisionnels pour sélectionner un candidat médicament. Les principaux critères sont discutés plus loin.

Étude de la toxicité sur des modèles expérimentaux de maladie

Les études de toxicologie sont conduites sur des animaux sains, ce qui ne permet pas d'étudier l'influence d'une pathologie préexistante sur l'apparition d'un phénomène toxique. Par exemple, on sait que la cholestase est favorisée par les infections graves et que certaines hépatites médicamenteuses sont favorisées par l'inflammation hépatique. Par ailleurs, certains effets toxiques ne s'observent que dans des modèles qui expriment la cible induisant la réponse pharmacologique. Pour ces raisons, l'étude de certains paramètres toxicologiques (par exemple transaminases, histopathologie de certains organes) sur les modèles expérimentaux de maladie au cours des études de pharmacologie devrait être plus systématique.

Hybridation *in situ* et distribution

Enfin, les études de distribution avec produit marqué ou de la localisation dans différents organes et/ou tissus par immunohistochimie* lorsqu'il s'agit de développer un anticorps à visée thérapeutique peuvent alerter sur certains risques, par exemple en cas d'accumulation ou de localisation inattendue dans certains organes.

Transcriptomique, protéomique et métabolomique

Depuis près d'une quinzaine d'années, les techniques d'analyse à large échelle du transcriptome, du protéome, ou plus récemment du métabolome, sont utilisées en toxicologie. Un intérêt majeur de ces techniques est qu'elles permettent une étude du transcriptome ou du protéome à large échelle, sans *a priori* sur un mécanisme particulier. Il a ainsi été montré que ces approches étaient utiles pour préciser le mécanisme d'action de certaines molécules hépatotoxiques et qu'il était également possible de classer correctement en aveugle différents types de molécules hépatotoxiques à partir de leurs « signatures » spécifiques [20].

Évaluation de la toxicité en phase de développement préclinique

La méthodologie des études de pharmacologie de sécurité et de toxicologie réglementaire (études de toxicologie génétique, générales et de la reproduction) requises pour pouvoir tester un nouveau médicament chez l'homme et le mettre sur le marché ne sera pas développée ici. Nous nous limiterons aux principes généraux de l'évaluation des données des études de toxicologie générale chez l'animal. Les études de toxicologie sont conduites sur deux espèces animales rongeur (le plus souvent le rat) et non rongeur (le plus souvent le chien). L'évaluation d'un effet toxique se fonde principalement sur la marge de sécurité du produit qui est le rapport entre la dose sans effet dans l'espèce la plus sensible (NOAEL, « no observable adverse effect level ») et la dose thérapeutique envisagée, c'est-à-dire à ce stade de développement du produit, la dose trouvée active dans les modèles expérimentaux. Il est recommandé de faire également ce calcul en utilisant les concentrations plasmatiques de façon à tenir compte des différences d'expositions qui peuvent varier pour une dose donnée en fonction des espèces et ainsi de calculer le « rapport d'exposition ». Idéalement, une

marge de sécurité de 5 à 10 est souhaitable, mais d'autres facteurs doivent être pris en considération pour l'évaluation du risque toxique et la décision de poursuivre ou non le développement du produit [1, 21].

Ces facteurs sont notamment :

- le type de toxicité observé ;
- son caractère réversible ou non ;
- l'existence ou non de biomarqueurs sensibles et spécifiques permettant de détecter la toxicité à un stade précoce (par exemple transaminases pour l'hépatotoxicité, créatine phosphokinases (CPK) pour la toxicité musculaire) [22] ;
- l'extrapolation de la toxicité à l'homme, et notamment la relation entre l'effet toxique et le métabolisme du produit qui peut varier selon les espèces ;
- enfin et surtout : le bénéfice apporté par le nouveau traitement.

Un dernier critère fondamental pour évaluer un risque toxique est le bénéfice attendu pour le malade. En effet, un risque toxique doit toujours être mis en perspective avec l'intérêt thérapeutique, c'est-à-dire qu'il est toujours nécessaire de raisonner en prenant en compte le rapport bénéfice/risque. Ainsi par exemple, il peut être légitime de développer un nouvel anticancéreux ayant un risque d'hépatotoxicité modéré si les études de pharmacologie mettent en évidence un effet thérapeutique significatif dans des tumeurs résistantes aux molécules sur le marché, alors que ceci ne peut évidemment pas être envisagé pour un hypnotique ou un produit destiné à traiter l'obésité [21].

Diverses raisons peuvent expliquer qu'un effet indésirable observé en clinique n'ait pas été détecté dans les études de toxicologie sur l'animal :

- l'administration de doses insuffisantes dans les études de toxicologie (qui peuvent avoir été limitées par l'activité pharmacologique du produit, par exemple sédation, hypotension, etc.) ;
- le fait que les espèces utilisées en toxicologie ne répondent pas à la molécule sur le plan pharmacologique (cas fréquent des anticorps monoclonaux humains, d'où la nécessité d'utiliser des anticorps de substitution (« surrogate ») spécifiques des espèces animales utilisées) ;
- le fait que l'effet toxique soit la conséquence d'un métabolisme spécifique à l'homme ;
- ou enfin que l'effet toxique soit de type idiosyncratique*.

La toxicité idiosyncratique est un effet toxique qui n'apparaît que chez un très faible nombre d'individus réagissant aux doses thérapeutiques, souvent uniquement lorsque le médicament est mis sur le marché et qu'un nombre important de patients ont été exposés. Les mécanismes de ce type de toxicité sont multifactoriels et dépendant à la fois de facteurs de susceptibilité individuels, en particulier d'origine génétique, et de facteurs exogènes* [23]. Il n'est donc pas surprenant que ce type de toxicité ne puisse pas être détecté dans les espèces animales utilisées en toxicologie, c'est-à-dire chez des animaux jeunes, sains, identiques sur le plan génétique et élevés dans un environnement dont les paramètres sont parfaitement contrôlés.

Lorsqu'un effet toxique est considéré réhibitoire sur la base des critères vus plus haut, le développement du produit est arrêté. À titre d'exemple, l'apparition de cataractes, d'une toxicité rénale avec une faible marge de sécurité ou de convulsions inexplicables peut conduire à arrêter le développement d'un produit. Ceci n'implique pas forcément l'arrêt du programme de recherche si d'autres prototypes (« leads ») ayant des propriétés pharmacologiques comparables sont disponibles (« back-ups »). Il est évidemment souhaitable avant de prendre cette décision de savoir si la



© Fotolia/Ivan Josifovic.

toxicité observée n'est pas liée à l'activité pharmacologique du produit, autrement dit n'est pas un effet « de classe », car si c'est le cas, il y a peu de chance d'identifier une nouvelle molécule ayant un profil de toxicité acceptable. En pratique, ce sont souvent les données des études de toxicologie *in vivo* faites avec une ou plusieurs molécules appartenant à la même classe pharmacologique, mais ayant une structure chimique différente, qui permettront de conclure. Bien souvent, la mise en évidence d'une toxicité chez l'animal ne conduit pas à l'arrêt du développement de la molécule car les effets ne s'observent qu'à fortes doses avec une marge de sécurité suffisante et peuvent éventuellement être suivis par des biomarqueurs prédictifs, comme par exemple pour une hépatotoxicité [21]. Dans ce cas, la connaissance des organes cibles potentiels est fondamentale pour déterminer les paramètres à suivre pour les essais cliniques de phase 1 et peut justifier un monitoring renforcé adapté à l'effet toxique anticipé. Cette information est également cruciale pour l'élaboration des protocoles de surveillance des patients dans les essais cliniques de phases 2 et 3.

Évaluation clinique de la toxicité

La recherche des effets indésirables est un objectif majeur des essais cliniques réalisés avant la mise sur le marché. Les études de phase 1 ont pour objectif de déterminer le profil de tolérance du produit et la dose maximum tolérée. Ces données servent de base à l'établissement des doses pour les études de phase 2 qui ont pour but de démontrer l'activité du produit dans l'indication visée. Les études de phase 3 sont les études à grande échelle qui permettent de confirmer l'activité et de déterminer le profil de tolérance.

Une étape majeure dans l'analyse d'anomalies biologiques ou cliniques observées dans un essai clinique évoquant un effet indésirable est de déterminer si ce « signal » est lié ou non au traitement, c'est-à-dire en pratique d'étudier les critères d'imputabilité. En effet, l'observation d'une élévation des transaminases, de douleurs abdominales ou d'une éruption cutanée au cours d'un essai clinique ne signifie pas nécessairement que cet évènement soit lié à la nouvelle molécule. Il peut être lié à un autre médicament pris par le malade, à l'évolution de la maladie sous-jacente ou à une affection intercurrente*.

Deux critères d'imputabilité sont particulièrement importants : le délai d'apparition des anomalies compatible avec la prise médicamenteuse, c'est-à-dire dans les jours ou semaines qui suivent la première prise du médicament, et la régression, voire la disparition des anomalies quand le traitement est arrêté (« déchallenge »).

Limite des essais cliniques pour la détection des effets indésirables

Les essais cliniques permettent en général de détecter les principaux effets secondaires du produit, mais ils ont certaines limites.

En premier lieu, les études cliniques sont conçues avant tout pour mettre en évidence l'activité du produit, et en conséquence les hypothèses retenues pour déterminer la taille de l'échantillon se fondent d'abord et avant tout sur l'effet thérapeutique anticipé et non sur la toxicité potentielle. De ce fait, les essais cliniques ont souvent une taille insuffisante pour mettre en évidence certains types d'effets indésirables. En effet, il n'est pas rare que la fréquence de certains effets secondaires de type idiosyncratique soit inférieure à 1/10 000, d'où la très grande difficulté, voire l'impossibilité de les détecter au cours du développement clinique qui doit comprendre au moins deux études pivot de phase 3, c'est-à-dire au maximum l'inclusion d'un total de 10 à 20 000 patients.

Un autre facteur limitant est que la durée d'administration du produit dans les essais cliniques est souvent inférieure à la durée de prescription habituelle une fois le produit mis sur le marché.

Par ailleurs, la population incluse dans l'essai est une population sélectionnée dont peuvent avoir été exclues certaines catégories de patients, comme par exemple des sujets âgés et/ou ayant un risque particulier d'effet indésirable du fait d'une affection préexistante et/ou d'un traitement associé, etc. De plus, les patients inclus dans un essai clinique bénéficient d'une surveillance médicale renforcée et d'une information systématique sur les risques liés au traitement et/ou à la consommation d'autres médicaments, d'alcool, etc.

Les effets secondaires liés au produit peuvent être des effets inattendus et/ou jusqu'alors non considérés comme pouvant être d'origine médicamenteuse, ce qui rend leur détection difficile. À titre d'exemple, la relation entre les tendinites et les ruptures de tendon et la prise de quinolones n'a été mise en évidence qu'après plusieurs années de mise sur le marché, car ce type d'effet secondaire n'avait jamais été rapporté à large échelle en dehors de quelques cas anecdotiques observés avec certains médicaments.

L'ensemble de ces raisons explique que certains effets secondaires ne soient détectés qu'après plusieurs mois, voire plusieurs années de commercialisation et justifie la mise en place systématique de mesures de surveillance post-marketing qui doivent être adaptées en fonction du produit.

Dans ce contexte, la recherche de biomarqueurs prédictifs pour identifier à l'avance les patients susceptibles revêt un intérêt considérable.

L'hépatotoxicité des médicaments est un domaine où la recherche de biomarqueurs de susceptibilité est particulièrement active, car ce type de toxicité est souvent idiosyncratique et difficilement détecté dans les essais cliniques. Les études récentes de recherche de polymorphisme génétique sur l'ensemble du génome d'individus atteints d'hépatites médicamenteuses (« genomewide association studies », GWAS) ont mis en évidence des associations statistiquement significatives avec certains polymorphismes des gènes du système HLA (« huma leucocyte antigen »)* [24], ce qui suggère que des anomalies dans la réponse immunitaire

jouent un rôle dans le déclenchement de ces hépatites. Cependant, comme cela a été mentionné plus haut, les données récentes suggèrent que c'est la combinaison d'un ensemble de facteurs génétiques et non génétiques qui détermine le risque de toxicité idiosyncratique. On peut donc penser que l'identification des patients à risque nécessitera la combinaison de plusieurs paramètres et le développement d'algorithmes prédictifs [23].

Évaluation du risque et rapport bénéfice/risque

Un effet indésirable doit toujours être évalué selon un processus en deux étapes : quel est l'importance du risque ? Et est-ce que ce risque est acceptable compte tenu du bénéfice attendu ?

L'importance du risque lié à un effet indésirable est évaluée sur plusieurs critères, en particulier :

- le type de toxicité et sa sévérité ;
- l'évolution dans le temps, en particulier la réversibilité après arrêt du traitement ;
- les conséquences pour le patient (nécessité d'une hospitalisation, séquelles éventuelles, risque de décès, etc.) ;
- la fréquence de l'effet par rapport au groupe contrôle ;
- les risques additionnels liés à la population traitée (coadministration de certains médicaments, etc.) ;
- le mécanisme de l'effet toxique, en particulier la relation avec la dose et/ou les concentrations plasmatiques et le lien avec l'activité pharmacologique du produit ;
- l'identification de facteurs de risque associés, par exemple : maladie préexistante autre que celle justifiant le traitement, prise d'alcool ou d'un autre médicament ;
- l'identification de biomarqueurs de prédiction du risque permettant d'exclure les patients susceptibles et/ou de biomarqueurs de détection de l'effet toxique permettant la mise en place d'un monitoring efficace [22] ;
- les données de pharmacovigilance* accumulées éventuellement avec des molécules de la même classe déjà sur le marché.

In fine, c'est l'analyse du risque en relation avec le bénéfice qui constitue l'étape ultime et probablement la plus difficile de l'évaluation de la sécurité d'un nouveau médicament. En effet, le risque est une notion relative qui doit toujours être mise en perspective avec le bénéfice attendu. Ce principe fondamental s'applique à de nombreux domaines, mais est évidemment tout particulièrement pertinent quand il s'agit d'évaluer un nouveau médicament qui peut apporter un bénéfice considérable au malade. L'étape décisive de cette analyse se situe à la fin des études cliniques et est un point de décision majeur avant la soumission du dossier d'enregistrement aux agences réglementaires.

Différents modèles théoriques ont été proposés pour évaluer le rapport bénéfice/risque [25]. Cependant, il n'existe pas à ce jour de méthodologie de référence et de « guideline » officielle pour cette évaluation qui est essentiellement qualitative, consistant à mettre en balance l'ensemble des bénéfices et l'ensemble des risques, et qui repose principalement sur l'opinion d'un comité interne à l'entreprise et/ou d'un panel d'experts externes. Cette analyse est évidemment un élément central de l'évaluation faite par les agences réglementaires quand le dossier d'enregistrement du nouveau médicament est déposé.

Dans le cas où des médicaments sont déjà sur le marché dans l'indication visée, la comparaison des rapports bénéfice/

le risque est une notion relative qui doit toujours être mise en perspective avec le bénéfice attendu

risque du nouveau médicament par rapport à ceux déjà existants est un élément déterminant pour juger de son intérêt thérapeutique et facilite cette évaluation. C'est ainsi par exemple que le lumiracoxib, un anti-inflammatoire inhibiteur sélectif de Cox2 qui présentait un risque significatif d'hépatotoxicité, n'a pas été approuvé car des molécules équivalentes étaient déjà sur le marché [26].

En revanche, il est clair que lorsqu'un médicament est le premier dans sa classe pharmacologique, l'évaluation du rapport bénéfice/risque est beaucoup plus difficile car la comparaison avec des molécules déjà sur le marché est alors impossible. De nombreux exemples récents montrent que les agences réglementaires appliquent souvent strictement le principe de précaution, ce qui peut conduire à ne pas donner l'autorisation de mise sur le marché alors même que les comités d'experts considèrent que le bénéfice/risque est favorable. En réalité, pour certains experts [27], la mise sur le marché d'un nouveau médicament pourrait être plus souvent autorisée dans le cadre d'un processus progressif avec une surveillance rigoureuse et une revue régulière du rapport bénéfice/risque. Cette stratégie permettrait ainsi d'évaluer le produit sur une plus grande population dans des conditions réelles de prescription, et donc de mieux déterminer son potentiel thérapeutique ainsi que les risques qui y sont associés.

Références

- [1] Kramer J.A., Sagar J.E., Morris D.L., The application of discovery pathology toward the design of safer pharmaceutical and lead candidates, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2007**, 6, p. 636.
- [2] Keiser M.J. et al., Predicting new molecular targets for known drugs, *Nature*, **2009**, 462, p. 175.
- [3] Scheiber J., Jenkins J.L., Sukuru S.C., Bender A., Mikhailov D. et al., Mapping adverse drug reactions in chemical space, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, p. 3103.
- [4] Yang L., Agarwal P., Systematic repositioning based on clinical side effects, *PLoS ONE*, **2011**, 6, e28025.
- [5] Cavero I., Exploratory safety pharmacology: a new safety paradigm to de-risk drug candidates prior to selection for regulatory science investigation, *Expert Opin. Drug Saf.*, **2009**, 8, p. 627.
- [6] Zolk O., Fromm M.F., Transporter-mediated drug uptake and efflux: important determinants of adverse drug reactions, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2011**, 89, p. 798.
- [7] Johnson W.W., Cytochrome 450 inactivation by pharmaceuticals and phytochemicals: therapeutic relevance, *Drug Metab. Rev.*, **2008**, 40, p. 101.
- [8] Stanley L.A., Horsburgh B.C., Ross J., Scheer N., Wolf C.R., PXR and CAR: nuclear receptors which play a pivotal role in drug disposition and chemical toxicity, *Drug Metab. Rev.*, **2006**, 38, p. 515.
- [9] Wormhoudt L.W., Commandeur J.N.M., Vermeulen N.P.E., Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S-transferase and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity, *CRC Rev. Toxicol.*, **1999**, 29, p. 59.
- [10] Maronpot R.R., Yoshizawa K., Nyska A., Harada T., Flake G. et al., Hepatic enzyme induction: histopathology, *Toxicol. Pathology*, **2010**, 38, p. 776.
- [11] Wagner M., Zollner G., Trauner M., New molecular insight into the mechanisms of cholestasis, *J. Hepatol.*, **2009**, 52, p. 565.
- [12] Park B.K., Boobis A., Clarke S., Goldring C.E.P., Jones D. et al., Managing the challenge of chemically reactive metabolites in drug development, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2011**, 10, p. 292.
- [13] Boelsterli U.A., Specific targets of covalent drug-protein interaction in hepatocytes and their toxicological significance in drug-induced liver injury, *Drug Metab. Rev.*, **1993**, 25, p. 395.
- [14] Lecoeur S., Bonierbale E., Challine D., Gautier J.C., Valadon P., Dansette P.M. et al., Specificity of *in vitro* covalent binding of tienilic acid metabolites to human liver microsomes in relationship to the type of hepatotoxicity: comparison with two hepatotoxic drugs, *Chem. Res. Toxicol.*, **1994**, 7, p. 434 ; Beaune P.H., Dansette P.M., Mansuy D., Kiffel L., Finck M., Amar C. et al., Human antiendoplasmic reticulum autoantibodies appearing in a drug-induced hepatitis are directed against a human liver cytochrome that hydroxylates the drug, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, 84, p. 551.
- [15] Custer L.L., Sweder K.S., The role of genetic toxicology in drug discovery and optimization, *Curr. Drug Metab.*, **2008**, 9, p. 978.
- [16] Guillouzo A., Liver cell models in *in vitro* toxicology, *Environ. Health Perspect.*, **1998**, 106 (suppl. 2), p. 511.
- [17] Davila J.C., Rodriguez R.J., Melchert R.B., Acosta D., Predictive value of *in vitro* models in toxicology, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1998**, 38, p. 63.
- [18] Anson B.D., Kolaja K.L., Kamp T.J., Opportunities for use of human iPSC cells in predictive toxicology, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2011**, 89, p. 754.
- [19] Xu J.J., Henstock P.V., Dunn M.C., Smith A.R., Chabot J.R. et al., Cellular imaging predictions of clinical drug-induced liver injury, *Toxicol. Sci.*, **2008**, 105, p. 97.
- [20] Ellinger-Ziegelbauer H., Adler M., Amberg A., Brandenburg A., Callanan J.J. et al., The enhanced value of combining conventional and "omics" analyses in early assessment of drug-induced hepatobiliary injury, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2011**, 252, p. 97.
- [21] Ballet F., Hepatotoxicity in drug development: detection, significance and solutions, *J. Hepatol.*, **1997**, 26(S), p. 26.
- [22] Sistare F.D., Dieterle F., Troth S., Holder D.J., Gerhold D. et al., Toward consensus practices to quantify safety biomarkers for use in early drug development, *Nat. Biotech.*, **2010**, 28, p. 446.
- [23] Ulrich R.G., Idiosyncratic toxicity: a convergence of risk factors, *Annu. Rev. Med.*, **2007**, 58, p. 17 ; Uetrecht J., Idiosyncratic drug reaction: current understanding, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2007**, 47, p. 513.
- [24] Russmann S., Jetter A., Kullak-Ublick G.A., Pharmacogenetics of drug-induced liver injury, *Hepatology*, **2010**, 52, p. 748.
- [25] Temple R., Quantitative decision analysis: a work in progress, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2007**, 82, p. 127 ; Chuang-Stein C., Entsuah R., Pritchett Y., Measures for conducting comparative benefit: risk assessment, *Drug Inform. J.*, **2008**, 42, p. 223.
- [26] Schnitzer T.J., Burmester G.R., Mysler E., Hochberg M.C., Doherty M., Ehrsam E. et al., Comparison of lumiracoxib with naproxen and ibuprofen in the Therapeutic Arthritis Research and Gastrointestinal Event Trial (TARGET), reduction in ulcer complications: randomised controlled trial, *Lancet*, **2004**, 364, p. 665.
- [27] Eichler H.G., Abadie E., Raine J.M., Salmonson T., Safe drugs and the cost of good intentions, *N. Engl. J. Med.*, **2009**, 360, p. 1378.



François Ballet

est le président du Comité R & D de Medicen Paris Région* (le pôle de compétitivité mondial des technologies innovantes pour la santé et les nouvelles thérapies).

* Medicen Paris Région, 6 rue Alexandre Cabanel, F-75015 Paris.
Courriel : fballet@medicen.org



Connaissez-vous bien le site de l'AC ?
www.lactualitechimique.org
Alors vite, à votre souris !

