



HAL
open science

Perspective d'un suivi thérapeutique pharmacologique de l'évérolimus en cancérologie ? Résultats d'une étude exploratoire de la relation concentration-effet de l'évérolimus

Marine Deppenweiler

► To cite this version:

Marine Deppenweiler. Perspective d'un suivi thérapeutique pharmacologique de l'évérolimus en cancérologie ? Résultats d'une étude exploratoire de la relation concentration-effet de l'évérolimus. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01499884

HAL Id: dumas-01499884

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01499884v1>

Submitted on 1 Apr 2017

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

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

UNIVERSITE DE BORDEAUX
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE 2017

N°24

MÉMOIRE DU DIPLOME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE PHARMACIE

CONFORMEMENT AUX DISPOSITIONS DU DECRET N°90-810 DU 10 SEPTEMBRE 1990, TIENT LIEU DE

**THÈSE POUR L'OBTENTION DU
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT A BORDEAUX

LE 13 FEVRIER 2017 PAR

MARINE DEPPENWEILER

NEE LE 08 DECEMBRE 1989 A METZ (57)

**PERSPECTIVE D'UN SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE DE
L'EVEROLIMUS EN CANCEROLOGIE ?**

**RESULTATS D'UNE ETUDE EXPLORATOIRE DE LA RELATION
CONCENTRATION-EFFET DE L'EVEROLIMUS**

DIRECTEUR DE THESE :

M. WOILLARD JEAN BAPTISTE, PHARMACIEN, MCU-PH, CHU DE LIMOGES

MEMBRES DU JURY :

MME BREILH DOMINIQUE, PHARMACIEN, PU-PH, CHU DE BORDEAUX PRESIDENT

MME FALKOWSKI SABRINA, MEDECIN ONCOLOGUE MEDICALE, PH, CHU DE LIMOGES JUGE

MME LORTAL BARBARA, PHARMACIEN, PH, INSTITUT BERGONIE, BORDEAUX JUGE

M. PICARD NICOLAS, PHARMACIEN, PU-PH, CHU DE LIMOGES JUGE

REMERCIEMENTS

AU PRESIDENT DU JURY

A MADAME LE PROFESSEUR Dominique BREILH

Vous me faites aujourd'hui l'honneur de présider cette thèse et je vous en remercie.
Veuillez recevoir ici toute ma reconnaissance pour ces années de pharmacie à l'Université Victor Segalen et pendant ces années d'internat.

AU DIRECTEUR DE THESE

A MONSIEUR LE DOCTEUR Jean Baptiste WOILLARD

Je te remercie sincèrement d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail de master et pour ce travail de thèse. Merci pour ton investissement, pour tes nombreuses relectures, pour ta grande disponibilité et pour ton énorme gentillesse. Ce travail n'aurait pas été possible sans toi et ta capacité à manier les statistiques comme personne !

AUX MEMBRES DU JURY

A MADAME LE DOCTEUR Sabrina FALKOWSKI

Je te remercie sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury pour ta première thèse de pharmacien. Merci pour ton implication dans ce travail, pour ta confiance et pour la grande liberté que j'ai eu dans la réalisation de ce projet. Merci pour ta disponibilité, ta gentillesse, ta bonne humeur, tes remarques pertinentes et pour avoir porté le poster à l'ESMO.
Sois assurée de ma profonde reconnaissance et de mon profond respect.

A MADAME LE DOCTEUR Barbara LORTAL

Je te remercie sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci pour tout ce que tu m'as appris et pour ce que tu m'apprends encore. Ton professionnalisme et ta rigueur sont un exemple pour moi.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Nicolas PICARD

Je te remercie sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Merci pour ton aide, ta gentillesse et ta disponibilité. Sois assuré de mon profond respect et de ma gratitude.

AUX EQUIPES AVEC LESQUELLES J'AI TRAVAILLE

AU SERVICE DE PHARMACOLOGIE, TOXICOLOGIE ET PHARMACOVIGILANCE DU CHU DE LIMOGES : Merci à tous (Pr Marie Laure Laroche, Pr Merle, Mr Nouaille, Hélène, Claire, Anne, Muriel, Marie Pierre, Claire et Sabrina, Caroline, Hélène, Chloé, Alexandre et les infirmières du CTO) pour votre chaleureux accueil, votre gentillesse, votre aide et vos conseils précieux pendant un semestre en Pharmacovigilance et pendant ce travail de master. Vous avez tous participé à ce travail. Ce fut un réel plaisir de revenir quelques mois dans ce service où je garde de très bons souvenirs, merci à tous.

A TOUS LES PHARMACIENS QUI M'ONT ENCADRES qui ont pu m'encadrer pendant ces années. Merci d'avoir contribué à ma formation.

A L'INSTITUT BERGONIE : Merci à tous pour ces deux derniers semestres. Merci pour votre accueil et votre bonne humeur constante, c'est un réel plaisir de venir travailler chaque jour. Restez comme vous êtes !

A HAUT LEVEQUE : Merci à tous pour votre accueil il y a maintenant 4 ans et demi, pour mon tout premier stage d'interne. Je garde de très bons souvenirs de mes deux stages d'internat passés à Haut Lévèque. Mention spéciale pour Mr S. , merci pour votre grande disponibilité, vos explications, votre bonne humeur et votre humour si unique. Sans vous, mon stage à l'URC de Haut Lévèque aurait été complètement différent.

A BAYONNE : Merci à tous pour votre accueil chaleureux et votre gentillesse dans ce coin de la France que j'apprécie tout particulièrement. Mon semestre à Bayonne a été parfait !

A PELLEGRIN : Merci à tous pour ce semestre d'été passé à la PUI.

AUX PREPARATEURS : Merci à chacun de vous avec qui j'ai eu la chance de travailler. Mes stages n'auraient pas été les mêmes sans vous. Merci à Mimi, Sophie, Vanessa, Emilie, Carine, Manu, Amandine, Olive, Vivi...et tous les autres !

Ps : Mimi, à quand un autre voyage humanitaire (ou pas d'ailleurs) ?

AUX PARISIENNES

A Bibiche, Doris, Laurie et Lucie

Malgré la distance et malgré toutes ces années passées loin de Paris depuis le collège/lycée, j'attends toujours avec grande impatience les moments où l'on va se réunir. En espérant que rien ne changera, à part qu'on réussisse à se voir plus souvent ! Ne changez surtout pas : **Bibiche**, merci pour demander partout du jus de goyave et ta manière tellement comique de raconter des histoires ; **Doris**, merci pour ta générosité et ton écoute ; **Laurie**, merci pour ton écoute et tes précieux conseils ; **Lucie**, merci pour ta bonne humeur constante, ta générosité et ton humour. Vous êtes juste incroyables, je vous kiffe gavé ! J'ai hâte de savoir quel sera notre prochain lieu de rendez-vous (Portugal ? Je rappelle qu'il me manque le Bénin !).
Merci également à ta famille, Laurie, chez qui je me sens chez moi à chaque fois que je viens. Merci pour votre générosité, votre accueil chaleureux et votre gentillesse.

AUX BORDELAIS(ES)

A Mathieu

Je ne sais même pas par où commencer... Merci d'être là, merci pour ton écoute, pour ta générosité, pour ton soutien, pour tes conseils...merci d'être toi tout simplement ! Ah oui, il manque un « merci » : merci de m'avoir envoyé un texto en terminale ☺ !! Ma vie aurait été complètement différente sans toi. Merci aussi à ta famille pour être toujours si accueillante et chaleureuse.

A Thierry

Que dire, que dire de l'homme connecté... ! Les années à la fac n'auraient pas été les mêmes sans toi et notre fameux trio ! J'aimerais que tu sois toujours près de moi pour qu'on partage ton excellent poulet moutarde, pour boire un thé et y passer l'après midi entière à parler ou encore pour aller à des vides dressing...! Un heureux événement arrive très prochainement mon cher Thierry et je suis très heureuse d'y participer. Ps : Quand est ce qu'on va au Cameroun ?

A Emmanuelle et Clémentine

Merci Emmanuelle et merci Clémentine pour ton aide si précieuse en chimie analytique, sans toi je n'aurais peut être pas eu mon concours de l'internat ! C'est toujours un réel plaisir de vous revoir.

A Margareth alias Bête

Merci pour ces mois de colocation en ta compagnie. Merci pour ta manière si particulière de voir les choses, pour ton écoute, pour tes conseils avisés...Merci d'être toi tout simplement, tu es unique Bête !

A Margaux

Merci pour cette année erasmus incroyable qui restera à jamais graver dans ma mémoire. J'ai tellement de bons souvenirs passés avec toi, merci d'être là. Je remercie aussi mes amis rencontrés en erasmus qui ont marqué ma vie : **Armando, Stephen, Emma et Evie, Georgie, Steven, Thibaut et Luigi, Capa, Emilio, Carlos, Fernan, Casero, Thomas, Celine, Marjo, Luciano**. J'aimerais tellement revenir quelques années en arrière pour revivre cette année avec vous. Même si nous avons chacun repris le cours de notre vie, je ne vous oublierai jamais et j'espère vous revoir tous très bientôt.

A Marion

Je ne connais pas une personne plus gentille et plus humaine que toi. Tu as le cœur sur la main, merci d'être toi. J'ai toujours hâte de venir en Corse et de vous revoir avec Polo. Merci à vous 2 et la famille de Polo pour leur hospitalité. A très bientôt je l'espère !

A mes amis internes

Merci à tous mes co-internes qui m'ont supporté pendant tous ces semestres : Carole et Benjamin, Marion, Kevin B., Etienne, Julie, Chloé, Céline, Clémence, Morgane, Aurélie, Manon, Elina, Kévin R., Caro, Lucie et à tous les autres Camille, Florence, Léa, Sylvain... Merci à tous pour tous ces bons moments. Ces 4,5 années d'internat sont passées très vite et sont même trop courtes, si seulement on pouvait rester tous internes !

AUX BAYONNAIS

Béa, Charlotte, Laure, Marie Ange, Marion, Thomas et tous les autres

Ce semestre à Bayonne reste parmi les meilleurs moments de mon internat et cela grâce à vous. Merci pour tous ces bons moments, pour les séances de surf, les repas, les sorties, les soirées tapas apéro barbeuc... Qu'est ce qu'on était bien à Bayonne ! Ne changez surtout pas, je vous adore. Que l'on continue à se voir régulièrement !

A MA FAMILLE

A MES PARENTS : Dire merci ne suffirait même pas ! Je ne serai pas là où j'en suis sans vous. Merci pour votre soutien et pour toutes les belles valeurs que vous nous avez transmises. Nous vous devons énormément et pour tout cela, je vous remercie du fond du cœur.

A MON FRERE NICOLAS : Merci pour ta bonne humeur constante, pour ton humour, merci de toujours redonner le sourire aux personnes qui t'entourent, pour nos discussions sur tout et rien et accessoirement de me supporter ! Je suis très fière de ton parcours et de « l'homme » de 22 ans que tu es devenu.

ps : Que ce soit clair, je ne te dois aucun KFC ni macdo !

A MA SŒUR ANAÏS : Merci de toujours remonter le moral quand j'en ai besoin, tu as toujours les bons mots. Tout simplement, merci d'être là et merci d'être toi.

Même si la mer méditerranéenne nous sépare (et peut être bientôt un grand océan?!), cela ne change rien, tu resteras ma « petite » sœur chérie ! Merci à Horace pour prendre soin de toi et pour te rendre heureuse.

A MA GRANDE SŒUR MAGALIE : Merci pour ta bonne humeur, pour ta simplicité et pour les tous les bons moments que nous passons à chaque fois en ta compagnie. Merci aussi à Carole pour te rendre heureuse.

A MES GRANDS PARENTS : J'aurais tellement aimé que vous soyez là aujourd'hui. Merci pour tous les bons moments passés en votre compagnie.

A QUENTIN : Je suis persuadée que tu es impatient de lire ton petit paragraphe... ! Tout d'abord, merci d'être toujours là pour moi dans les bons comme dans les mauvais moments, merci pour ta simplicité, pour ta gentillesse, et surtout merci de me supporter ! Même si nous ne savons pas encore où la vie nous mènera, je sais que j'ai envie de la vivre à tes côtés. Tu es tout ce que j'ai toujours espéré, ne changes pas (sauf ta manière de manger ! ☺). Merci aussi à ta famille pour leur gentillesse et leur accueil toujours chaleureux.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	3
1 INDEX DES FIGURES	10
2 INDEX DES TABLEAUX	11
3 LISTE DES ABBREVIATIONS	12
4 RESUME	15
5 INTRODUCTION	18
6 GENERALITES SUR L'EVEROLIMUS¹⁰	23
6.1 MECANISME D'ACTION.....	23
6.2 PROPRIETES PHARMACOCINETIQUES ¹³	29
6.3 PRE REQUIS JUSTIFIANT UN STP DE L'EVR.....	30
7 CONTEXTE DE L'ETUDE	31
7.1 INTERET DE L'ETUDE	31
7.2 INTERET DE LA PHARMACOGENETIQUE	32
7.3 OBJECTIFS.....	36
8 MATERIEL ET METHODES	37
8.1 SCHEMA DE L'ETUDE	37
8.2 ANALYSE DES DONNEES	38
8.3 ETAPE 1 - RECHERCHE DANS LA BASE NATIONALE DE PHARMACOVIGILANCE (BNPV).....	38
8.3.1 BASE DE DONNEES	38
8.3.2 CRITERES DE SELECTION DES OBSERVATIONS	38
8.3.3 DONNEES RECUEILLIES	38
8.3.4 ANALYSE DES DONNEES.....	39
8.4 ETAPE 2 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MEDICAUX ET UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES	40
8.4.1 PARTIE 1 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MEDICAUX	40
8.4.1.1 Définition des outcomes.....	40
8.4.1.2 Base de données	40
8.4.1.3 Critères de sélection des patients	40
8.4.1.4 Données recueillies.....	41
8.4.2 PARTIE 2 - UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES	42
8.4.2.1 Concentrations résiduelles (C ₀)	42
8.4.2.1.1 Prélèvements sanguins.....	42
8.4.2.1.2 Données relatives à l'exposition (C ₀)	42
8.4.2.1.3 Estimation du taux résiduel par modèle Bayésien.....	43
8.4.2.1.4 Analyse statistique.....	43

8.4.2.2	Pharmacogénétique	46
8.4.2.2.1	Méthode	46
8.4.2.2.2	Génotypage	46
8.4.2.2.3	Analyse statistique.....	46
9	RESULTATS	47
9.1	ETAPE 1 - RECHERCHE DANS LA BASE NATIONALE DE PHARMACOVIGILANCE (BNPV).....	47
9.2	ETAPE 2 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MEDICAUX ET UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES	52
9.2.1	PARTIE 1 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MEDICAUX	52
9.2.1.1	Variables non dépendantes du temps.....	52
9.2.1.2	Variables dépendantes du temps.....	54
9.2.1.3	Description des EI	55
9.2.1.4	Courbes de survie sans progression (SSP)	57
9.2.2	PARTIE 2 - UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES	58
9.2.2.1	Concentrations résiduelles (C ₀)	58
9.2.2.1.1	Évènements relatifs à la toxicité du traitement par EVR.....	58
9.2.2.1.1.1	Courbe de ROC et binarisation	58
9.2.2.1.1.2	Analyse de Cox univariée.....	59
9.2.2.1.1.3	Analyse de Cox multivariée.....	59
9.2.2.1.1.4	Vérification de l'hypothèse des risques proportionnels.....	61
9.2.2.1.1.5	Courbes d'incidence cumulée.....	61
9.2.2.1.2	Évènements relatifs à la progression ou à l'efficacité d'un traitement par EVR.....	62
9.2.2.1.2.1	Courbe de ROC et binarisation	62
9.2.2.1.2.2	Analyse de Cox univariée.....	63
9.2.2.1.2.3	Analyse de Cox multivariée.....	63
9.2.2.1.2.4	Vérification de l'hypothèse des risques proportionnels.....	65
9.2.2.1.2.5	Courbes de survie	65
9.2.2.2	Pharmacogénétique	66
9.2.2.2.1	CYP3A4*22	66
9.2.2.2.2	CYP3A5*3	67
10	DISCUSSION	68
11	ANNEXES	73
12	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	78

1 INDEX DES FIGURES

Figure 1. Représentation d'un suivi des concentrations sanguines résiduelles d'un médicament	19
Figure 2. Voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR.....	25
Figure 3. Différents complexes protéiques formés par mTOR : mTORC1 et mTORC2. Seul le complexe mTORC1 est sensible à la rapamycine	27
Figure 4. Bases moléculaires de la variabilité génétique : polymorphismes génétiques.....	34
Figure 5. Proportion des récurrences des effets indésirables lors qu'un arrêt temporaire et/ou une diminution de la posologie ont été effectués.....	48
Figure 6. Répartition des effets indésirables selon le type de cancer (haut, milieu) et les délais de survenue d'effets indésirables par cancer (bas).....	50
Figure 7. Courbes de survie sans progression pour le cancer du sein, le cancer du rein et le cancer neuroendocrine	57
Figure 8. Détermination du seuil C0 d'EVR associé à une toxicité par courbe ROC.....	58
Figure 9. Courbes d'incidence cumulée de toxicité de l'EVR en fonction du seuil de C0 d'EVR binarisé	61
Figure 10. Détermination du seuil de progression de C0 d'EVR par courbe ROC	62
Figure 11. Courbes de survie sans progression stratifiées selon le seuil de C0 d'EVR de 11,9 ng/mL.....	65
Figure 12. <i>Boxplots</i> représentant les C0 d'EVR selon la présence ou l'absence d'un allèle <i>CYP3A4*22</i>	66
Figure 13. <i>Boxplots</i> représentant les C0 d'EVR selon le génotype <i>CYP3A5</i> (génotype AG=expresseurs et génotype GG=non expresseurs).....	67
Figure 14. Hypothèse des risques proportionnels pour la variable C0 d'EVR binarisées (toxicité).....	76
Figure 15. Hypothèse des risques proportionnels pour les C0 d'EVR binarisées et le nombre de lignes de chimiothérapie (progression)	76

2 INDEX DES TABLEAUX

Tableau I. Répartition des effets indésirables liés à la prise d'évérolimus dans la Base Nationale de Pharmacovigilance (tous cancers confondus).....	48
Tableau II. Caractéristiques des patients traités par EVR (variables non temps dépendant) ...	53
Tableau III. Caractéristiques des patients traités par EVR (variables temps dépendant).....	54
Tableau IV. Répartition des effets indésirables observés et proportion des toxicités de grade 3-4.....	56
Tableau V. Analyse univariée et multivariée relative à la toxicité définie comme une diminution de posologie, arrêt temporaire et/ou arrêt définitif.....	60
Tableau VI. Analyse univariée et multivariée relatives à la progression	64

3 LISTE DES ABBREVIATIONS

4E-BP : 4E-binding protein

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AKT : serine/threonine kinase ou protéine kinase B (PKB)

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

ALAT : ALanine Amino Transférerase

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ARN : Acide RiboNucléique

ASAT : ASpartate Amino Transférerase

AUC : Aire sous la courbe

BIC : Bayesian Information Criteria

BNPV : Base Nationale de PharmacoVigilance

BP : Biphosphonate

C_{max} : Concentration sanguine maximale

C_{min} : Concentration sanguine minimale

C_0 : Concentration sanguine résiduelle

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CNIL : Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés

CT : Chimiothérapie

CRPV : Centres Régionaux de PharmacoVigilance

CYP2C8 : Cytochrome 2C8

CYP3A4*22 : Cytochrome 3A4 allèle 22

CYP3A5/*3 : Cytochrome 3A5 allèle 3

DCI : Dénomination Commune Internationale

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique

EGF : Epidermal Growth Factor

EI : Effets Indésirables

eIF4F : Elongation initiation factor 4F

EVR : évérolimus

FKBP : FK-206 Binding Protein

FRAP : FKBP rapamycin associated protein

GEE : Equations d'Estimation Généralisées

GLUT1 : Transporteur de glucose de type 1

HAS : Haute Autorité de Santé

HER2/neu : Human Epidermal Receptor 2

HIF : Hypoxia Inducible Factor

HR : Hazard ratio ou Risque Relatif

HT : Hormonothérapie

IATDMCT : Association Internationale de Suivi Thérapeutique Pharmacologique et de Toxicologie Clinique

IC95% : Intervalle de Confiance à 95%

IGF : Insulin-like Growth Factors

ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase

LC-MS/MS : Spectrométrie de masse en tandem couplé à de la chromatographie liquide

MAF : Fréquence d'allèle minoritaire

MDRD : Modification of the Diet in Renal Disease

MedDRA : Medical Dictionary for Regulatory Activities

mg : milligramme

mTOR : Mammalian Target of Rapamycin

mTORC1: mTOR complex-1

mTORC2: mTOR complex-2

NCI-CTCAE V4 : National Cancer Institute - Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.0

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

p70S6k: p70S6 kinase

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDGF : Platelet-Derived Growth Factor

PDK1 : Phosphoinositi-Dependent Kinase-1
PgP: Glycoprotéine P
PI3,4,5-P3: Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
PI3K : Phosphatidyl Inositol 3-Kinase
RAFT: Rapamycin and FKBP12 Target
RAPTOR: Regulatory Associated Protein of TOR
RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit
RICTOR : Rapamycin Insensitive Companion of TOR
ROC : Receiver Operating Characteristic
SOC : System Organ Class
SNP : Single Nucleotide Polymorphism
SSP: Survie Sans Progression
STP : Suivi Thérapeutique Pharmacologique
 T_{max} : Temps nécessaire pour atteindre la C_{max}
TC: Thérapie Ciblée
TSC2 : Tuberous sclerosis complex-2
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

4 RESUME

Perspective d'un suivi thérapeutique pharmacologique de l'évérolimus en cancérologie ? Résultats d'une étude exploratoire de la relation concentration-effet de l'évérolimus

Contexte

En cancérologie, l'évérolimus (EVR) est utilisé à des posologies 5 à 10 fois supérieures à celles utilisées en transplantation. Contrairement à la transplantation, aucun suivi thérapeutique pharmacologique (STP) de l'EVR n'existe en cancérologie puisqu'aucune cible de concentrations résiduelles (C_0) n'a été définie aussi bien pour la toxicité que pour l'efficacité.

Après une analyse des données issues de la Base Nationale de PharmacoVigilance sur les effets indésirables rapportés en vie réelle lors de la prise d'EVR, les objectifs de cette étude étaient (i) de déterminer une cible de C_0 qui pourrait être associée à l'efficacité ou à la survenue de toxicité lors d'un traitement par EVR et (ii) d'étudier la relation entre des polymorphismes génétiques des CYP3A et les C_0 d'EVR.

Matériel et méthodes

Des données cliniques, biologiques et radiologiques ont été recueillies pour 54 patients par l'intermédiaire des dossiers médicaux. Une toxicité était définie comme une diminution de la posologie, un arrêt temporaire ou un arrêt définitif de l'EVR. L'efficacité était définie comme la survie sans progression documentée dans les dossiers médicaux des patients. Les C_0 d'EVR ont été dichotomisées après détermination d'un seuil par courbe ROC. Les associations exposition/toxicité et exposition/efficacité ont été étudiées à l'aide d'un modèle de Cox. L'influence des polymorphismes génétiques *CYP3A4*22* et *CYP3A5*3* sur les C_0 d'EVR a été étudié par équations d'estimation généralisées.

Résultats

Quarante deux patientes (77,8%) étaient atteintes d'un cancer du sein, 10 patients (18,5%) d'un cancer rénal et 2 (3,7%) d'un cancer neuroendocrine. Une toxicité (tous grades) a été observée chez 75,9% des patients (arrêt définitif chez 25,9% des patients). Un seuil de C_0 d'EVR de 26,3 ng/mL était associé à un risque de survenue de toxicité environ 4 fois plus important ($C_0 > 26.3$ ng/mL: HR=4,12, IC95%=[1,48-11,47], p=0,007). Un seuil de C_0 d'EVR de 11,9 ng/mL a été déterminé avec un risque d'inefficacité ou de progression tumorale multiplié par 3 ($C_0 < 11,9$ ng/mL: HR=3,22, IC95%=[1,33-7,81], p=0,001).

Les C_0 d'EVR étaient significativement inférieures chez les patients porteurs d'au moins un allèle *CYP3A5*1* (=expresseurs) ($\text{intercept}_{(\text{expresseurs})} = 10,72 \pm 1,45$; β non

expresseurs= $+6,32 \pm 2,22$, $p=0,0044$). Aucune association n'a été observée entre les porteurs du *CYP3A4**22 et l'exposition à l'EVR (C_0).

Conclusion

D'autres études sont nécessaires afin d'évaluer le seuil de C_0 déterminé pour la toxicité (26,3 ng/mL) et pour l'efficacité (11,9 ng/mL) lors d'un traitement par EVR. Le polymorphisme génétique *CYP3A5**3 semble avoir une influence importante sur les C_0 d'EVR. Ces résultats apportent des pistes quant à la possibilité et à l'importance d'utiliser le STP de l'EVR en cancérologie.

RESUME (en anglais)

Purpose

Therapeutic drug monitoring (TDM) of everolimus (EVR) is not mandatory in oncology and no trough level (C_0) target has been defined. After analyzing data from the french national pharmacovigilance database on AE reported in real life during EVR treatment, the aims of this study were to : (i) determine EVR C_0 target for toxicity and efficacy; and (ii) investigate the relationship between CYP3A polymorphisms and EVR C_0 .

Materials and methods

Clinical, biological and radiologic data from 54 patients were collected from their medical records. Toxicity event was defined by temporary interruption and/or dose reduction of EVR. The efficacy of EVR treatment was defined as progression-free survival as documented in patients' medical records. C_0 values were dichotomized by ROC curve analysis and the association between exposure and toxicity was determined using Cox models. The impact of *CYP3A4**22 and *CYP3A5**3 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) on C_0 were investigated using generalized estimating equations.

Results

Forty two patients (77.8%) had breast, 10 (18.5%) renal cell and 2 (3.7%) neuroendocrine cancer. Adverse event (all grades) was reported in 75.9% of the patients (EVR termination in 25.9% patients). A C_0 EVR threshold of 26.3 ng/mL was associated with a 4-fold increased risk of toxicity ($C_0 > 26.3$ ng/mL: HR=4.12, IC95%=[1.48-11.5], p=0.007) whereas a C_0 EVR threshold of 11.9 ng/mL was associated with a 3-fold increased risk of progression ($C_0 < 11.9$ ng/mL: HR=3.2, IC95%=[1.33-7.81], p=0.001).

C_0 was significantly lower in carriers of at least one *CYP3A5**1 allele ($\text{intercept}_{\text{expressors}} = 10.72 \pm 1.45$ ng/mL, $\beta_{\text{non expressors}} = +6.32 \pm 2.22$ ng/mL, p=0.0044). No association was found between carriers of the *CYP3A4**22 variant and C_0 .

Conclusion

Further studies are needed to evaluate the EVR C_0 threshold proposed for toxicity (26.3 ng/mL) and for progression (11.9 ng/mL). A significant influence of the genetic polymorphism *CYP3A5**3 on EVR exposure was found. These results are in favour of TDM for EVR in oncology.

5 INTRODUCTION

Le Suivi Thérapeutique Pharmacologique (STP) consiste en la mesure de la concentration sanguine d'un médicament dans le but d'adapter individuellement la posologie. Cette approche repose sur le principe que, pour certains médicaments, les effets soient directement reliés à leur concentration mais que cette concentration obtenue chez un sujet donné ne soit pas prévisible en raison d'une variabilité pharmacocinétique interindividuelle importante.

La mesure de la concentration au niveau du tissu cible n'étant possible que dans quelques cas particuliers, la mesure de la concentration sanguine reflète indirectement la concentration du médicament au niveau de ses cibles pharmacologiques.

Le terme « concentration sanguine » peut désigner la concentration du médicament à un temps donné mais également tout autre indice d'exposition. En effet, pour la plupart des médicaments, le suivi thérapeutique repose sur la mesure de la concentration résiduelle, C_0 , juste avant une nouvelle administration pourtant, il est parfois nécessaire de mesurer la concentration à un autre temps, par exemple au pic (C_{max}) pour les aminosides. Dans d'autres cas, il est utile de mesurer l'exposition totale au médicament c'est à dire d'estimer l'aire sous la courbe des concentrations (AUC pour Area Under the Curve) en fonction du temps dans le cas où les relations concentration-effets concernent cet indice.

Un dosage de médicament n'est informatif que:

- s'il concerne la ou les formes pharmacologiquement actives (à l'exception de la détermination d'un rapport métabolique relatif à l'activité d'une enzyme),
- s'il a été réalisé sur la matrice biologique adéquate,
- s'il a été effectué à l'état d'équilibre des concentrations sanguines,
- s'il a été effectué au temps requis par rapport à la dernière administration.

Le non-respect de ces éléments peut conduire à une erreur d'interprétation et à une modification à tort de la posologie. En effet, une concentration mesurée par exemple après la prise du médicament ou encore avant l'état d'équilibre des concentrations risque de conduire à une erreur d'interprétation.

La zone thérapeutique est définie comme l'intervalle dans lequel doit se trouver la concentration sanguine du médicament chez un patient. De façon générale (hormis pour les aminosides et quelques anti-infectieux), le risque d'effets indésirables est plus important si la concentration excède la borne supérieure de l'intervalle et un risque accru d'inefficacité est attendu si la concentration est plus basse que la borne inférieure de l'intervalle (Figure 1).

Une zone thérapeutique est dite "étroite" si les valeurs de concentrations à chacune des bornes sont proches. Ainsi, une faible différence de concentration peut provoquer des effets très différents.

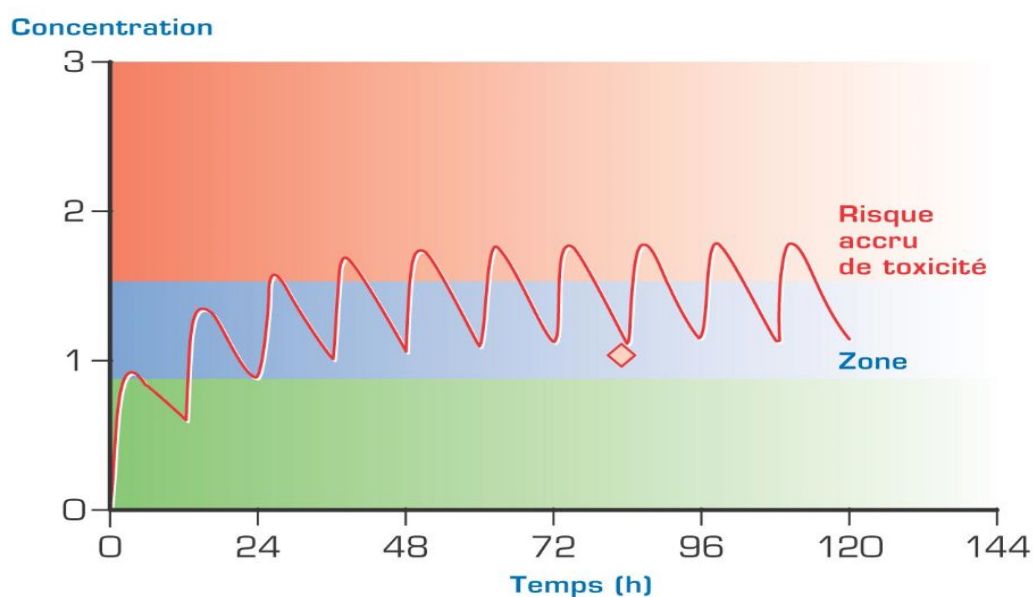


Figure 1. Représentation d'un suivi des concentrations sanguines résiduelles d'un médicament (*pharmacomédicale.org*)

Les concentrations peuvent varier pour une même dose entre les individus (variabilité inter-individuelle) et pour un même individu donné (variabilité intra-individuelle). La zone thérapeutique d'un médicament est une notion statistique : c'est l'intervalle de concentrations pour lequel la majorité des patients auront une efficacité sans la survenue d'effet indésirable. Or, il existe une variabilité de la relation « concentration-effets » qui explique que certains patients répondent au traitement sans toxicité tout en ayant une concentration sanguine supérieure à l'intervalle. En dehors d'une sensibilité individuelle particulière, les concentrations thérapeutiques pour un même médicament peuvent varier selon le contexte.

Il peut s'agir par exemple (liste non exhaustive) :

- D'interactions médicamenteuses,
 - Ex. : Diminution ou augmentation des concentrations cibles lors d'associations d'immunosuppresseurs avec respectivement des médicaments inducteurs ou inhibiteurs du cytochrome 3A4 ou 3A5 (CYP3A4, CYP3A5).
- De caractéristiques variables de la « cible » pharmacologique,
 - Ex. : Adaptation des concentrations cibles de la ciclosporine en fonction de l'immunogénicité du greffon, ce qui explique pourquoi la cible des concentrations thérapeutiques de ciclosporine varie au cours du temps.
 - Ex. : Adaptation des concentrations cibles d'aminosides en fonction de la CMI du germe (notion de quotient inhibiteur).
- De l'indication thérapeutique,
 - Ex. : Les concentrations efficaces de méthotrexate sont très différentes selon qu'il soit utilisé en cancérologie ou en tant qu'immunosuppresseur.
- Des caractéristiques pharmacogénétiques du patient,
 - Ex. : Un patient métaboliseur lent aura des concentrations plus élevées qu'un patient métaboliseur rapide d'où un risque d'effets indésirables plus important.

L'utilisation du STP n'est pas toujours simple et dépend des propriétés pharmacocinétiques du médicament, qui doivent donc être connues et prises en compte.

Les médicaments nécessitant un STP sont les médicaments :

- à index thérapeutique étroit pour lesquels la zone thérapeutique a été associée à une efficacité clinique ou à l'absence de toxicité dans une grande population traitée,
- soumis à variabilité pharmacocinétique interindividuelle importante,
- pour lesquels il n'existe pas d'autres critères d'évaluation de l'effet,
- pour lesquels la mesure de la concentration sanguine est réalisable en pratique.

En parallèle, on peut dresser les caractéristiques des médicaments pour lesquels le STP n'est pas justifié :

- ceux dont l'effet peut être mesuré par un marqueur d'effets cliniques ou biologiques simples (anti-hypertenseurs, antidiabétiques, anticoagulants, etc.).
- ceux pour lesquels la variabilité interindividuelle est faible ou pour lesquels la marge thérapeutique est très large (ex : AINS, corticoïdes, traitements hormonaux, certains antibiotiques, etc.).
- ceux dont la zone thérapeutique est mal connue (certains antidépresseurs, neuroleptiques, nouveaux antiépileptiques, etc.). Ces derniers pourraient probablement bénéficier du STP si des essais cliniques étaient conduits pour apporter cette information.

En pratique, peu de médicaments nécessitent réellement un STP. Parmi les médicaments justifiant d'un STP, cette obligation n'est que rarement mentionnée dans les résumés des caractéristiques du produit (RCP). En revanche, certaines sociétés savantes de Pharmacologie recommandent le STP de médicaments appartenant à différentes classes pharmaco-thérapeutiques¹ comme les antiépileptiques, les antibiotiques aminosides ou glycopeptides, les immunosuppresseurs, certains antidépresseurs ou neuroleptiques, certains anticancéreux... Parmi les médicaments courants, c'est souvent la pratique clinique qui distingue ceux pour lesquels le STP est indispensable de ceux pour lesquels il représente une aide à la l'optimisation du traitement et apparaît comme souhaitable.

En transplantation, qui représente le principal contexte d'utilisation de l'évérolimus (EVR), la Haute Autorité de Santé (HAS) recommande son STP basé sur le suivi de la C₀. Cette information figure dans le RCP du Certican®^{2,3} (le nom de spécialité de l'EVR dans cette indication). La posologie du Certican® varie de 0,1 mg à 0,75 mg administré en 2 prises par jour.

En transplantation, 4 dosages de Certican® sont disponibles (0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg et 0,75 mg) et vont ainsi permettre d'adapter la posologie le plus précisément possible afin d'atteindre les cibles thérapeutiques établies entre 3 et 8 ng/mL^{4,5,6,7}. En cancérologie, l'EVR est utilisé sous le nom de spécialité Afinitor® disponible en 3 dosages (2,5 mg, 5 mg et 10 mg) et administré en une prise par jour. Ces posologies sont cinq à dix fois supérieures à celles utilisées en transplantation et aucune cible de C₀ relative à la toxicité et à l'efficacité lors d'un traitement par EVR n'ont été établies pour l'instant⁸.

Les résultats d'essais cliniques suggèrent une relation entre l'exposition à l'EVR et son efficacité. En effet, chez des patients atteints de tumeurs neuroendocrines pancréatiques traités par EVR à raison de 10 mg par jour, la probabilité de survie sans progression (SSP) à 12 mois était supérieure chez les patients ayant des C_0 moyennes entre 10 et 35 ng/mL en comparaison avec les patients ayant des C_0 moyennes entre 0 et 10 ng/mL⁹. Une méta-analyse des essais de phase II-III a mis en évidence qu'une augmentation de la C_0 d'EVR d'un facteur 2 s'accompagnait d'une meilleure efficacité du traitement mais avec une tendance à majorer la fréquence des effets indésirables de grade ≥ 3 ⁷. Une relation entre l'exposition à l'EVR et sa toxicité n'a encore jamais été établie.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de cette étude qui est de pouvoir déterminer si un STP de l'EVR en oncologie est envisageable et possible. En effet, la prise d'EVR est associée à une incidence élevée d'effets indésirables (EI) sévères menant à une réduction de la dose ou à son abandon définitif. La possibilité de déterminer des facteurs de risque d'apparition des EI en oncologie présenterait un grand intérêt lors de l'utilisation de l'EVR⁹. Le développement d'outils de STP permettrait de maximiser l'efficacité et/ou de minimiser la toxicité chez les patients traités par EVR.

De multiples facteurs peuvent être mis en cause pour expliquer l'absence de STP systématique pour l'EVR en oncologie comme la difficulté à établir une concentration cible de part le manque de données disponibles chez les patients atteints d'un cancer et de part l'hétérogénéité des type de cancer que l'EVR peut traiter. Cependant, une fourchette thérapeutique étroite, une mauvaise relation dose-concentration et une importante variabilité interindividuelle comme celle observée chez en transplantation⁵ en font un bon candidat au STP dans le domaine de la oncologie.

Une meilleure connaissance de la relation entre l'exposition à l'EVR et ses effets (efficacité et toxicité), ainsi que des déterminants de la variabilité de l'exposition à l'EVR, permettraient de définir une cible de concentrations afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en limitant l'apparition des EI. La réduction de la fréquence et du grade des EI permettraient de limiter les diminutions de doses et les arrêts de traitement et en conséquence, les pertes de chance qui en découlent.

6 GENERALITES SUR L'EVEROLIMUS¹⁰

6.1 Mécanisme d'action

La rapamycine a été découverte pour la première fois en 1964 à partir d'échantillons de sol recueillis sur l'île de Pâques. La bactérie *Streptomyces hygroscopicus* fut isolée et les propriétés antibiotiques d'un de ses produits, un macrolide nommé rapamycine (en référence au nom indigène de l'île de Pâques Rapa Nui) furent étudiées.

D'abord utilisée comme agent antifongique, la rapamycine fut oubliée en raison de ses propriétés immunosuppressives. Au début des années 1980, l'arrivée des agents immunosuppresseurs tels que la ciclosporine et le tacrolimus causa une révolution dans le domaine de la transplantation d'organes. Les recherches sur la rapamycine, ayant une structure chimique proche de celle du tacrolimus, furent relancées en 1987 et la molécule fut ainsi commercialisée en 1999 sous le nom de Rapamune® (sirolimus).

Par inhibition de la voie mTOR (mammalian Target of Rapamycin), les propriétés antiprolifératives de la rapamycine furent démontrées sur une diversité de tumeurs solides. Cette découverte fut à l'origine du développement des rapalogues (analogues de la rapamycine) dont fait partie l'EVR.

L'EVR est un inhibiteur sélectif d'une sérine-thréonine kinase appelée mTOR dont l'activité est connue comme étant dérégulée dans de nombreux cas de cancers humains.

mTOR appartient à une voie de signalisation intracellulaire, la voie PI3K (phosphatidyl inositol 3-kinase) / AKT (serine/thréonine kinase ou protéine kinase B) / mTOR jouant un rôle-clé dans l'homéostasie cellulaire par sa fonction de régulation de l'apoptose, dans la croissance du cycle cellulaire et dans l'angiogenèse¹⁰. Cette voie de signalisation est fréquemment dérégulée dans les cellules cancéreuses puisque la plupart des protéines la constituant peuvent être mutées, déletées ou surexprimées selon les cas.

La plupart des protéines constituant la voie PI3K / AKT / mTOR sont des gènes suppresseurs de tumeurs ou des proto-oncogènes dont la mutation peut favoriser le développement d'un processus tumoral. Parmi ces protéines, mTOR est une cible thérapeutique particulièrement intéressante.

La voie PI3K / AKT / mTOR est le plus souvent activée par le biais d'un récepteur membranaire, lui-même stimulé par un facteur de croissance membranaire qui provoque à son tour l'activation d'une cascade de phosphorylations de nombreuses protéines intracellulaires.

Les récepteurs à tyrosine-kinase

Les récepteurs à tyrosine-kinase sont des protéines membranaires constituées de 3 domaines : un domaine extracellulaire, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire. Au niveau du domaine extracellulaire a lieu la fixation du ligand. Ces ligands peuvent être différents facteurs de croissance (insulin-like growth factors ou IGF, platelet-derived growth factor ou PDGF, epidermal growth factor ou EGF) et des cytokines (interleukines 1, 2, 3, 4, 6...).

La fixation d'un ligand sur un récepteur entraîne le rapprochement de 2 récepteurs (dimérisation) et l'activation par transphosphorylation de leur partie intracellulaire par le biais de modifications conformationnelles, correspondant à l'activation du domaine tyrosine-kinase. La partie intracellulaire des récepteurs sert alors de station d'amarrage à certaines protéines intracellulaires, comme par exemple la protéine p85, sous-unité régulatrice de PI3K (phosphatidyl inositol 3-kinase).

Les kinases intracellulaires (Figure 2)

I PI3K (phosphatidyl inositol 3-kinase)

PI3K est un hétérodimère à activité kinase constitué de deux protéines : une sous-unité régulatrice p85 et une sous-unité catalytique p110. Elle peut donc être activée directement par un récepteur à tyrosine-kinase ou par l'intermédiaire de la protéine Ras, elle-même activée par mutation ou par un de ces récepteurs.

PI3K peut être inhibée par PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) dont on retrouve une diminution d'expression dans différents types de tumeurs chez l'homme.

L'activation de PI3K par les facteurs de croissance mène à la formation et à l'accumulation dans la membrane plasmique d'un composé lipidique membranaire, le phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PI3,4,5-P3). Il s'agit d'un phospholipide important pour le recrutement et l'activation de PDK1 (phosphoinositi-dependent kinase-1) et de l'oncogène AKT.

PI3,4,5-P3 recrute alors la sérine/thréonine kinase AKT à proximité de la membrane plasmique, où elle est alors phosphorylée et activée par la PDK1.

AKT est un proto-oncogène, qui a de nombreuses cibles d'aval dont mTOR. mTOR est elle-même régulée par la sérine thréonine kinase AKT par au moins 2 mécanismes différents :

- par phosphorylation directe,
- par phosphorylation indirecte et inactivation de TSC2 (Tuberous sclerosis complex-2) permettant l'activation de mTOR. L'activité de mTOR est également modulée par l'état nutritionnel de la cellule, c'est-à-dire par le taux en acides aminés ou en nutriments cytoplasmiques, et par l'hypoxie.

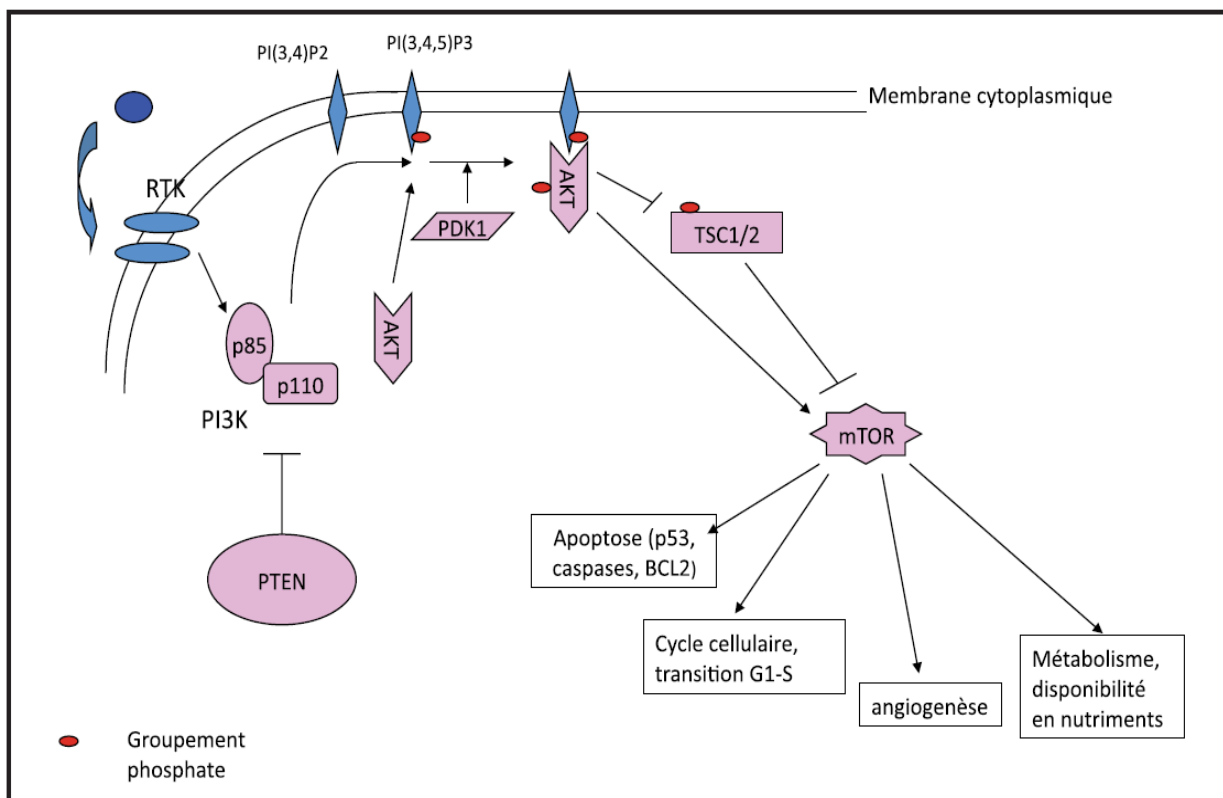


Figure 2. Voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR10

RTK : récepteur à tyrosine-kinase ; PI(3,4,5)P2 : phosphatidylinositol 3,4,5-diphosphate ; PI(3,4,5)P3 : phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate ; PDK1 et 2 : 3-phosphoinositide dependent tyrosine kinase 1 et 2 ; PTEN : phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 ; TSC1 : Tuberous sclerosis complex-1 ; TSC2 : Tuberous sclerosis complex-2 ; PI3K: phosphatidyl inositol 3-OH-kinase ; mTOR : Mammalian Target Of Rapamycine

I mTOR

Découverte en 1994^{11,12}, mTOR est une enzyme intracellulaire de 289 kDa à activité sérine-thréonine kinase. On retrouve également la protéine kinase mTOR sous l'abréviation FRAP (FKBP rapamycin associated protein) ou RAFT (rapamycin and FKBP12 target). Chez les mammifère, la protéine FRAP/RAFT est couramment appelée mTOR pour mammalian TOR.

mTOR est une protéine très conservée puisque l'on ne connaît à ce jour aucune mutation de cette protéine contrairement à la majorité des autres protéines constituant la voie de signalisation décrite précédemment.

La protéine kinase mTOR est le centre catalytique de deux complexes multiprotéiques fonctionnellement distincts (conservés chez tous les eucaryotes): mTOR complex-1 (mTORC1) et mTOR complex-2 (mTORC2).

Au sein de ces complexes, l'activation de mTOR dépend de son association à d'autres protéines (Figure 3) :

- lorsqu'elle est associée à la protéine RAPTOR (regulatory associated protein of TOR), mTOR forme le complexe mTORC1,
- lorsqu'elle est associée à la protéine RICTOR (rapamycin insensitive companion of TOR), mTOR forme le complexe mTORC2.

La rapamycine inhibe spécifiquement mTORC1 et non le complexe mTORC2. La cause exacte de cette spécificité demeure encore inconnue.

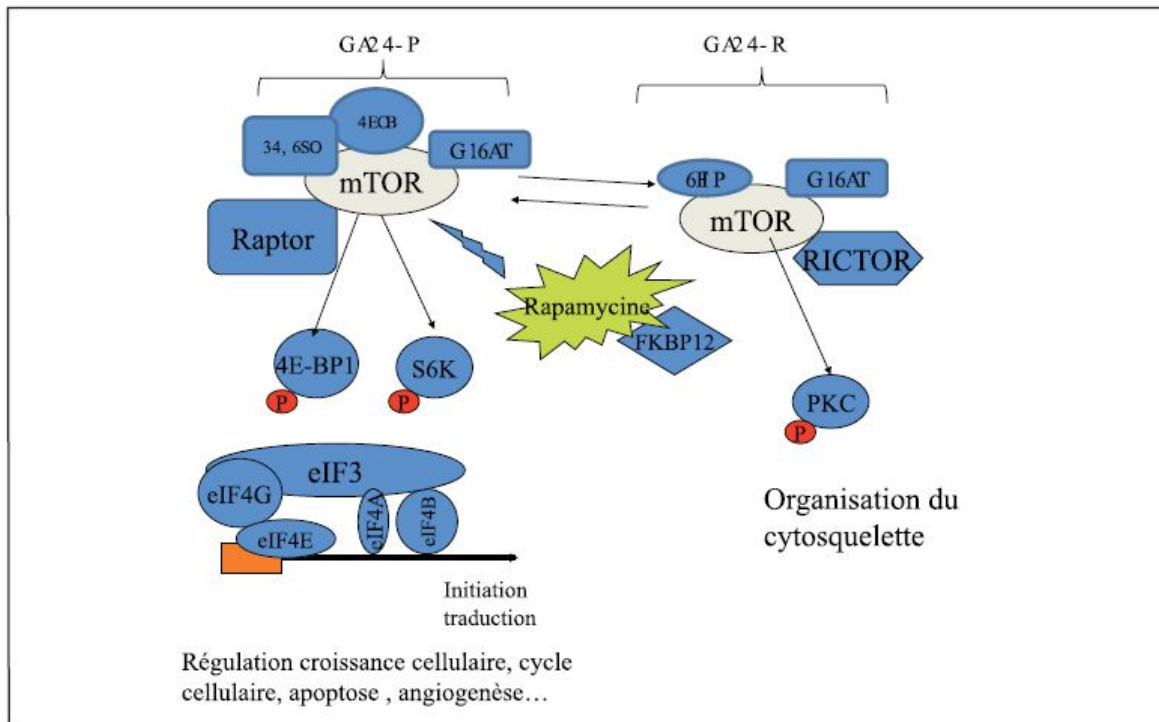


Figure 3. Différents complexes protéiques formés par mTOR : mTORC1 et mTORC2. Seul le complexe mTORC1 est sensible à la rapamycine¹⁰

TSC1 : Tuberous sclerosis complex-1 ; TSC2 : Tuberous sclerosis complex-2; 4EBP1: eIF4E binding protein-1 ; P70S6K: p70S6-kinase ; RAPTOR: regulatory-associated protein of mTOR; RICTOR : rapamycin-insensitive companion of mTOR

mTOR joue différents rôles selon les protéines qu'elle active ou inhibe :

- Régulation de la traduction et de la synthèse protéique,
 - o mTOR régit la formation du complexe d'initiation de la traduction eIF4F (elongation initiation factor 4F), formé des sous-unités eIF4E, eIF4A et eIF4G. La sous-unité eIF4E est un oncogène surexprimé dans plusieurs types de tumeurs puisqu'il promeut la traduction des ARNm. eIF4E est ainsi impliquée dans la biogenèse ribosomale, dans la formation de polysomes actifs dans la traduction et participe donc à la synthèse protéique (Figure 3).

Dans les cellules quiescentes, l'activité de mTOR est plus faible, et le facteur eucaryote eIF-4G est lié à la protéine 4E-BP1 (dans sa forme non phosphorylée). En effet, les protéines 4E-BP (4E-binding proteins) déplacent eIF4G pour se lier à eIF4E.

En phosphorylant les 4E-BP, mTORC1 inhibe leur liaison à eIF4E et favorise la formation du complexe eIF4F (Figure 3).

- La traduction de la cycline D1 qui permet la progression du cycle cellulaire de la phase G1 à la phase S,
- La traduction de HIF1/2 (hypoxia inducible factor), un facteur de transcription impliqué dans la promotion de l'angiogenèse,
- L'expression de transporteurs en nutriments situés à la surface de la membrane plasmique, comme GLUT-1 ;
- Régulation de la croissance cellulaire,
 - mTORC1 phosphoryle et active la kinase S6K (p70 ribosomal S6 kinase ou p70S6K) (Figure 3). Une fois activée, S6K phosphoryle eIF4B, favorisant son association au complexe de pré-initiation de la traduction protéique.
- Contrôle du cytosquelette : les cibles d'aval de mTORC2 sont des protéines contrôlant le cytosquelette et AKT/PKB.

mTOR possède ainsi une activité régulatrice sur les protéines impliquées dans le cycle cellulaire, l'angiogenèse, l'apoptose et ou encore la glycolyse.

L'EVR agit en se liant à la protéine intracellulaire FKBP-12 formant un complexe qui inhibe l'activité de mTORC1. Ce complexe se fixe alors au domaine FBR de mTORC1 et entrave les événements de signalisation en aval, comme l'activité de S6K et de 4EBP ainsi que le cycle cellulaire (arrêt du passage de la phase G1 à la phase S).

En outre, il a été montré que l'inhibition de la synthèse protéique qu'induit l'EVR ralentit la synthèse de molécules jouant un rôle dans la formation des nouveaux vaisseaux sanguins tel que le VEGF (Vascular endothelial growth factor) ; ceci expliquant en partie les effets anti-angiogéniques de l'EVR.

Les résultats des études de phase I laissent penser qu'une dose quotidienne d'EVR d'au moins 10 mg est nécessaire pour obtenir une inhibition de la phosphorylation de S6K1, de 4E-BP1 et de IF-4G chez la majorité des patients.

6.2 Propriétés pharmacocinétiques¹³

Absorption

Chez les patients atteints de tumeurs solides avancées, les concentrations maximales d'EVR sont atteintes environ une à deux heures après l'administration quotidienne d'une dose orale de 5 à 10 mg, à jeun ou avec un repas léger sans matières grasses. Pour des posologies d'EVR allant de 5 à 10 mg par jour, il a été démontré une relation dose- C_0 linéaire et un état d'équilibre atteint en une semaine¹⁴. Il existe également une bonne corrélation entre les C_0 et l'AUC à l'état d'équilibre¹⁴. La biodisponibilité de l'EVR a été estimée à 11%.

Influence de l'alimentation

Chez les volontaires, la prise concomitante de 10 mg d'EVR avec un repas riche en graisse montre une exposition systémique mesurée par l'AUC diminuée de 22% et un pic plasmatique (C_{max}) diminué de 54%. Avec un repas léger, l'AUC est diminuée de 32% et la C_{max} est diminuée de 42%. Les aliments n'ont toutefois eu aucune répercussion sur la concentration en fonction du temps au cours de la phase post-absorption.

Distribution

La liaison aux protéines plasmatiques est d'environ 74% chez les sujets sains et chez les patients présentant une insuffisance hépatique modérée. Chez les patients atteints de tumeurs solides à un stade avancé, le volume de distribution était de 191 litres dans le compartiment central apparent et de 517 litres dans le compartiment périphérique apparent.

Biotransformation

L'EVR présente un fort métabolisme hépatique puisqu'il est à la fois substrat du CYP3A4 et de la PgP (glycoprotéine P). Après administration orale, l'EVR est le composé principal circulant dans le sang chez l'homme. Six métabolites sanguins principaux de l'EVR ont été identifiés chez l'homme. Ils présentent une activité environ 100 fois plus faible que celle de l'EVR lui-même. Par conséquent, l'EVR seul est considéré comme responsable de la majorité de l'activité pharmacologique globale.

Élimination

La valeur moyenne de la clairance de l'EVR chez des patients atteints de tumeurs solides recevant 10 mg d'EVR par jour était de 24,5 litres par heure. La valeur moyenne de la demi-vie d'élimination est approximativement de 30 heures.

Après administration d'une dose unique d'EVR, l'élimination est majoritairement biliaire (80% dans les fèces et 5% dans les urines). La molécule mère n'a pas été détectée dans les urines ni dans les fèces. Il n'a pas été mené d'études d'excrétions spécifiques chez les patients atteints de cancer (uniquement chez les patients transplantés).

6.3 Pré requis justifiant un STP de l'EVR

Les pré requis justifiant d'un STP de l'EVR ont été largement décrits et discutés. Parmi eux, nous pouvons citer :

- médicament à marge thérapeutique étroite,
- risque important d'échec thérapeutique,
- non existence de critères d'évaluation simples de l'effet clinique ou biologique,
- survenue d'EI fréquents et pouvant être graves,
- pharmacocinétique linéaire et relation concentration-effet établie,
- variabilité inter individuelle pharmacocinétique importante à l'origine d'une impossibilité de prédiction des C_0 ,
- méthode de dosage disponible et validée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS)
- large distribution de l'EVR dans les éléments figurés du sang, en particulier les hématies. Il est recommandé de mesurer les concentrations dans le sang total, prélevé sur anticoagulant de type EDTA.

7 CONTEXTE DE L'ETUDE

7.1 Intérêt de l'étude

En 2014, le comité scientifique des médicaments immunosuppresseurs appartenant à l'Association Internationale de Suivi Thérapeutique Pharmacologique et de Toxicologie Clinique (IATDMCT) a organisé au niveau international une rencontre d'experts afin de discuter des avancées récentes en terme de STP de l'EVR. Un guide pour le STP de l'EVR en transplantation et en cancérologie a également été rédigé afin de guider les professionnels de santé dans le but d'améliorer les pratiques et la prise en charge d'un patient sous EVR⁸.

En Cancérologie, l'EVR est indiqué dans le traitement du¹³:

- Cancer du sein avancé avec récepteurs hormonaux positifs, HER2/neu négatif, en association avec l'exémestane chez les femmes ménopausées sans atteinte viscérale symptomatique dès récurrence ou progression de la maladie et précédemment traitées par un inhibiteur non stéroïdien de l'aromatase¹⁵.
- Cancer du rein avancé chez les patients ayant progressé sous ou après une thérapie ciblée anti-VEGF¹⁶,
- Tumeurs neuroendocrines d'origine pancréatique non résécables ou métastatiques bien ou moyennement différenciées avec progression de la maladie chez l'adulte¹⁷.

L'étude BOLERO-2 (cancer du sein) a permis de montrer un allongement de la médiane de survie sans progression de 4,63 mois et un pourcentage de réponse objective (réponse complète ou partielle) plus élevé en faveur de l'association évérolimus + exemestane versus exemestane seul¹⁸. En revanche, il a été observé une augmentation de la fréquence des arrêts de traitement pour événements indésirables tels que des événements indésirables graves de grade 3 ou 4 et des effets indésirables à type de stomatites, rashes, fatigue ou de diarrhée¹⁸.

En effet, malgré une efficacité reconnue, l'EVR administré sous forme d'une dose initiale fixe de 10 mg, et ce quel que soit le cancer, est associé à une incidence élevée d'EI sévères menant à une réduction de la dose voire même à son abandon définitif¹⁹.

La diminution de posologie ou l'arrêt du traitement pour toxicité majeure concerne 20% des patientes atteintes d'un cancer du sein induisant ainsi une perte de chance pour ces patientes^{15,19}.

Une étude réalisée sur des patients atteints de cancer neuroendocrine a montré qu'un

arrêt temporaire s'avérait nécessaire chez 63,7% des patients et 24,8% d'entre eux ont eu recours à au moins deux arrêts temporaires. De plus, 85,2% des patients ont présentés un EI dont presque la moitié (46.1%) étaient de grade 3-4²⁰.

Parmi les EI les plus souvent retrouvés et ce quel que soit le cancer, on retrouve les stomatites, les pneumopathies non infectieuses, les anomalies biologiques, les infections, la fatigue et les rashes cutanés ^{9,13,18,21,22,23}.

Selon des données d'essais cliniques, plus d'un tiers des EI tels que les stomatites, la fatigue ou l'hyperglycémie apparaissent dans les six premières semaines du traitement par EVR²³.

7.2 Intérêt de la pharmacogénétique

La pharmacogénétique est l'étude de l'influence de la variabilité du génome sur la réponse aux médicaments. La pharmacogénétique est une composante de la pharmacogénomique ; contrairement à la pharmacogénomique qui étudie les conséquences des variations de l'ensemble du génome (ADN et ARN) sur la réponse aux médicaments, la pharmacogénétique étudie l'influence des variations de la séquence en ADN pour des protéines impliquées dans l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'élimination et l'effet d'un médicament (inefficacité/toxicité et efficacité/tolérance).

Comme pour toutes les protéines de l'organisme, la structure et le niveau d'expression des enzymes qui catalysent les réactions de métabolisation des médicaments dépendent en partie de l'information portée par les gènes qui les codent. Or, ces gènes peuvent présenter des variations de séquences (le plus souvent des substitutions), telles que des variations ponctuelles ou SNP (Single Nucleotide Polymorphism), des délétions partielles ou totales, ou encore des duplications ou amplifications de gènes. Les différentes versions d'un même gène définissent des allèles et chaque individu possède deux versions alléliques d'un même gène déterminant un génotype particulier. L'existence dans la population générale de ces différentes versions alléliques d'un même gène et, par conséquent, de différents génotypes, définit un polymorphisme génétique. Dans la définition classique du polymorphisme génétique s'ajoute une notion de fréquence arbitraire, précisant que l'allèle le moins fréquent présente une fréquence au moins égale à 1%.

Pour rappel, si les deux versions alléliques sont identiques, l'individu est dit « homozygote » (ex : A (Adénine) /A Adénine). Si les deux versions alléliques sont différentes, il y a alors remplacement d'une base d'ADN par une autre et l'individu est alors dit « hétérozygote » (ex : A (Adénine/Guanine).

La plupart des polymorphismes sont dits « silencieux » c'est-à-dire sans conséquence en termes de changement d'acide aminé ou avec un changement d'acide aminé mais sans conséquence au niveau phénotypique. Les variations silencieuses ne peuvent être détectées qu'au niveau de la séquence d'ADN. En revanche si les variations s'expriment, celles-ci confèrent un phénotype particulier (phénotype variant) différent du phénotype de référence pouvant être responsable de variations d'expression et/ou d'activité des protéines concernées (diminution voire déficit d'activité de l'enzyme, augmentation de son activité ou encore une absence totale de la protéine enzymatique).

Dans le cas d'un médicament métabolisé par une enzyme, la capacité métabolique dépend alors du nombre d'allèles fonctionnels du gène codant pour cet enzyme (Figure 4). On distingue les individus:

- « métaboliseurs rapides » si les deux allèles sont sauvages, on parle alors de patients homozygotes sauvages. Ces patients exprimeront une enzyme normale active et avoir une activité métabolique enzymatique suffisante.
- « métaboliseurs intermédiaires » qui associent soit 2 allèles à fonction réduite soit la combinaison d'un allèle fonctionnel à fonction réduite avec un allèle non fonctionnel, on parle alors de patients hétérozygotes. Ces patients vont coder pour une protéine instable à activité diminuée de façon partielle ou totale. Sur le plan phénotypique, ces derniers sont souvent difficilement distinguables des métaboliseurs rapides.
- « métaboliseurs lents » si les deux allèles sont non fonctionnels, on parle alors de patients homozygotes mutés. Les patients « métaboliseurs lents » n'ont pas de gène fonctionnel et ne codent donc pour aucune enzyme, leur activité enzymatique est alors très fortement diminuée ou absente.
- dans certains cas assez rares, il peut exister une amplification du gène conduisant à une surexpression de l'enzyme et donc à une augmentation d'activité enzymatique : on parle alors de patients « métaboliseurs ultrarapides ».

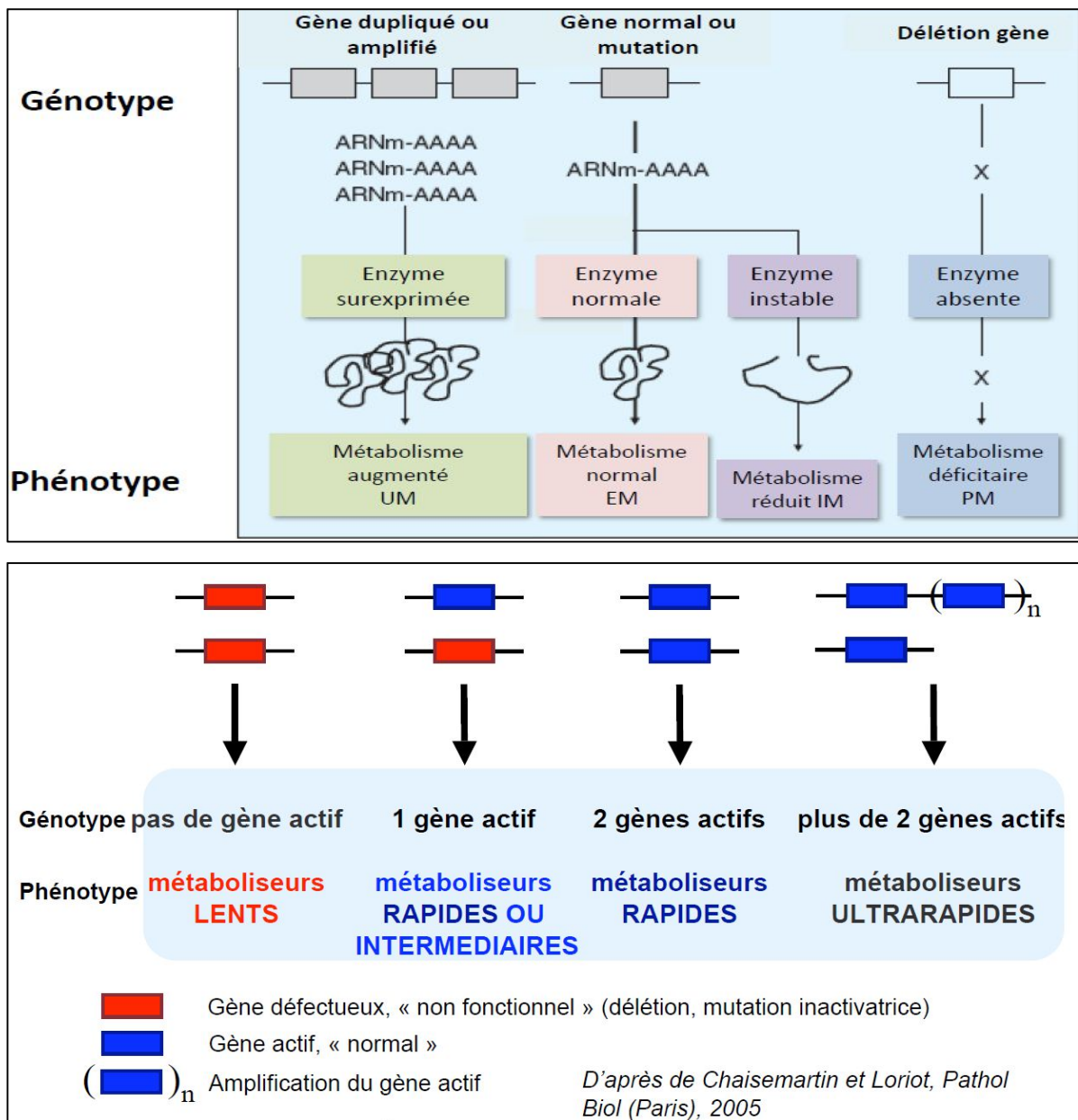


Figure 4. Bases moléculaires de la variabilité génétique : polymorphismes génétiques^{24,25}

Ces variations génétiques portant sur le métabolisme des médicaments ont des conséquences phénotypiques d'ordre pharmacocinétique, pharmacodynamique et toxique.

En effet, chez un individu « métaboliseur rapide », on s'attendra à ce que les concentrations sanguines du médicament soient dans la fourchette thérapeutique établie. Une efficacité thérapeutique peut alors être attendue.

Pour un individu ayant un métabolisme lent, les concentrations sanguines en médicaments seront supérieures aux concentrations thérapeutiques et l'apparition d'effets indésirables est à prévoir.

Chez un individu « métaboliseur ultra-rapide », les concentrations sanguines en médicament

seront inférieures aux concentrations thérapeutiques attendues et une inefficacité thérapeutique est à craindre.

La pharmacogénétique et l'étude des polymorphismes présentent surtout de l'intérêt pour les médicaments présentant :

- une marge thérapeutique étroite,
- des EI potentiellement graves,
- une forte variabilité au niveau pharmacocinétique.

L'objectif de la pharmacogénétique est de permettre une médecine préventive et personnalisée pour chaque individu.

L'EVR est métabolisé très majoritairement par les cytochromes P450 de la famille 3A. Le CYP2C8 n'interviendrait qu'à hauteur de 10% de son métabolisme²⁶.

La forte variabilité interindividuelle pourrait être en partie expliquée par la pharmacogénétique et notamment par les polymorphismes des CYP3A : *CYP3A4*22* et *CYP3A5*3*. Ces deux variations présentent un intérêt puisque de nombreuses études ont montrées que l'allèle *CYP3A4*22* est associé à une diminution de l'activité du CYP3A4^{27,28,29} alors que le *CYP3A5*3* entrainerait une absence de protéine CYP3A5^{30,31,32,33}.

Concernant le CYP3A4, les patients métaboliseurs rapides ou homozygotes « sauvages » sont porteurs de l'allèle *1 (*CYP3A4*1*) et possèdent le génotype CC. Ils expriment alors une protéine active. L'allèle minoritaire T (*CYP3A4*22*) est responsable d'une diminution de l'activité hépatique du CYP3A4 et donc d'une diminution du métabolisme de l'EVR. Les hétérozygotes et homozygotes porteurs du variant (génotype CT et TT) ont alors un risque de présenter des C₀ d'EVR plus élevées que les homozygotes non porteurs.

Concernant le CYP3A5, les individus porteurs du génotype GG (*CYP3A5*3/*3* =non expresseurs) codent pour une enzyme tronquée, dépourvue d'activité. Ce variant a la particularité d'être présent dans 85% de la population caucasienne³⁴. L'allèle *CYP3A5*1* (génotype AG ou AA) permet l'expression de l'enzyme de métabolisation. La conséquence est une augmentation du métabolisme de l'EVR chez les personnes porteuses du génotype AG ou AA (*CYP3A5*1*=expresseurs) et un risque de présenter des C₀ d'EVR plus basses que les non expresseurs (génotype GG) pour une même dose.

Une étude *in vitro* suggère que l'EVR est métabolisé très majoritairement par le CYP3A4 et minoritairement par le CYP3A5 aux doses administrées en transplantation²⁶. Le ratio d'activité CYP3A5/CYP3A4 en ce qui concerne la métabolisation de l'EVR serait d'environ de 1:6^{26,35}. Il est probable que ce ratio soit différent pour les doses utilisées en cancérologie.

Il est donc probable que les polymorphismes génétiques des enzymes de métabolisation de l'EVR, *CYP3A4*22* et *CYP3A5*3*, puissent être associés à des variations de l'exposition ou des effets en cancérologie. Par exemple, les polymorphismes génétiques *CYP3A4*22* et *CYP3A5*3* expliqueraient 60% des cas de variabilité des doses ajustées de tacrolimus²⁶.

Dans cette étude, le polymorphisme caractérisant le *CYP3A4*22*, rs35599367 en position c.522-191C>T pour le CYP3A4, et celui du *CYP3A5*3* pour le CYP3A5, rs776746 en position c.219-237A>G, ont été étudiés.

7.3 Objectifs

L'objectif principal de cette étude consistait à rechercher une association entre l'exposition à l'EVR et sa toxicité, et de proposer des valeurs cibles de C₀ qui pourraient être utilisées dans la mise en œuvre du STP et dans l'individualisation des doses d'EVR.

Les objectifs secondaires consistaient à rechercher (i) une association entre l'exposition à l'EVR et sa progression et (ii) à explorer la relation entre les polymorphismes génétiques des enzymes de métabolisation de l'EVR (*CYP3A4*22* et *CYP3A5*3*) et l'exposition à l'EVR.

8 MATERIEL ET METHODES

8.1 Schéma de l'étude

L'étude s'est déroulée en deux étapes, la première a été réalisée de manière rétrospective sur des données issues de la Base Nationale de Pharmacovigilance (BNPV). Les objectifs étaient de :

- faire un état des lieux des EI rapportés lors de la prise d'EVR depuis sa commercialisation en vie réelle dans le domaine de la cancérologie,
- déterminer les EI les plus fréquemment rencontrés (au niveau clinique et biologique) et de déterminer l'attitude thérapeutique observée lors de la survenue d'un EI,
- comparer la répartition de ces EI entre les trois cancers.

La deuxième étape consistait en la réalisation d'une étude monocentrique rétrospective observationnelle et sur collections biologiques. Le travail a été réalisé à partir de données issues des dossiers médicaux des patients et sur des échantillons biologiques conservés dans une collection biologique déclarée aux autorités compétentes (DC 2010-1074) pour laquelle est autorisée toute recherche, y compris pharmacogénétique, en cancérologie.

Cette étude a été déclarée à la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL) sous le numéro d'enregistrement 1948009 v 0 et au comité d'éthique du CHU de Limoges sous le numéro 198-2016-12.

Les objectifs de cette deuxième étape étaient les suivants :

- recueillir les EI rencontrés lors d'un traitement par EVR à partir des dossiers médicaux de patients traités, tous types de cancers confondus, et pour lesquels un échantillon sanguin était disponible dans la collection biologique DC2010-1074,
- utiliser les dosages disponibles des C₀ d' EVR,
- réaliser un génotypage c'est à dire rechercher les polymorphismes génétiques des enzymes de métabolisation de l'EVR (*CYP3A4**22 et *CYP3A5**3) sur les échantillons biologiques des patients ayant consenti à participer à la collection biologique.

8.2 Analyse des données

Quelle que soit l'étape, une analyse descriptive de la population a été effectuée. Les variables continues étaient exprimées en termes de médiane (minimum-maximum) et d'intervalle interquartile. Les variables catégorielles ont été exprimées par les effectifs et pourcentages (%).

8.3 ETAPE 1 - RECHERCHE DANS LA BASE NATIONALE DE PHARMACOVIGILANCE (BNPV)

8.3.1 Base de données

Avant de réaliser la requête sur la BNPV, une demande d'accès à celle-ci a été réalisée et communiquée aux 30 autres centres régionaux de pharmacovigilance (CRPV) de France. Aucune opposition à l'étude n'a été reçue.

8.3.2 Critères de sélection des observations

Les observations ont été relevées depuis la date de commercialisation de l'EVR en cancérologie (2012) jusqu'au 04/01/2016. Dans le but de bien différencier l'utilisation de l'EVR en transplantation de son utilisation en cancérologie et d'obtenir le maximum d'observations possibles, plusieurs mots clés ont été utilisés :

- une recherche avec le nom de spécialité Afinitor®,
- une recherche avec la Dénomination Commune Internationale (DCI) évérolimus en spécifiant les dosages de 2,5 mg, 5 mg et 10 mg afin de cibler son utilisation en cancérologie.

Au 04/01/2015, la BNPV comptait 219 observations associées à la prise d'EVR en cancérologie depuis sa date de commercialisation.

8.3.3 Données recueillies

Pour les observations extraites de la BNPV, les données recueillies ont été:

- la gravité de l'observation,
- l'indication de l'EVR,
- la posologie (mg),
- le délai d'apparition entre la date d'initiation du traitement et l'apparition d'EI (jours),
- le nombre et le type d'EI par observation,
- la conduite menée : arrêt définitif du traitement, arrêt temporaire et/ou diminution de dose, poursuite du traitement,

- l'existence de récurrence d'EI, son délai d'apparition (jours) et l'évolution de l'EI : favorable ou persistance.

Les EI ont été regroupés en SOC (System Class Organ ou Classification par Discipline Médicale) selon la classification MedDRA (Medical Dictionary for Regulatory Activities) couramment utilisée en pharmacovigilance. Vingt SOC ont été établis et 9 SOC ont par la suite été rassemblés dans un SOC « Autres » de par une fréquence de survenue très faible (inférieure à 1,7%).

8.3.4 Analyse des données

En plus de la description de la population, il a été déterminé :

- la proportion d'observations graves et non graves,
- le nombre moyen d'EI par patient et par cancer lors d'un traitement par EVR,
- la proportion d'arrêts définitifs, temporaires et/ou de diminution de la posologie avec ou sans poursuite du traitement,
- la proportion de récurrences et la conduite tenue lors de leur apparition,
- la proportion des EI regroupés en System Class Organ (SOC) et selon le type de cancer.

Des diagrammes circulaires et des histogrammes ont été utilisés pour représenter les résultats.

8.4 ÉTAPE 2 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MÉDICAUX ET UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES

8.4.1 PARTIE 1 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MÉDICAUX

8.4.1.1 Définition des outcomes

La toxicité était définie par la survenue d'EI nécessitant une diminution de la posologie, un arrêt temporaire ou un arrêt définitif du traitement par EVR.

Les différentes toxicités observées ont été graduées selon le National Cancer Institute - Common Terminology Criteria for Adverse Events version 4.0 (NCI-CTCAE V4).

La progression ou l'efficacité du traitement par EVR était définie comme un arrêt définitif pour progression documenté et recueilli dans le dossier médical. La SSP était définie comme le délai entre la date d'initiation au traitement par EVR et la date de la première documentation de progression ou date de décès.

8.4.1.2 Base de données

Les dossiers médicaux des 54 patients ont été consultés depuis la date de diagnostic du cancer jusqu'à la date de décès ou la date de dernières nouvelles. L'analyse de survie a été censurée au 25/04/2016 (date de réalisation des analyses statistiques).

Les dossiers médicaux contenaient les informations relatives aux hospitalisations et consultations du patient, les comptes rendus d'examens et des RCP, les courriers envoyés entre les différents spécialistes et médecins généralistes en charge du patient, les résultats biologiques et les informations relatives au suivi du patient pendant son traitement par EVR. Toutes les données recueillies ont été saisies dans une base de données Access.

8.4.1.3 Critères de sélection des patients

Les critères d'inclusion des patients étaient :

- indication conforme à l'AMM,
- consentement de la collection biologique DC 2010-1074 signé.

Le critère d'exclusion est :

- consentement non signé.

8.4.1.4 Données recueillies

Plusieurs types de données ont été relevés dans les dossiers médicaux avant et pendant l'étude.

Données relatives au patient

- l'âge et le sexe du patient,
- le type de cancer,
- la date de diagnostic du cancer correspondant à la date de la biopsie,
- la date de diagnostic des métastases,
- le nombre et le type de sites métastatiques,
- la présence ou non d'une hormonothérapie (HT) adjuvante et sa date de fin (pour le cancer du sein),
- la présence ou non d'une chimiothérapie (CT) adjuvante ou de thérapie ciblée (TC) et sa date de fin,
- le nombre de lignes d'HT en situation métastatique avant le traitement par EVR (pour le cancer du sein),
- le nombre de lignes d'CT ou de thérapie ciblées (TC) en situation métastatique avant le traitement par EVR,
- la présence ou non d'un traitement concomitant à base de bisphosphonate (BP).

Données relatives au traitement par EVR

- la date d'initiation du traitement par EVR,
- la posologie initiale (mg),
- la date et le motif d'arrêt définitif,
- la (les) date(s) et le(s) motif(s) d'arrêt(s) temporaire(s) et/ou de diminution de la posologie.

Données relatives aux EI

Les données recueillies étaient les suivantes:

- la date du bilan biologique et/ou de la consultation,
- le délai entre la date d'initiation du traitement par EVR et la date du bilan biologique et/ou de la consultation mettant en évidence ou non la présence d'une toxicité.

Le RCP de l’Afinitor® et les résultats d’exploitation de la BNPV ont permis de déterminer les paramètres biologiques et cliniques à relever dans les dossiers médicaux des patients traités par EVR.

8.4.2 PARTIE 2 - UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES

8.4.2.1 Concentrations résiduelles (C_0)

8.4.2.1.1 Prélèvements sanguins

Le prélèvement sanguin doit se faire à l’état d’équilibre c'est-à-dire environ une semaine après le début du traitement ou après toute modification de posologie. Le STP repose sur la mesure de la C_0 , par conséquent juste avant une nouvelle administration du médicament.

Dans le cadre de cette étude, le suivi thérapeutique des patients était basé sur la mesure de la C_0 d’EVR à l’état d’équilibre c'est-à-dire au moins 15 jours après l’initiation du traitement ou au moins 15 jours après toute modification de la posologie et en cas d’EI (toxicité de grade 3 ou 4).

Pour cette étude, un formulaire d’accompagnement des échantillons de recherche clinique a été élaboré et comprenait le nom du centre, le service demandeur, le nom du médecin prescripteur et le service destinataire.

L’infirmière en charge du prélèvement sanguin appose l’étiquette d’identification du patient, renseigne la date et l’heure de prélèvement, la date et l’heure de la dernière prise d’EVR ainsi que la posologie de l’EVR au moment du prélèvement.

Au moment de la réception du tube, le technicien indique la date et l’heure de réception du prélèvement ainsi que la date et l’heure de la congélation du tube. La C_0 est déterminée grâce à une méthode de dosage de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Nous avons à notre disposition 83 C_0 d’EVR.

8.4.2.1.2 Données relatives à l’exposition (C_0)

Les données recueillies ont été:

- la date du dosage de la C_0 ,

- la posologie de l'EVR au moment du dosage,
- la valeur de la C_0 .

8.4.2.1.3 Estimation du taux résiduel par modèle Bayésien

Certaines concentrations d'EVR n'ont été prélevées en résiduel c'est-à-dire juste avant l'administration suivante. Il s'agit ici d'un biais majeur pour l'analyse. Chez ces patients, nous avons pris la décision d'estimer la concentration résiduelle par méthode bayésienne. Un modèle de pharmacocinétique de population est disponible pour l'EVR en transplantation rénale sur le site internet du service de pharmacologie du CHU de Limoges <https://pharmaco.chu-limoges.fr/>. Ce modèle est utilisé en routine en transplantation lorsqu'une concentration en EVR est disponible.

Cet outil permet de décrire et de prévoir l'évolution des concentrations du médicament à partir d'une information individuelle (obtenue à l'aide de prélèvements sanguins du patient) et d'un " modèle de population " (construit dans le cadre d'un essai clinique). Ces estimateurs sont basés sur le théorème probabiliste de Bayes et appelés estimateurs bayésiens.

8.4.2.1.4 Analyse statistique

En ce qui concerne la toxicité, nous avons sélectionné la ou les valeurs de C_0 d'EVR disponible(s) au moment de la survenue d'un EI. Ainsi, plusieurs valeurs de C_0 pouvaient être utilisées pour un patient s'il présentait plusieurs EI et les patients n'étaient alors pas censurés lors de l'apparition du premier EI.

Pour ce qui est de la progression tumorale reflétant l'efficacité du traitement par EVR, contrairement à la toxicité, une seule valeur de C_0 d'EVR par patient a été sélectionnée. En effet, étant donné que la progression tumorale est un évènement irréversible, les patients étaient censurés lors de la survenue de cet évènement. En cas de progression, nous avons sélectionné la C_0 la plus proche de l'évènement c'est-à-dire ici la progression tumorale. En cas de non progression, la dernière C_0 disponible, en l'absence de changement de dose, a été sélectionnée (sinon aucune valeur de C_0 n'était utilisée). Nous avons fait l'hypothèse que les C_0 d'EVR intra-patient étaient stables (variabilité intra-individuelle négligeable).

L'analyse statistique a été réalisée dans le logiciel R (version 3.2.1). Une analyse descriptive a été réalisée pour les variables dépendantes du temps et pour les variables non dépendantes du temps.

Des courbes ROC (Receiver Operating Characteristic) ont été construites grâce au package pROC dans le logiciel R pour rechercher un seuil de concentration en EVR associé à la toxicité et à l'efficacité. L'index de Youden a été utilisé pour le choix du meilleur seuil (Sensibilité+Spécificité-1).

Les C_0 d'EVR ont ensuite été binarisées en fonction du seuil retrouvé (C_0 « hautes » et C_0 « basses ») et introduites dans un modèle de Cox sous forme binarisée. Nous avons fait l'hypothèse que la relation entre la concentration résiduelle d'EVR et la diminution de la posologie ou un arrêt de traitement était stable dans le temps.

Les facteurs de risque en faveur d'une diminution de la posologie, d'un arrêt temporaire ou d'un arrêt définitif du traitement par EVR pour toxicité ont été recherchés par un modèle de Cox avec variables dépendantes du temps permettant de prendre en compte la corrélation entre les mesures répétées de C_0 chez un même patient. La SSP (une ligne par patient) a été étudiée dans un modèle de Cox classique (censure lors de l'évènement).

La première étape repose sur une analyse univariée réalisée en testant l'effet de chaque variable indépendamment (diagnostic, sexe, âge au début du traitement par EVR, C_0 EVR binarisée, nombre de métastases, statut métastatique d'emblée, délai de diagnostic des métastases, présence d'hormonothérapie [HT] adjuvante, délai entre la fin de l'HT et le début du traitement par EVR, présence de chimiothérapie [CT] adjuvante/thérapie ciblée [TC], délai entre la fin de la CT/TC et le début du traitement par EVR, nombre de lignes d'HT, nombre de lignes de CT/TC, présence de biphosphonate [BP] et la posologie) sur la toxicité et l'efficacité du traitement par EVR. Les variables caractérisées par une valeur de p inférieure à 0.2 ont été incluses dans un modèle intermédiaire.

La deuxième étape consistait à sélectionner le modèle final par une approche pas à pas descendante basée sur la comparaison de modèle sur la base du critère BIC (Bayesian Information Criteria).

La robustesse de ces résultats a été vérifiée par la réalisation de 100 tirages avec remises (=bootstraps) suivis de 100 backward stepwise basée sur le BIC (package bootstepAIC du logiciel R). Le pourcentage de fois sur les 100 tirages où la variable a été retenue, le signe de la variable quand elle est retenue (facteur de risque ou protecteur) et la significativité

statistique à chaque procédure ont été obtenues. L'hazard ratio (HR) et les intervalles de confiance à 95% (IC95%) dans le modèle final et après tirages (*bootstraps*) ont été calculés. L'hypothèse des risques proportionnels a été vérifiée pour les modèles finaux par la méthode des résidus de Schoenfeld implémentée dans le package « Survival » de R. Cette méthode permet de s'assurer que le HR mesuré est indépendant du temps et constant au cours du temps.

Des courbes d'incidence cumulée (car le patient peut changer de groupe à risque au cours du temps ; package *cpmrsk*) ou de survie (car le patient ne change pas de groupe au cours du temps) ont été construites pour la toxicité et pour la progression en fonction de(s) variable(s) retenue(s).

Nous avons également voulu rechercher un seuil de concentration pour chaque EI quel que soit leur grade et pour les EI de grade 3-4. Les analyses ne seront pas présentées compte tenu d'un trop petit nombre d'EI.

8.4.2.2 Pharmacogénétique

8.4.2.2.1 Méthode

Les analyses pharmacogénétiques ont été réalisées à partir d'un prélèvement de sang total après décongélation. Les minikits QIAmp DNA (Qiagen, France) ont été utilisés pour l'extraction d'ADN et la purification. La quantification d'ADN a été réalisée par spectrophotométrie avec l'appareil Nanodrop®.

8.4.2.2.2 Génotypage

Les génotypes ont été déterminés par une technique de discrimination allélique utilisant la PCR (Polymerase Chain Reaction) avec détection en temps réel et la technologie de fluorescence Taqman®. Le système de détection était l'ABI PRISM 7000 (Applied Biosystems®).

L'analyse pharmacogénétique des *CYP3A4*22* et *CYP3A5*3* a été réalisée sur 34 patients. Cette analyse n'a pas pu être réalisée sur les 20 autres patients car les prélèvements sanguins n'avaient pas été conservés, la très grande majorité des patients étant décédés.

8.4.2.2.3 Analyse statistique

La fréquence d'allèle minoritaire (MAF) a été déterminée et comparée à celle observée dans des bases de données concernant une population caucasienne. La conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été vérifiée pour les 2 polymorphismes étudiés.

L'influence des polymorphismes génétiques du *CYP3A4*22* et *CYP3A5*3* sur l'exposition à l'EVR a été évaluée graphiquement par l'intermédiaire de diagramme de type « boîte à moustaches » ou *boxplot* en anglais qui permet de résumer une variable de manière simple et visuelle. L'influence des polymorphismes génétiques du *CYP3A4*22* et *CYP3A5*3* sur l'exposition à l'EVR a été quantifiée par équations d'estimation généralisée (generalized estimating equation [GEE], package *geepack*) permettant de prendre en compte la corrélation intra-patient. En effet, les C_0 entre 2 visites pour un même patient sont corrélées et ne peuvent être considérées comme indépendantes.

9 RESULTATS

9.1 *ETAPE I - RECHERCHE DANS LA BASE NATIONALE DE PHARMACOVIGILANCE (BNPV)*

Au 04/01/2016, la BNPV comptait 219 observations associées à la prise d'EVR en cancérologie depuis sa date de commercialisation dont une très grande majorité d'observations graves (83,6%). Ces 219 observations représentaient 359 EI correspondant à une moyenne de $1,64 \pm 1,02$ EI par patient.

L'indication était le cancer du sein pour 85 observations (38,8%), le cancer du rein pour 82 observations (37,4%) et le cancer neuroendocrine pour 41 observations (18,7%). L'EVR était utilisé dans d'autres indications pour 11 observations (4,6%).

Au moment de la survenue de l'EI, plusieurs attitudes ont été observées :

- un arrêt définitif de l'EVR,
- un arrêt temporaire et/ou une diminution de la posologie de l'EVR,
- une poursuite de l'EVR.

Quelle que soit la gravité de l'observation, l'EVR était définitivement arrêté dans 60,7% des cas, temporairement arrêté et/ou sa posologies diminuée dans 22,8% des cas et poursuivi dans environ 15% des cas.

En cas d'observations graves, un arrêt définitif était observé dans 66% des cas, un arrêt temporaire et/ou une diminution de sa posologie dans 23% des cas et une poursuite du traitement par EVR dans 10% des cas.

En cas d'observations non graves, un arrêt définitif était observé dans 33% des cas, un arrêt temporaire et/ou une diminution de sa posologie dans 22% des cas et une poursuite du traitement par EVR dans 42% des cas.

Lorsqu'un arrêt temporaire et/ou une diminution de la posologie de l'EVR était décidé, une récurrence d'EI (préalablement observés ou non) était observée dans 46% des cas. L'attitude thérapeutique observée lors d'une récurrence était un arrêt définitif du traitement par EVR dans la grande majorité des cas (Figure 5).

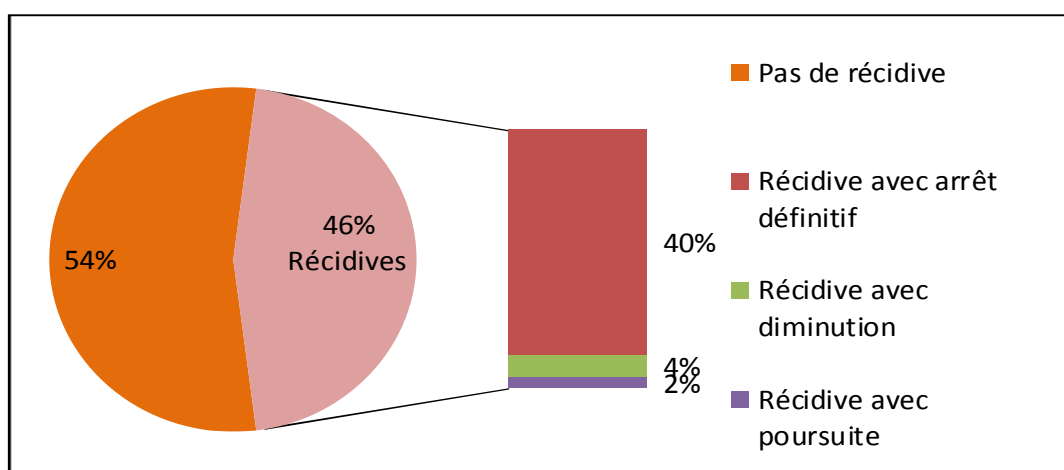


Figure 5. Proportion des récurrences des effets indésirables lors qu'un arrêt temporaire et/ou une diminution de la posologie ont été effectués

Le délai de récurrence d'EI médian après un arrêt temporaire et/ou après une diminution de posologie de l'EVR était de 8,5 jours.

Suite à un arrêt définitif du traitement par EVR, après récurrence d'EI ou non, l'évolution est favorable dans 67% des cas, persistante dans 11% des cas et inconnue dans 22% des cas.

Le Tableau I représente la répartition des EI quel que soit le type de cancer. Le détail des EI appartenant aux différents SOC sont détaillés dans le Tableau I en annexe.

Tableau I. Répartition des effets indésirables liés à la prise d'évérolimus dans la Base Nationale de Pharmacovigilance (tous cancers confondus)

Effets indésirables	Tous grades, n (%)
SOC Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	75 (20,9)
SOC Affections de la peau et du tissu sous-cutané	55 (15,3)
SOC Affections gastro-intestinales	50 (13,9)
SOC Affections hématologiques et du système lymphatique	45 (12,5)
SOC Troubles du métabolisme et de la nutrition	28 (7,8)
SOC Troubles généraux et anomalies au site d'administration	26 (7,2)
SOC Affections cardiaques	12 (3,3)
SOC Affections du rein et des voies urinaires	12 (3,3)
SOC Infections and infestations	11 (3,1)
SOC Affections hépatobiliaires	10 (2,8)
SOC Affections du système nerveux	9 (2,5)
SOC Autres	26 (7,2)

* SOC « Autres » contient les SOC : Investigations (1,7%), Affections vasculaires (1,7%), Affections musculo-squelettiques et systémiques (1,4%), Tumeurs bénignes, malignes et non précisées (0,8%), Affections oculaires (0,6%), Affections de l'oreille et du labyrinthe (0,3%), Affections du système immunitaire (0,3%), Affections endocriniennes (0,3%) et Affections psychiatriques (0,3%). Les termes de chaque SOC correspondent aux niveaux HLT de MedDRA.

Les EI respiratoires (20,9%), cutanés (15,3%) et gastro-intestinaux (13,9%) étaient les plus fréquents.

Dans le SOC « Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales », on retrouvait majoritairement la survenue de pneumopathies (77,3%) et d'anomalies respiratoires à type de dyspnée ou de gêne respiratoire (10,7%).

Dans le SOC « Affections de la peau et du tissu sous-cutané », les affections dermiques et épidermiques étaient majoritairement retrouvées (58,2%) suivies des angioedèmes (18,2%).

Les stomatites et ulcérations buccales (48%) ainsi que la survenue de diarrhées (20%) représentaient la majorité des EI du SOC « Affections gastro-intestinales ».

A noter que très peu d'observations précisaient le grade des toxicités observées.

La fréquence de survenue des EI a aussi été évaluée en fonction du type de cancer.

Pour le cancer du sein, le cancer du rein et le cancer neuroendocrine, on comptait respectivement 137 observations correspondant à une moyenne de 1,63 EI par patient, 134 observations correspondant également à 1,63 EI par patient et 61 observations d'où une moyenne de 1,65 EI par patient.

On remarque que la répartition et la fréquence de survenue des différents EI sont différentes en fonction du cancer (Figure 6, haut). La répartition des cancers pour chaque type d'EI (Figure 6, milieu) est elle aussi variable.

Le délai d'apparition médian (sans récurrence) d'un EI sous EVR, quel que soit le cancer traité, était de 43 jours. Les délais médians d'apparition des EI ont été représentés en fonction du type de cancer (Figure 6, bas).

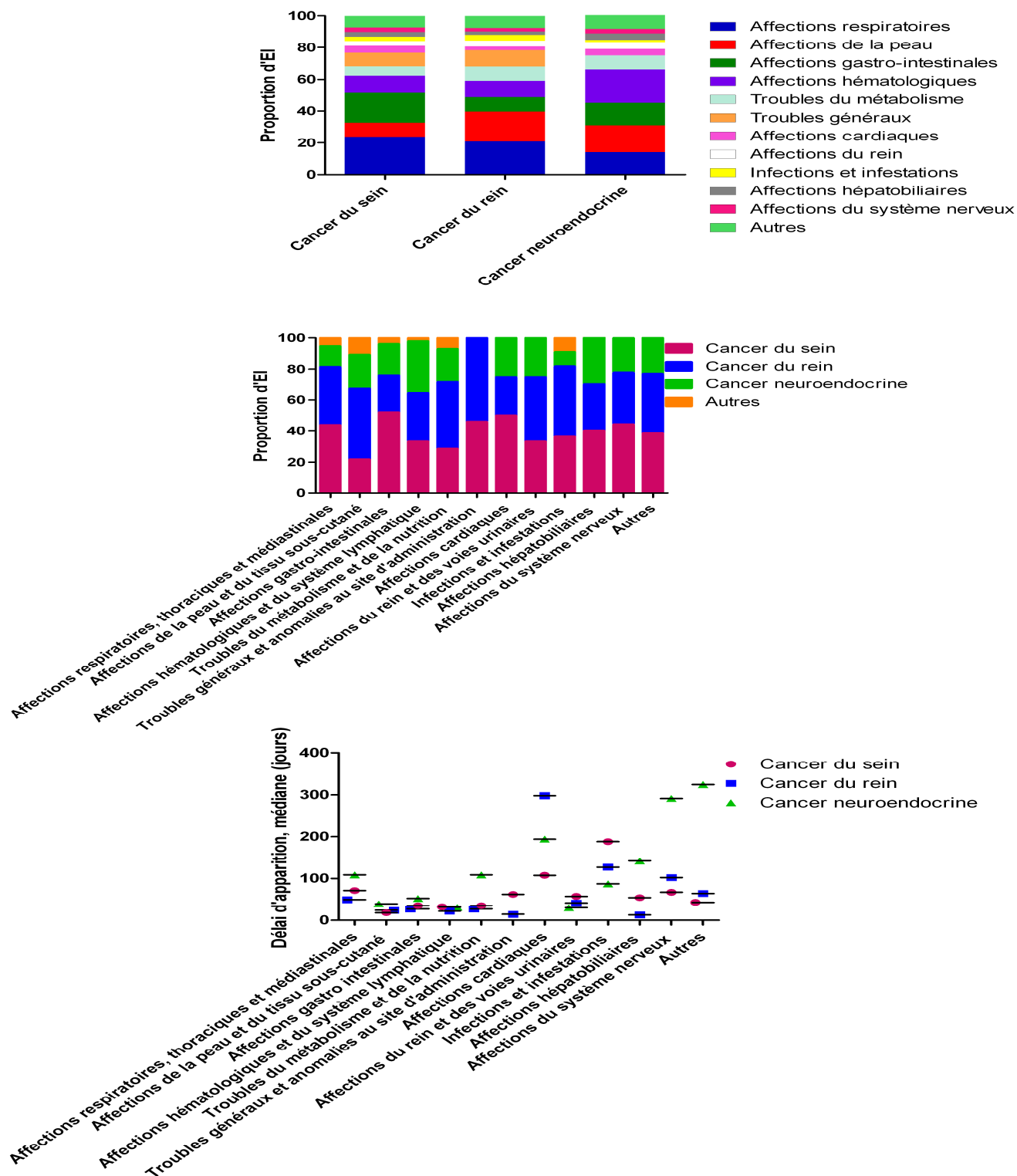


Figure 6. Répartition des effets indésirables selon le type de cancer (haut, milieu) et les délais de survenue d'effets indésirables par cancer (bas)

En s'appuyant sur l'ensemble des résultats observés dans la BNPV, sur la gravité potentielle des EI et sur les données présentes dans le RCP de l'Afinitor®, les EI appartenant aux SOC suivants ont été retenus pour conduire la deuxième étape de l'étude:

- Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales avec notamment la survenue de dyspnées et de pneumopathies,
 - Affections de la peau et du tissu sous-cutané,
 - Affections gastro intestinales,
 - Affections hématologiques et du système lymphatique,
 - Troubles du métabolisme et de la nutrition,
 - Troubles généraux et anomalies au site d'administration,
 - Affections du rein et des voies urinaires,
 - Affections hépatobiliaires,
 - Infections et infestations en particulier la recherche de pneumocystose.

Ces différents EI ont alors été recherchés dans les dossiers médicaux des patients traités par EVR par l'intermédiaire de plusieurs paramètres qui étaient :

- au niveau clinique : le performans status, la présence de troubles digestifs, de troubles cutanés, de stomatites, de dyspnée, de pneumopathies, de diarrhées, de fatigue, de troubles généraux (anorexie, asthénie, perte de poids, troubles fébriles, œdèmes ...), d'épistaxis,
- au niveau biologique : modification des valeurs de l'hémoglobine, des plaquettes, des globules blancs, des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes, de l'albumine, de la glycémie, des triglycérides, du cholestérol total, de la clairance de la créatinémie calculée selon la formule MDRD (Modification of the Diet in Renal Disease), des transaminases (ASAT, ALAT), des phosphatases alcalines et toutes valeurs biologiques anormales.

9.2 ÉTAPE 2 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MEDICAUX ET UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES

9.2.1 PARTIE 1 - RECHERCHE DANS LES DOSSIERS MEDICAUX

9.2.1.1 Variables non dépendantes du temps

Parmi les 54 patients inclus dans l'étude, on comptait 42 patientes atteintes d'un cancer du sein (77,8%), 10 patients atteints d'un cancer du rein (18,5%) et 2 patients atteints d'un cancer neuroendocrine (3,7%).

Les caractéristiques de la population sont présentées dans le Tableau II.

Tableau II. Caractéristiques des patients traités par EVR (variables non temps dépendant)

Femmes, n (%)	44 (81,5)
Age médian à l'initiation du traitement par EVR en années (min-max)	65,6 (37-86)
Délai médian de diagnostic des métastases en années (min-max)	2,4 (0-17,3)
Patients métastatiques d'emblée, n (%)	20 (37)
Nombre médian de métastases (min-max)	2 (1-4)
Os, n (%)	39 (36,4)
Foie, n (%)	22 (20,6)
Poumon, n (%)	20 (18,6)
Ganglion, n (%)	11 (10,3)
Ovaire, n (%)	6 (5,6)
Peau, n (%)	2 (1,9)
Cerveau, n (%)	2 (1,9)
Autres, n (%)	5 (4,7)
HT adjuvante, n (%) (pour le cancer du sein)	33 (61,1)
CT adjuvante/TC, n (%) (pour les trois cancers)	29 (53,7)
Délai médian entre la fin de l'HT adjuvante et le traitement par EVR en années (min-max) (pour le cancer du sein)	1,9 (0-18,1)
Délai médian entre la fin de l'CT adjuvante/TC et le traitement par EVR en années (min-max) (pour les trois cancers)	4,8 (0,005-19,5)
Nombre médian de ligne d'HT (min-max) (pour le cancer du sein)	1 (0-4)
0, n (%)	23 (42,6)
1, n (%)	21 (38,9)
2, n (%)	6 (11,1)
3, n (%)	3 (5,6)
4, n (%)	1 (1,9)
Nombre médian de ligne d'CT/TC (min-max) (pour les trois cancers)	1 (0-4)
0, n (%)	13 (24,1)
1, n (%)	22 (40,7)
2, n (%)	12 (22,2)
3, n (%)	5 (9,3)
4, n (%)	2 (3,7)
BP, n (%)	31 (57,4)
Dose médiane d'EVR à l'initiation du traitement (min-max), mg	10 (2,5-10)

Abbreviations : BP, biphosphonate ; CT, chemotherapy ; EVR, everolimus ; HT, hormonotherapy, TC, thérapie ciblée.

Une posologie initiale de 10 mg d'EVR par jour était observée chez 49 patients (90,7%) correspondant à la posologie recommandée par le laboratoire à l'initiation d'un traitement par EVR.

9.2.1.2 Variables dépendantes du temps

La médiane de la durée du traitement par EVR, le nombre médian d'arrêts temporaires et/ou de diminution de la posologie et leur répartition, le nombre de patients ayant arrêté définitivement le traitement par EVR pour toxicité et pour progression, la C₀ médiane quel que soit la posologie et les C₀ médianes en fonction des posologies sont présentés dans le Tableau III.

Tableau III. Caractéristiques des patients traités par EVR (variables temps dépendant)

Durée médiane d'un traitement par EVR (min-max), jours	123,5 (19-1084)
Evénements de toxicité, n	73
Arrêt temporaire et/ou diminution de posologie, n	57
Nombre médian d'arrêts temporaires / Diminution de la posologie (min-max)	1 (0-4)
0, n patients (%)	20 (37,0)
1, n patients (%)	20 (37,0)
2, n patients (%)	8 (14,9)
3, n patients (%)	4 (7,4)
4, n patients (%)	2 (3,7)
Arrêt définitif pour toxicité, n patients (%)	14 (25,9)
Arrêt définitif pour progression, n patients (%)	27 (50,0)
Arrêt définitif pour toxicité et progression, n patients (%)	2 (3,7)
Patients toujours en cours d'un traitement par EVR, n patients (%)	11 (20,4)
Concentration résiduelle médiane en EVR quelle que soit la posologie (ng/mL)	14,83
Concentration résiduelle médiane en EVR (ng/mL) pour une posologie de 2.5 mg	3,61
Concentration résiduelle médiane en EVR (ng/mL) pour une posologie de 5 mg	16,65
Concentration résiduelle médiane en EVR (ng/mL) pour une posologie de 10 mg	24,25

Nous avons observés 73 événements de toxicité définis comme un arrêt définitif pour toxicité, un arrêt temporaire et/ou diminution de posologie pour survenue d'EI. Parmi ces 73 évènements de toxicité, on notait 57 arrêts temporaires et/ou diminutions de la posologie pour toxicité dont 42,1% étaient associés à une toxicité de grade 3-4. Parmi les 16 arrêts définitifs pour toxicité, 13 étaient associés à une toxicité de grade 3-4.

Nous avons observé qu'un EI, quel que soit son grade de sévérité, était présent chez 75,9% des patients et 25,9% d'entre eux ont été contraints d'arrêter définitivement le traitement par EVR en raison de cette toxicité. Un arrêt temporaire et/ou une diminution de la posologie était nécessaire chez 63% des patients et 26% d'entre eux ont eu recours à deux arrêts temporaires ou plus. Ceci correspond à une moyenne de 1,06 arrêts temporaires et/ou diminutions de la posologie pour survenue d'EI en moyenne par patient.

9.2.1.3 Description des EI

La répartition et la fréquence d'apparition des différents EI ayant motivés un arrêt temporaire, une diminution de posologie ou un arrêt définitif du traitement par EVR sont présentées dans le Tableau IV.

Parmi les 90 EI observés, 43,3% étaient de grade 3-4 ce qui correspond à une moyenne de 1,7 EI par patient. Des EI de toxicité de grade 3-4 ont été observés chez 68,5% des patients et 13% des patients ont présenté au moins 2 toxicités de grade 3-4 au cours de leur traitement par EVR.

Quel que soit le grade de sévérité, les affections hématologiques (22%) puis les affections gastro-intestinales (17,8%) étaient les EI majoritairement responsables d'un arrêt temporaire, une diminution de posologie ou un arrêt définitif du traitement par EVR (Tableau IV). Parmi les EI de grade 3-4, les affections gastro-intestinales étaient le plus souvent observées (25,6%) suivies des affections hématologiques (23,1%) (Tableau IV).

Le détail des EI ayant entraînés un arrêt temporaire, une diminution de posologie ou un arrêt définitif du traitement par EVR sont présentés dans le Tableau IV en annexe.

Tableau IV. Répartition des effets indésirables observés et proportion des toxicités de grade 3-4

Effets indésirables	Tous grades, n (%)	Grade 3-4, n (%)
SOC Affections hématologiques et du système lymphatique	20 (22,2)	9 (45)
SOC Affections gastro-intestinales	16 (17,8)	10 (62,5)
SOC Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	14 (15,6)	6 (43)
SOC Infections and infestations	11 (12,2)	7 (63,6)
SOC Troubles généraux et anomalies au site d'administration	9 (10,0)	3 (33,3)
SOC Affections de la peau et du tissu sous-cutané	7 (7,8)	3 (42,9)
Troubles du métabolisme et de la nutrition	6 (6,7)	1 (16,7)
SOC Affections hépatobiliaires	3 (3,3)	0 (0)
SOC Actes médicaux et chirurgicaux	4 (4,4)	

9.2.1.4 Courbes de survie sans progression (SSP)

Des courbes de SSP pour les 3 cancers ont été construites (Figure 7). La survie médiane pour le cancer du rein était de 5,13 mois et de 6,18 mois pour le cancer du sein. Les deux patients atteints de cancer neuroendocrine étaient toujours traités par EVR mais il est difficile d'apporter une conclusion avec uniquement deux patients.

Ces données sont cohérentes avec les données de la littérature puisque la survie médiane des patients traités par EVR pour le cancer du rein avancé est de 4,9 mois³⁶ et de 7,8 mois pour le cancer du sein (étude BOLERO-2)¹⁸.

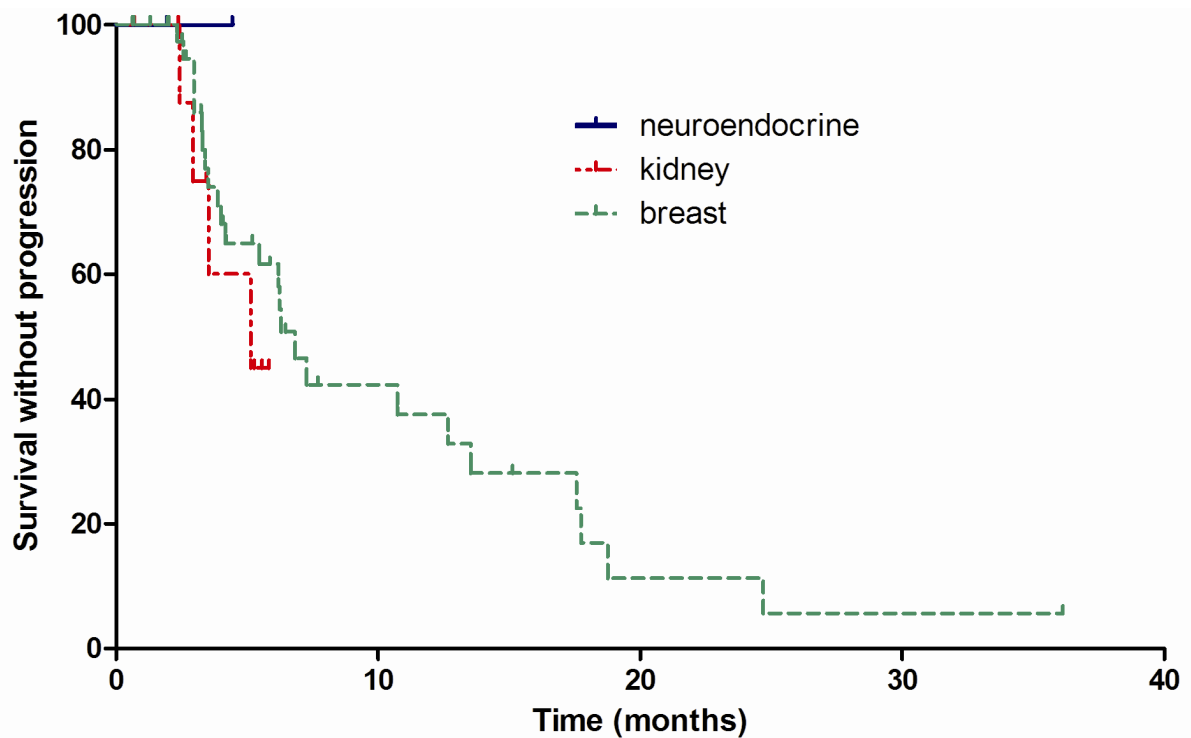


Figure 7. Courbes de survie sans progression pour le cancer du sein, le cancer du rein et le cancer neuroendocrine

9.2.2 PARTIE 2 - UTILISATION DES COLLECTIONS BIOLOGIQUES

9.2.2.1 Concentrations résiduelles (C₀)

9.2.2.1.1 Évènements relatifs à la toxicité du traitement par EVR

9.2.2.1.1.1 Courbe de ROC et binarisation

Pour les évènements relatifs à la toxicité du traitement par EVR, le seuil de C₀ d'EVR associé au meilleur rapport Sensibilité/Spécificité était de 26,3 ng/mL (Figure 8).

Pour ce seuil, l'AUC était de 0,6077, la sensibilité de 0,385 et la spécificité de 0,886.

Nous avons binarisé les C₀ d'EVR selon le seuil de C₀ de 26,3 ng/mL : lorsque la concentration était supérieure à 26,3 ng/mL cette C₀ était considérée comme « haute » et inversement, lorsque la concentration était inférieure à 26,3 ng/mL cette C₀ était considérée comme « basse ».

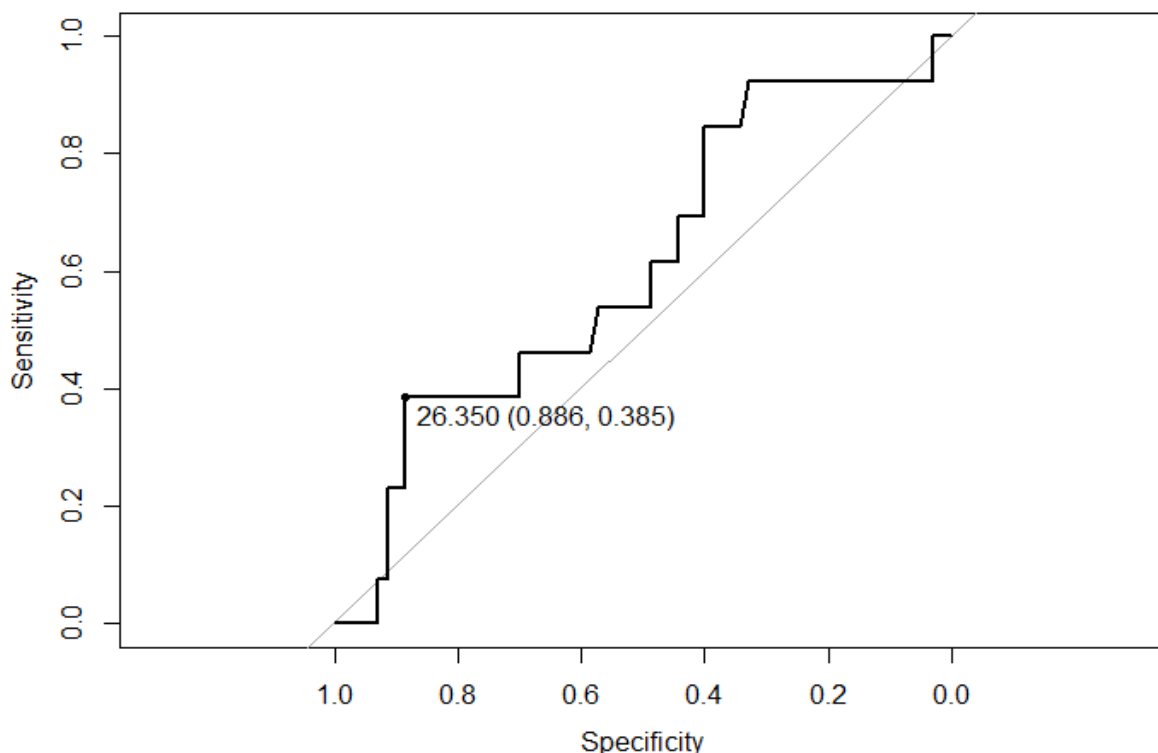


Figure 8. Détermination du seuil C₀ d'EVR associé à une toxicité par courbe ROC

9.2.2.1.1.2 Analyse de Cox univariée

Lors de l'analyse de Cox univariée, les variables « C₀ d'EVR binarisée », « âge » au début du traitement par EVR, « nombre de lignes de chimiothérapie (CT)/thérapie ciblée (TC) » et « présence d'hormonothérapie (HT) adjuvante » ont été retenues (Tableau V).

La variable « HT adjuvante » n'a finalement pas été retenue puisque l'HT adjuvante ne concerne que les cancers du sein et non l'ensemble des 3 cancers étudiés.

Les trois variables « C₀ d'EVR binarisée », « âge » au début du traitement par EVR et « nombre de lignes de CT/TC » ont été incluses dans l'analyse multivariée.

9.2.2.1.1.3 Analyse de Cox multivariée

Les résultats de l'analyse multivariée et des tirages avec remise (*bootstraps*) sont présentés dans le Tableau V.

La variable « C₀ d'EVR binarisées » constituait la seule variable retenue dans le modèle final. L'analyse de robustesse par tirage avec remise (*bootstrap*) montrait que la variable « C₀ EVR binarisées » était retenue dans 60% des cas et son signe était positif dans 100% des tirages (Tableau V).

Le seuil de C₀ d'EVR de 26,3 ng/mL était significativement associé à un risque de survenue d'une toxicité environ 4 fois plus important lorsque la C₀ est supérieure à 26,3 ng/mL (C₀>26.3 ng/mL: HR=4,12, IC95%=[1,48-11,47], p=0,007) (Tableau V et Figure 9).

Tableau V. Analyse univariée et multivariée relative à la toxicité définie comme une diminution de posologie, arrêt temporaire et/ou arrêt définitif

	Analyse univariée			Analyse multivariée			Validation interne par bootstrap			% sélection Bootstrap
	HR	95% CI	p value	HR	95% CI	p value	HR	95% CI	p value	
Diagnostic Rein vs Sein Neuroendocrine vs Sein	Non convergent									
Sexe Femme vs Homme	1,24	0,74-2,10	0,416							
Age à l'initiation du traitement par EVR	1,02	0,99-1,05	0,181	Non retenue			Non retenue			43
Nombre de métastases	1,06	0,81-1,41	0,647							
Statut métastatique d'emblée 1 vs 0	0,72	0,42-1,25	0,247							
Délai de diagnostic de métastase	0,99	0,99-1,00	0,609							
HT adjuvante (pour le cancer du sein) Oui vs Non	0,62	0,37-1,05	0,076							
Délai entre la fin de l'HT Adjuvante et le traitement par EVR (pour le cancer du sein)	0,99	0,99-1,00	0,608							
CT adjuvante/TC (pour les trois cancers) Oui vs Non	0,87	0,52-1,45	0,590							
Délai entre la fin de la CT adjuvante/TC et le traitement par EVR (pour les trois cancers)	0,99	0,99-1,00	0,548							
Nombre de lignes d'HT (pour le cancer du sein)	1,00	0,70-1,43	0,981							
Nombre de ligne de CT/TC (pour les 3 cancers)	1,40	1,11-1,77	0,005	Non retenue			Non retenue			15
BP Oui vs Non	0,80	0,46-1,41	0,448							
Posologie	0,96	0,86-1,08	0,521							
C₀ d'EVR binarisées (>26.3 vs <26.3 ng/mL)	4,12	1,48-11,47	0,007	4,12	1,48-11,47	0,007	4,12	1,28-13,2	0,017	60

Abréviations : BP, biphosphonate ; CI, intervalle de confiance ; CT, chimiothérapie ; EVR, évérolimus ; HT, hormonothérapie ; HR, hazard ratio; TC, thérapie ciblée.

L'analyse multivariée incluait toutes les variables significatives en analyse univariée, le bootstrapping a été réalisé afin de valider le modèle final. Les HR et les p values significatives sont en gras.

9.2.2.1.1.4 Vérification de l'hypothèse des risques proportionnels

La variable « C₀ EVR binarisée » respecte ici l'hypothèse des risques proportionnels (p=0,776) (Figure 14 en annexe).

9.2.2.1.1.5 Courbes d'incidence cumulée

Des courbes d'incidence cumulée de la toxicité en fonction des C₀ d'EVR binarisées ont été construites (Figure 9).

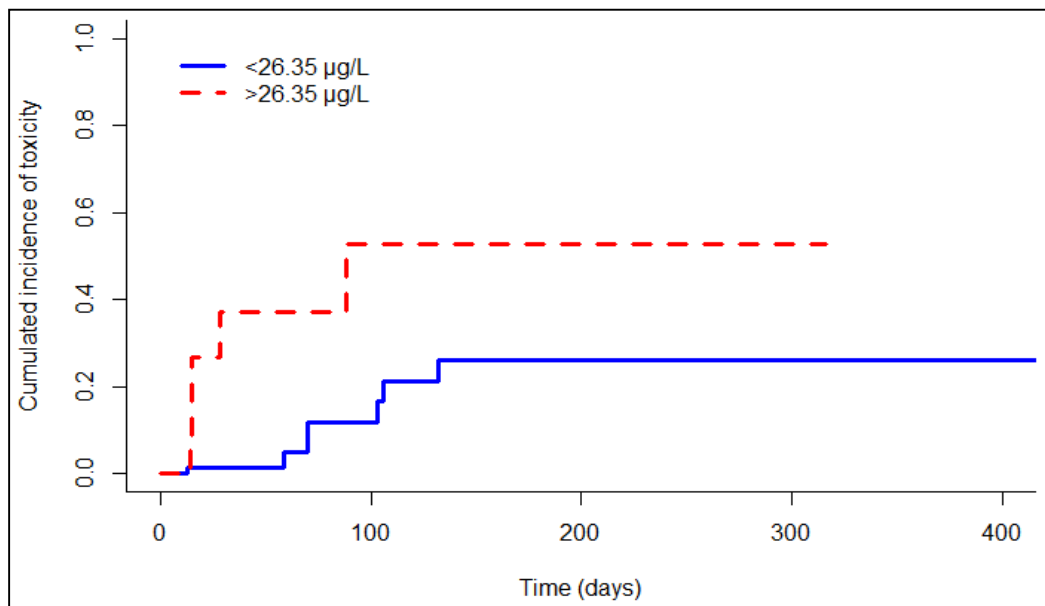


Figure 9. Courbes d'incidence cumulée de toxicité de l'EVR en fonction du seuil de C₀ d'EVR binarisé

9.2.2.1.2 Évènements relatifs à la progression ou à l'efficacité d'un traitement par EVR

9.2.2.1.2.1 Courbe de ROC et binarisation

Concernant l'efficacité ou la progression, le seuil de C_0 d'EVR retenu était de 11,9 ng/mL (Figure 10).

Pour ce seuil, l'AUC était de 0,616 avec une sensibilité de 0,652 et une spécificité de 0,737.

De la même manière, nous avons binarisé les C_0 d'EVR selon ce seuil de C_0 de 11,9 ng/mL : lorsque la concentration était supérieure à 11,9 ng/mL cette C_0 était considérée comme « haute » et inversement, lorsque la concentration était inférieure à 11,9 ng/mL cette C_0 était considérée comme « basse ».

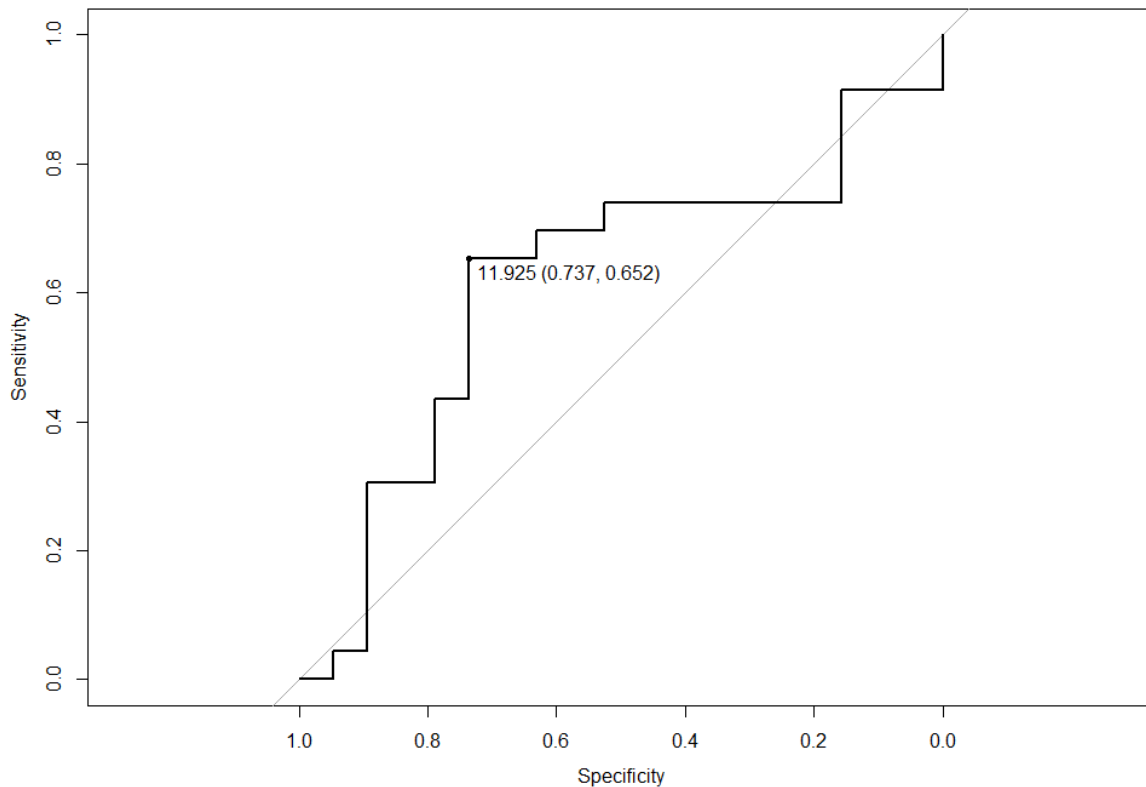


Figure 10. Détermination du seuil de progression de C_0 d'EVR par courbe ROC

9.2.2.1.2.2 Analyse de Cox univariée

Les variables « C₀ d'EVR binarisée » selon le seuil de 11,9 ng/mL, « nombre de ligne de CT/TC », « présence de bisphosphonates », « posologie » et « âge » à l'initiation du traitement par EVR ont été retenues lors de l'analyse univariée (Tableau VI).

9.2.2.1.2.3 Analyse de Cox multivariée

Seules les 2 variables « C₀ d'EVR binarisées » et « nombre de lignes de CT/TC » ont été retenues dans le modèle final (Tableau VI). L'analyse de robustesse par tirage (*bootstraps*) montrait que ces variables étaient respectivement sélectionnées dans 66% et 62% des tirages (*bootstraps*). Les signes associés aux variables « nombre de lignes de CT/TC » et « C₀ d'EVR binarisées » étant positifs pour tous les tirages (100%), le fait de présenter une C₀ d'EVR inférieure à 11,9 ng/mL augmente le risque de progression tumorale.

Le seuil de C₀ d'EVR de 11,9 ng/mL était significativement associé à une progression tumorale avec un risque 3,2 fois plus important lorsque la C₀ est inférieure à 11,9 ng/mL (C₀<11.9 ng/mL: HR=3,22, IC95%=[1,33-7,81], p value =0,001) (Tableau VI et Figure 11). Le nombre de ligne de CT/TC était associé à un risque de progression tumorale 1,7 fois plus important.

Tableau VI. Analyse univariée et multivariée relatives à la progression tumorale

	Analyse univariée			Analyse multivariée			Validation interne par bootstrapping			% sélection Bootstrap
	HR	95% CI	p value	HR	95% CI	p value	HR	95% CI	p value	
Diagnostic Rein vs Sein Neuroendocrine vs Sein	Non convergent									
Sexe Femme vs Homme	1,76	0,55-5,66	0,344							
Age à l'initiation du traitement par EVR	0,96	0,92-1,00	0,056	Non retenue						
Nombre de métastases	1,29	0,72-2,28	0,391							
Statut métastatique d'emblée 1 vs 0	1,36	0,58-3,21	0,484							
Délai de diagnostic de métastase	Non convergent									
HT adjuvante (pour le cancer du sein) Oui vs Non	1,47	0,57-3,82	0,429							
Délai entre la fin de l'HT Adjuvante et le traitement par EVR (pour le cancer du sein)	0,99	0,99-1,00	0,250							
CT adjuvante/TC (pour les trois cancers) Oui vs Non	1,73	0,74-4,04	0,202							
Délai entre la fin de la CT adjuvante/TC et le traitement par EVR (pour les trois cancers)	0,99	0,99-1,00	0,554							
Nombre de lignes d'HT (pour le cancer du sein)	1,22	0,72-2,06	0,461							
Nombre de ligne de CT/TC (pour les trois cancers)	1,69	1,03-2,76	0,037	1,90	1,14-3,16	0,013	1,90	1,14-3,16	0,013	62
BP Oui vs Non	0,51	0,19-1,38	0,184	Non retenue						
Posologie	1,15	0,96-1,38	0,129	Non retenue						
C₀ d'EVR binarisées (<11.9 vs >11.9 ng/mL)	2,68	1,13-6,36	0,025	3,22	1,33-7,81	0,001	3,22	1,33-7,81	0,001	66

Abréviations : BP, biphosphonate ; CI, intervalle de confiance ; CT, chimiothérapie ; EVR, évérolimus ; HT, hormonothérapie ; HR, hazard ratio; TC, thérapie ciblée.

L'analyse multivariée incluait toutes les variables significatives en analyse univariée, le bootstrapping a été réalisé afin de valider le modèle final. Les HR et les p values significatives sont en gras.

9.2.2.1.2.4 Vérification de l'hypothèse des risques proportionnels

Les variables « C₀ EVR binarisées » (p=0,223) et « nombre de ligne de CT/TC » (p=0,247) respectent ici l'hypothèse des risques proportionnels (Figure 15 en annexe).

9.2.2.1.2.5 Courbes de survie

Des courbes de survie relatives à la progression ont été construites en fonction du seuil de C₀ d'EVR binarisées de 11,9 ng/mL (Figure 11).

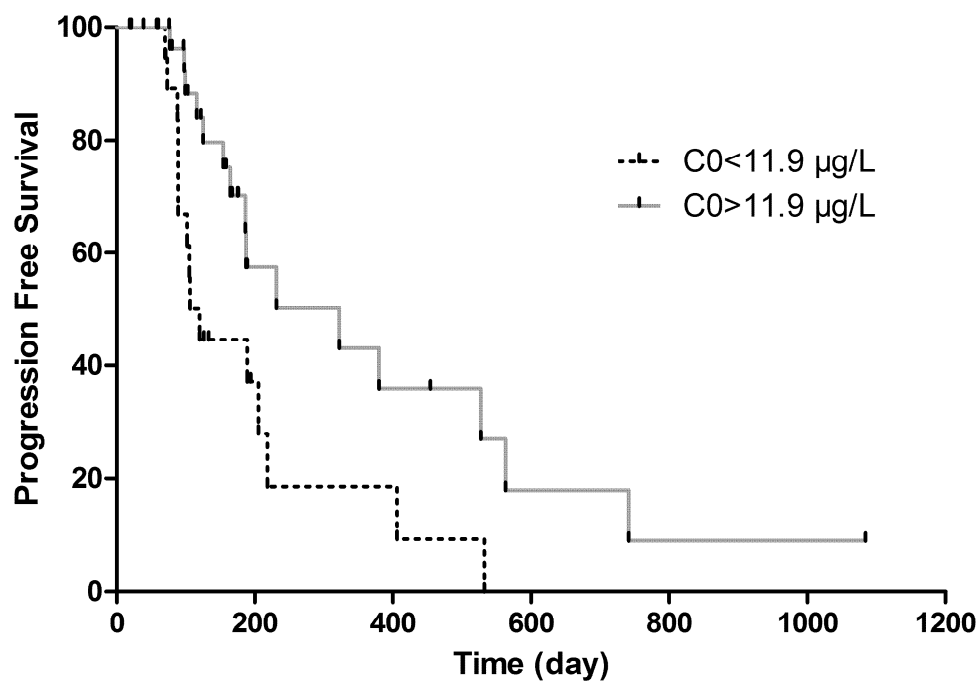


Figure 11. Courbes de survie sans progression stratifiées selon le seuil de C₀ d'EVR de 11,9 ng/mL

9.2.2.2 Pharmacogénétique

9.2.2.2.1 CYP3A4*22

Parmi les 34 patients, 30 étaient homozygotes sauvages (génotype CC) et 4 étaient hétérozygotes (génotype CT).

La fréquence d'allèle minoritaire (MAF) observée était de 5,8% or la MAF des populations caucasiennes pour le CYP3A4*22³⁷ étant entre 4 et 6%, nos résultats sont comparables à ceux de la littérature.

Selon l'équilibre de Hardy-Weinberg, il n'existait pas de différence significative entre la distribution observée des génotypes et la distribution attendue ($p=0,9358$).

Des *boxplots* ont été construits afin de comparer les C_0 d'EVR chez les patients homozygotes sauvages de référence et les patients hétérozygotes (Figure 12). Il n'existait pas de différence significative de C_0 d'EVR entre les 2 génotypes (intercept [génotype CC]= $15,97 \pm 1,71$ ng/mL, β [génotype CT]= $+1,21 \pm 2,51$, $p=0,63$).

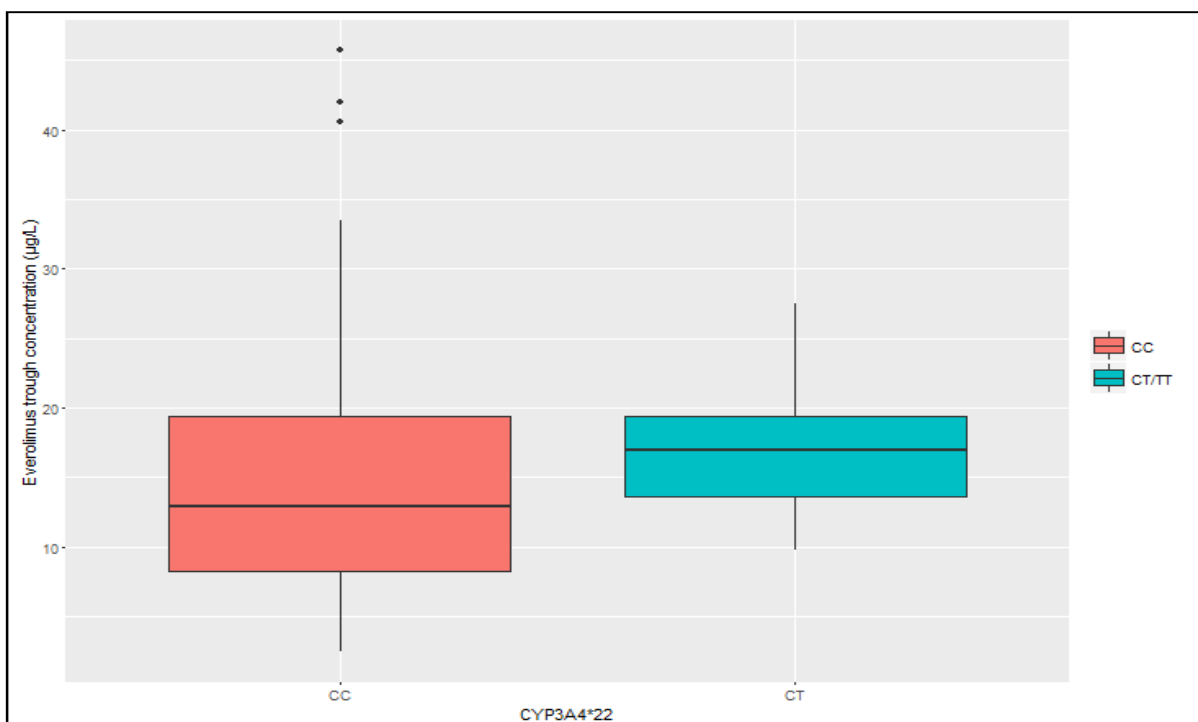


Figure 12. *Boxplots* représentant les C_0 d'EVR selon la présence ou l'absence d'un allèle CYP3A4*22

9.2.2.2.2 CYP3A5*3

Parmi les 34 patients, 30 étaient non expresseurs (génotype GG) et 4 étaient hétérozygotes (génotype AG).

La MAF retrouvée était de 5,8% or la MAF des populations caucasiennes pour le *CYP3A5*1* étant entre 3% et 12% dans la littérature³⁴, nos résultats sont conformes à ceux de la littérature. La distribution des génotypes était conforme à la distribution attendue selon l'équilibre de Hardy-Weinberg ($p=0,9358$).

Des *boxplots* ont également été construits afin de comparer les C_0 d'EVR chez les patients expresseurs et non expresseurs (Figure 13). Il existait une différence significative de C_0 d'EVR entre les 2 génotypes. En effet, les patients expresseurs avait une C_0 significativement inférieure en comparaison des patients non expresseurs du polymorphisme (intercept = $10,72 \pm 1,45$, β non expresseurs = $+6,32 \pm 2,22$, $p=0,0044$).

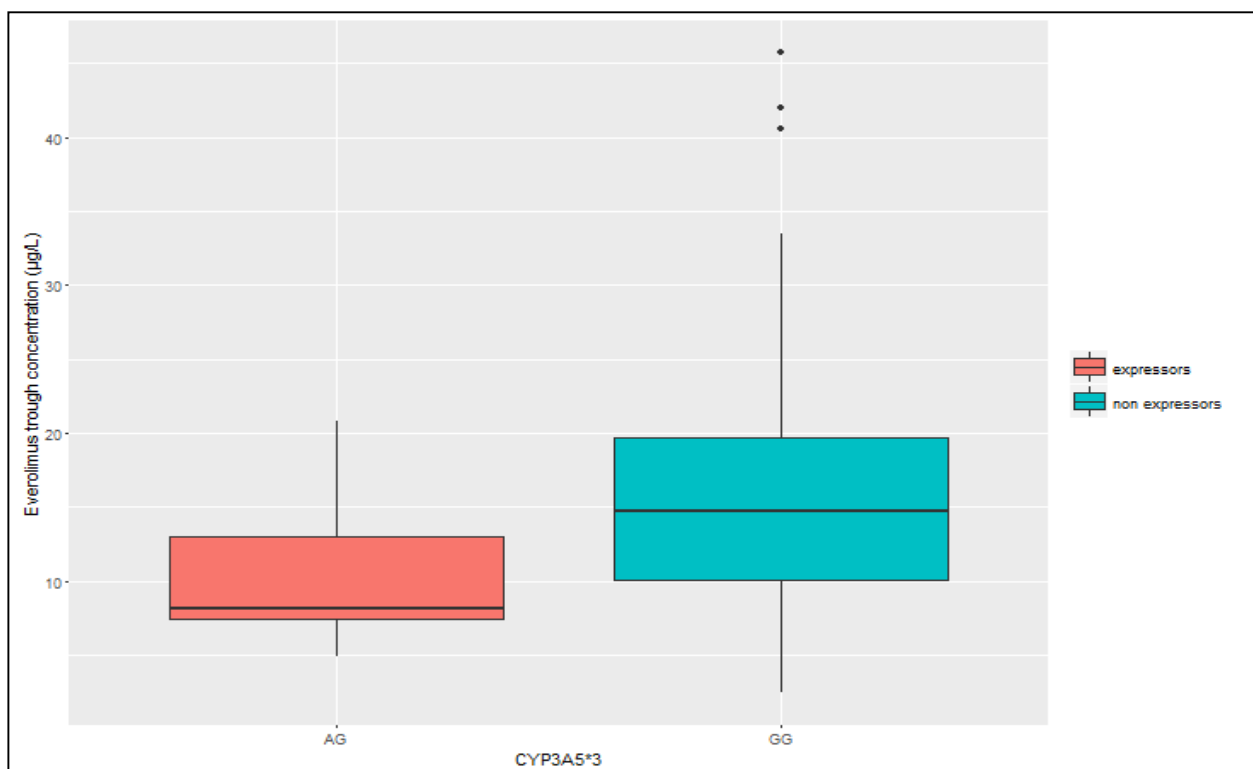


Figure 13. *Boxplots* représentant les C_0 d'EVR selon le génotype CYP3A5 (génotype AG=expresseurs et génotype GG=non expresseurs)

10 DISCUSSION

Au cours de cette étude, nous avons observé que les C_0 d'EVR dichotomisées selon un seuil à 26,3 ng/mL étaient significativement associées à un risque de toxicité multiplié par 4 avec une spécificité de 88%. De même, nous avons déterminé un seuil de C_0 d'EVR associé à l'efficacité de 11,9 ng/mL. Une C_0 d'EVR inférieure à 11,9 ng/mL était associée à un risque d'inefficacité ou de progression tumorale multiplié par 3.

Pour la détermination des seuils de C_0 d'EVR, aussi bien pour la toxicité que pour la progression, nous avons privilégié la spécificité à la sensibilité. Pour les 2 analyses, nous retrouvons une spécificité très bonne (88,6% pour la toxicité et 73,7% pour la progression) et une sensibilité variable (38,5% pour la toxicité et 65,2% pour la progression). Une bonne spécificité nous permet d'affirmer qu'un dépassement du seuil de 26,3 ng/mL pour la toxicité s'accompagnera de manière presque certaine de l'apparition d'une toxicité (88,6%, très peu de faux positifs). En revanche, la mauvaise sensibilité indique que même au dessous de ce seuil, une toxicité peut malgré tout être observée (beaucoup de faux négatif). De même pour l'efficacité du traitement par EVR, si les C_0 sont supérieures au seuil de 11,9 ng/mL, les chances de ne pas progresser sont de 73,7%.

Les cibles de C_0 déterminées au cours de cette étude (26,3 ng/mL pour la toxicité et 11,9 ng/mL pour l'efficacité) sont bien supérieures à celles utilisées en transplantation (3 et 8 ng/mL). Cependant, il est difficile de comparer ces cibles étant donné que (i) la posologie utilisée en transplantation est inférieure à celle utilisée en oncologie et que (ii) le mécanisme d'action de l'EVR pourrait être différent en transplantation et en oncologie. Ces raisons pourraient expliquer des cibles de C_0 d'EVR plus élevées en oncologie qu'en transplantation. Le seuil de C_0 de 26,3 ng/mL associé à la survenue d'EI est proche de la C_0 médiane observée dans cette étude, ceci expliquant le nombre important de patients au dessus de ce seuil.

Dans une méta-analyse des essais de phase II-III portant sur 938 patients traités par EVR pour des tumeurs solides avancées à une posologie de 10 mg par jour, la C_0 moyenne d'EVR était de 15,65 ng/mL et la C_0 médiane d'EVR était stable au cours du temps⁹. Les auteurs ont également montrés que la SSP médiane allait de 1,74 mois (pour des patients souffrant de cancer bronchique non à petites cellules ayant une C_0 d'EVR inférieure à 10 ng/mL) à 25,17 mois (pour des patients atteints de tumeurs carcinoïdes ayant une C_0 d'EVR entre 10 et 30 ng/mL). Comme c'était le cas dans cette méta-analyse, nous avons essayé de

déterminer un seuil de C_0 associé à chaque type d'EI quel que soit le grade et ensuite pour les EI de grade 3-4. En raison du nombre peu important d'EI associés à une C_0 , les résultats pour la détermination de ce seuil n'ont pas été concluants et n'ont pas été présentés ici. Afin de réaliser ces analyses, un plus grand nombre de patients est nécessaire.

Les fréquences de survenue des EI responsables d'arrêt temporaire, de diminution de posologie voire d'arrêt définitif du traitement par EVR varient entre la première partie sur la BNPV et la deuxième partie sur dossiers médicaux.

Dans notre étude, les affections hématologiques et plus particulièrement les thrombopénies puis les affections gastro-intestinales représentaient les EI ayant nécessité un arrêt temporaire, une diminution de posologie ou un arrêt définitif du traitement par EVR. Parmi les EI de grade 3-4, les affections gastro-intestinales étaient les plus fréquentes suivies des affections hématologiques.

Lors de la requête sur la BNPV, les affections respiratoires étaient les plus rencontrées alors que dans notre étude, elles n'arrivaient qu'en 3^{ème} position.

Un nombre inférieur d'EI dans les dossiers médicaux en comparaison avec la BNPV et le caractère non exhaustif de la BNPV peuvent être à l'origine de la discordance observée. De plus, les données issues de la BNPV sont à nuancer du fait que la proportion des observations graves est beaucoup plus importante que celles des observations non graves.

Une méta-analyse des essais de phase II-III portant sur 938 patients traités par EVR à une posologie de 10 mg par jour a montré que les stomatites et ulcérations buccales étaient les EI les plus fréquemment rencontrés (57%) suivies des infections et infestations (53%) alors que parmi les EI de grade 3-4, les affections hématologiques (16%), les évènements métaboliques (12%) et les infections et infestations (11%) étaient majoritairement retrouvés⁹. La différence de résultats observée peut s'expliquer par un échantillon de patients plus petit dans notre étude à savoir 54 patients et par une distribution des cancers différente dans notre étude. En effet, cette méta-analyse a été réalisée à partir d'essais cliniques où les patients étaient atteints de tumeurs pancréatiques neuroendocrines, de tumeurs carcinoïdes et de tumeurs rénales. Les patientes atteintes de cancer du sein n'étaient pas incluses dans ces essais cliniques contrairement à notre étude.

L'administration possible de chimiothérapies injectables préalables au traitement par EVR, dans le cancer du sein, pourrait expliquer la fréquence élevée d'affections hématologiques observée dans notre étude. La faible fréquence de stomatites et d'ulcérations buccales

retrouvées dans notre étude pourrait s'expliquer par l'utilisation quasi-systématique de bains de bouche en prévention de leur apparition, ce qui n'était pas le cas des essais cliniques à l'origine de cette méta-analyse.

Nous avons également mis en évidence qu'un polymorphisme génétique du *CYP3A5*3* était associé à une diminution significative des C_0 d'EVR chez les patients expresseurs par rapport aux patients non expresseurs.

Ces résultats vont à l'encontre de ceux observés *in vitro* par Picard et al. en transplantation à savoir que le *CYP3A5* interviendrait peu voire pas du tout dans le métabolisme de l'EVR en comparaison avec le *CYP3A4*. De même, plusieurs études n'ont pas retrouvé d'association entre l'allèle *CYP3A5*3*, les concentrations plasmatiques d'EVR et les paramètres pharmacocinétiques de l'EVR^{38,39,40,41,42}. En revanche, toutes ces études ont été réalisées sur des patients transplantés et non sur des patients atteints de cancer.

Les posologies d'EVR prescrites en cancérologie étant au moins 10 fois supérieures à celles utilisées en transplantation, on peut émettre l'hypothèse que, à fortes posologies, le *CYP3A5* pourrait être impliqué dans le métabolisme de l'EVR après saturation du métabolisme par le *CYP3A4*.

Nous n'avons pas retrouvé d'association significative entre l'allèle *CYP3A4*22* et les C_0 d'EVR. A ce jour, une étude s'est intéressée à l'impact de l'allèle *CYP3A4*22* sur les paramètres PK de l'EVR et aucune association significative n'a été démontrée⁴¹.

Cette étude rétrospective présente plusieurs limites telles que le fait que certaines concentrations ne soient pas de véritables concentrations résiduelles. En effet, nous ne pouvons être certains que les patients aient respectés la consigne des cliniciens, à savoir de ne pas prendre leur médicament le jour du prélèvement sanguin.

De fait, pour quelques dosages, nous ne disposons pas de l'heure de la dernière prise d'EVR par rapport à l'heure de prélèvement. Les patients toujours vivants et/ou en cours de traitement par EVR ont été contactés afin d'obtenir l'heure habituelle de prise de leur traitement et ainsi pouvoir déterminer si les concentrations mesurées disponibles correspondaient bien à des concentrations résiduelles.

Ainsi, les C_0 pour lesquelles nous avons l'heure de prise ont été estimées par modèle Bayésien et utilisées pour l'analyse. Ce modèle Bayésien a été initialement développé en transplantation rénale et représentait le seul moyen disponible afin de vérifier et de s'assurer

du caractère résiduel des concentrations disponibles. Sur les 83 C_0 d'EVR disponibles, l'extrapolation du C_0 par méthode bayésienne concernait 50,6% des dosages. Pour les C_0 restantes, 65,8% étaient des « vraies » concentrations résiduelles ($C_0 < 18,1$ ng/mL pour une posologie à 10mg et $C_0 < 14,7$ ng/mL pour une posologie à 5 mg).

Pour le reste des dosages, il s'agissait de patients décédés ou pour lesquels nous n'avions pas pu récupérer l'heure de prise.

Nous avons décidé d'exclure une C_0 considérée comme trop élevée pour être résiduelle (C_0 de 47,6 μ g/L) chez une patiente décédée pour laquelle nous n'avions pas l'heure de prise. Nous avons tout de même refait le modèle final en ajoutant cette patiente, les résultats étaient identiques.

Nous pouvons supposer que le fait d'avoir pu estimer certaines C_0 par modèle Bayésien et pas d'autres augmente la variabilité résiduelle. Cependant, ces méthodes sont très souples et représentent les méthodes les plus adaptées pour de tels calculs⁴³. Il serait souhaitable lors d'une étude ultérieure de bien sensibiliser les cliniciens et le personnel soignant sur l'importance du caractère résiduel des concentrations.

Un faible nombre de prélèvements au moment de la survenue d'une toxicité représente également une autre limite. Pour les patients n'ayant qu'un seul dosage, nous avons fait l'hypothèse que les concentrations étaient stables dans le temps. Cependant, il existe une variabilité intra individuelle chez les patients sous EVR en particulier pour des dosages de C_0 (Figure 16 en annexe)⁴⁴. Bien que la variabilité intra individuelle soit faible pour l'EVR en comparaison aux inhibiteurs de calcineurine, elle reste tout de même élevée. La variabilité intra individuelle est cependant moins importante que la variabilité inter individuelle⁸. Les données de la littérature montrent également une grande hétérogénéité des C_0 en cancérologie⁹.

Cette variabilité peut s'expliquer par différentes hypothèses telles qu'un doute sur le caractère résiduel des C_0 mesurées, des changements d'ordre métabolique (perte ou gain de poids puisque l'EVR étant fortement lié aux protéines plasmatiques et aux globules rouges) ou encore la présence d'interactions médicamenteuses et alimentaires.

L'EVR étant à la fois un substrat de la glycoprotéine P (PGP), du CYP3A4, du CYP3A5, du CYP2C8 et un inhibiteur du CYP3A4, l'EVR est soumis à de nombreuses interactions médicamenteuses. Selon les résultats d'une méta-analyse essais de phase II-III de l'EVR en cancérologie⁹, la prise concomitante d'inhibiteurs forts de la PGP et du CYP3A4 avec l'EVR augmente respectivement les C_0 d'EVR respectivement de 20% et 10% alors que

l'administration concomitante d'inducteurs forts du CYP3A4 diminue les C_0 d'EVR de 7%. Dans les deux cas, ces variations restaient dans la zone thérapeutique. Dans cette étude, nous ne nous sommes pas intéressés à la prise concomitante de l'EVR avec d'autres médicaments. Une étude réalisée chez des patients transplantés rénaux a montré qu'une administration répétée d'EVR combinée à un repas riche en graisse entraînaient un retard du t_{max} de 1,75 heures et diminuaient la C_{max} de 53% et l'AUC de 21%⁴⁵.

Nous avons également fait l'hypothèse que les C_0 d'EVR et l'arrêt temporaire ou la diminution de dosage est stable dans le temps. Or, pour les immunosuppresseurs utilisés en transplantation, il a été montré que les cibles pouvaient évoluer au cours du temps. Cependant, le faible nombre de concentrations disponibles, nous a contraints à faire cette hypothèse.

Les résultats de cette étude pilote apportent des éléments probants quant à la possibilité et à l'importance d'utiliser le STP de l'EVR dans le domaine de la cancérologie et complètent les résultats connus de la littérature pour le STP de l'EVR¹⁰. D'autres études sur un plus grand effectif et dans des populations plus homogènes sont nécessaires afin d'évaluer le seuil de C_0 déterminé pour la toxicité (26,3 ng/mL) et pour l'efficacité (11,9 ng/mL) lors d'un traitement par EVR. D'autres études sont plus particulièrement à envisager concernant la détermination du seuil de 11,9 ng/mL associé à l'efficacité puisque la progression est beaucoup plus complexe et multifactorielle que la toxicité et que l'hétérogénéité des cancers traités par l'EVR s'accompagne de différentes rapidités de progression.

11 ANNEXES

Tableau I. Répartition des effets indésirables liés à l'évérolimus dans la BNPV (tous cancers confondus)

Effets indésirables	Tous grades, n (%)
SOC Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	75 (20,9)
Pneumopathies	58 (77,3)
Anomalies respiratoires (Dyspnée, Gêne respiratoire)	8 (10,7)
Affections nasales	3 (4,0)
Toux et symptômes associés	2 (2,7)
Embolies et thromboses pulmonaires	2 (2,7)
Pneumothorax et épanchements pleuraux	1 (1,3)
Hypertensions pulmonaires	1 (1,3)
SOC Affections de la peau et du tissu sous-cutané	55 (15,3)
Affections dermiques et épidermiques	32 (58,2)
Angioedèmes	10 (18,2)
Dermites dues à des agents spécifiques (toxidermie)	5 (9,1)
Affections bulleuses	3 (5,5)
Manifestations psoriasiques	2 (3,6)
Purpura et troubles apparentés	1 (1,8)
Panniculites	1 (1,8)
Alopécies	1 (1,8)
SOC Affections gastro-intestinales	50 (13,9)
Stomatites et ulcérations buccales	24 (48,0)
Diarrhées	10 (20,0)
Hémorragies gastro-intestinales	3 (6,0)
Symptômes de nausées et vomissements	3 (6,0)
Ulcères et perforations	2 (4,0)
Gastrites	2 (4,0)
Troubles du goût	2 (4,0)
Affections péritonéales et rétropéritonéales	1 (2,0)
Anomalies fécales	1 (2,0)
Colites	1 (2,0)
Sécheresse buccale et anomalies salivaires	1 (2,0)
SOC Affections hématologiques et du système lymphatique	45 (12,5)
Thrombocytopénies	16 (35,6)
Anémies et Anémies hémolytiques auto-immunes	12 (26,7)
Neutropénies	7 (15,6)
Leucopénies	5 (11,1)
Anomalies des éosinophiles	2 (4,4)
Insuffisances médullaires et anémies hypoplasiques - Pancytopénie	2 (4,4)
Coagulopathies	1 (2,2)

SOC Troubles du métabolisme et de la nutrition	28 (7,8)
Troubles hyperglycémiques	10 (35,7)
Hypertriglycéridémies	7 (25,0)
Hypercholestérolémies	3 (10,7)
Déséquilibre du potassium	3 (10,7)
Troubles du métabolisme du calcium	2 (7,1)
Troubles de l'appétit	2 (7,1)
Troubles du métabolisme du magnésium	1 (3,6)
SOC Troubles généraux et anomalies au site d'administration	26 (7,2)
Troubles fébriles	10 (38,5)
Etats asthéniques	9 (34,6)
Œdèmes	6 (23,1)
Signes et symptômes généraux	1 (3,8)
SOC Affections cardiaques	12 (3,3)
Insuffisances cardiaque	10 (83,4)
Péricardites non infectieuses	1 (8,3)
Troubles valvulaires	1 (8,3)
SOC Affections du rein et des voies urinaires	12 (3,3)
Atteintes et insuffisances rénales	12 (100)
SOC Infections et infestations	11 (3,1)
Infections à Pneumocystis	3 (27,3)
Infections des voies urinaires	2 (18,2)
Infections à Candida	1 (9,1)
Hépatites virales infectieuses	1 (9,1)
Infections à Escherichia	1 (9,1)
Infections à herpes virus	1 (9,1)
Infections abdominales et gastro-intestinales	1 (9,1)
Infections tuberculeuses	1 (9,1)
SOC Affections hépatobiliaires	10 (2,8)
Lésions hépatocellulaires et hépatites	10 (100)
SOC Affections du système nerveux	9 (2,5)
Hémorragies et accidents cérébrovasculaires	4 (44,4)
Troubles neurologiques	3 (33,3)
Encéphalopathies	1 (11,1)
Neuropathies périphériques	1 (11,1)
SOC Autres	26 (7,2)

* SOC « Autres » contient les SOC : Investigations (1,7%), Affections vasculaires (1,7%), Affections musculo-squelettiques et systémiques (1,4%), Tumeurs bénignes, malignes et non précisées (0,8%), Affections oculaires (0,6%), Affections de l'oreille et du labyrinthe (0,3%), Affections du système immunitaire (0,3%), Affections endocriniennes (0,3%) et Affections psychiatriques (0,3%). Les termes de chaque SOC correspondent aux niveaux HLT de MedDRA.

Tableau IV. Répartition des effets indésirables et proportion des toxicités de grade 3-4 sur dossiers médicaux

Effets indésirables	Tous grades, n (%)	Grade 3-4, n (%)
SOC Affections hématologiques et du système lymphatique	20 (22,2)	9 (45)
Thrombocytopénies	9 (45)	2 (22,2)
Neutropénies	7 (35)	6 (86,7)
Anémies	3 (15)	0 (0)
Leucopénies	1 (5)	1 (100)
SOC Affections gastro-intestinales	16 (17,8)	10 (62,5)
Stomatites et ulcérations buccales	12 (75)	8 (66,7)
Diarrhées	2 (12,5)	1 (50)
Ulcères et perforations	1 (6,25)	1 (100)
Troubles du tissu mou buccal	1 (6,25)	0 (0)
SOC Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	14 (15,6)	6 (43)
Pneumopathies	9 (64,3)	3 (33,3)
Anomalies respiratoires (dyspnée, gêne respiratoire)	3 (21,4)	2 (66,7)
Affections nasales	2 (14,3)	1 (50)
SOC Infections et infestations	11 (12,2)	7 (63,6)
Infections à Pneumocystis	3 (27,2)	3 (100)
Infections à Clostridia	2 (18,2)	2 (100)
Infections des voies urinaires	2 (18,2)	0 (0)
Troubles bactériens infectieux	1 (9,1)	1 (100)
Infections des voies aériennes supérieures	1 (9,1)	0 (0)
Infections des structures de la peau et du tissu mou	1 (9,1)	1 (100)
Infections de l'œil et de la paupière	1 (9,1)	0 (0)
SOC Troubles généraux et anomalies au site d'administration	9 (10,0)	3 (33,3)
Etats asthéniques	6 (66,7)	2 (33,3)
Œdèmes	2 (22,2)	1 (50)
Signes et symptômes généraux	1 (11,1)	0 (0)
SOC Affections de la peau et du tissu sous-cutané	7 (7,8)	3 (42,9)
Affections dermiques et épidermiques	6 (85,7)	2 (33,3)
Angioedèmes	1 (14,3)	1 (100)
SOC Troubles du métabolisme et de la nutrition	6 (6,7)	1 (16,7)
Troubles hyperglycémiques	3 (50)	1 (33,3)
Hypertriglycémies	1 (16,7)	0 (0)
Hypercholestérolémies	1 (16,7)	0 (0)
Troubles de l'appétit	1 (16,7)	0 (0)
SOC Affections hépatobiliaires	3 (3,3)	0 (0)
Lésions hépatocellulaires et hépatites	3 (100)	0 (0)
SOC Actes médicaux et chirurgicaux	4 (4,4)	0 (0)

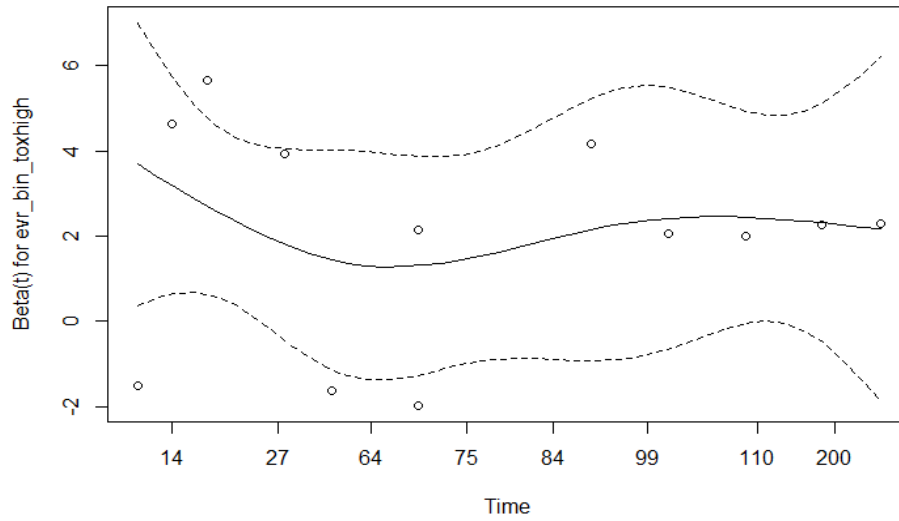


Figure 14. Hypothèse des risques proportionnels pour la variable C0 d'EVR binarisées

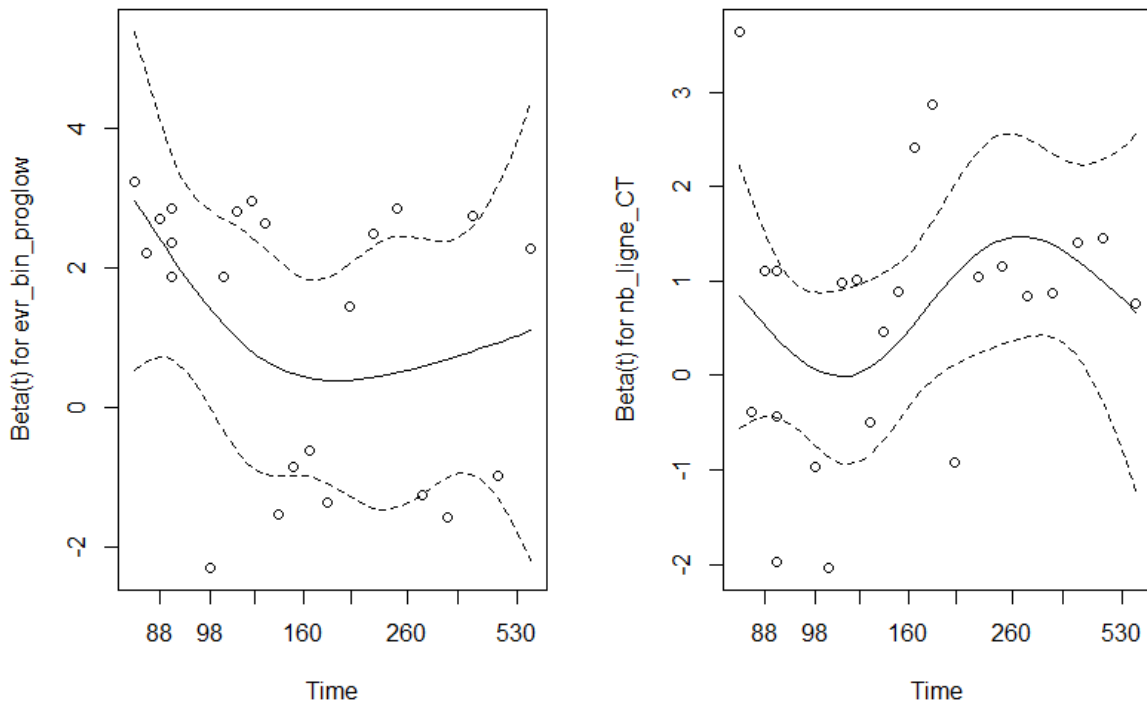


Figure 15. Hypothèse des risques proportionnels pour les C0 d'EVR binarisées et le nombre de lignes de chimiothérapie

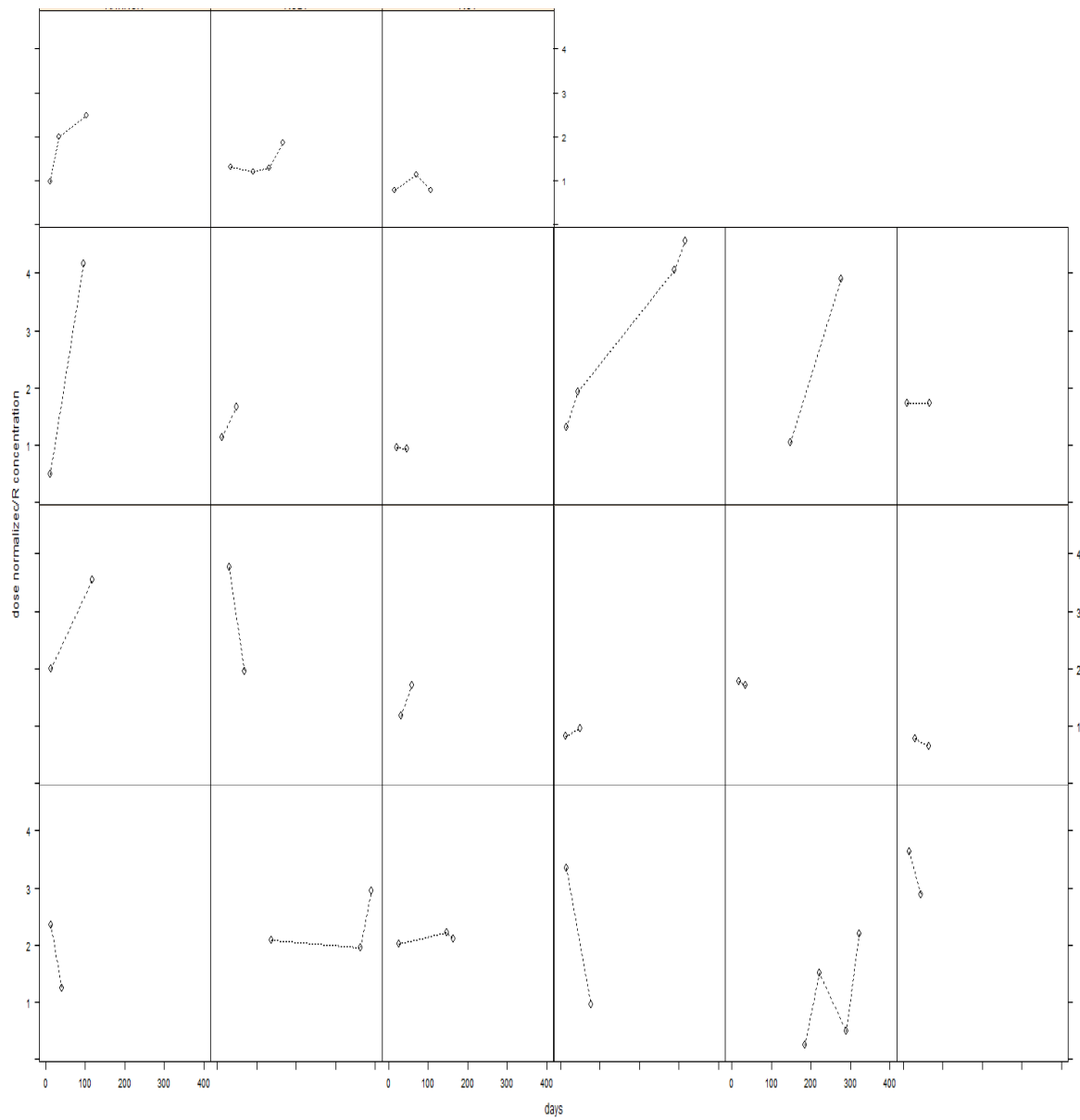


Figure 16. Variabilité inter et intra individuelle des C_0 d'EVR

12 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Saint-Marcoux, F., Libert, F. & groupe Suivi thérapeutique pharmacologique de la Société française de pharmacologie et de thérapeutique. [Practical information for therapeutic drug monitoring of the most common compounds]. *Thérapie* **71**, 405–434 (2016).
2. Résumé des caractéristiques du produit - CERTICAN 0,1 mg, comprimé dispersible - Base de données publique des médicaments. Available at: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=63177804&typedoc=R>. (Accessed: 29th April 2016)
3. Rapport Dosage sanguin de 1TMévérolimus - rapport_dosage_sanguin_de_leverolimus_2007_05_16__13_55_39_991.pdf.
4. Mabasa, V. H. & Ensom, M. H. H. The role of therapeutic monitoring of everolimus in solid organ transplantation. *Ther. Drug Monit.* **27**, 666–676 (2005).
5. Starling, R. C. *et al.* Therapeutic drug monitoring for everolimus in heart transplant recipients based on exposure-effect modeling. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* **4**, 2126–2131 (2004).
6. Kovarik, J. M. *et al.* Everolimus therapeutic concentration range defined from a prospective trial with reduced-exposure cyclosporine in de novo kidney transplantation. *Ther. Drug Monit.* **26**, 499–505 (2004).
7. Kovarik, J. M. *et al.* Exposure-response relationships for everolimus in de novo kidney transplantation: defining a therapeutic range. *Transplantation* **73**, 920–925 (2002).
8. Shipkova, M. *et al.* Therapeutic Drug Monitoring of Everolimus: A Consensus Report. *Ther. Drug Monit.* **38**, 143–169 (2016).
9. Ravaud, A. *et al.* Relationship between everolimus exposure and safety and efficacy: meta-analysis of clinical trials in oncology. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **50**, 486–495 (2014).

10. [Cancero_dig_2009_3_187_189.pdf;jsessionid=1E80CFAF41E0A705E12BA2CDB1D35828](#).
11. Sabatini, D. M., Erdjument-Bromage, H., Lui, M., Tempst, P. & Snyder, S. H. RAFT1: a mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell* **78**, 35–43 (1994).
12. Brown, E. J. *et al.* A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin-receptor complex. *Nature* **369**, 756–758 (1994).
13. Afinitor, INN-everolimus - anx_134294_fr.pdf.
14. Clinical pharmacokinetics of everolimus. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14748618>. (Accessed: 25th December 2016)
15. Baselga, J. *et al.* Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N. Engl. J. Med.* **366**, 520–529 (2012).
16. Motzer, R. J. *et al.* Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet Lond. Engl.* **372**, 449–456 (2008).
17. Pavel, M. E. *et al.* Everolimus plus octreotide long-acting repeatable for the treatment of advanced neuroendocrine tumours associated with carcinoid syndrome (RADIANT-2): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Lond. Engl.* **378**, 2005–2012 (2011).
18. Yardley, D. A. *et al.* Everolimus Plus Exemestane in Postmenopausal Patients with HR+ Breast Cancer: BOLERO-2 Final Progression-Free Survival Analysis. *Adv. Ther.* **30**, 870–884 (2013).
19. Dhillon, S. Everolimus in combination with exemestane: a review of its use in the treatment of patients with postmenopausal hormone receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer. *Drugs* **73**, 475–485 (2013).

20. Panzuto, F. *et al.* Real-world study of everolimus in advanced progressive neuroendocrine tumors. *The Oncologist* **20**, 570 (2015).
21. Aapro, M. *et al.* Adverse event management in patients with advanced cancer receiving oral everolimus: focus on breast cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* **25**, 763–773 (2014).
22. Albiges, L. *et al.* Everolimus for patients with metastatic renal cell carcinoma refractory to anti-VEGF therapy: results of a pooled analysis of non-interventional studies. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **51**, 2368–2374 (2015).
23. Rugo, H. S. *et al.* Incidence and time course of everolimus-related adverse events in postmenopausal women with hormone receptor-positive advanced breast cancer: insights from BOLERO-2. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* **25**, 808–815 (2014).
24. Allorge, D. & Llorca, M.-A. [Pharmacogenetics or the promise of a personalized medicine: variability in drug metabolism and transport]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* **62**, 499–511 (2004).
25. de Chaisemartin, L. & Llorca, M.-A. [Pharmacogenetics of anticancer drugs]. *Pathol. Biol. (Paris)* **53**, 116–124 (2005).
26. Picard, N., Rouguieg-Malki, K., Kamar, N., Rostaing, L. & Marquet, P. CYP3A5 genotype does not influence everolimus in vitro metabolism and clinical pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Transplantation* **91**, 652–656 (2011).
27. Wang, D., Guo, Y., Wrighton, S. A., Cooke, G. E. & Sadee, W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics J.* **11**, 274–286 (2011).
28. Elens, L. *et al.* Effect of a new functional CYP3A4 polymorphism on calcineurin inhibitors' dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenomics* **12**, 1383–1396 (2011).

29. Elens, L. *et al.* Novel CYP3A4 intron 6 single nucleotide polymorphism is associated with simvastatin-mediated cholesterol reduction in the Rotterdam Study. *Pharmacogenet. Genomics* **21**, 861–866 (2011).
30. Kuehl, P. *et al.* Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat. Genet.* **27**, 383–391 (2001).
31. Wong, M. *et al.* CYP3A5 genotype and midazolam clearance in Australian patients receiving chemotherapy. *Clin. Pharmacol. Ther.* **75**, 529–538 (2004).
32. Haufroid, V. *et al.* The effect of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics* **14**, 147–154 (2004).
33. Josephson, F. *et al.* CYP3A5 genotype has an impact on the metabolism of the HIV protease inhibitor saquinavir. *Clin. Pharmacol. Ther.* **81**, 708–712 (2007).
34. Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs776746. Available at:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=776746. (Accessed: 29th April 2016)
35. Jacobsen, W. *et al.* Comparison of the in vitro metabolism of the macrolide immunosuppressants sirolimus and RAD. *Transplant. Proc.* **33**, 514–515 (2001).
36. Motzer, R. J. *et al.* Phase 3 trial of everolimus for metastatic renal cell carcinoma : final results and analysis of prognostic factors. *Cancer* **116**, 4256–4265 (2010).
37. Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs35599367. Available at:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=35599367. (Accessed: 28th April 2016)
38. Lemaitre, F. *et al.* Population pharmacokinetics of everolimus in cardiac recipients: comedications, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms. *Ther. Drug Monit.* **34**, 686–694 (2012).
39. Moes, D. J. A. R. *et al.* Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of everolimus in renal transplant patients. *Clin. Pharmacokinet.* **51**, 467–480 (2012).

40. Schoeppler, K. E., Aquilante, C. L., Kiser, T. H., Fish, D. N. & Zamora, M. R. The impact of genetic polymorphisms, diltiazem, and demographic variables on everolimus trough concentrations in lung transplant recipients. *Clin. Transplant.* **28**, 590–597 (2014).
41. Moes, D. J. a. R. *et al.* Effect of CYP3A4*22, CYP3A5*3, and CYP3A Combined Genotypes on Cyclosporine, Everolimus, and Tacrolimus Pharmacokinetics in Renal Transplantation. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* **3**, e100 (2014).
42. Kniepeiss, D. *et al.* The role of CYP3A5 genotypes in dose requirements of tacrolimus and everolimus after heart transplantation. *Clin. Transplant.* **25**, 146–150 (2011).
43. Neely, M. & Jelliffe, R. Practical, individualized dosing: 21st century therapeutics and the clinical pharmacometrician. *J. Clin. Pharmacol.* **50**, 842–847 (2010).
44. Shihab, F., Christians, U., Smith, L., Wellen, J. R. & Kaplan, B. Focus on mTOR inhibitors and tacrolimus in renal transplantation: pharmacokinetics, exposure-response relationships, and clinical outcomes. *Transpl. Immunol.* **31**, 22–32 (2014).
45. Kovarik, J. M. *et al.* Effect of food on everolimus absorption: quantification in healthy subjects and a confirmatory screening in patients with renal transplants. *Pharmacotherapy* **22**, 154–159 (2002).

Titre : Perspective d'un suivi thérapeutique pharmacologique de l'évérolimus en cancérologie ? Résultats d'une étude exploratoire de la relation concentration-effet de l'évérolimus

Résumé : Bien qu'en cancérologie, l'évérolimus (EVR) soit utilisé à des posologies 5 à 10 fois supérieures à celles utilisées en transplantation, aucun suivi thérapeutique pharmacologique (STP) de l'EVR n'est pratiqué puisqu'aucune cible de concentrations résiduelles (C_0) n'a été définie. Notre étude observationnelle a été réalisée chez 54 patients. Une toxicité (tous grades) a été observée chez 75,9% des patients (arrêt définitif chez 25,9% des patients). Un seuil de C_0 d'EVR de 26,3 ng/mL était associé à un risque de survenue de toxicité environ 4 fois plus important ($C_0 > 26.3$ ng/mL: HR=4,12, IC95%=[1,48-11,5], p=0,0067). Un seuil de C_0 d'EVR de 11,9 ng/mL a été déterminé avec un risque d'inefficacité ou de progression tumorale multiplié par 3 ($C_0 < 11.9$ ng/mL: HR=3.2, IC95%=[1.33-7.81], p=0.001). Les C_0 d'EVR étaient significativement inférieures chez les patients porteurs d'au moins un allèle *CYP3A5*1* (=expresseurs) (intercept_(expresseurs)=10,72±1,45 ng/mL; β non expresseurs=+6,32±2,22 ng/mL, p=0,0044). Aucune association n'a été observée entre les porteurs du *CYP3A4*22* et l'exposition à l'EVR. Ces résultats apportent des pistes quant à la possibilité et à l'importance d'utiliser le STP de l'EVR en cancérologie.

Mots clés : évérolimus, cancérologie, suivi thérapeutique pharmacologique, PK/PD, pharmacogénétique

Title : Towards therapeutic drug monitoring of everolimus in cancer? Results of an exploratory study of concentration-effect relationship of everolimus

Abstract : In oncology, on the contrary to transplantation, the TDM of everolimus (EVR) is not mandatory and up until now, no target for trough level (C_0) has been defined, even though patients receive 5 to 10 times higher doses than those used in transplantation. Fifty four patients were included in our study. Adverse event (all grades) was reported in 75.9% of the patients (EVR termination in 25.9% patients). A C_0 EVR threshold of 26.3 ng/mL was associated with a 4-fold increased risk of toxicity ($C_0 > 26.3$ ng/mL: HR=4.12, IC95%=[1.48-11.5], p=0.0067) whereas a C_0 EVR threshold of 11.9 ng/mL was associated with a 3-fold increased risk of progression ($C_0 < 11.9$ ng/mL: HR=3.2, IC95%=[1.33-7.81], p=0.001). C_0 was significantly lower in carriers of at least one *CYP3A5*1* allele (intercept_(expressors)=10.72±1.45 ng/mL, $\beta_{\text{non expressors}}$ =+6.32±2.22 ng/mL, p=0.0044). No association was found between carriers of the *CYP3A4*22* variant and C_0 . These results are in favour of TDM for EVR in oncology.

Keywords : everolimus, oncology, therapeutic drug monitoring, PK/PD, pharmacogenetics