



**HAL**  
open science

## Les oligonucléotides antisens en thérapie : cas du Kynamro©

Simon Bonnaire

► **To cite this version:**

Simon Bonnaire. Les oligonucléotides antisens en thérapie : cas du Kynamro©. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. dumas-01758772

**HAL Id: dumas-01758772**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01758772>**

Submitted on 5 Jun 2018

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

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

**THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**

**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
*sous le sceau de l'Université Bretagne Loire*

Thèse en vue du  
**DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

présentée par

**Simon Bonnaire**

né le 30 septembre 1989 à Paimpol

---

**Les  
oligonucléotides  
antisens en  
thérapie : cas du  
Kynamro®.**

**Thèse soutenue à Rennes**

**Le 24 juin 2016**

devant le jury composé de :

**David GILOT**

PhD, MCU université Rennes I /

*Président & directeur*

**Marie-Dominique GALIBERT**

Pharm D, PhD, PU-PH université Rennes I / *Juge*

**Thibault LE BRAS**

Docteur en pharmacie / *Juge*

**Listes des enseignants-chercheurs de la Faculté des Sciences  
Pharmaceutiques et Biologiques, année 2015-2016.**

**PROFESSEURS**

BOUSTIE Joël	HDR
BURGOT Gwenola	HDR
DONNIO Pierre Yves	HDR
FAILI Ahmad	HDR
FARDEL Olivier	HDR
FELDEN Brice	HDR
GAMBAROTA Giulio	HDR
GOUGEON Anne	HDR
LAGENTE Vincent	HDR
LE CORRE Pascal	HDR
LORANT (BOICHOT) Elisabeth	HDR
MOREL Isabelle	HDR
SERGENT Odile	HDR
SPARFEL-BERLIVET Lydie	HDR
TOMASI Sophie	HDR
URIAK Philippe	HDR
VAN DE WEGHE Pierre	HDR
VERNHET Laurent	HDR

**PROFESSEURS ASSOCIES**

BUREAU Loïc	
DAVOUST Noëlle	HDR

**PROFESSEURS EMERITES**

CILLARD Josiane	HDR
GUILLOUZO André	HDR

**MAITRES DE CONFERENCES**

ABASQ-PAOFAL Marie-Laurence	
ANINAT Caroline	HDR
AUGAGNEUR Yoann	
BEGRICHE Karima	
BOUSARGHIN Latifa	HDR
BRANDHONNEUR Nolwenn	
BRUYERE Arnaud	
BUNETEL Laurence	
CHOLLET-KRUGLER Marylène	
COLLIN Xavier	
CORBEL Jean-Charles	HDR
DAVID Michèle	HDR
DELALANDE Olivier	
DELMAIL David	
DION Sarah	
DOLLO Gilles	HDR
GILOT David	HDR
GOUAULT Nicolas	HDR

HITTI Eric	
JEAN Mickaël	
LECUREUR Valérie	HDR
LE FERREC Eric	
LE PABIC Hélène	
LEGOUIN-GARGADENNEC Béatrice	
LOHEZIC-LE DEVEHAT Françoise	
MARTIN-CHOULY Corinne	HDR
MINET Jacques	HDR
MOURET-PLEIBER Liza	
NOURY Fanny	
PINEL-MARIE Marie-Laure	
PODECHARD Normand	
POTIN Sophie	
RENAULT Jacques	HDR
ROUILLON Astrid	

**ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE (AHU)**

GICQUEL Thomas

**ATER**SMIDA Imen  
PASCREAU Gaëtan  
SAVARY Camille  
ALHARETH Khairallah

## **Remerciements**

Je tiens tout d'abord à remercier monsieur David GILOT, président et directeur de cette thèse pour le temps qu'il a bien voulu me consacrer, et surtout pour sa très grande réactivité. Ses conseils dans le choix du sujet, et dans la rédaction de cette thèse m'ont été très précieux.

Merci également à madame Marie-Dominique GALIBERT d'avoir accepté de donner de son temps pour faire parti de mon jury.

Je remercie Thibault LE BRAS de venir compléter mon jury, et d'apporter son point de vue officinal.

Je voudrais bien sûr, remercier ma famille, pour m'avoir soutenu dans mes choix, et pendant ces longues années d'études.

Un grand merci aux pharmaciens qui m'ont accueillie lors des mes études, pour m'avoir formé, monsieur COLLET, monsieur et madame OLLIVIER, madame JOLY et monsieur TREBAUL, et monsieur TRAN. Merci notamment à monsieur DESPONDS et à toute l'équipe des ALMADIES, tout d'abord pour m'avoir formé lors des mes 6 mois de stage, puis pour m'avoir encouragé et conseillé lors de la rédaction de cette thèse. Merci à tous pour ces expériences toujours positives, qui m'ont donné goût à ce métier.

Une grosse pensée pour les paimpolais Flo, Antonio et Pedro à mes côtés depuis Goas-plat et toujours au top depuis toutes ces années. 2<sup>2</sup> crew en force !

Sans oublier mes amis rennais, avec qui j'ai passé des années inoubliables. Les princesses Amalia, Aurély cuicuiz, Camille Barbacuite, das ist Couscous, #Fionitass\_off et laeti ciouciou. Et les chefs Charlouty, El Brazou, Jipette, Johnny john, Kingoo la guez, Runrem, Siauvy et Vourchette. Merci les copains !

## Sommaire :

<b>I.</b>	<b>Contexte</b> .....	<b>10</b>
1.	Hypercholestérolémie familiale .....	10
2.	Apoprotéine B .....	12
3.	Les thérapies actuelles .....	14
<b>II.</b>	<b>Les oligonucléotides antisens (ASOs)</b> .....	<b>16</b>
1.	Structure des oligonucléotides antisens .....	16
2.	Mécanisme d'action standard des oligonucléotides antisens .....	21
3.	Autres applications des oligonucléotides antisens .....	25
a.	Le Fomivirsén.....	25
b.	Les microARN, nouvelles cibles des oligonucléotides antisens.....	26
c.	Le Miravirsén .....	27
d.	Le saut d'exon .....	29
<b>III.</b>	<b>Pharmacologie du mipomersen</b> .....	<b>31</b>
1.	Relation structure activité du mipomersen .....	31
2.	Pharmacodynamie .....	32
3.	Pharmacocinétique.....	37
4.	Interactions médicamenteuses .....	40
<b>IV.</b>	<b>Etudes toxicologiques</b> .....	<b>40</b>
1.	Effets immunologiques .....	41
2.	Effets cardiovasculaires .....	42
3.	Effets rénaux .....	44
4.	Effets hépatiques .....	45
5.	Cancérogénicité .....	46
6.	Toxicité pour la reproduction et le développement .....	48
<b>V.</b>	<b>Effets indésirables du Kynamro®</b> .....	<b>49</b>
<b>VI.</b>	<b>Dosage, administration, stockage</b> .....	<b>53</b>
<b>VII.</b>	<b>Populations spécifiques</b> .....	<b>54</b>
1.	Grossesse / Allaitement .....	54
2.	Population pédiatrique .....	55
3.	Gériatrie .....	55
4.	Insuffisant rénal .....	56
5.	Insuffisant hépatique .....	56

<b>VIII.</b>	<b>Economie .....</b>	<b>58</b>
<b>IX.</b>	<b>Decision du Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) en Europe, et de la Food and Drugs Administration (FDA) aux Etats-Unis .....</b>	<b>59</b>
<b>X.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>63</b>

## Tables des Illustrations :

Figure 1. Evolution de structure des oligonucléotides antisens.....	17
Figure 5. Structure d'un LNA.....	19
Figure 6. Blocage conformationnel par le pont méthylène des LNA.....	20
Figure 7. Structure et activité des nucléotides à LNA .....	20
Figure 2. Mécanisme d'action antisens via la RNase.....	22
Figure 3. Mécanisme d'action des oligonucléotides antisens (ASO) .....	23
Figure 4. Mécanisme d'action des ASOs.....	24
Figure 8. Biogénèse et modulation des miARN.....	27
Figure 9. Structure et mécanisme d'action du Miravirsén. ....	28
Figure 10. Schéma de la technique du saut d'exon .....	30
Figure 13. Formules structurales et moléculaires du mipomersen. ....	33
Figure 14. Inhibition de la production hépatique de LDL par le mipomersen .....	35
Figure 15. Mécanisme d'action de mipomersen.....	36
Figure 14. Estimations des paramètres pharmacocinétiques dans le plasma du mipomersen chez différentes espèces. ....	38
Figure 12. Schéma de la métabolisation du mipomersen, et présentation de ses métabolites identifiés dans l'urine .....	39
Tableau 1. Composition en apolipoprotéines des lipoprotéines circulantes.....	13
Tableau 2. Les effets indésirables (EI) rencontrés lors des essais de phase 1, 2 et 3. ....	49
Tableau 3. Taux de transaminases lors des essais de phase 3 contrôlés par placebo.....	51
Tableau 4. Recommandations de dosages hépatiques pendant le traitement par Kynamro®. .....	57
Tableau 5. Résumé des recommandations de suivi en cas d'élévation des transaminases en cours de traitement.....	58
Tableau 6. Molécules ciblant les microARN en développement en 2016.....	74
Tableau 7. Liste des études de pharmacologie du Kynamro®. ....	76
Tableau 8. Liste des études de pharmacocinétique du Kynamro®. ....	77
Tableau 9. Liste des études de toxicologie du Kynamro®.....	78
Tableau 10. Catégories de grossesse de la FDA.....	79



**Liste des abréviations :**

ALAT : alanine aminotransférase

ASAT : aspartate aminotransférase

Apo : apolipoprotéine

ARNm : ARN messenger

ASO : oligonucléotide antisens

ASO II : oligonucléotide antisens de deuxième génération

CPN : néphropathie chronique progressive

DCI : Dénomination commune internationale

DMD : myopathie de Duchenne

HDL : lipoprotéines de haute densité

HF : hypercholestérolémie familiale

HFHe : hypercholestérolémie familiale hétérozygote

HFHo : hypercholestérolémie familiale homozygote

IV : intraveineuse

LDL : lipoprotéines de basse densité

LDLR : récepteur des LDL

LNA : acide nucléique verrouillé (Locked Nucleic Acid)

LSN : limite supérieure à la normale

MCV : maladies cardiovasculaires

miRNA : micro ARN

PS ASO : oligonucléotide antisens phosphorothioate

SC : sous cutanée

TG : triglycérides

VLDL : lipoprotéines de très basse densité

**Préambule :**

Lorsqu'un gène est connu pour être responsable d'une maladie, il est possible de synthétiser un brin d'acide nucléique, un oligonucléotide antisens (ASO), complémentaire à l'ARN messager (ARNm) afin de l'inactiver. Le concept d'inhibition de l'expression des gènes par les oligonucléotides antisens, a été introduit en 1978 par Stephenson et Zamecnik, qui ont utilisé un ASO pour stopper la réplication virale dans une culture cellulaire.

Un ASO est un brin unique d'acide nucléique ou d'analogues d'acides nucléiques, de 15 à 20 nucléotides de longueur avec une séquence complémentaire à une séquence nucléotidique cible, qui est un ARNm dans le cas du Kynamro® (DCI : mipomersen). Ce dernier est le seul oligonucléotide antisens à avoir une autorisation de mise sur le marché (aux Etats-Unis), et va servir de modèle dans cette thèse. Nous allons étudier l'approche thérapeutique de l'hypercholestérolémie familiale par le mipomersen, ainsi que sa place dans l'arsenal thérapeutique déjà disponible. Ensuite ce modèle va nous permettre de comprendre le mécanisme d'action des ASO et les données pharmacologiques vont nous faire comprendre les enjeux structurels de ces thérapies. Puis les études de toxicologie et des effets indésirables vont mettre en lumière les éventuels problèmes rencontrés lors de l'utilisation de ces nouvelles thérapies. Enfin l'étude du Kynamro® va nous donner une vue d'ensemble sur les conditions d'utilisation et l'aspect économique des thérapies par les oligonucléotides antisens.

Cette thèse abordera brièvement les autres approches des thérapies antisens, notamment par l'inhibition des micro ARN (miRNA) et le saut d'exons. Toutes ces applications des oligonucléotides antisens sont autant de nouvelles armes prometteuses qui restent à développer pour devenir les traitements de référence de demain ?

## I. Contexte

### 1. Hypercholestérolémie familiale

L'hypercholestérolémie familiale est une maladie orpheline caractérisée par des taux élevés de cholestérol dès le plus jeune âge. Les thérapies existantes ne permettent pas de diminuer suffisamment ces taux, c'est pourquoi de nouvelles molécules sont nécessaires pour traiter cette maladie. Un des axes de recherche, est de diminuer l'expression du gène de l'apoprotéine B-100 (ApoB-100). Cette dernière est une apoprotéine qui entre dans la composition de lipoprotéines athérogènes, notamment les particules de cholestérol de faible densité (LDL).

La réduction de la production de cette protéine par un oligonucléotide antisens est supposée diminuer les risques cardiovasculaires chez les malades atteints d'hypercholestérolémie familiale. C'est l'objectif du mipomersen, oligonucléotide antisens de deuxième génération (ASO II), principe actif du Kynamro®.

L'hypercholestérolémie familiale (HF) est un trouble du métabolisme lipidique autosomique qui se caractérise par des élévations significatives de l'apoB-100 entraînant un risque accru d'athérosclérose et de maladies cardiovasculaires (MCV) (1) (2). Chez les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale les récepteurs du LDL-C au niveau de l'hépatocyte sont sous-exprimés, ou non fonctionnels. Les concentrations en cholestérol dans le foie étant faibles, les cellules hépatiques vont augmenter la production endogène de cholestérol et de VLDL, précurseur des LDL. Il en résulte une augmentation des concentrations sanguines de cholestérol.

L'hypercholestérolémie familiale (HF) peut être classée en HF hétérozygote (HFHe) et HF homozygote (HFHo). La prévalence de HFHe est d'environ 1 pour 300 à 500 dans le monde entier et de 1 pour 100 parmi les populations d'Afrique, Liban, Finlande et du Québec (3). La prévalence de l'hypercholestérolémie familiale homozygote est estimée à environ 1 personne sur 1 000 000 dans la population mondiale, soit environ 6 000 personnes dans le monde (4).

Les patients de moins de 20 ans atteints d'HFHe ont généralement des taux de LDL-C de 1,9 g/L ou plus, et les plus de 30 ans peuvent avoir des niveaux de LDL-C supérieurs à 2,5 g/L (5). Les valeurs normales chez un adulte sans facteurs de risque étant comprises entre 1,6 et 2,0 g/L sachant que les personnes atteintes d'hypercholestérolémie familiale sont considérées à haut risque cardiovasculaire, et doivent cibler un taux de LDL-C inférieur à 1g/L (6) pour minimiser ces risques.

L'HFHo, qui est la forme la plus sévère de l'HF, survient dès la petite enfance. Elle est caractérisée par des taux de cholestérol supérieurs à l'HFHe et donc des risques cardiovasculaires plus élevés. **Si cette pathologie n'est pas traitée, l'espérance de vie des malades ne dépasse pas 30ans** (7) (8).

Plusieurs hypothèses existent concernant l'HF. Elle peut être due à une mutation dans les gènes suivant :

- LDL-récepteurs (LDLR),
- apoB-100,
- proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9),
- protéine adaptatrice LDLR 1 (LDLRAP1)

(5) (9) (7) (10) (11) (12) (13) (14).

Environ 74% des cas d'HF sont dus à des mutations localisées dans les gènes du LDLR, entraînant une anomalie de production ou de structure des récepteurs au LDL. On estime à 7% les cas d'HF dus à des mutations affectant le gène de l'ApoB, provoquant des anomalies de structure de l'ApoB. On peut imaginer que si la mutation intervient dans la zone de fixation de l'ASO, le mipomersen ne serait plus efficace. Moins de 1% des cas découlent d'une mutation du gène PCSK9, intervenant dans le nombre de récepteurs au LDL (5) (11) (15). Ces trois gènes sont donc impliqués dans environ 80% des cas d'HF. Pour les 20% restant, le gène porteur de la mutation responsable de la maladie n'est pas encore identifié. Toutes ces mutations génétiques entraînent une réduction de l'élimination du LDL-cholestérol de la circulation sanguine et donc une accumulation du LDL-cholestérol excédentaire dans les vaisseaux qui peut être à l'origine de complications cardiovasculaires précoces (15) (16) (17).

### **Signes cliniques possibles de la maladie : (18)**

- Niveaux élevés de cholestérol total et cholestérol LDL depuis l'enfance.
- Développement de maladies cardiovasculaires à un jeune âge.
- Histoire familiale importante de niveaux élevés de cholestérol total et LDL et/ou crise cardiaque à un jeune âge.
- Niveaux de cholestérol LDL élevés et résistants aux thérapies chez un ou deux parents.
- Présence de xanthomes : dépôts graisseux riches en cholestérol généralement trouvés au niveau des coudes, des genoux, des fesses et des tendons.
- Xanthélasmas : dépôts de cholestérol au niveau des paupières.
- Arcs cornéens : anneau blanc autour de la cornée de l'œil, à un jeune âge (avant 40ans)

## **2. Apolipoprotéine B**

Les lipides (cholestérol, triglycérides, phospholipides), insolubles en milieu aqueux, sont transportés dans le sérum liés à des protéines, formant les lipoprotéines. Cette partie protéique est appelée apolipoprotéine ou, plus simplement, apoprotéine. Les apoprotéines sont-elles mêmes composées de l'association de plusieurs polypeptides, ce qui leur confère une grande variété : dix classes et sous-classes sont connues. Ces classes et sous-classes de protéines diffèrent par leur structure primaire, leur conformation spatiale et leurs fonctions métaboliques.

Une lipoprotéine se compose d'une apoprotéine, de triglycérides et d'esters de cholestérol. Les lipoprotéines circulantes contiennent une proportion variable de ces protéines ; de plus, elles contiennent chaque type d'apoprotéine en quantité variable.

	<b>Chylomicrons</b>	<b>VLDL</b>	<b>LDL</b>	<b>HDL</b>
<b>Apolipoprotéines majeures</b>	<i>APO A1</i> <i>APOB</i> <i>APO C1 C2 C3</i> <i>APO E</i>	<i>APOB</i> <i>APO C1 C2 C3</i>	<i>APOB</i>	<i>APO A1</i> <i>APO A2</i>
<b>Apolipoprotéines mineures &lt; 10 % du total</b>	<i>APO A2</i> <i>APO E</i> <i>APO H</i> <i>APO A4</i>	<i>APO A1</i> <i>APO A2</i> <i>APOD</i> <i>APOH</i>	<i>APOC</i> <i>APOE</i>	<i>APO C1 C2 C3</i> <i>APOD</i> <i>APOE</i> <i>APOF</i> <i>APOH</i>

**Tableau 1. Composition en apolipoprotéines des lipoprotéines circulantes. (19)**

Les apolipoprotéines B, ou apoprotéines B (ApoB), sont principalement des protéines structurales. Ce sont les apoprotéines majeures des lipoprotéines de basse densité (LDL), mais elles se retrouvent également dans les lipoprotéines précurseurs de ces LDL que sont les chylomicrons et les lipoprotéines de très basse densité (VLDL). Deux formes ont été trouvées : l'Apo B-100 et l'Apo B-48. L'Apo B-100 étant quantitativement la plus importante. Sa synthèse a lieu dans les cellules intestinales, où elle est intégrée aux VLDL et aux chylomicrons, mais la majeure partie est formée au niveau hépatique en vue de sa liaison aux LDL.

L'ApoB a un rôle métabolique de régulation de la captation des lipoprotéines riches en cholestérol et de régulation de la biosynthèse du cholestérol. C'est en effet grâce à cette ApoB que les LDL peuvent être internalisés au niveau hépatique par l'intermédiaire du récepteur de Goldstein et Brown. Celui-ci va assurer l'épuration du cholestérol de ces LDL en les transformant en acides biliaires. Il reconnaît pour ce faire la molécule d'ApoB sur la lipoprotéine, mais cela nécessite également comme « clé » supplémentaire une molécule d'Apo E. L'augmentation des ApoB sériques est

notable surtout en cas d'absence ou de diminution de synthèse de ces récepteurs, ou encore de non reconnaissance par ces récepteurs du message chimique transmis par l'ApoB (19).

L'ApoB-100 est une grosse protéine amphiphile produite principalement dans le foie. Elle fonctionne comme un transporteur de cholestérol dans le sang. Elle est présente sur toutes les particules lipoprotéiques tels que le LDL-C, VLDL-C, et Lp (a) qui sont responsables de la formation d'athérosclérose (20). L'inhibition de la synthèse de l'apoB-100 provoque une diminution dans le plasma des taux de, VLDL-C, LDL-C et de Lp (a) (10) (21).

Des mutations dans le gène de l'apoB-100 peuvent provoquer un dégagement des lipoprotéines athérogènes du plasma, par le fait que l'ApoB-100 joue un rôle important dans l'emballage et la distribution, du cholestérol alimentaire et endogène et des triglycérides (TG). L'ApoB-100 joue également un rôle important dans le métabolisme des lipides, en fournissant un noyau structurel aux lipoprotéines athérogènes, tels que le LDL-C, et le VLDL-C, et la lipoprotéine (a) (Lp (a)).

### **3. Les thérapies actuelles**

Les thérapies actuelles pour le traitement de l'hypercholestérolémie familiale comprennent des modifications hygiéno-diététiques, des hypocholestérolémiants, l'aphérèse des lipides et parfois à terme la transplantation hépatique (22). Les modifications de style de vie, visent à abaisser le LDL-C et les autres facteurs de risque de maladies cardiovasculaires. Elles comprennent la diminution de la part des graisses dans l'apport calorique quotidien, l'arrêt du tabac, le maintien d'un poids normal, la diminution du stress, ainsi que de l'exercice physique régulier. Cependant, seule une minime réduction du LDL-C est habituellement obtenue même chez les patients ayant fortement amélioré leur hygiène de vie (22).

Les statines sont les médicaments les plus sûrs et efficaces utilisés pour abaisser le LDL-C chez les patients atteints d'HF. Tandis que la réponse aux statines

chez les patients atteints d'HFHe est bonne, le taux de réponse pour les patients atteints d'HFHo est moins prévisible. Des réductions de LDL-C de 6% à 50% ont été observées chez les patients hétérozygotes (23). Les patients qui ont besoin d'une plus grande réduction du LDL-C ont généralement besoin d'utiliser la combinaison de statines avec d'autres médicaments hypolipémiants tels que l'ézétimibe, les fibrates, ou les agents séquestrant les acides biliaires (2).

Une option pour les patients HFHo qui sont réfractaires ou résistants aux statines est l'aphérèse des lipides ou la transplantation hépatique. L'aphérèse des lipides supprime l'apoB-100 à partir de la circulation sanguine mais cette procédure est longue, coûteuse et donne des résultats imprévisibles (24). Il est difficile d'optimiser la fréquence de l'aphérèse des lipides en raison de la fluctuation du taux de cholestérol sérique après la procédure (24). Plusieurs transplantations hépatiques fructueuses ont été effectuées chez des patients HFHo, cependant, les dons d'organes étant limités et la consommation d'immunosuppresseur en post-opératoire contribuent au fait que cette procédure est un traitement de dernier recours (22) (24).

De nouvelles approches pour diminuer le LDL-C chez les patients hétérozygotes et homozygotes sont étudiées. Elles comprennent des études sur :

- la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP), (4).
- des inhibiteurs qui réduisent le transfert des esters de cholestérol du HDL-C au LDL-C
- des inhibiteurs de l'assemblage des VLDL,
- des inhibiteurs de la protéine de transfert microsomal (MTP),
- des inhibiteurs de PCSK9 qui régulent la dégradation des LDLR, (25) (26).
- les oligonucléotides antisens (ASO), qui empêche la formation de protéines fonctionnelles.

(27) (28)

La Food and Drug Administration (FDA) aux Etats-Unis a approuvé le mipomersen (Kynamro®) en janvier 2013, comme médicament orphelin pour le traitement de l'hypercholestérolémie familiale homozygote, en tant que traitement adjuvant à d'autres médicaments hypolipémiants et à un régime pauvre en graisses. L'Union européenne n'a pas approuvé ce médicament (29) (30). (Voir paragraphes IX et X)

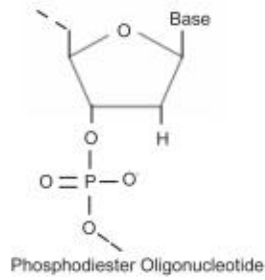


## **II. Les oligonucléotides antisens**

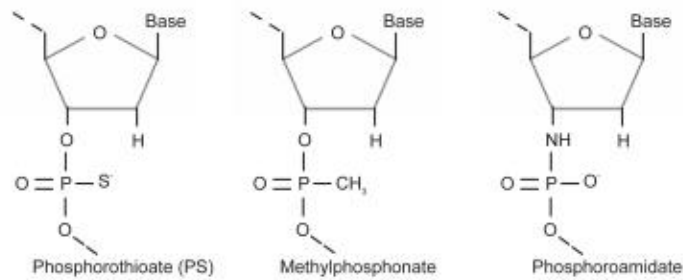
Les oligonucléotides sont de courts fragments d'acides nucléiques (ARN ou ADN) de quelques dizaines de nucléotides. La séquence en nucléotides d'un oligonucléotide antisens, est complémentaire à une petite partie de la séquence d'un ARN. Par appariement avec cette séquence cible, l'oligonucléotide permet d'inhiber au moins une fonction de l'ARN entier. L'ARN n'étant plus fonctionnel, il ne peut plus par exemple être traduit en protéine. C'est majoritairement cette inhibition protéique via l'inhibition d'un ARN, qui est recherchée en thérapeutique.

### **1. Structure des oligonucléotides antisens**

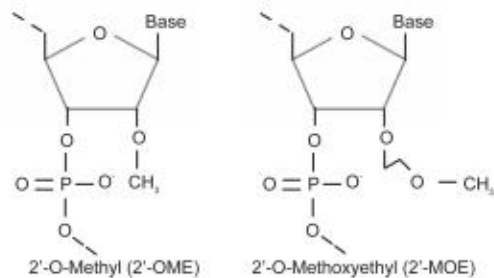
La structure de base d'un oligonucléotide, est une succession d'acides ribonucléiques (ARN) ou désoxyribonucléiques (ADN). Cette structure de base n'est pas viable en thérapeutique, plusieurs modifications structurelles sont nécessaires pour améliorer l'appariement avec la séquence cible, ainsi que pour augmenter la résistance aux ribonucléases. La figure 1 recense les différentes structures d'oligonucléotides actuellement utilisées en thérapeutique.



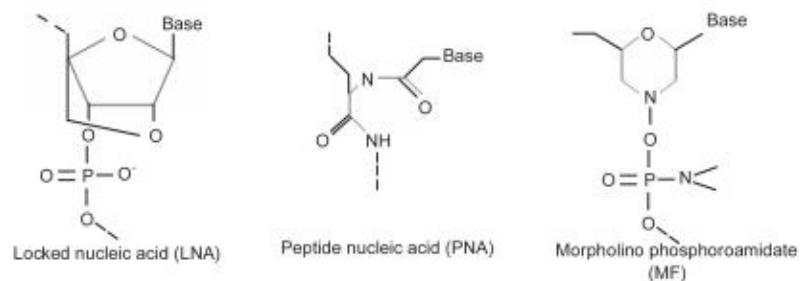
### FIRST GENERATION ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES



### SECOND GENERATION ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES



### THIRD GENERATION ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES



**Figure 1. Evolution de structure des oligonucléotides antisens. (31)**

*La figure 1 montre l'évolution des structures des bases modifiées, utilisées pour la synthèse des oligonucléotides antisens.*

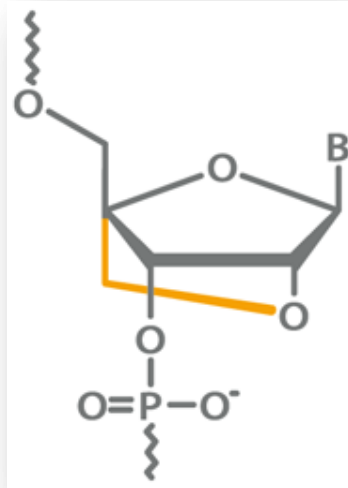
L'inhibition par les oligonucléotides antisens des ARNm exige que ces oligonucléotides soient modifiés chimiquement pour améliorer leur affinité de liaison, leur biostabilité et leurs propriétés pharmacocinétiques.

Les modifications du sucre des bases sont les plus couramment utilisées pour augmenter la température de fusion du duplex ( $T_m$ ) et elles améliorent la résistance aux ribonucléases. Les sucres sont alors modifiés en position 2' du cycle en remplaçant l'hydrogène par un groupe O-Méthyl ou O-Méthoxyethyl. Ce qui donne respectivement des sucres 2'-O-Méthyl (2'-O-Me), et 2'-O-Méthoxyethyl (2'-MOE). Ces modifications permettent de différencier la deuxième et la première génération d'oligonucléotides antisens (21). La première génération d'ASO est facilement dégradée par des endonucléases et des exonucléases et a montré une toxicité se répercutant sur la croissance cellulaire et la prolifération des tissus sains (32).

Le squelette phosphorothioate, obtenu en remplaçant le phosphodiester (PO) par un groupement phosphorothioate (PS) confère également aux oligonucléotides une meilleure résistance aux nucléases. Cette modification améliore aussi la liaison aux protéines plasmatiques, conduisant à une réduction de la clairance par filtration glomérulaire et de l'excrétion urinaire. Les oligonucléotides intégrant cette modification présentent des propriétés pharmacocinétiques nettement améliorées, ce qui facilite leur livraison dans les tissus. (31)

L'utilisation de peptide nucleic acid (PNA) ou de dérivés morpholino permet également d'augmenter la résistance aux nucléases. Les oligomères de type PNA sont des analogues d'oligonucléotides non chargés, dans lesquels le squelette sucre-phosphate a été remplacé par un squelette de type peptide. Les dérivés morpholino sont non chargés et présentent une légère augmentation de l'affinité de liaison avec l'ARN cible complémentaire.

Une autre modification des oligonucléotides, consiste à l'adjonction dans la séquence nucléotidique, de locked nucleic acids® (LNA), qui sont des acides nucléiques bloqués. Le ribose est alors verrouillé en conformation C3'-endo (N-type) par un pont méthylène. Leur utilisation donne à l'oligonucléotide une plus grande affinité envers l'ARN cible avec une augmentation de la température de fusion du complexe de 2° à 8°.



**Figure 2. Structure d'un LNA. (33)**

Un acide nucléique bloqué (ou locked nucleic acid, LNA) est un analogue d'acide nucléique. Le ribose est verrouillé en conformation C3'-endo (N-type) par un pont méthylène (en orange sur la figure 5) entre l'oxygène en position 2' et l'atome de carbone en position 4'. Cette restriction conformationnelle augmente l'affinité de liaison des séquences par appariement selon Watson et Crick. L'introduction de LNA dans un oligomère d'ADN ou d'ARN permet d'améliorer l'affinité pour les séquences complémentaires (34). Il en résulte un couplage plus rapide et un duplex plus stable (33). L'incorporation de LNA à des oligonucléotides, augmente lorsqu'ils sont sous forme de complexe, leur température de fusion, ainsi que leur résistance aux endo et exonucléases (35). Cela leur confère une forte stabilité.

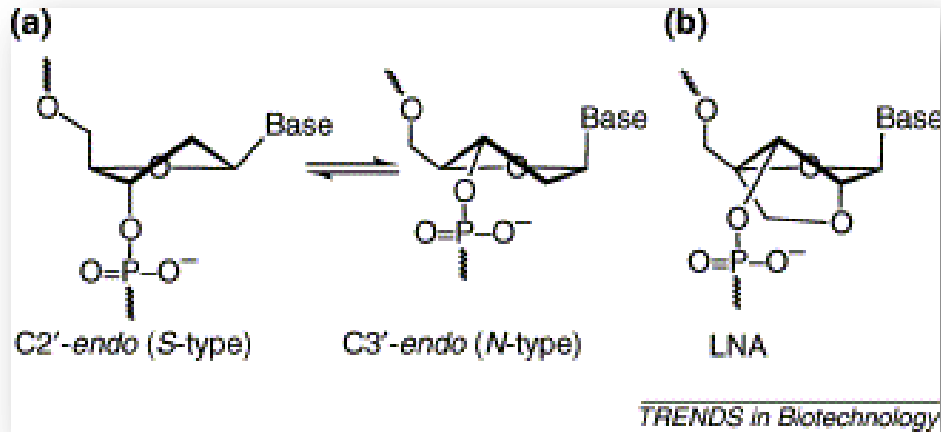


Figure 3. Blocage conformationnel par le pont méthylène des LNA. (36)

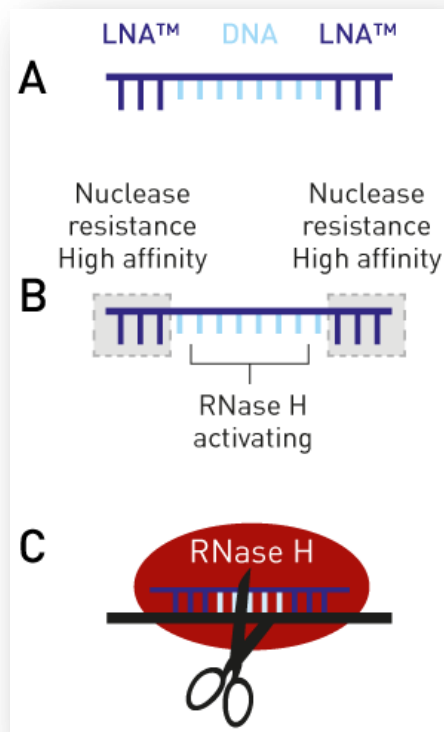


Figure 4. Structure et activité des nucléotides à LNA. (37)

La figure 7 nous montre que les Locked Nucleic Acid ne sont présent qu'aux deux extrémités du nucléotide, ils permettent d'augmenter l'affinité pour la cible, et

*confèrent une meilleure résistance aux nucléases. La partie centrale qui ne contient pas de LNA va quant à elle activer la RNase H.*

La combinaison de certaines de ces modifications chimiques assure une forte affinité pour leurs cibles ARN et une longue durée de vie in vivo.

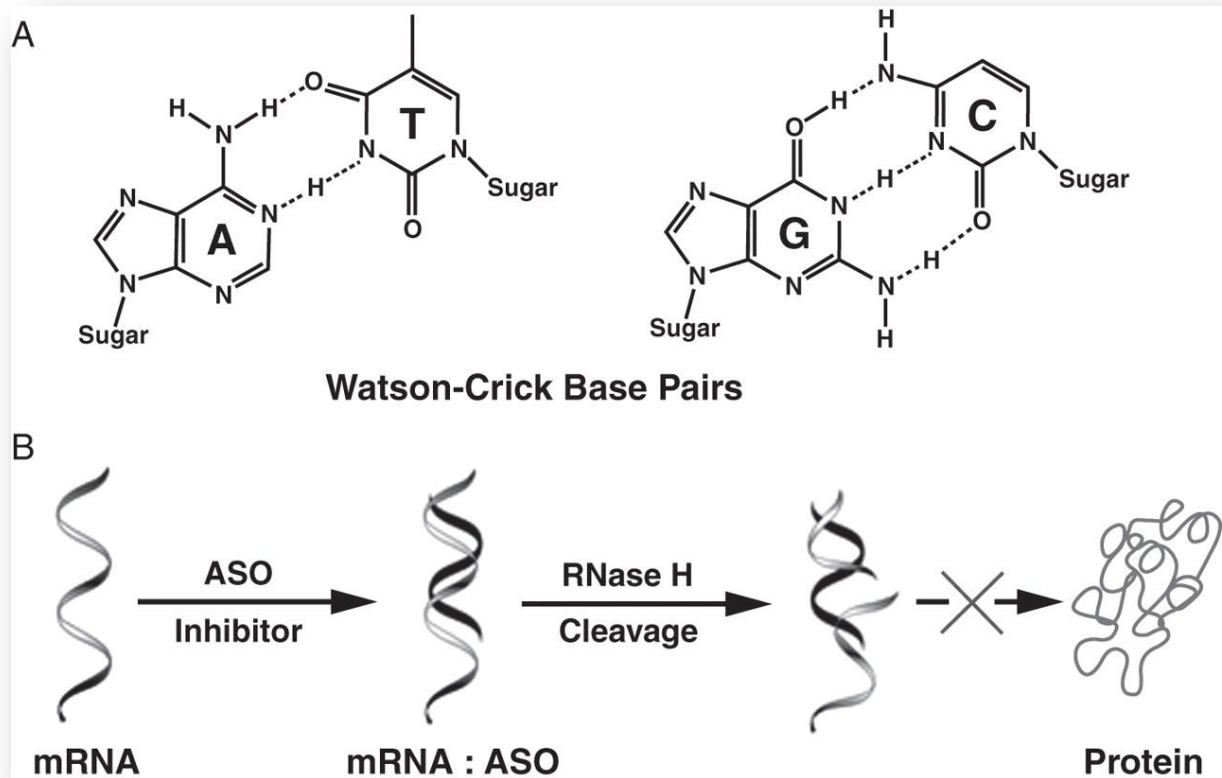
## **2. Mécanisme d'action standard des oligonucléotides antisens**

Les oligonucléotides sont destinés à moduler spécifiquement le transfert de l'information génétique d'une protéine.

Sur la base de leurs mécanismes d'action, deux classes d'oligonucléotides antisens peuvent être discernées:

-les oligonucléotides ribonucléase H-dépendants, qui induisent la dégradation de l'ARNm;

-et les oligonucléotides stérique-bloquants, qui occupent une région spécifique de l'ARN nécessaire à la traduction, à l'épissage, ou à la régulation post-transcriptionnelle.



**Figure 5. Mécanisme d'action antisens via la RNase (29).**

(A) Reconnaissance spécifique d'une séquence par les appariements de paires de bases selon Watson-Crick.

(B) La RNase H est une nucléase endogène qui hydrolyse le brin d'ARN du complexe ASO / ARN.

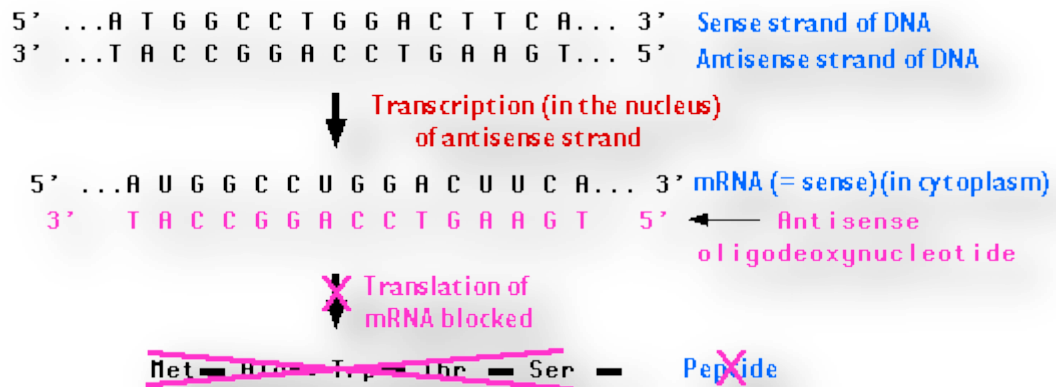
La RNase H reconnaît les hybrides ADN/ARN et hydrolyse les liaisons phosphodiester de la partie ARN. Seuls les désoxyribonucléotides naturels, et leurs analogues comportant des phosphorothioates ou des phosphorodithioates, sont capables d'induire une coupure de l'ARN choisi pour cible (38).

Les oligonucléotides antisens sont des polymères de synthèse :

-Les monomères sont chimiquement modifiés, ce sont des désoxyribonucléotides comme ceux de l'ADN ou des ribonucléotides comme ceux de l'ARN.

-Il y a habituellement seulement 15 à 20 monomères, c'est pourquoi on parle d'oligonucléotides.

-Leur séquence (3' → 5') est antisens; et est complémentaire de la séquence cible d'un ARN, par appariement de Watson-Crick.



**Figure 6. Mécanisme d'action des oligonucléotides antisens (ASO) (39)**

Les oligonucléotides antisens sont utilisés pour bloquer/empêcher des processus pathologiques en modifiant la synthèse d'une protéine particulière, ou en évitant la synthèse d'une autre. Cela par la liaison de l'oligonucléotide antisens à l'ARNm à partir duquel cette protéine est normalement synthétisée.

La liaison de l'oligonucléotide à l'ARNm peut :

-bloquer physiquement la capacité des ribosomes à se déplacer le long de l'ARN messager empêchant la synthèse de la protéine.

-accélérer la vitesse à laquelle l'ARNm est dégradé dans le cytosol, via les RNases.

Pour être utiles en thérapeutique humaine, les oligonucléotides antisens doivent :

- être en mesure d'entrer dans les cellules cibles;
- éviter la digestion par des nucléases plasmatiques;
- ne pas causer d'effets secondaires dangereux.



Pour atteindre ces objectifs, des oligonucléotides antisens sont généralement :

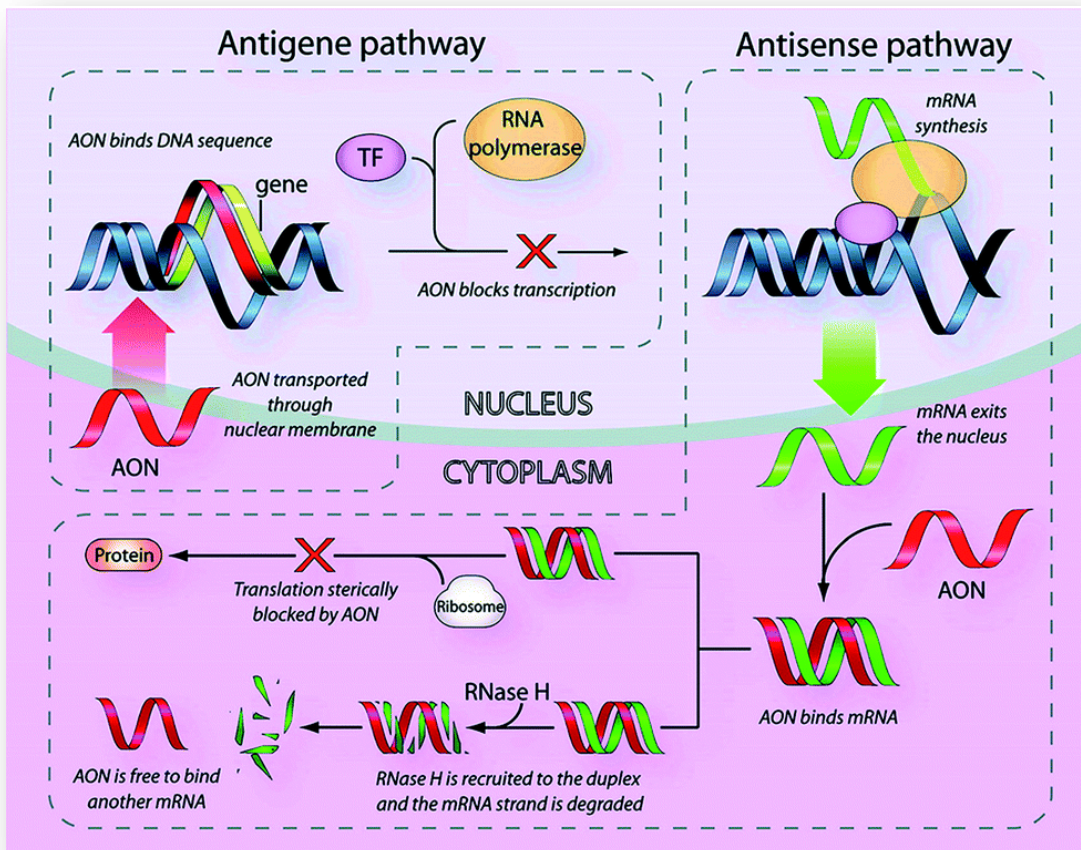
-chimiquement modifiés pour résister à la digestion par les nucléases;

-associés à un dispositif de ciblage tels que :

-un ligand pour le type de récepteurs présents sur les cellules cibles désirées;

-des anticorps dirigés contre les molécules de surface des cellules cibles souhaitées.

(39)



**Figure 7. Mécanisme d'action des ASOs. (40)**

AON = ASO

La figure 3 montre l'action d'un ASO pénétrant dans le noyau pour se lier à son gène cible, et ainsi inhiber sa traduction en ARN. On peut également voir l'action

cytoplasmique des ASOs, qui se lient à l'ARNm cible et inhibe sa transcription en protéine. Cette action se fait soit par encombrement stérique en empêchant la progression du ribosome, soit en activant la RNase hydroxylase qui dégrade l'ARNm du complexe ARNm/ASO.

### **3. Autres applications des oligonucléotides antisens.**

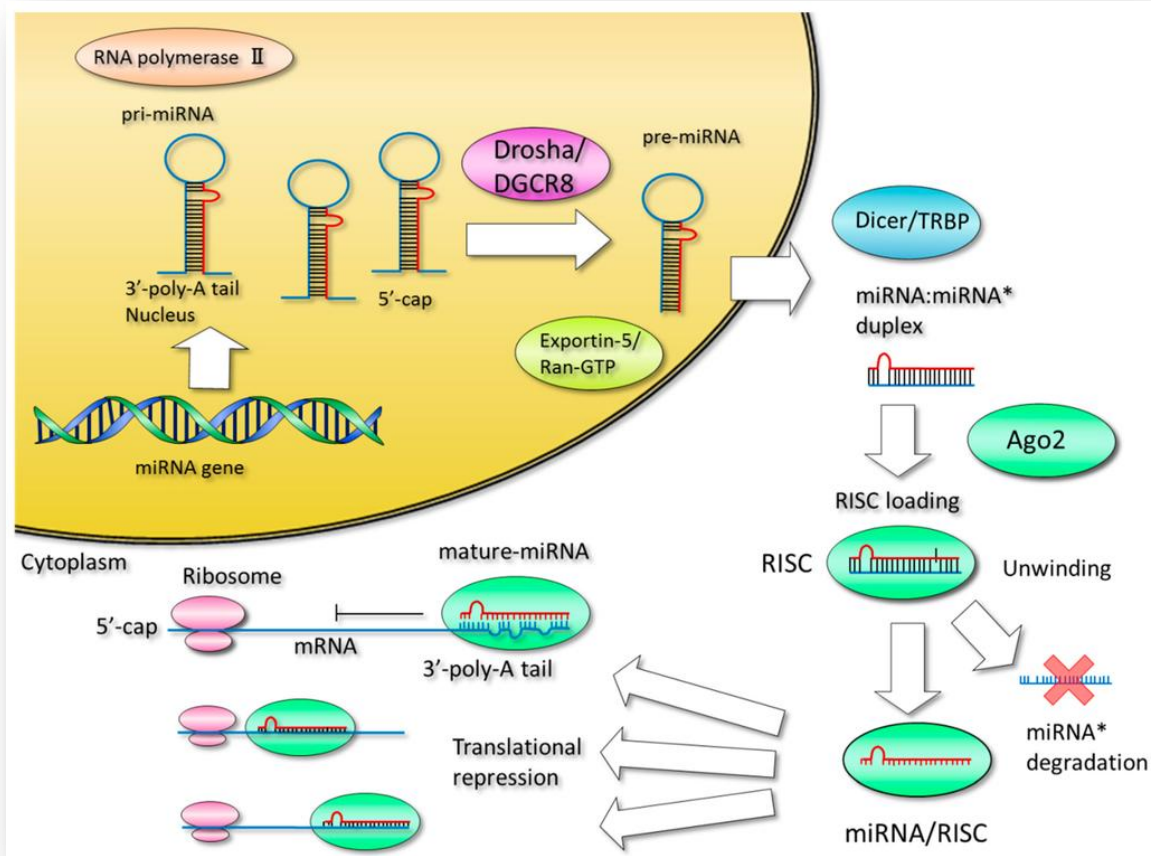
#### **a. Le Fomivirsen**

Vitravene® (Fomivirsen) est le premier oligonucléotide antisens à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché en 1998. C'est un antiviral indiqué dans la rétinite à cytomégalovirus, se présentant en injection intravitréenne. Il agit en se fixant à un ARNm viral codant pour la protéine IE2, indispensable à la multiplication du cytomégalovirus. C'est un oligonucléotide de 21 nucléotides de long, reliés entre eux par des liaisons phosphorothioates. Le Kynamro® et le Vitravene® sont les seuls oligonucléotides antisens ayant obtenus une autorisation de mise sur le marché. Le Fomivirsen étant à usage local, il ne donne pas d'informations sur l'utilisation systémique des oligonucléotides antisens, contrairement au mipomersen.

Ce composé a été retiré du marché européen en 2002 pour des raisons commerciales mais reste disponible en Suisse et aux États-Unis. Sa mauvaise tolérance en fait un traitement de dernier recours. En effet le Fomivirsen provoque des uvéites après une injection intravitréenne dans 38,2% des cas (41), contre 0,14% toutes injections confondues (42).

## **b. Les microARN, nouvelles cibles des oligonucléotides antisens.**

Des travaux récents ont montré que les miARN sont souvent déréglementés dans les maladies humaines, ce qui suggère qu'ils pourraient servir de cibles viables pour le développement de produits thérapeutiques à base de miARN (43) (44) (45) (46) (47). Les microARN (miARN) sont de courts brins d'ARN monocaténares, d'une vingtaine de nucléotides de long qui interviennent dans la régulation post-transcriptionnelle de l'expression génique (48) (49). L'hybridation à leur cible implique une région restreinte du miARN qui peut alors cibler de nombreux sites différents sur un seul ou plusieurs ARNm. Le site d'hybridation se trouve généralement dans la région 3' non codante, ainsi un même miARN peut cibler plusieurs ARNm. La plupart des miARN sont transcrits par l'ARN polymérase II en de longs transcrits primaires, appelés pri-miARN. Les pri-miARN sont traités dans le noyau par le complexe Drosha-DGCR8, ce qui donne des pré-miARN qui sont des structures en épingle à cheveux d'environ 70 nucléotides. Ces pré-miARN sont ensuite exportés dans le cytoplasme puis clivés par le complexe Dicer-TRBP en miARN double brin d'environ 22 nucléotides de long. Dans le cytoplasme, les miARN double brin sont incorporés à un miRNA-Induced Silencing complexe (miRISC) qui va désapparier le miARN en un miARN simple brin mature et le retenir, tandis que le brin complémentaire est libéré et dégradé. La fonction du miARN mature est de guider le complexe miRISC en l'orientant vers des sites partiellement complémentaires des ARNm cibles, ce qui entraîne une répression traductionnelle et ensuite une dégradation de l'ARNm. Actuellement, 2 stratégies sont utilisées pour moduler l'activité des miARN, la restauration de la fonction d'un miARN avec des miARN synthétiques et l'inhibition de la fonction d'un miARN en utilisant des oligonucléotides antimicroARN simple brin, ou en bloquant / masquant les sites de fixation des miARN.



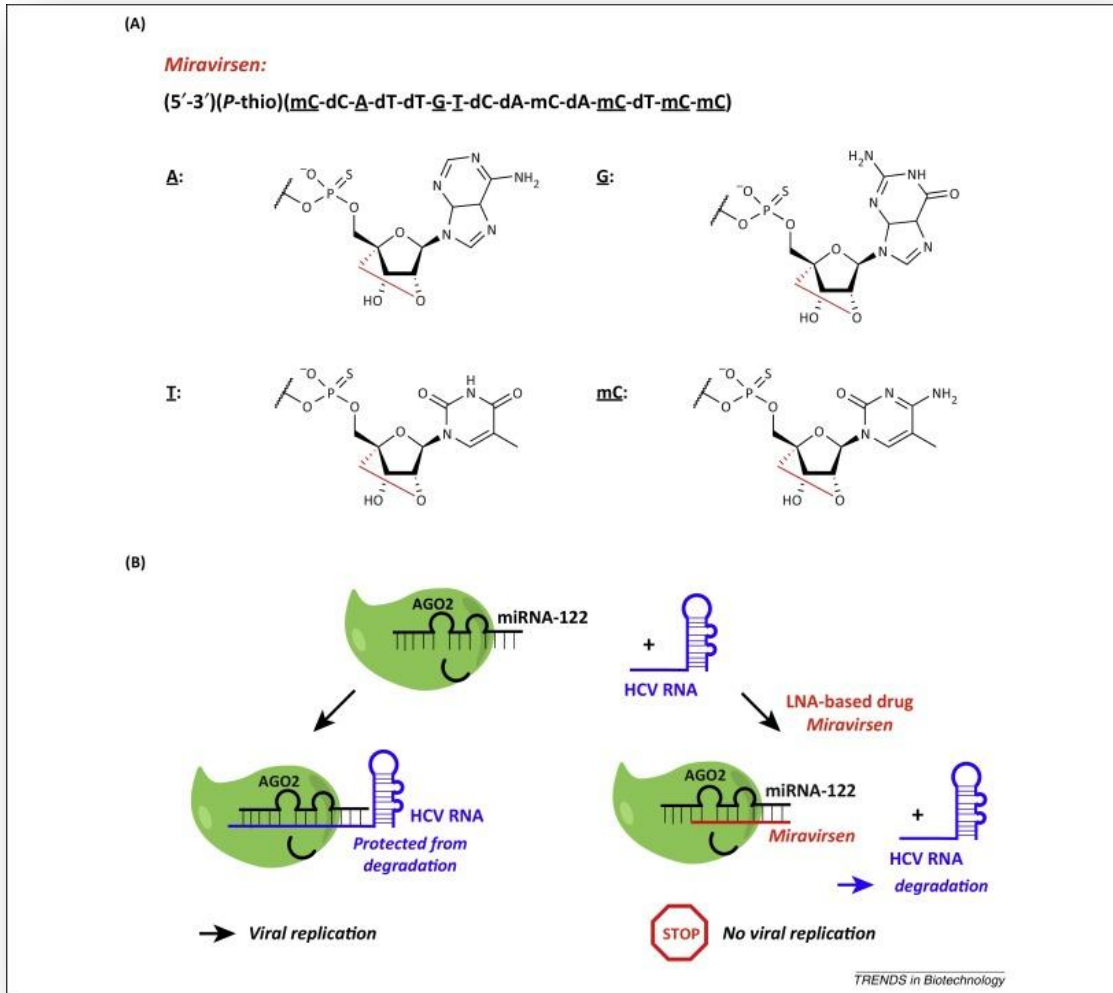
**Figure 8. Biogénèse et modulation des miARN. (50)**

Plusieurs molécules liées aux miARN sont en développement (voir tableau 6 en annexe).

### c. Le Miravirsén

Le miR-122 est un microARN (miARN) spécifique du foie ayant un rôle important dans le cycle de vie du virus de l'hépatite C (VHC). Il est la cible du Miravirsén®, un médicament anti-miARN actuellement en essais cliniques de phase 3 pour le traitement d'infections par le VHC. Miravirsén est composé de ribonucléotides verrouillés (LNA) intercalés par une séquence d'ADN phosphorothioate complémentaire à la séquence miR-122 mature (51). Les LNA

confèrent au médicament une affinité élevée pour la cible ainsi qu'une meilleure résistance à la dégradation par les nucléases.



**Figure 9. Structure et mécanisme d'action du Miravirsén. (52)**

(A) Structure du Miravirsén. Mise en évidence des LNA.

Abréviations :

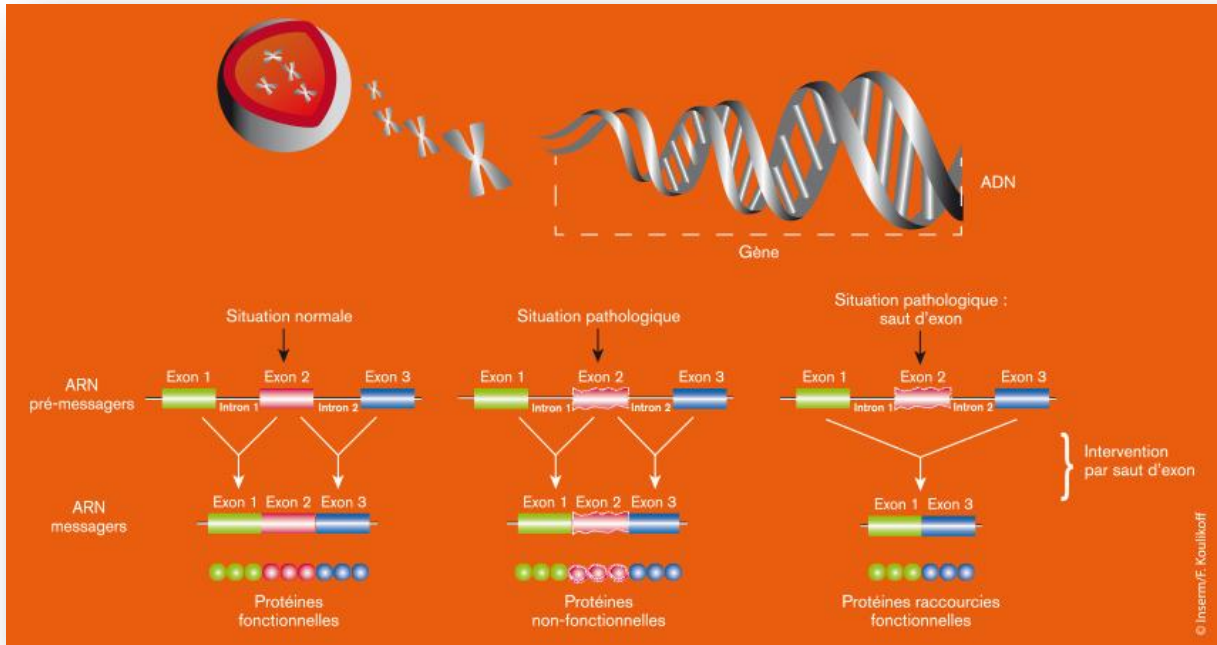
P-thio : phosphorothioate; A : adénosine; dA : 2'-désoxyadénosine; dT : 2'-désoxythymidine; T : thymidine; G : guanosine; dC : 2'-désoxycytidine; mC : 5-méthylcytidine.

(B) Virus de l'hépatite C (HCV) protégé de la dégradation par la protéine AGO2 (gauche) et soumis à la dégradation en présence de Miravirsen (droite).

La cible miARN-122 du Miravirsen est exclusivement exprimée au niveau du foie (53). C'est également dans le foie que le Miravirsen s'accumule après injection. Cibler d'autres miARN en dehors du foie avec des oligonucléotides antisens reste un défi.

#### **d. Le saut d'exons**

Les maladies génétiques sont dues à des altérations du génome. Dans le cas d'une mutation, la transcription du gène donne un ARN codant pour une protéine anormale. Lorsqu'une mutation modifie la phase de lecture de l'ARN en aval, on parle alors de mutation du cadre de lecture. Si un exon avec un nombre approprié de bases se trouve près de la mutation, la suppression de ce dernier peut corriger le cadre de lecture en aval, et ainsi restaurer la production d'une protéine plus courte, mais fonctionnelle. C'est pour supprimer ces exons anormaux que les oligonucléotides ont un potentiel intéressant.



**Figure 10. Schéma de la technique du saut d'exon (54).**

*Figure 10 : Technique du saut d'exon - Pour fabriquer une protéine, la cellule utilise les informations délivrées par un gène. Celui-ci est transcrit en une molécule d'ARN pré-messager, comportant des « briques » nommées exons entre lesquelles sont intercalées des séquences non codantes nommées introns. La maturation des ARN pré-messagers permet notamment de supprimer les introns et conduit à l'obtention d'un ARN messager qui est traduit en protéine. La technique du saut d'exon permet de supprimer un exon qui contient par exemple une mutation lors de l'étape de maturation des ARN pré-messagers. La protéine résultante est plus courte que la protéine « normale », mais elle est fonctionnelle (54).*

Cette nouvelle approche trouve une application dans la myopathie de Duchenne, qui est liée à une anomalie du gène DMD (gène de la dystrophie musculaire de Duchenne), responsable de la production d'une protéine impliquée dans le soutien de la fibre musculaire, la dystrophine. Les mutations ne sont pas les mêmes chez tous les patients, c'est pourquoi les oligonucléotides doivent cibler différents exons



en fonctions des patients. Le Drisapersen est une molécule en phase III d'études cliniques. C'est un 2'-O-méthyl phosphorothioate oligonucléotide qui cible l'exon 51 de l'ARN pré-messager afin qu'il soit éliminé de l'ARN mature. Le Drisapersen s'hybride à l'exon 51 et le "cache" de la machinerie d'épissage, ce qui entraîne l'épissage de l'exon 51 avec son intron flanquant. Ceci restaure le cadre de lecture, ce qui entraîne la génération d'une protéine de dystrophine Partielle. La protéine de dystrophine mature ainsi obtenue est plus courte mais fonctionnelle. L'exon 51 est en cause dans environ 13% des cas de myopathie de Duchenne, les autres exons concernés sont en cours d'étude (55).

### **III. Pharmacologie du mipomersen**

#### **1. Relation structure activité du mipomersen**

La plupart des oligonucléotides utilisés sont simple brin et sont modifiés chimiquement pour améliorer les propriétés pharmacocinétiques (PK) et pharmacodynamiques (PD).

Ces modifications comprennent l'ossature phosphorothioate (PS), où l'un des deux atomes d'oxygène de la liaison phosphodiester naturelle est remplacé par un atome de soufre, et des modifications partielles de sucre en utilisant un groupe 2'-O - methoxyethyl (MEO).

La modification par la chaîne phosphorothioate (PS) réduit la vitesse de dégradation par les nucléases, améliore la distribution aux tissus en se liant aux protéines plasmatiques, et "prend également en charge" l'activité RNase H lorsqu'elle est combinée avec une séquence de désoxyribonucléotides. La modification de sucre 2'-MOE confère une meilleure stabilité au médicament et



augmente également l'affinité pour l'ARN cible jusqu'à atteindre une affinité dix fois supérieure (56).

Mipomersen est un oligonucléotide phosphorothioate de deuxième génération, ce qui signifie que en plus d'avoir des liaisons phosphorothioates à la place de la liaison phosphodiester naturelle entre les bases, certaines des bases des extrémités 5' et 3' ont un groupe méthoxyéthyle (ME) sur la position 2' du sucre ribose. Ces deux modifications servent à augmenter la stabilité de l'oligonucléotide envers les nucléases. Les modifications du MEO donnent à l'oligonucléotide une très forte résistance aux exonucléases.

Mipomersen est un MEO GapmeR 5-10-5, ce qui signifie que les cinq bases aux deux extrémités 5' et 3' sont des ribonucléotides, tandis que les 10 bases centrales sont des désoxyribonucléotides (2' désoxy). Les cinq bases sur les deux extrémités 5' et 3' sont modifiées par fixation d'un groupe méthoxyéthyl (MOE) sur la position 2' du cycle ribose, donnant lieu à une structure ARN-ADN-ARN chimère appelé MOE-gapmer. Le "gap" se réfère aux dix 2'-désoxynucléosides du milieu qui sont nécessaires pour soutenir le clivage enzymatique de l'ARNm.

Les bases cytosine sont également méthylées afin de réduire le potentiel immunostimulant du mipomersen. Cet effet immunostimulant était le problème majeur de la première génération des oligonucléotides antisens. (31)

## **2. Pharmacodynamie**

Dans toutes les espèces animales étudiées, mipomersen a entraîné une réduction de l'ARNm de l'apoB-100 dans le foie, corrélée avec une réduction de l'apoB-100 et des lipoprotéines contenant l'apoB-100 dans le sang (57) (58).

Mipomersen est un sel de sodium d'oligonucléotides phosphorothioate synthétiques, de 20 nucléotides de long.

Nom chimique :

*2'-O-(2-methoxyethyl)-P-thioguanylyl-(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-5-methyl-Pthiocytidylyl-(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-5-methyl-P-thiocytidylyl-(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-5-methyl-P-thiouridylyl-(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-5-methyl-Pthiocytidylyl-(3'→5')-2'-deoxy-P-thioadenylyl-(3'→5')-2'-deoxy-P-thioguanylyl-(3'→5')Pthiothymidylyl-(3'→5')-2'-deoxy-5-methyl-P-thiocytidylyl-(3'→5')-P-thiothymidylyl-(3'→5')-2'-deoxy-P-thioguanylyl-(3'→5')-2'-deoxy-5-methyl-P-thiocytidylyl-(3'→5')-Pthiothymidylyl-(3'→5')-P-thiothymidylyl-(3'→5')-2'-deoxy-5-methyl-P-thiocytidylyl-(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-Pthioguanylyl-(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-5-methyl-P-thiocytidylyl-(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-Pthioadenylyl(3'→5')-2'-O-(2-methoxyethyl)-5-methyl-Pthiocytidylyl-(3'→5')-2'-O-(2-méthoxyéthyl) -5 méthylcytidine sel nonadecasodium*

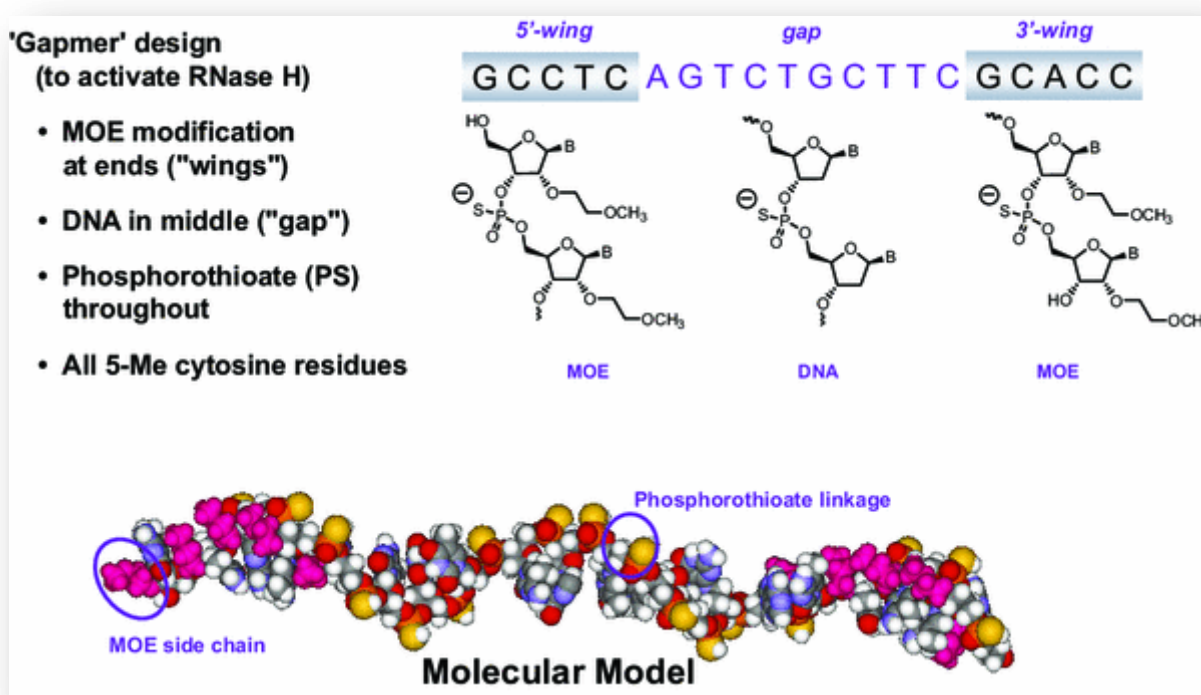


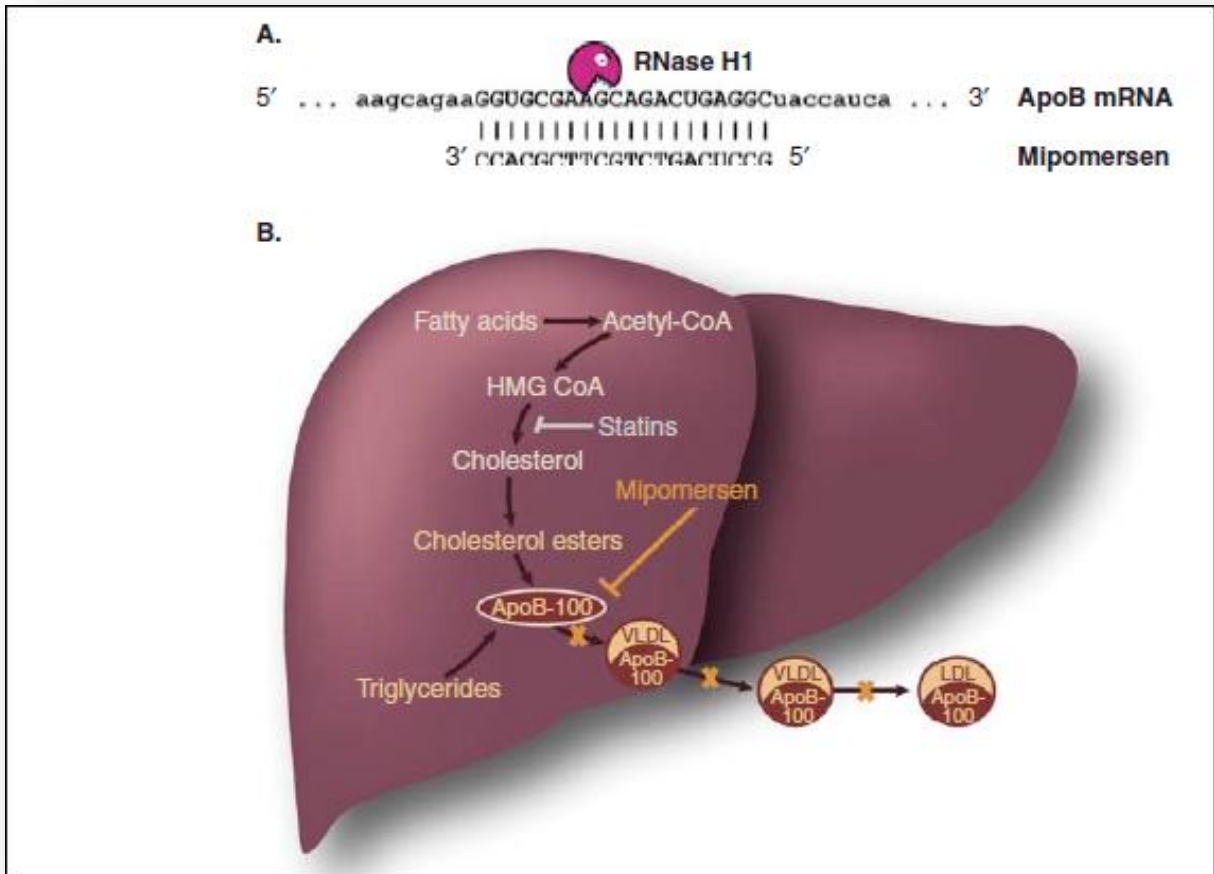
Figure 11. Formules structurales et moléculaires du mipomersen (59).

Les 5 résidus des extrémités 5' et 3' sont des 2'-O- (2-méthoxyéthyl) nucléosides; les 10 nucléotides centraux, sont des 2'-désoxynucléosides.

La formule du mipomersen est  $C_{230}H_{305}N_{67}O_{122}P_{19}S_{19}Na_{19}$  et son poids moléculaire est de 7594.9 g/mol. (59)

Mipomersen est un oligonucléotide de deuxième génération (ASO II) avec une liaison spécifique à la région codante [nucléotides 3249 à 3269] de l'ARN messager (ARNm) humain de apoB-100 (60). Il est composé de 20 nucléotides chimiquement stabilisé via une dorsale de phosphorothioates (21).

Dans la nature, l'apoB existe sous deux isoformes : apoB-48 et de l'apoB-100. ApoB-48 est une forme tronquée de l'apoB-100, et est synthétisée exclusivement par l'intestin tandis que l'apoB-100 est synthétisée dans le foie (61). L'Apo B-48, qui est essentielle à la formation des chylomicrons, est dérivé du même ARNm de l'apoB-100, comprenant le site de liaison du mipomersen. Les études pharmacologiques précliniques, ont montré que, **aucune réduction de l'apoB-48 n'est observée avec le traitement par mipomersen, et l'absorption intestinale des graisses n'est pas affectée**. Les entérocytes de la bordure en brosse intestinale ont une demi-vie de plusieurs jours. Ils régulent l'absorption des graisses et sont le site de la synthèse et l'exportation de chylomicrons. L'absence d'effet de mipomersen sur la synthèse des chylomicrons est probablement due à plusieurs facteurs, dont la faible distribution du médicament antisens dans le tractus gastro-intestinal et la rotation rapide de la bordure en brosse intestinale qui empêche ainsi l'accumulation de mipomersen pour atteindre des concentrations suffisantes.

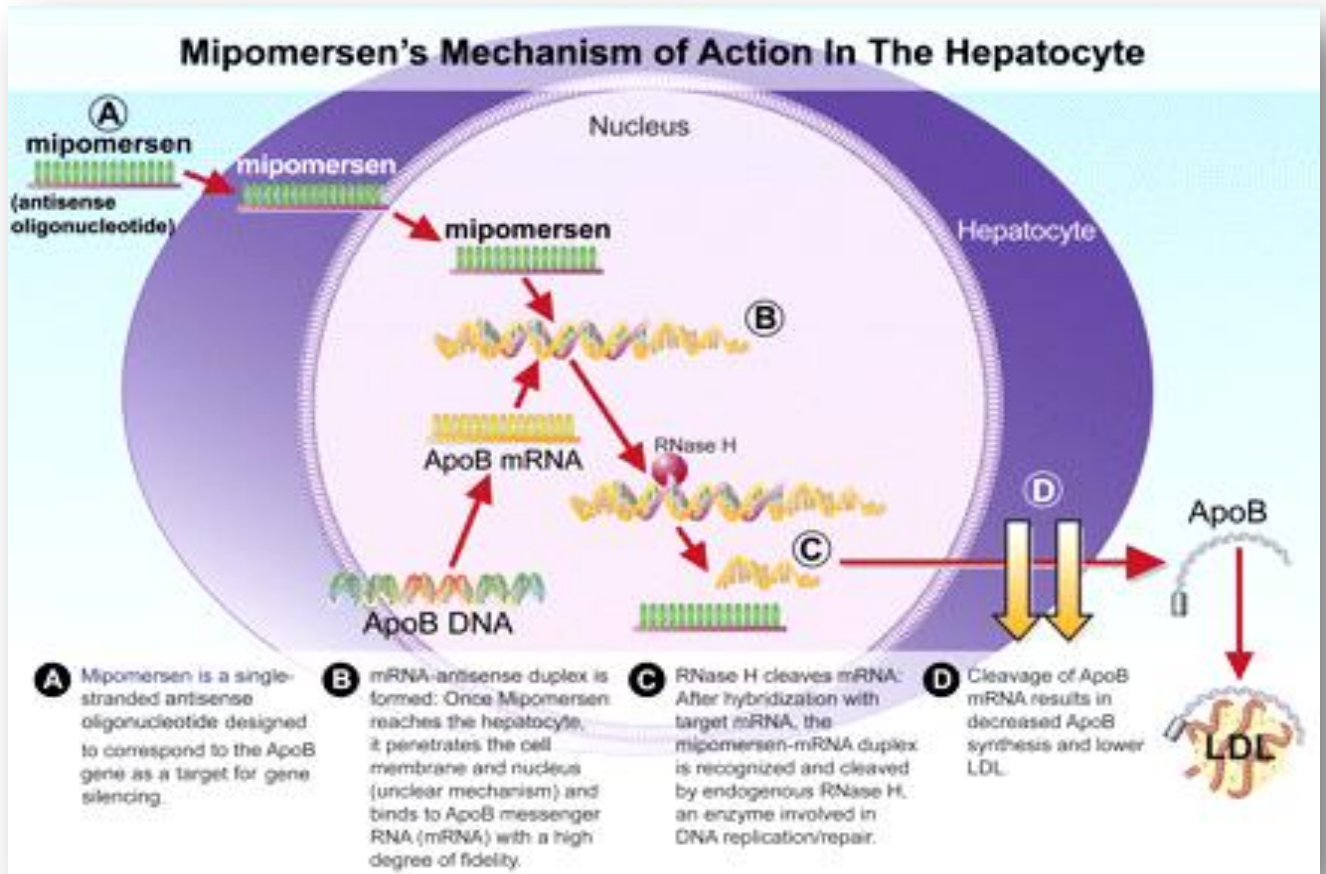


**Figure 12. Inhibition de la production hépatique de LDL par le mipomersen (62).**

(A): La séquence du mipomersen se lie spécifiquement à l'ARNm de l'ApoB pour fournir un substrat pour la RNase H, qui hydrolyse le brin d'ARNm ce qui inhibe la synthèse de l'ApoB.

(B): inhibition de la synthèse de l'apoB-100 par mipomersen réduit la production hépatique de lipoprotéines athérogènes contenant de l'ApoB.

Le foie accumule naturellement les ASOs de deuxième génération (63). C'est un organe cible idéal pour la technologie ASO.



**Figure 13. Mécanisme d'action de mipomersen (64).**

*A : Mipomersen est un oligonucléotide antisens monocaténaire conçu pour se lier à une partie de l'ARNm de l'apoprotéine B, et ainsi inhiber sa transcription.*

*B : Le duplex ARNm/oligonucléotide se forme. Tout d'abord, le mipomersen pénètre dans l'hépatocyte jusqu'au noyau (le mécanisme n'est pas élucidé) et se lie à l'ARNm de l'ApoB par complémentarité.*

*C : La RNase hydroxylase coupe l'ARNm. Après hybridation avec l'ARNm cible, le duplex ARNm/mipomersen est reconnu et clivé par une RNase hydroxylase endogène, enzyme impliquée dans la réplication/réparation de l'ADN.*

*D : La coupure de l'ARNm de l'ApoB entraîne une diminution de la synthèse de l'apoprotéine B et diminue les taux de LDL.*

### 3. Pharmacocinétique

#### **Absorption / Distribution :**

Après l'administration sous-cutanée (SC), le mipomersen est rapidement absorbé à partir du site d'injection dans la circulation, avec des concentrations plasmatiques maximales obtenues en 3-4 h (65). Mipomersen a un profil plasmatique similaire qu'il soit donné en perfusion intraveineuse (IV) ou par voie sous-cutanée (SC) chez les individus sains. Une biodisponibilité absolue quasi-complète a été observée après l'administration SC chez les singes. Par conséquent, pour la formulation et la plupart des essais cliniques, l'injection SC est utilisée.

Suite à une administration IV ou SC, les concentrations plasmatiques de mipomersen diminuent rapidement à partir des concentrations de pointe. Cette diminution est caractérisée par une phase dominante initiale de distribution rapide (demi-vie de quelques heures ou moins), suivie par une phase beaucoup plus lente d'élimination (demi-vie de plusieurs semaines).

Paramètre	Souris	Rat	Singe	Homme
	<b>5 MG/KG SC</b>	<b>5 MG/KG IV BOLUS</b>	<b>4 MG/KG 1-H IV PERFUSION</b>	<b>200 MG 2-H IV PERFUSION</b>
<i>C<sub>max</sub></i> (ng/mL)	3,8 (0,57)	73,9 (2,4)	39,8 (6,7)	21.5 (4.2)
<i>T<sub>max</sub></i>	0,5H	2 MIN	1H (0,1)	1,98H (0,21)
<i>t</i> <sub>1/2</sub> <i>α</i> (h)	0,33	0,39	0,68 (0,19)	1,26 (0,16)
<i>t</i> <sub>1/2</sub> <i>β</i> (jour)	NM	4.7	16	31,1 (11,4)

L'écart-type est indiquée entre parenthèses.

**Figure 14. Estimations des paramètres pharmacocinétiques dans le plasma du mipomersen chez différentes espèces (65).**

**C max** concentration plasmatique maximale

**IV** intraveineuse, **SC** sous-cutanée

**t max** temps pour atteindre C max

**t**<sub>1/2</sub>*α* la demi-vie de distribution, **t**<sub>1/2</sub>*β* demi-vie terminale

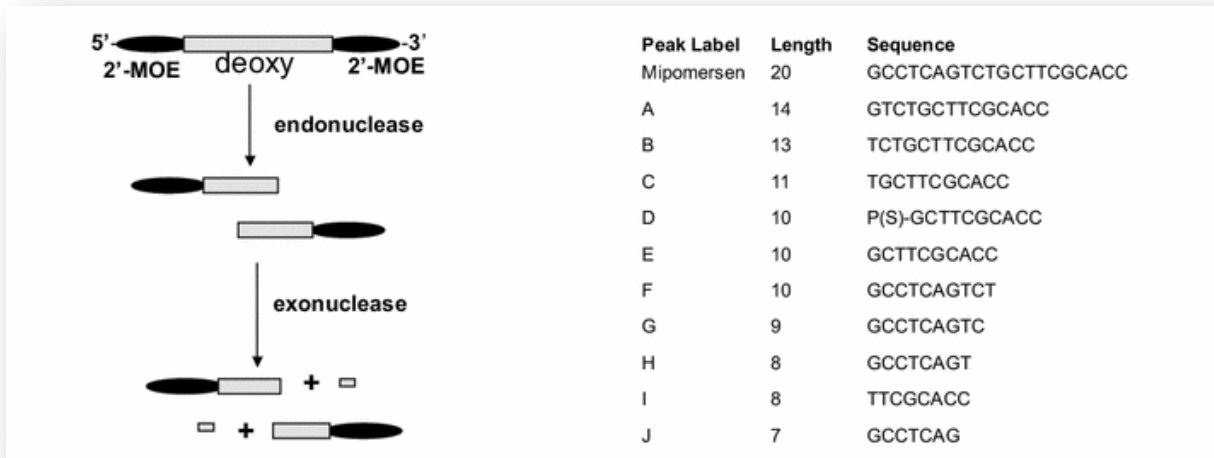
Pour toutes les espèces animales évaluées, le mipomersen se retrouve largement dans la plupart des tissus, **à l'exception du cerveau**, comme avec tous les oligonucléotides antisens de deuxième génération (66) (67). Les principaux tissus de diffusion sont le foie, le rein, la moelle osseuse, le tissu adipeux, et les ganglions lymphatiques (68).

Mipomersen est fortement lié aux protéines plasmatiques (≥85%) de toutes les espèces (65), l'albumine étant la protéine qui semble lier la plus grande quantité de principe actif dans la plupart des espèces, y compris chez l'Homme. La liaison aux protéines plasmatiques n'est pas saturée à des doses cliniquement pertinentes en raison de la grande capacité de liaison des protéines dans le plasma.

### **Métabolisme :**

Le métabolisme de mipomersen en métabolites de chaînes raccourcies dans les tissus, commence par des endonucléases qui clivent la molécule, entraînant la production d'oligonucléotides courts qui ne présentent plus d'activité

pharmacologique et qui ont une affinité et une capacité de liaison avec les protéines plasmatiques. Ces petits oligonucléotides peuvent être digérés par des exonucléases pour produire une cascade d'oligonucléotides plus courts encore, qui sont similaires à travers les espèces.



**Figure 15. Schéma de la métabolisation du mipomersen, et présentation de ses métabolites identifiés dans l'urine (69) (65).**

Mipomersen est métabolisé en composés de 7 à 14 nucléotides, puis il est excrété dans l'urine avec ses métabolites (70). Mipomersen a une faible constante de dissociation (71). Il distribue dans la plupart des tissus avec volume de distribution de 48,3 L / kg. Les **plus fortes concentrations** de médicament sont détectées **dans le foie et les reins**. Le médicament est mal réparti dans le muscle squelettique, et il **ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique** (72). Il n'y a pas de différence de demi-vie lorsqu'il est pris seul ou en combinaison avec la simvastatine ou l'ézétimibe (72).

### **Elimination :**

La clairance de mipomersen à partir de tissus est lente chez toutes les espèces étudiées et implique à la fois le métabolisme dans les tissus (via nucléases)



et l'excrétion urinaire. La demi-vie d'élimination de mipomersen des tissus chez les souris et les rats était  $\geq 13$  jours, et chez le singe variait de 18 à 35 jours, et n'était pas influencée par la dose (65). **L'excrétion urinaire** de mipomersen et ses métabolites est la principale voie d'élimination de la drogue. L'excrétion urinaire d'oligonucléotide totale (mipomersen + métabolites) dans les premières 24 h après administration d'une dose unique, représentait seulement un petit pourcentage de la dose administrée chez la souris, le rat et le singe (moins de 10%), conformément à une vaste distribution de la majeure partie de mipomersen aux tissus après l'administration (73).

#### **4. interactions médicamenteuses**

Une étude réalisée sur des hépatocytes humains montre que mipomersen ne doit pas être considéré comme un inhibiteur des CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 ou du CYP3A4 (72). Étant donné que mipomersen n'a pas d'interaction avec les enzymes CYP, aucune interaction pharmacocinétique cliniquement pertinente n'est attendue (60). Des études d'interactions ont été menées entre le mipomersen et des médicaments tels que la simvastatine, l'ézétimibe et la warfarine (74). Elles vont dans le sens d'une absence d'interaction significative. L'administration concomitante de simvastatine, d'ézétimibe ou de warfarine avec le mipomersen n'a pas causé de changements significatifs sur les propriétés pharmacocinétiques de ces médicaments (74).

#### **IV. Toxicologie (75)**

La séquence de l'ARNm de l'apoB de la souris présente seulement 81% d'homologie et celle du singe présente environ 95% d'homologie avec la séquence

de mipomersen. Ces différences spécifiques aux espèces dans la séquence nucléotidique de l'ARNm de l'apoB ont provoqué une réduction (singe) ou la perte totale (souris, rat, le chien et le lapin) de l'activité pharmacologique prévue du mipomersen chez ces espèces.

En raison de ces disparités entre le mipomersen et ARNm de l'apoB dans les modèles animaux, des **ASOs de substitution** spécifiques aux espèces ont été utilisés, pour la plupart des évaluations de pharmacologie. Ces molécules de substitution présentent 100% de complémentarité à l'ARNm de l'apoB correspondant.

La toxicité de mipomersen a été évaluée principalement chez la souris, le rat et le singe. Généralement, les toxicités observées sont en accord avec les effets toxiques attendus avec un ASO de deuxième génération (76). La **comparaison des doses administrées se fait en rapportant la dose hebdomadaire administrée à la surface corporelle** de l'espèce étudiée, et en la comparant à la dose de 200mg/semaine utilisée chez l'Homme. Les études utilisées pour étudier la toxicologie du Kynamro®, sont listées sous formes de tableaux, et sont données en annexes.

## 1. Effets immunologiques

Des effets pro-inflammatoires généralement liés à la dose, ont été observés chez toutes les espèces.

Ils comprennent :

- une réponse en phase aiguë,
- des changements dans le poids des organes lymphoïdes (↑ poids de la rate, ↓ poids du thymus),
- infiltration / expansion des histiocytes + lymphocytes dans les tissus,
- activation d'histiocytes (hypertrophie, et / ou hyperplasie),

- infiltration occasionnelle d'autres leucocytes (par exemple, les neutrophiles ou les éosinophiles) dans plusieurs tissus,
- hyperplasie lymphoïde,
- changements dans les taux circulants des leucocytes,
- élévation de certaines cytokines / chimiokines,
- augmentation des taux d'immunoglobulines,
- diminution de la numération plaquettaire et activation plaquettaire,
- inflammation au site d'injection.

Toutes ces réactions n'ont pas été observées chez toutes les espèces, et à toutes les doses. A de plus faibles doses, les effets ont été généralement limités au site d'injection et aux tissus lymphoïdes secondaires (ganglions lymphatiques, rate).

## 2. Effets cardiovasculaires

Mipomersen a été associée à divers effets vasculaires dans des études menées chez le rongeur et le singe.

Chez le rat, une **polyartérite** a été observée dans de nombreux tissus chez les mâles à des doses > 10 mg / kg / semaine et chez les femelles à 20 mg / kg / semaine. Cependant, ces résultats peuvent avoir une pertinence clinique limitée, comme il semble probable que ces changements étaient secondaires à une aggravation marquée de la néphropathie chronique progressive spontanée (avec urémie) qui a été provoquée par mipomersen seulement chez les rats.

Dans l'étude chez la souris, des doses de mipomersen > 20 mg / kg / semaine ont augmenté l'incidence de **thrombus cardiaque**. Il est à noter qu'un autre oligonucléotide antisens phosphorothioate (PS ASO) présentait également une augmentation apparente de la fréquence de thrombus cardiaque dans une étude à long-terme chez la souris. Compte tenu de l'absence d'une augmentation liée au mipomersen de l'incidence des événements thrombotiques dans d'autres tissus, ou

d'une augmentation des événements thrombotiques chez d'autres espèces, ces données peuvent être interprétées comme indiquant une propension à aggraver ou à accélérer la formation de lésions spontanées chez la souris. La signification de ce résultat chez l'Homme avec des lésions vasculaires préexistantes n'est pas claire.

Une autre constatation cardiovasculaire chez la souris est une **dilatation ventriculaire** modérée chez environ 3% des femelles à des doses > 20 mg / kg / semaine. Ce qui a été corrélé avec une légère augmentation de la gravité et de l'incidence de la cardiomyopathie à ces doses. Des résultats comparables ont été observés avec le substitut de la souris (ISIS 147764).

Dans l'étude chez le singe, deux singes traités par mipomersen à 30 mg / kg / semaine, ont développé une vaste vascularite et / ou périvascularite, avec hyperplasie intimale (et hyperplasie médiale rare). L'étiologie précise de ces lésions n'est pas claire. Le promoteur postule qu'une carence en complément C3 (qui est consommé au cours de l'activation du complément) interfère avec la capacité du complément pour éliminer les complexes immuns du système vasculaire. Cette carence, en particulier face à une réponse immunitaire à un agent pathogène (résultant en des niveaux élevés de complexes antigène-anticorps), pourrait entraîner des lésions vasculaires. À l'appui d'une telle étiologie, il est à noter que ces deux singes ont été diagnostiqués avec des infections bactériennes (*Campylobacter* et *Shigella*, respectivement) autour du jour 310 de l'étude.

Sans négliger les résultats mentionnés ci-dessus, il convient de garder à l'esprit que les animaux étudiés dans le programme de toxicologie ont des niveaux normaux de LDL-C, et ne peuvent donc tirer que peu ou pas de bénéfices CV de l'inhibition de la synthèse d'apoB100.

### 3. Effets rénaux

Les reins sont généralement le site des expositions de tissus les plus élevées, en particulier dans le cortex rénal des tubules proximaux, où les ASO sont concentrés.

Après une exposition de 5 à 6 mois à une dose de 25 à 30 mg/kg/semaine, la concentration la plus élevée de mipomersen dans le rein a été observée chez le singe (environ 2 000 µg/g), la plus faible a été observée chez les souris (182 µg/g) et la concentration chez le rat était intermédiaire (environ 1 350 µg/g).

Toutes les espèces montrent la présence de granulations basophiles dans le cytoplasme des cellules épithéliales du tubule rénal. Ces granules représentent l'oligonucléotide (mipomersen ou ASO de substitution) capté par ces cellules. Chez la souris rien n'indiquait une toxicité rénale liée au mipomersen. Mais, comme il est indiqué ci-dessus, les souris avaient les niveaux les plus bas de mipomersen dans le rein parmi les espèces évaluées (environ 10 fois plus faible que chez le singe). L'accumulation de mipomersen dans le rein semble saturer à des doses relativement faibles chez les souris, par rapport aux singes et aux rats. **Les souris ne semblent pas être un bon modèle pour la toxicité rénale des ASO.**

Chez le rat, des doses >10 mg/kg/semaine ont été associées à une profonde aggravation de la néphropathie chronique progressive (CPN) chez les mâles et à une aggravation et l'augmentation de l'incidence de la CPN chez les femelles. Cette toxicité est associée à une protéinurie, une augmentation de l'urée sanguine, et une augmentation des décès dus à une néphropathie chronique progressive (CPN) chez les deux sexes dans l'étude de 2 ans chez le rat.

Compte tenu de l'étiologie apparente de la toxicité comme étant une exacerbation d'une affection sous-jacente, **la signification clinique de cette observation n'est pas claire, mais suggère la prudence dans l'administration à des patients atteints de maladie rénale sous-jacente.**

## 4. Effets hépatiques

Les concentrations hépatiques de mipomersen suivent le même schéma que dans le rein, avec le niveau le plus bas chez les souris (environ 280 µg/g), le plus haut chez les singes (environ 1 090 µg/g) et un niveau intermédiaire chez les rats (environ 750 µg/g) après une exposition comparable de 25-30 mg/kg/semaine pendant 5 à 6 mois.

Contrairement au rein (où l'oligonucléotide se limite essentiellement au tubule proximal), les oligonucléotides antisens dans le foie sont détectés dans tous les types cellulaires. Néanmoins, les plus hauts niveaux de mipomersen sont observés dans les cellules de Küpffer, qui concentrent l'oligonucléotide dans les lysosomes, donnant lieu à des granulations basophiles.

Chez les souris après 3 à 6 mois de traitement, mipomersen provoque une accumulation de granulations basophiles dans les cellules de Küpffer à toutes les doses et une augmentation de la masse du foie à des doses > 25 mg/kg/semaine. **Des doses plus élevées (> 44 mg/kg/semaine) ont également été associées à une élévation des transaminases et une diminution de l'albumine.**

Chez le rat, le traitement par mipomersen pendant cinq mois à des doses > 10 mg/kg/semaine a été associé à une augmentation de la masse du foie chez les deux sexes. Et toutes les doses ont été associées à une accumulation de granulations basophiles dans les cellules de Küpffer. Les taux de VLDL et de triglycérides ont diminué avec une dose de mipomersen > 30mg/kg/semaine chez le rat. Dans l'étude de 2 ans chez le rat, le poids du foie a augmenté avec des doses > 10 mg/kg/semaine, et l'accumulation de granulations basophiles dans les cellules de Küpffer a été observée à toutes les doses. Des doses > 10 mg / kg / semaine (de mipomersen ou d'ASO de substitution de rat) ont été associées à une incidence accrue de **vacuolisation centro-lobulaire et à une nécrose hépatique.**

Le traitement par mipomersen pendant 1 an chez le singe a également été associé à l'accumulation de granulations basophiles dans les cellules de Küpffer à

toutes les doses et une augmentation du poids du foie a été observée à la dose de 30 mg/kg/semaine. Des doses > 30 mg/kg/semaine ont été également associées à une hypertrophie des cellules de Küpffer (une constatation qui n'a pas été observée chez les rongeurs). **Contrairement aux rongeurs, le singe ne présentait pas de modifications des transaminases sériques** ni d'effet sur les paramètres lipidiques sériques. Une baisse réversible du taux d'albumine a été constatée à la dose de 30 mg/kg/semaine.

Aucune stéatose n'a été mise en évidence, ni avec le mipomersen, ni avec les substituts spécifiques aux espèces, chez aucune espèce dans aucune étude, y compris dans une étude de 22 semaines chez des souris rendues hypercholestérolémiques par la consommation d'un régime riche en graisses et traitées avec le substitut de souris (ISIS 147764) ou dans une étude de 5 semaines chez le singe rendu hypercholestérolémique par une régime riche en graisses et traité avec un substitut de singe (ISIS 326358).

Sur la base de ce qui précède, **la NOAEL** (dose sans effet toxique observable) **pour la toxicité hépatique est considérée comme <5 mg/kg/semaine chez la souris**, sur la base de l'augmentation de l'incidence et de la gravité de nécrose des hépatocytes; 3 mg/kg/semaine chez le rat sur la base de l'augmentation de l'incidence et de la gravité de la vacuolisation centro-lobulaire et de la nécrose; **et 30 mg/kg/semaine chez le singe.**

## 5. Cancérogénicité

**Deux années d'études de cancérogénicité ont été menées à la fois chez la souris et le rat avec mipomersen** et avec les substituts spécifiques à chaque espèce.

Le traitement par mipomersen a été associé à plusieurs tumeurs chez les deux espèces:

-des adénomes hépatocellulaires et des adénomes combinés à des carcinomes hépatocellulaires combinés chez les souris femelles à des doses de 60 mg / kg / semaine de mipomersen (12 fois la NAOEL);

-des adénomes ou des carcinomes hépatocellulaires combinés, dans les deux sexes chez les souris à des doses de 60 mg / kg / semaine d'ISIS 147764 (substitut de la souris);

-des fibrosarcome de la peau et des tissus sous-cutané chez la souris mâle ayant reçu 60 mg / kg / semaine de mipomersen;

-des hémangiosarcomes chez les souris femelles ayant reçu 60 mg / kg / semaine de mipomersen;

-des histiocytofibromes de la peau et des tissus sous-cutané de rats mâles et femelles à des doses  $\geq$  10 mg / kg / semaine;

-des fibrosarcomes de la peau et des tissus sous-cutané chez les rats femelles à des doses  $\geq$  10 mg / kg / semaine;

-une combinaison de fibrome / fibrosarcome / histiocytofibrome de la peau et des tissus sous-cutané chez les rats femelles à des doses  $\geq$  10 mg / kg / semaine.

Il est à noter que les oligonucléotides de substitution ont une incidence de tumeur environ 2 fois supérieure au mipomersen. D'autre part, les adénomes hépatiques ne sont pas des tumeurs malignes, et la conversion de l'adénome hépatocellulaire en carcinome hépatocellulaire chez l'Homme est rare. **La signification clinique des autres tumeurs est douteuse.**

Les souris seraient sensibles à la formation d'angiosarcomes, dans des conditions d'hypoxie et d'activation des macrophages, et ces conditions étaient réunies dans l'étude. En ce qui concerne les tumeurs observées fibrohistiocytaires (fibrosarcomes, histiocytofibrome maligne) de la peau et des tissus sous-cutané, les rongeurs seraient très sensibles à ces tumeurs avec une irritation chronique ou une inflammation du tissu sous-cutané, ce qui a été observé dans l'étude.

**La signification des tumeurs chez les modèles murins n'est pas bonne.** L'utilisation de substituts de mipomersen, les doses utilisées, ainsi que le métabolisme des modèles, sont autant de biais pour une bonne pertinence de ces essais. **Ces essais donnent au mieux des indications sur de potentiels effets chez l'Homme.**



## 6. Toxicité pour la reproduction et le développement

Les études de reproduction et de développement embryofœtal chez la souris à des doses allant jusqu'à 87,5 mg / kg / semaine de mipomersen par voie sous-cutanée, depuis l'accouplement jusqu'à l'organogenèse et chez les lapines à des doses allant jusqu'à 52,5 mg / kg / semaine, **ne montrent aucun signe d'altération de la fertilité ou de mal au fœtus à 2 fois (souris) et 5 fois (lapins) l'exposition clinique à la dose thérapeutique de 200 mg / semaine chez l'Homme.**

Les rates gravides ont reçu des doses sous-cutanées de 7, 35, 70 mg / kg / semaine de mipomersen, du jour 6 de gestation au jour 20 de lactation (sevrage). Ce qui a entraîné une réduction de la survie des petits rats à la dose de 70 mg / kg / semaine (3 fois la dose d'exposition clinique chez l'Homme). Une diminution du poids corporel des ratons, des facultés visuelles et de la force de préhension, a été observée à la dose de 35 mg / kg / semaine (deux fois la dose humaine). **Les niveaux de mipomersen dans le lait de rat étaient très faibles** ( $\leq 0.92 \mu\text{g} / \text{ml}$  à des doses sous-cutanées de 70 mg / kg / semaine). En raison de la faible biodisponibilité orale du mipomersen, il a été jugé peu probable que ces niveaux d'exposition affectent les ratons pendant la lactation.

Une étude de toxicité juvénile a été menée chez le rat à des doses allant jusqu'à 50 mg / kg / semaine. Des doses > 10 mg / kg / semaine ont été associées à un gain de poids corporel réduit chez les jeunes rats, mais n'a eu aucun effet sur la croissance des os longs ou le développement sexuel. Le poids corporel et la consommation alimentaire sont restés inférieurs pendant une période de récupération sans traitement de 4 semaines.

## V. Effets indésirables (77)

	<i>KYNAMRO</i> ® (%) (N=261)	Placebo (%) (N=129)
<b>Nombre de patients présentant des événements</b>	<b>95</b>	<b>85</b>
<b>Affections cardiaques</b>	<b>9</b>	<b>6</b>
L'angine de poitrine	4	2
palpitations	3	0
<b>Affections gastro-intestinales</b>	<b>30</b>	<b>29</b>
nausée	14	8
vomissement	4	2
douleurs abdominales	3	1
<b>Troubles généraux et anomalies au site d'administration</b>	<b>87</b>	<b>47</b>
Réactions au site d'injection	<b>84</b>	<b>33</b>
fatigue	15	8
Syndrôme grippal	13	3
pyrexie	8	3
frissons	6	1
œdème périphérique	5	2
<b>Affections hépatobiliaires</b>	<b>9</b>	<b>5</b>
La stéatose hépatique	7	2
<b>enquêtes</b>	<b>30</b>	<b>15</b>
Alanine aminotransférase ↑	<b>10</b>	<b>1</b>
Aspartate aminotransférase ↑	6	2
paramètres hépatiques anormaux	5	1
Élévation des enzymes hépatiques	3	1
<b>Troubles musculo-squelettiques et du tissu conjonctif</b>	<b>26</b>	<b>26</b>
Douleur des extrémités	7	3
Douleurs musculo-squelettiques	4	2
<b>Affections du système nerveux</b>	<b>25</b>	<b>17</b>
mal de tête	12	9
<b>Affections psychiatriques</b>	<b>10</b>	<b>3</b>
insomnie	3	1
<b>Affections vasculaires</b>	<b>11</b>	<b>5</b>
hypertension	7	3

**Tableau 2. Les effets indésirables (EI) rencontrés lors des essais de phase 1, 2 et 3. (77)**

Les patients présentent un effet indésirable (EI) dans 95% des cas, mais ils sont généralement d'intensité légère à modérée. **Les syndromes pseudo-grippaux, apparaissant dans les 2 jours après l'injection de mipomersen, sont la cause la plus fréquente de l'arrêt du médicament.**

Le mipomersen est contre-indiqué chez les patients avec insuffisance hépatique modérée à sévère, ou une maladie active du foie présentant une élévation persistante et inexpliquée des transaminases hépatiques (ALAT ou ASAT) égale ou supérieure à trois fois la LSN (limite supérieure à la normale) (78).

Le mipomersen peut causer une élévation des transaminases hépatiques et de la graisse hépatique (stéatohépatite) pouvant évoluer vers la cirrhose avec ou sans augmentation dans les taux de transaminases.

Si les symptômes d'hépto-toxicité ou d'atteintes du foie tels que nausées, vomissements, douleurs abdominales, fièvre, jaunisse, léthargie, l'augmentation de la bilirubine égale ou supérieur à deux fois la LSN, ou une augmentation des transaminases hépatiques égale ou supérieure à trois fois la LSN, apparaissent le traitement par mipomersen doit être interrompu.

### Élévations des transaminases

Dans les essais cliniques contrôlés par placebo, des augmentations des taux de transaminases sériques, principalement ALAT, ont été observés telles que présentées dans le tableau 3. **Des niveaux d'ALAT  $\geq 3 \times$  LSN ont été rapportés à deux reprises consécutives et à au moins 7 jours d'intervalle chez 8,4% des patients** recevant un traitement par Kynamro<sup>®</sup> (contre 0% des patients sous placebo) avec 16,5% des patients recevant un traitement Kynamro<sup>®</sup> ayant au moins 1 résultat qui était  $\geq 3X$  LSN (contre 0,8% dans le groupe placebo). Les élévations d'ALAT observées dans les essais contrôlés par placebo ont été généralement accompagnées de moindres élévations d'ASAT. **Après l'arrêt du traitement, chez les patients chez lesquels une élévation a été observée, le retour aux valeurs de bases s'est fait sur une période de quelques semaines à quelques mois.**

<i>paramètre</i>	<i>statistique</i>	<b>Kynamro®</b>  (%)  (N=261)	<b>Placebo</b>  (%)  (N=129)
<b>ALAT maximum</b>	Taux d'incidence exprimé en %		
	≥ 3 x LSN et < 5 x LSN	12	1
	≥ 5 x LSN et < 10 x LSN	3	0
	≥ 10 x LSN	1	0
<b>ALAT</b>	≥ 3 x LSN, deux résultats consécutifs (au moins 7 jours d'intervalle), %	8	0
<b>ASAT maximum</b>	Taux d'incidence exprimé en %		
	≥ 3 x LSN et < 5 x LSN	7	1
	≥ 5 x LSN et < 10 x LSN	3	0
	≥ 10 x LSN	0	0
<b>ASAT</b>	≥ 3 x LSN, deux résultats consécutifs (au moins 7 jours d'intervalle), %	4	0

**Tableau 3. Taux de transaminases lors des essais de phase 3 contrôlés par placebo. (77)**

Limites supérieures à la normale (LSN) chez l'adultes : ALAT = 41 U/L et ASAT = 34 U/L.

### Stéatose hépatique

Les augmentations des taux de graisse du foie, mesurées par IRM étaient plus élevés chez les patients recevant un traitement par KYNAMRO® que chez les patients recevant le placebo. Les données des essais de phase 3 chez les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote et chez les patients atteints

d'hypercholestérolémie à haut risque, montrent **après 26 semaines de traitement, une augmentation moyenne de la fraction de matières grasses de 9,6%**, par rapport à la valeur de base, après un traitement Kynamro© (contre une augmentation de 0,02% dans le groupe placebo). La variation maximale de la fraction de matières grasses était de 46% pour le groupe Kynamro© et 28% pour le groupe placebo. 62% des patients recevant Kynamro© ont développé une augmentation de 5% ou plus de la graisse hépatique contre 8% des patients recevant le placebo. En général, ces élévations de la fraction de graisse ont diminué 24 semaines après l'arrêt du Kynamro©.

### Réactions au site d'injection

Les réactions indésirables les plus fréquemment rapportées étaient des réactions au site d'injection. 84% des patients recevant Kynamro© contre 33% des patients ayant reçu le placebo ont présenté cet EI. Les réactions les plus courantes au site d'injection étaient érythème (59%), douleur (56%), hématome (32%), prurit (29%), gonflement (18%) et décoloration (17%). Ces réactions ne se produisent pas à chaque injection. **Elles ont entraîné l'arrêt de Kynamro© chez 5% des patients.**

### Les symptômes pseudo-grippaux

Les symptômes pseudo-grippaux, définis comme : syndrome grippal, fièvre, frissons, myalgies, arthralgies, malaise ou fatigue et survenant dans les 2 jours suivant l'injection, ont été rapportés plus fréquemment chez les patients recevant le Kynamro© (29,9%) que chez les patients recevant le placebo (16,3%). **Ces symptômes ont entraîné l'arrêt de Kynamro© chez 2,7% des patients. Dans l'étude d'extension**, dans laquelle tous les patients ont reçu un traitement par Kynamro©, 66% ont rapporté des symptômes pseudo-grippaux, **25% ont abandonné le traitement en raison de symptômes pseudo-grippaux.**

### Programme de distribution sécurisée :

Du fait du risque d'hépto-toxicité, mipomersen n'est disponible que par le biais d'un programme restreint appelé REMS, dans lequel seuls les fournisseurs de soins de santé et les pharmacies certifiées peuvent prescrire et distribuer ce médicament (79).

Les patients doivent avoir un bilan hépatique complet, bilirubine totale et des tests de phosphatase alcaline avant le début du traitement et par la suite une surveillance en fonction des niveaux des transaminases hépatiques.

Les objectifs du programme REMS sont d'éduquer les fournisseurs de soins de santé et les patients sur le risque d'hépatotoxicité, d'assurer aux patients une surveillance hépatique, et de limiter l'utilisation de mipomersen aux patients souffrant d'hypercholestérolémie familiale homozygote ou une sévère HFHe seulement (79).

## **VI. Dosage, administration, stockage.**

**La dose recommandée de Kynamro® chez l'Homme est de 200 mg une fois par semaine en injection sous-cutanée. La réduction maximale du LDL-C par le traitement par mipomersen est observée après environ six mois.** Kynamro® est disponible dans un flacon à usage unique ou une seringue pré-remplie. Chaque flacon ou seringue pré-remplie de Kynamro® fournit 200 mg de mipomersen dans un volume injectable de 1 ml de solution et est destiné à un usage unique. La solution est incolore à légèrement jaune.

Le médicament doit être conservé au réfrigérateur entre 2 °C et 8 °C (80). Il est conseillé de laisser la solution atteindre la température ambiante pendant au moins 30 minutes avant l'administration. La première injection de Kynamro® doit être effectuée sous la direction et la supervision d'un professionnel de la santé qualifié.

Kynamro® doit être injecté dans l'abdomen, dans la région externe de la cuisse, ou dans la zone extérieure de la partie supérieure du bras. Les sites d'injection doivent être alternés. Si aucun réfrigérateur n'est disponible, il peut être stocké à une température inférieure à 30 °C, loin des sources de chaleur pour une durée n'excédant pas 14 jours (80).

## VII. Populations spécifiques

### 1. Grossesse / Allaitement

Le mipomersen est classé dans la catégorie de grossesse B (tableau 4 en annexe). Cependant, aucune étude adéquate et bien contrôlée n'a été effectuée chez la femme enceinte.

Les études chez l'animal n'ont montré aucun dommage chez le fœtus durant la grossesse. Puisque les études de reproduction chez l'animal ne sont pas toujours prophétiques de la réponse humaine, ce médicament ne devrait pas être utilisé pendant la grossesse. Bien que l'on ignore si mipomersen est excrété dans le lait humain, la prudence s'impose lorsque mipomersen est administré à la mère qui allaite. Les femmes qui contractent une grossesse pendant le traitement par Kynamro® doivent en informer leur médecin. Les femmes en âge de procréer doivent utiliser une **contraception efficace pendant le traitement par Kynamro®**. Les études de reproduction et de développement embryonnaire chez la souris et le lapin, ne montrent aucun signe d'altération de la fertilité ou de dommage au fœtus.

## 2. Population pédiatrique

Il n'y a aucune ligne directrice spécifique concernant l'utilisation de mipomersen en population pédiatrique, même si un essai clinique comprenant 7 patients de moins de 18 ans sur 51 patients au total a été mené. Aucune différence dans les effets indésirables survenus chez les patients de moins de 18 ans et dans ceux survenus dans le groupe des patients plus âgés, n'a été constatée. Les informations de prescription du mipomersen déclare, «**La sécurité et l'efficacité de mipomersen n'a pas été établie en pédiatrie** » (80). Plus d'essais cliniques sont nécessaires pour déterminer l'innocuité et l'efficacité de mipomersen dans cette population.

## 3. Gériatrie

Les études cliniques de Kynamro<sup>®</sup> ne comprennent pas un nombre suffisant de patients âgés de 65 ans et plus pour déterminer s'ils répondent différemment aux patients plus jeunes. Parmi les 51 patients inclus dans l'étude de phase 3 dans l'HFHo, l'âge moyen était de 31 ans et le plus âgé des patients de l'essai était âgé de 53 ans. Sur les 261 patients qui ont reçu Kynamro<sup>®</sup> dans la phase 3 des essais, 59 (22,6%) étaient âgés de 65 ans et 10 (3,8%) étaient âgés de 75 ans. Dans les essais de phase 3, les patients de plus de 65 ans traités avec Kynamro<sup>®</sup> avaient une incidence plus élevée d'hypertension artérielle et d'œdèmes périphériques par rapport aux patients sous placebo dans ce groupe d'âge, ainsi que par rapport à la tranche d'âge plus jeune traitée par le Kynamro<sup>®</sup>. La stéatose hépatique a également été rapportée avec une fréquence accrue dans le groupe des plus de 65 ans (13,6%) comparativement au groupe des moins de 65 ans (10,4%) (80).



## 4. Insuffisant rénal

L'innocuité et l'efficacité du traitement par Kynamro® chez les patients présentant une insuffisance rénale connue ou chez les patients subissant une dialyse rénale n'a pas été établie. En raison de l'absence de données cliniques, Kynamro® est déconseillé chez les patients présentant une insuffisance rénale sévère, une protéinurie cliniquement significative ou chez les patients dialysés.

## 5. Insuffisant hépatique

L'innocuité et l'efficacité du traitement par Kynamro® chez les patients présentant une insuffisance hépatique connue n'a pas été établie. Kynamro® est contre-indiqué chez les patients présentant une insuffisance hépatique cliniquement significative, qui peut inclure des élévations persistantes des transaminases. Le traitement par Kynamro® entraîne un risque d'hépatotoxicité et peut provoquer des élévations des transaminases. **Dans les essais cliniques chez des patients atteints HFHo, 4 (12%) des 34 patients traités par Kynamro® contre 0% des 17 patients traités par placebo avait une élévation de l'alanine aminotransférase (ALAT) au moins 3 fois supérieure aux valeurs normales.** Kynamro® augmente aussi la graisse hépatique, avec ou sans augmentation concomitante des transaminases. Dans les essais chez les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote (HFHe) et d'hyperlipidémie, l'augmentation en graisse hépatique était de 10% après 26 semaines de traitement, de 0% au départ, mesurée par imagerie par résonance magnétique (IRM). La stéatose hépatique est un facteur de risque pour le foie, y compris la stéato-hépatite et la cirrhose.

Il est impératif de mesurer les taux d'ALAT, d'ASAT, de phosphatase alcaline, et la bilirubine totale avant d'initier le traitement, puis ALAT, ASAT régulièrement. Pendant le traitement, la dose de Kynamro® ne doit pas être administrée si les

valeurs d'ALAT ou d'ASAT sont au minimum supérieures à 3 fois les valeurs normales. Si l'élévation des transaminases est accompagnée par des symptômes cliniques de lésion hépatique (par exemple, nausées, vomissements, douleurs abdominales, fièvre, jaunisse, léthargie, des symptômes pseudo-grippaux), d'une élévation de la bilirubine  $\geq 2$  fois celle la valeur normale, ou une maladie hépatique active, il faut interrompre le traitement par Kynamro<sup>®</sup> et identifier la cause probable.

L'alcool peut augmenter les niveaux de graisse hépatique et induire ou aggraver une lésion hépatique. Les patients prenant Kynamro<sup>®</sup> ne doivent pas consommer plus d'un verre d'alcool par jour.

La prudence est nécessaire lors de l'utilisation de Kynamro<sup>®</sup> avec d'autres médicaments connus pour avoir un potentiel d'hépatotoxicité (l'isotrétinoïne, l'amiodarone, le paracétamol (> 4 g / jour pendant  $\geq 3$  jours / semaine), le méthotrexate, les tétracyclines...). L'effet de l'administration concomitante de Kynamro<sup>®</sup> avec d'autres médicaments hépatotoxiques est inconnu. Une surveillance plus fréquente des tests hépatiques peut être justifiée.

	<b>RECOMMANDATIONS DE SURVEILLANCES HEPATIQUES</b>
<b>EN DEBUT DE TRAITEMENT</b>	ASAT, ALAT, Phosphatase alcaline et bilirubine totale
<b>LORS DE LA PREMIERE ANNEE DE TRAITEMENT</b>	ASAT et ALAT une fois par mois
<b>APRES LA PREMIERE ANNEE DE TRAITEMENT</b>	ASAT et ALAT tous les 3 mois

**Tableau 4. Recommandations de dosages hépatiques pendant le traitement par Kynamro<sup>®</sup>. (81)**

ALAT ou ASAT	Recommandations de suivi et de traitement
<b>≤3x et 5x ≥ VSN</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-confirmer l'élévation par une mesure à J+7</li> <li>- si elle est confirmée, obtenir des analyses hépatiques supplémentaires (bilirubine, phosphatase alcaline, INR) et rechercher la cause probable.</li> <li>- En cas de reprise de Kynamro® après le retour à la normale des taux de transaminases, envisager des tests de suivi hépatique plus fréquemment.</li> </ul>
<b>≥5x VSN</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-obtenir des analyses hépatiques supplémentaires (bilirubine, phosphatase alcaline, INR) et rechercher la cause probable.</li> <li>- En cas de reprise de Kynamro® après le retour à la normale des taux de transaminases, envisager des tests de suivi hépatiques plus fréquemment.</li> </ul>

**Tableau 5. Résumé des recommandations de suivi en cas d'élévation des transaminases en cours de traitement. (81)**

VSN : Valeur supérieur de la normale

## VIII. Economie

Les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale homozygote répondent habituellement moins efficacement aux statines que les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote. Ces patients exigent habituellement une aphérèse des lipides comme option de traitement supplémentaire (82) (83).

Actuellement aux Etats-Unis, on estime à 315 le nombre de patients atteints d'HFHo et à 650 000 le nombre de patients atteints d'HFHe (84).

L'utilisation de l'aphérèse des lipides, permet une réduction d'environ 53% du taux de LDL-C avec une séance hebdomadaire ou bi-hebdomadaire (en moyenne de 19 mmol / L avant séance à 12 mmol / L après séance) (82). **Le coût estimé pour une aphérèse des lipides est de 4000 \$ par intervention. Les patients ayant une**

**procédure hebdomadaire (HFHo) paieront \$ 208 000 par an, aux Etats-Unis, sans compter le transport des malades vers un centre de traitement (85). Le coût de mipomersen est de \$ 4 068 par injection, pour une semaine de traitement, soit \$ 176 000 par an (86).**

Un autre médicament, actuellement approuvé par la FDA pour le traitement de l'hypercholestérolémie familiale homozygote est le Lomitapide (Juxtapid®). C'est un médicament, disponible sous forme de comprimés dosés à 5, 10 ou 20 mg. Le coût d'une boîte de 28 comprimés est de \$ 27 156. Selon la dose nécessaire, le coût annuel varie de \$ 235,000 à \$ 295,000 (87).

En comparant le coût de mipomersen à l'aphérèse des lipides ou au Lomitapide, une économie de \$ 59,000 à \$ 119,000 par an, peut être envisagée avec le Kynamro© pour une efficacité équivalente. De plus le mipomersen est administré en injection hebdomadaire, ce qui augmente la qualité de vie des patients comparé à une LDL-aphérèse hebdomadaire qui doit se faire en centre spécialisé en séances de deux à trois heures.

**Outre ces considérations économiques, l'intérêt majeur du mipomersen est de diminuer les taux de LDL chez les patients n'ayant pas un contrôle suffisant avec les thérapies actuelles, qui sont en échec thérapeutique sans options de traitement, et pour qui le Kynamro© est à ce jour la seule alternative.**

## **IX. Décisions du Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) en Europe, et de la Food and Drugs Administration (FDA) aux Etats-Unis. (88)**

### **Avis du CHMP :**

Le CHMP conclu à une incertitude sur la connaissance des effets indésirables, le nombre de patients traités par Kynamro© pendant au moins 6 à 12 mois étant limité.

### Innocuité cardiovasculaire :

Les études cliniques ont montrées une différence statistique d'événements cardiovasculaires et d'hypertension entre les groupes traités par mipomersen et par placebo. Les patients étant à haut risque de maladies cardiovasculaires, la relation entre ces effets et la prise de Kynamro® est difficile à établir. De plus, l'accumulation de graisse dans le foie, induite par mipomersen, pourrait à long-terme être considérée comme un facteur favorisant le risque CV.

### Innocuité hépatique :

L'accumulation de graisse dans le foie au fil du temps peut évoluer vers une fibrose hépatique. Les données cliniques n'ont pas permis de déterminer si ces effets sont réversibles lors d'une utilisation à long-terme et pour tous les patients. Les doutes sur l'hépatotoxicité, l'accumulation de graisse, et le développement possible d'une cirrhose demeurent et imposent une surveillance des taux d'enzymes hépatiques ainsi que par des techniques d'imagerie. Aussi, de nombreux patients développent une fibrose sans augmentation des taux enzymatiques. Par conséquent, les patients devraient également subir des biopsies régulières de foie. La conduite des biopsies est estimée à une fréquence de 2 ans, ainsi qu'après une augmentation des taux d'ALAT, ou lorsque la teneur en graisse du foie augmente.

### Tumeurs :

Un nombre accru de tumeurs nouvellement diagnostiqués a été observée: 22 avec mipomersen (9 malignes) et 2 dans le groupe placebo (1 maligne). Ces tumeurs n'ont pas été systématiquement évaluées et aucun modèle dans le type de néoplasie n'a été observé. Des conclusions définitives sont difficiles à apporter, sachant que les examens de base n'étaient pas toujours effectués. L'incidence accrue de tumeurs chez les patients traités par mipomersen, observée dans les essais cliniques demeure une **question non résolue et préoccupante**.

Importance des effets favorables et défavorables :

**Mipomersen a engendré des réductions significatives des niveaux de LDL-C à la fois, chez les patients HFHo et chez les patients atteints de forme grave hétérozygote, ainsi que chez les patients HFHe moins sévère et chez les hypercholestérolémiques avec antécédents CV.** L'efficacité chez les personnes homozygotes ayant des niveaux de LDL-C mal contrôlés et manquant de thérapie adéquate, démontre un besoin médical évident dans cette population. Bien que l'effet à long-terme de la réduction des lipides de mipomersen sur les événements cardiovasculaires ne soit pas actuellement établi, la baisse des taux de cholestérol LDL est considérée comme un critère important avec des avantages potentiels en termes de morbi-mortalité cardiovasculaire.

**L'effet favorable sur le LDL-C de mipomersen à long-terme est, cependant, limité à une petite proportion de patients qui tolèrent la drogue.** Bien que l'effet d'abaissement du LDL-C soit incontestable et censé aboutir à une réduction du risque CV, il est difficile de savoir si cela pourrait contrecarrer les effets défavorables parallèles.

**L'administration sous-cutanée hebdomadaire de 200mg de mipomersen a entraîné des effets défavorables importants conduisant environ 50 à 70% des patients à l'arrêt du traitement dans les 2 ans.** Des symptômes pseudo-grippaux, des réactions au site d'injection et une toxicité hépatique ont eu un impact majeur sur la tolérance de mipomersen. La toxicité hépatique progressive à long-terme, notamment l'apparition de stéatohépatite ne peut être exclue. **L'absence de méthodes de surveillance non invasives adéquates, pour la détection d'événements indésirables hépatiques à un stade précoce, a été considérée comme un inconvénient majeur et un motif de refus d'autorisation.**

En résumé, l'importance relative des effets favorables de mipomersen sur les paramètres lipidiques (sans une réduction des événements CV) est limitée par sa mauvaise tolérance et ne l'emporte pas sur l'importance clinique des effets défavorables et le nombre d'incertitudes pertinentes qui demeurent pour plusieurs d'entre eux.

Balance bénéfiques / risques :

**Elle est jugée négative** dans la population ciblée pour l'indication considérée. Mipomersen diminue de manière significative les niveaux de LDL-C par rapport au placebo à 6 mois chez les patients avec une hypercholestérolémie familiale homozygote, et hétérozygote sévère. L'efficacité est cependant supérieure aux statines. Toutefois, seule une partie limitée des patients peut bénéficier de cet effet favorable sur le long terme compte tenu de la mauvaise tolérance du traitement. En effet, un taux de retrait de 50% à 70% après 2 ans (étude CS6) qui pourrait même être une sous-estimation de ce qui pourrait se produire dans une population moins sélectionnée dans la pratique courante. Ceci diminue sérieusement le nombre de patients pouvant bénéficier de l'effet à long terme de la réduction des lipides par mipomersen. **Il est actuellement impossible de cibler une population, même dans l'indication restreinte à la population HFHo, le taux de poursuite après 3 ans de traitement n'étant que de 8%.**

Un profil de sécurité fiable n'a pas été démontré pour un médicament qui est destiné à une administration à vie. L'effet sur les paramètres lipidiques n'a pas été accompagné par un effet détectable sur la réduction de la mortalité CV. Au contraire, on a observé un taux plus élevé d'évènements CV pour mipomersen par rapport au placebo. Des incertitudes demeurent concernant les effets négatifs potentiels sur d'autres facteurs de risque cardio-vasculaires qui peuvent neutraliser tout effet bénéfique de la réduction du taux de LDL-C.

En outre, mipomersen induit une toxicité hépatique avec une relation claire entre l'exposition au mipomersen et la réduction du LDL-C, ainsi qu'entre l'exposition au mipomersen, la stéatose hépatique et l'intolérance au traitement. Par conséquent, les patients chez qui mipomersen est le plus efficace sont aussi les patients qui sont le plus susceptibles de développer une stéatose hépatique et donc un arrêt de traitement pour cause d'intolérance.

**Pour ces raisons, le CHMP a jugé défavorable le rapport bénéfice / risque du mipomersen, même limité à l'indication dans l'HFHo.**

### **Avis de la FDA :**

La FDA a approuvé Kynamro© via un programme de sécurité REMS (Risk Evaluation and Mitigation Strategy) visant à assurer une utilisation sûre, comprenant une certification des prescripteurs et des pharmacies pour la délivrance. Ainsi que des documents pour une utilisation sécurisée, en effet chaque nouvelle prescription nécessite un formulaire d'autorisation. Ce programme définit également les paramètres de surveillance hépatique, et limite l'indication du traitement aux patients HFHo et HFHe sévères (79).

**En plus de ces contraintes d'utilisations, la FDA exige quatre études de phase IV pour le Kynamro©, dont un programme de pharmacovigilance renforcé.**

La décision de la FDA d'autoriser le Kynamro© chez les patients les plus sévèrement touchés par l'HF, est basée sur la **surveillance étroite des effets indésirables**, ainsi que sur **l'absence d'alternative de traitements**.

## **X. Conclusion**

Mipomersen offre une réduction supplémentaire significative des taux de lipoprotéines athérogènes, difficile à traiter chez les patients HFHo ou HFHe, bien que ces patients soient généralement déjà traités avec la dose maximale de médicaments hypolipémiants tels que les statines ou l'ézétimibe. Mipomersen ne provoque pas d'interactions médicamenteuses avec les médicaments hypolipémiants ce qui est un avantage pour les patients qui auront besoin de prendre une combinaison de ces traitements.

Bien que l'importance clinique de l'augmentation des taux d'ASAT, d'ALAT et / ou de la teneur en graisse du foie qui se produit chez certains patients demeure incertaine, mipomersen n'entraîne pas de risque accru de stéatohépatite ou d'inflammation hépatocellulaire. Un retour de la teneur en graisse du foie à son état initial après un traitement de 1 an a été observé. Cela a montré la capacité du foie à



s'adapter à la drogue. Un bilan hépatique avant le début du traitement par mipomersen suivi par des tests réguliers de la fonction hépatique sont fortement recommandés.

La FDA a approuvé le mipomersen, malgré le risque accru d'insuffisance hépatique, comme un médicament orphelin pour les patients HFHo comme traitement adjuvant aux médicaments hypolipémiants actuellement disponibles. L'agence européenne des médicaments n'a pas approuvé la demande d'AMM pour le Kynamro®, en raison des effets hépatiques et également d'un risque accru de maladies cardiovasculaires (89).

Mipomersen est un représentant de la deuxième génération d'oligonucléotides antisens. Tous les ASO partagent des propriétés chimiques semblables, ils ne diffèrent que par leurs séquences, les données du mipomersen sont conformes aux observations faites avec d'autres ASO de deuxième génération en études. Mipomersen a un comportement cohérent et prévisible chez toutes les espèces et chez les patients en monothérapie et en combinaison. Mipomersen réduit de façon dose-dépendante l'apoB100 et toutes les lipoprotéines contenant des lipides athérogènes, cela en augmentant légèrement, ou du moins sans effet délétère sur les lipoprotéines de haute densité (HDL-C). Une réduction absolue du cholestérol, chez les patients avec une sévère HF, prédit une amélioration substantielle du risque cardiovasculaire avec un profil de sécurité cohérent. Les études de phase 1 et de phase 2 montrent que des doses supérieures à 200mg / semaines peuvent être utilisées et que cette augmentation de la dose, entraîne une plus grande réduction des lipides athérogènes. Bien sûr, à des doses plus élevées des effets secondaires supplémentaires pourraient être observés. Le profil unique, la prévisibilité de la réponse et le manque d'interactions médicamenteuses, suggère que mipomersen pourrait être bénéfique chez les patients souffrant de graves HF et qui ne peuvent atteindre des concentrations de lipides appropriés avec les traitements actuels. De plus, une étude réalisée chez des patients intolérants aux statines a montré que mipomersen pouvait avoir un rôle bénéfique (90).

Même s'il est encore controversé, le mipomersen démontre une forte activité, ainsi qu'une excellente sélectivité. Il est relativement simple à synthétiser, et diffuse dans de nombreux tissus. Le séquençage du génome humain, et la multitude de

maladies génétiques, laisse présager un fort développement des oligonucléotides antisens dans un avenir proche.

FACULTÉ DE PHARMACIE

UNIVERSITÉ DE  
RENNES 1

n° 4

NOM et Prénom : BONNAIRE Simon

TITRE DE LA THESE

**Les oligonucléotides antisens en thérapie, cas  
du Kynamro.**

Rennes, le

10/05/2016

Le Président de thèse :

*[Signature]*

Le Directeur de thèse :

*[Signature]*

18 MAI 2016

VU et Permis d'imprimer

Le Président de l'Université de Rennes1.

Président et par délégation  
Le Vice-Président

D.ALIS

*[Signature]*

## Bibliographie

1. **Parhofer K**, . *Mipomersen: evidence-based review of its potential in the treatment of homozygous and severe heterozygous familial hypercholesterolemia*. 2012.
2. **Robinson J**, . *Management of familial hypercholesterolemia: a review of the recommendations from the National Lipid Association Expert panel on familial hypercholesterolemia*. 2013.
3. **BENLIAN, Dr Pascale**. orpha.net. [Online] juillet 2008. [Cited: décembre 14, 2015.] [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=FR&data\\_id=268&MISSING%20CONTENT=Hypercholesterolemie-familiale-heterozygote&search=Disease\\_Search\\_Simple&title=Hypercholesterolemie-familiale-heterozygote](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=268&MISSING%20CONTENT=Hypercholesterolemie-familiale-heterozygote&search=Disease_Search_Simple&title=Hypercholesterolemie-familiale-heterozygote).
4. *has-santé.fr*. [Online] janvier 8, 2014. [Cited: décembre 14, 2015.] [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-13260\\_LOJUXTA\\_PIC\\_INS\\_Avis1\\_CT13260.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-13260_LOJUXTA_PIC_INS_Avis1_CT13260.pdf).
5. **Hopkins P, Toth P, Ballantyne C, Rader D**. *Familial hypercholesterolemias: prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia*. 2011.
6. **al., Piljman et.** *Atherosclerosis*. 2010.
7. **Goldstein J, Hobbs H, Brown M**. *Familial hypercholesterolemia*. 2001.
8. **Raal F, Santos R, Blom D, Marais A, Charng M, Cromwell W, & al.** *Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: a randomized, double blind, placebo controlled trial*. 2010.
9. **Liyanage K, Burnett J, Hooper A, van Bockxmeer F**. *Familial hypercholesterolemia: epidemiology, Neolithic origins and modern geographic distribution*. 2011.
10. **Bell D, Hooper A, Watts G, Burnett J**. *Mipomersen and other therapies for the treatment of severe familial hypercholesterolemia*. 2012.
11. **Leigh S, Foster A, Whittall R, Hubbart C, Humphries S**. *Update and analysis of the University College London Low Density Lipoprotein Receptor Familial Hypercholesterolemia database*. 2008.
12. **Abifadel M, Rabes J, Devillers M, Munnich A, Erlich D**. *Mutation and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK 9) gene in cholesterol metabolism and disease*. 2009.
13. **Alborn W, Cao G, Careskey H, Qian Y, Subramaniam D, Davies J**. *Serum proprotein convertase subtilisin kexin type 9 is correlated directly with serum LDL Cholesterol*. 2007.
14. **Tada H, Kawashiri M, Ohtani R**. *A novel type of familial hypercholesterolemia: double heterozygous mutations in LDL receptor and LDL receptor adaptor protein 1 gene*. 2011.

15. **Marduel, et al.** *Human Mutations. Mutation in Brief.* 2010.
16. **Bruckert, et al.** *Consensus Cardio pour le praticien.* 2009.
17. **Kumar, et al.** *Robbins and Cotran. Pathologic Basis of Disease.* 2009.
18. fhcanada.net. [Online] 2014. [Cited: mars 29, 2016.]  
[http://www.fhcanada.net/?page\\_id=392&lang=fr](http://www.fhcanada.net/?page_id=392&lang=fr).
19. www.lab-cerba.com. [Online]
20. **Young S, .** *Recent progress in understanding apolipoprotein B.* 1990.
21. **Sahekar A, Watts G.** *New LDL-cholesterol lowering therapies: pharmacology, clinical trials, and relevance to acute coronary syndromes.* 2013.
22. **Parhofer k, .** *Mipomersen: evidence-based review of its potential in the treatment of homozygous and severe heterozygous familial hypercholesterolemia.* 2012.
23. **Elis A, Zhou R, Stein A.** *Effect of lipid-lowering treatment on natural history of heterozygous familial hypercholesterolemia in past three decades.* 2011.
24. **Thompson G, .** *Lipoprotein apheresis.* 2010.
25. *cardio-online.fr.* [Online] juillet 21, 2015. [Cited: décembre 14, 2015.] <http://www.cardio-online.fr/Actualites/Actualites/APM-International/AMM-europeenne-pour-l-hypocholesterolemiant-anti-PCSK9-Repatha>.
26. **sanofi.** <https://www.praluent.com/>. [Online] septembre 2015. [Cited: decembre 14, 2015.] <https://www.praluent.com/>.
27. **Barkowski R, Frishman W.** *HDL metabolism and CETP inhibition.* 2008.
28. **Cohen J, Boerwinkle E, Mosley T, Hobbs H.** *Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease.* 2006.
29. **Sanofi.** *sanofi.com.* [Online] janvier 29, 2013.  
[http://www.sanofi.com/Images/31557\\_20121214\\_KYNAMRO\\_fr.pdf](http://www.sanofi.com/Images/31557_20121214_KYNAMRO_fr.pdf).
30. **sanofi.** *sanofi.com.* [Online] janvier 29, 2013.  
[http://www.sanofi.com/Images/31810\\_20130129\\_KYNAMRO-FDA-APPROVAL\\_fr.pdf](http://www.sanofi.com/Images/31810_20130129_KYNAMRO-FDA-APPROVAL_fr.pdf).
31. *Advances in Antisense Oligonucleotide Development for Target Identification, Validation, and as Novel Therapeutics.* **Melendez., Moizza Mansoor and Alirio J.** s.l. : Gene Regulation and Systems Biology., 2008, Vol. 2. PMC2733095.
32. **Koziolkiewicz M, Gendaszewska E, Maszewska M.** *The mononucleotide-dependent, nonantisense mechanism of action of phosphodiester and phosphorothioate oligonucleotides depends upon the activity of an ecto-5'-nucleotidase.* 2001.
33. **EXIQON.** The structure of LNA™. *exiqon.com.* [Online] [Cited: 02 12, 2016.]  
<http://www.exiqon.com/Is/PublishingImages/Figures/LNA-molecule.htm>.
34. **Kurreck J, Wyszko E, Gillen C, Erdmann VA.** *Design of antisens oligonucleotides stabilized by locked nucleic acids.* 2002.

35. **Frieden M, Hansen HF, Koch T.** *Nuclease stability of LNA oligonucleotides and LNA-DNA chimeras, Nucleosides Nucleotides Nucleic acids.* 2003.
36. **Huynh., Vu Manh.** vietsciences.free.fr. [Online] 2008.  
<http://vietsciences.free.fr/timhieu/khoahoc/ykhoa/miRNA-pptrilieuungthu.htm>.
37. **EXIQON.** exiqon.com. [Online] [Cited: 02 12, 2016.]  
<http://www.exiqon.com/Is/PublishingImages/Figures/gapmer-structure.htm>.
38. **Claude Hélène, Ester Saison-Behmoaras.** *ipubli.inserm.fr.* [Online] octobre 1994.  
[http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2604/1994\\_3\\_253.pdf?sequence=1](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2604/1994_3_253.pdf?sequence=1).
39. **Unknowned.** <http://biology-pages.info/>. [Online] mai 24, 2015.  
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/A/AntisenseODNs.html>.
40. **Vivek K. Sharma, Pallavi Rungta ,Ashok K. Prasad.** *Nucleic acid therapeutics: basic concepts and recent developments.* 2014.
41. **Jager RD, Aiello LP, Patel SC, Cunningham ET Jr.** Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. *Retina.* 2004, Vol. 24, 5.
42. **Fung AE, Rosenfeld PJ, Reichel E.** The International Intravitreal Bevacizumab Safety Survey: using the internet to assess drug safety worldwide. *Ophthalmol.* 2006, Vol. 90, 11.
43. **Mendell JT, Olson EN.** MicroRNAs in stress signaling and human disease. *Cell.* 2012, 148.
44. **E., van Rooij.** Introduction to the series on microRNAs in the cardiovascular system. *Circ Res.* 2012, 110.
45. **van Rooij E, Olson EN.** MicroRNA therapeutics for cardiovascular disease: opportunities and obstacles. *Nat Rev Drug Discov.* 2012, 11.
46. **Stenvang J, Petri A, Lindow M, Obad S, Kauppinen S.** Inhibition of microRNA function by anti-miR oligonucleotides. *Silence.* 2012, 3.
47. **Thorsen SB, Obad S, Jensen NF, Stenvang J, Kauppinen S.** The therapeutic potential of microRNAs in cancer. *Cancer j.* 2012, 18.
48. **V., Ambros.** The functions of animal microRNAs. *Nature.* 2004, 431.
49. **DP., Bartel.** MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Nature.* 2009, Vol. 136.
50. **Eva van Rooij, Sakari Kauppinen.** [Online] EMBO Molecular Medicine., juin 16, 2014. [Cited: mars 7, 2016.]  
<http://embomolmed.embopress.org/content/early/2014/06/16/emmm.201100899.full>.
51. **Miravirsen (SPC3649) can inhibit the biogenesis of miR-122. Luca F. R. Gebert, Mario A. E. Rebhan, Silvia E. M. Crivelli, R emy Denzler, Markus Stoffel, Jonathan Hall.** 42, Oxford : Oxford University Press., 2013. 609–621..
52. **Schmidt., Marco F.** *Drug target miRNAs: chances and challenges.* Cambridge : s.n., 2014.

53. **Lindow M, Kauppinen S.** Discovering the first microRNA-targeted drug. *Cell biol.* 2012, 199.
54. inserm.fr. [Online] inserm. [Cited: mars 17, 2016.] <http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d-information/therapie-genique>.
55. **sarepta.** sarepta.com. [Online] [Cited: mars 17, 2016.] <https://www.sarepta.com/pipeline/exon-skipping-duchenne>.
56. **Rader D, Cohen J, Hobbs H.** *Monogenic hypercholesterolemia : new insights in pathogenesis and treatment.* 2003.
57. **Crooke RM, Graham MJ, Lemonidis KM, et al.** *An apolipoprotein B antisense oligonucleotide lowers LDL cholesterol in hyperlipidemic mice without causing hepatic steatosis.* 2005.
58. **Crooke RM, Baker BF, Wedel MK.** *Cardiovascular therapeutic applications.* 2007.
59. **Genzyme corp.** *KYNAMRO® (mipomersen sodium) injection prescribing information.* 2014.
60. **Gelsinger C, Steinhagen T, Kassner U.** *Therapeutic potential of mipomersen in the management of familial hypercholesterolaemia.* 2012.
61. **Powell.** *Cell.* 1987.
62. **Maartje E. Visser, Joseph L. Witztum, Erik SG Stroes, John JP Kastelein.** *Antisense oligonucleotides for the treatment of dyslipidaemia.* 2012.
63. **Geary RS, .** *Antisense oligonucleotide pharmacokinetics and metabolism.* 2009.
64. **Payal Kohli, Christopher P. Cannon, Dr Frank Bennett.** *A new approach to managing the 'statin-intolerant' patient?* 2012.
65. **Yu RZ, Kim TW, Hong A, et al.** *Cross-species pharmacokinetic comparison from mouse to man of a second-generation antisense oligonucleotide, ISIS 301012, targeting human apolipoprotein B-100.* 2007.
66. **Levin AA, Yu RZ, Geary RS.** *Basic principles of the pharmacokinetics of antisense oligonucleotide drugs.* 2007.
67. **RS Geary, Yu RZ, Siwkowski A, et al.** *Pharmacokinetic/pharmacodynamic properties of phosphorothioate 2'- O -(2-methoxyethyl)-modified antisense oligonucleotides in animal and man.* 2007.
68. **Yu RZ, Lemonidis KM, Graham MJ, et al.** *Cross-species comparison of in vivo PK/PD relationships for second-generation antisense oligonucleotides targeting apolipoprotein B-100.* 2009.
69. **Crooke ST, Geary RS.** *Clinical pharmacological properties of mipomersen (Kynamro), a second generation antisense inhibitor of apolipoprotein B.* 2013.

70. **Baek M, Yu RZ, Gaus H, Grundy JS, Geary RS.** *In vitro metabolic stabilities and metabolism of 2'- O -(methoxyethyl) partially modified phosphorothioate antisense oligonucleotides in reincubated rat or human whole liver homogenates.* 2010.
71. **Yu R, Geary R, Flaim J, Riley G, Tribble D, vanVliet A, et al.** *Lack of pharmacokinetic interaction of ISIS 301012, a 2'-O-methoxyethyl modified antisense oligonucleotide targeting apoB-100 mRNA, with oral lipid lowering agents, simvastatin and ezetimibe, when co-administered in healthy humansubjects.* 2009.
72. **Yu RZ, Geary RS, Flaim JD, et al.** *Lack of pharmacokinetic interaction of mipomersen sodium (ISIS 301012), a 2'- O -methoxyethyl modified antisense oligonucleotide targeting apolipoprotein B-100 messenger RNA, with simvastatin and ezetimibe, when co-administered in healthy human subjects.* 2009.
73. **Hovingh K, J B, Kastelein JJ.** *Efficacy and safety of mipomersen sodium (Kynamro).* 2013.
74. **Li Z, Hard ML, Grundy JS, et coll.** *Lack of clinical pharmacodynamic and pharmacokinetic drug-drug interactions between warfarin and the antisense oligonucleotide mipomersen.* 2014.
75. **Genzyme corp.** *Kynamro pharmacology review.* 2012.
76. **Henry, S.P., et al.** *Toxicologic Properties of 2'-O-Methoxyethyl Chimeric Antisense Inhibitors in Animals and Man.,* 2008.
77. **Genzyme corp.** *Kynamro, prescribing information.* 2015.
78. **Santos R, Duell P, East C, Guyton J, Moriarty P, Chin W, & al.** *Long-term efficacy and safety of mipomersen in patients with familial hypercholesterolemia: 2 year interm results of an open-label extension.* 2013.
79. **Genzyme corp.** *Kynamro (mipomersen sodium) injection, solution.* 2013.
80. —. *Product Information.* 2013.
81. **Genzyme.** *KYNAMRO, RISK EVALUATION AND MITIGATION STRATEGY (REMS).* 2014.
82. **Gagne C, Gaudet D, Bruckurt E.** *Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous hypercholeterolemia.* 2002.
83. **Walji S, Neuwirth C, Thompson G.** *Lipoprotein apheresis for the treatment of familial hypercholeterolemia.* 2013.
84. **Vishwanath R, Hemphill L.** *Familial hypercholesterolemia and estimation of US patients eligible for low-density lipoprotein apheresis after maximally tolerated lipid-lowering.* 2014.
85. **Cassagnol M, Ezzo D, Patel P.** *New therapeutic alternatives for the managmeent of dyslipidemia.* 2013.
86. <http://www.fiercepharma.com/sales-and-marketing/genzyme-s-176k-kynamro-price-undercuts-its-250k-plus-rival>. [Online] [Cited: avril 26, 2016.]



87. *medicalletter*. [Online] avril 1, 2013. [Cited: Novembre 30, 2015.] [www.medicalletter.org](http://www.medicalletter.org).
88. **committee for medicinal products for human use**. *ema.europa.eu*. [Online] mars 21, 2013. [Cited: décembre 21, 2015.]  
[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Public\\_assessment\\_report/human/002429/WC500144511.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002429/WC500144511.pdf).
89. **agency, european medicines**. *ema.europa.eu*. [Online] mars 21, 2013. [Cited: décembre 15, 2015.]  
[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002429/smps/Negative/human\\_smop\\_000460.jsp&mid=WC0b01ac058001d127](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002429/smps/Negative/human_smop_000460.jsp&mid=WC0b01ac058001d127).
90. **Visser Wagener G, Baker BF, Geary RS, Donovan JM, Beuers UH, Nederveen AJ, Verheij J, voyage MD, Basart DC, Kastelein JJ, Stroes ES**. *Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, lowers low-density lipoprotein cholesterol in high-risk statin-intolerant patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. 2012.
91. **Genzyme**. *Tertiary Pharmacology/Toxicology Review*. 2012.
92. **Visser M, Witztum J, Stroes E, Kastelein J P**. *Antisense oligonucleotides for the treatment of dyslipidemia*. 2012.
93. **Kastelein JJ, Wedel M, Baker B**. *Potent reduction of apolipoprotein B and low density lipoprotein cholesterol by short-term administration of an antisense inhibitor of apolipoprotein B*.
94. **Mullick A, Fu W, Graham M**. *Antisense oligonucleotide reduction of apoB ameliorated atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice*. 2011.
95. **Bennett C, Swayze E**. *RNA targeting therapeutics: molecular mechanism of antisense oligonucleotides as a therapeutic platform*. 2010.
96. **Akdim F, Stroes E, Kastelein JJ**. *Antisense apolipoprotein B therapy : where do we stand?* 2007.
97. **McKay R, Miraglia L, Cummins L, Owens S, Sasmor H, Dean N**. *Characterization of a potent and specific class of antisense oligonucleotide inhibitor of human protein kinase C- $\alpha$  expression*. 1999.
98. **Yu R, Zhang H, Geary R**. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of an antisense phosphorothioate oligonucleotide targeting Fas mRNA in mice*. 2001.
99. **Crooke R, .** *Antisense oligonucleotide as therapeutics for hyperlipidemia*. 2005.
100. **Goldberg A, .** *Novel therapies and new targets of treatment for familial hypercholesterolemia*. 2010.
101. **ISIS Pharm**. *isispharm.com*. [Online] 2015. [Cited: décembre 12, 2015.]  
<https://www.isispharm.com/pipeline/kynamro/>.
102. *Chemistry & biology*. . **Dwaine A Braasch, David R Corey**. 1, Dallas : Cell press, 2001, Vol. 8. 10.1016/S1074-5521(00)00058-2.

# **ANNEXES**

Compagnie	cible miARN	Mode d'action	Indication	statut
Santaris Pharma	miR-122	antimiR	HCV	Clinique de phase II
mirna Therapeutics	miR-34	imiter	Cancer primitif du foie inopérable	Phase clinique I
	let-7	imiter	Cancer	préclinique
Regulus Therapeutics	miR-122	antimiR	HCV	Phase clinique I
	miR-221	antimiR	Carcinome hépatocellulaire	préclinique
	miR-10b	antimiR	Glioblastome	préclinique
	miR-21	antimiR	Carcinome hépatocellulaire	préclinique
	miR-21	antimiR	Fibrose rénale	préclinique
	miR-33	antimiR	Athérosclérose	préclinique
Miragen Therapeutics	miR-208	antimiR	Cardiopathie	préclinique
	miR-15/195	antimiR	Post-MI remodelage	préclinique
	miR-145	antimiR	Maladie vasculaire	préclinique
	miR-451	antimiR	Syndrome myéloprolifératif	préclinique
	miR-29	imiter	Fibrose	préclinique
	miR-208	antimiR	Maladie cardiométabolique	préclinique
	miR-92	antimiR	Maladie artérielle périphérique	préclinique

**Tableau 6. Molécules ciblant les microARN en développement en 2016. (50).**

Genzyme (ISIS) Study Number	Study Title
GT-348-EF-8 (EX/2401-170)	Concentration-Response Effect of Multiple Apo B Antisense Oligonucleotides on the Levels of Apo B mRNA after 24 Hr in HepG2 Cells
GT-348-EF-9 (EX/2359-75)	Effect of Concentration on the Inhibition of Apo B mRNA after 24 and 48-Hour Treatment with ISIS 301012 in Hep3B and HepG2 Cells
GT-348-EF-33	SNP Discovery for Antisense Oligonucleotide Target Regions
GT-348-EF-34	BLAST and Complimentary Gene Expression Analysis for ISIS 301012
GT-348-EF-1 (EX/2551-31)	Effect of a Murine Apo B ASO (ISIS 147764) Upon Intestinal [14C]-Oleic Acid Absorption in C57BL/6 Mice
GT-348-EF-12 (EX/2293-06)	Onset of Action of Apo B ASO Treatment in a High Fat Fed Mouse Model
GT-348-EF-6 (EX/1848-13)	Evaluation of Murine Apo B Antisense Oligonucleotide in Lean C57BL/6 Mice
GT-348-EF-7 (EX/2551-03)	Evaluation of Apo B ASO Treatment in a Lean Mouse Model
GT-348-EF-10 (EX/2016-03)	Dose Response Evaluation of Apo B ASO Treatment in a High Fat Mouse Model
GT-348-EF-4 (EX/2293-12)	Dose Response Evaluation of Apo B ASOs in High Fat Fed C57BL/6 Mice
GT-348-EF-11 (EX/2016-22)	Evaluation of Apo B ASO Effects in Combination with Atorvastatin in a High Fat Mouse Model
GT-348-EF-3 (EX/2293-07)	Duration of Action Evaluation of Apo B ASO Treatment in High Fat Fed C57BL/6 Mice
GT-348-EF-19 (MA7)	Global Gene Expression Profiling in Mice Treated with Atorvastatin and Apo B ASO
GT-348-EF-18 (MA11)	Kinetics of Global Gene Expression Changes in Liver RNA of Mice Treated with ApoB ASO (ISIS 147764) Over 4 Weeks as Determined by Affymetrix Gene Chips
GT-348-EF-24 (EX/3309-059)	Analysis of Lipoprotein Secretion and Liver Lipid Concentrations in High-Fat Fed Mice Administered Apo B ASO (ISIS 147764) or MTP ASO (ISIS 144477) for Six Weeks
GT-348-EF-25 (EX/3309-172)	Analysis of Fatty Acid Synthesis and Other Metabolic Parameters in DIO C57BL/6 Mice Treated with Either Apo B or MTP ASOs
GT-348-EF-22 (EX/3315-49)	Metabolomic Analysis of DIO C57BL/6 Mice Treated with a Murine Specific Apo B Antisense Oligonucleotide
GT-348-EF-30 (EX/2551-32)	Effect of a Murine Apo B ASO on Apo B-48 Levels in High Fat Fed C57BL/6 Mice
GT-348-EF-5 (EX/2293-20)	Long Term Evaluation of Apo B Treatment in High Fat Fed C57BL/6 Mice
GT-348-EF-20 (EX/3261-01)	A 12-Week Onset of Activity Study in High Fat Fed C57BL/6 Mice: Metabolomic and Transcriptional Comparison of an Apo B ASO, MTP ASO and a Small Molecule MTP Inhibitor

<b>GT-348-EF-20a (EX/3261-01a)</b>	Effect of Murine ApoB and MTP ASO Treatment on Hepatic Endoplasmic Reticulum Stress and Heat Shock Proteins
<b>GT-348-EF-21 (EX/3310-29)</b>	Analysis of Fatty Acid Synthesis and Other Metabolic Parameters in DIO C57BL/6 Mice Treated with Apo B Antisense Oligonucleotides
<b>GT-348-EF-14 (EX/2293-10)</b>	Evaluation of Apo B ASO Dose-Dependent Effects in LDLr <sup>-/-</sup> -Deficient Male and Female Mice
<b>GT-348-EF-27 (EX/3309-244)</b>	Analysis of Lipoprotein Particles in Western Diet-Fed LDLr <sup>-/-</sup> Mice Administered ApoB and MTP Antisense Oligonucleotides
<b>GT-348-EF-26 (EX/3309-152)</b>	Apo B vs. MTP ASO Comparison in LDLr <sup>-/-</sup> Mice Fed a High Fat, High Cholesterol Diet
<b>GT-348-EF-17 (EX/3381-47)</b>	Effect of ISIS 147764 on Atherosclerosis in LDLr <sup>-/-</sup> Mice
<b>GT-348-EF-16 (EX/2947-01)</b>	Effect of ISIS 301012 on Atherosclerosis in Human Apo B-100, LDLr <sup>-/-</sup> Transgenic Mice
<b>GT-348-EF-15 (EX/2551-41)</b>	Effect of ISIS 147764 on Atherosclerosis in ApoE-Deficient Mice
<b>GT-348-EF-2 (EX/2016-06)</b>	Evaluation of Increasing Doses of a Murine Apo B ASO in ApoE-Deficient Mice
<b>GT-348-EF-13 (EX/2016-19)</b>	Kinetic Evaluation of a Murine Apo B-ASO in ApoE-Deficient Mice
<b>GT-348-EF-29 (EX/2653-12)</b>	Effect of Species-Specific Apo B ASOs in Lean Hamsters After 3 Weeks of Treatment
<b>GT-348-EF-28 (GL/1521-101)</b>	An Exploratory Study to Evaluate the Potential Effects of Four Rabbit Apo B Antisense Oligonucleotides on Hepatic mRNA Levels in Male New Zealand White Rabbits
<b>GT-348-EF-31 (301012-AS10)</b>	Investigation of Effects of ISIS 301012 and ISIS 326358 on Apo B and Cholesterol in Cynomolgus Monkeys Fed a High Fat Diet
<b>GT-348-EF-35</b>	In Vitro Pharmacology: High-Throughput Profile Study of Compound 301012
<b>301012-AS13</b>	Study on the Effects of ISIS 301012 on Respiration Rate, Tidal Volume and Minute Volume in ICR Mice Following a Single Subcutaneous Administration
<b>301012-AS16</b>	Effect of ISIS 301012 on Neurobehavior (Irwin's Test) and Body Temperature in Mice After a Single Subcutaneous Administration
<b>301012-IS03</b>	Effects of ISIS 301012 on cloned hERG Channels Expressed in Mammalian Cells
<b>301012-AS02</b>	13-Week Toxicity Study and Pharmacokinetic Study of ISIS 301012 Administered by Intravenous Infusion or Subcutaneous Injection to Cynomolgus Monkeys, with a 13-Week Recovery Period

**Tableau 7. Liste des études de pharmacologie du Kynamro®. (91)**

<b>Genzyme (ISIS) Study Number</b>	<b>Study Title</b>
<b>301012-MV01</b>	ELISA Analysis of ISIS 301012 in Mouse EDTA Plasma
<b>301012-MV02</b>	Validation of a Method for the Extraction of ISIS 301012 from Monkey Tissues with Analysis by Capillary Electrophoresis
<b>301012-MV03</b>	Partial Validation for the Extraction of ISIS 301012 From Mouse Tissues with Analysis by Capillary Electrophoresis
<b>301012-MV04</b>	ELISA Analysis of ISIS 301012 in Monkey EDTA Plasma
<b>301012-MV05</b>	Validation of a Method for the Determination of ISIS 301012 in Monkey, and Cross- Validation to Mouse Urine, Using 96- Well Plate Extraction with Analysis by Capillary Gel Electrophoresis
<b>301012-MV08</b>	ELISA Analysis of ISIS 301012 in Beagle EDTA Plasma
<b>301012-MV09</b>	Partial Validation for the Extraction of ISIS 301012 From Dog Tissues with Analysis by Capillary Electrophoresis
<b>301012-MV10</b>	Partial Validation for the Extraction of ISIS 301012 from Fetal Mouse Tissues with Analysis by Capillary Electrophoresis
<b>301012-MV13</b>	Partial Validation for the Extraction of ISIS 301012 From Fetal and Adult Rabbit Tissues with Analysis by Capillary Electrophoresis
<b>301012-MV18</b>	ELISA Analysis of ISIS 301012 in Rat K3 EDTA Plasma
<b>301012-MV19</b>	Partial Validation for the Extraction of ISIS 301012 From Rat Tissues with Analysis by Capillary Gel Electrophoresis
<b>301012-APK01M</b>	Characterization of ISIS 301012 Concentrations in Selected Plasma, Tissue and Urine Samples from Study 301012-APK01 Using ISIS 301012-Specific Non-Radiolabel Analytical Methods
<b>301012-AS06</b>	A pharmacokinetic Study with Isis 301012 Administered Orally and Subcutaneously to Dogs
<b>301012-APK01</b>	Pharmacokinetics, Excretion and Mass Balance of Radioactivity in Rat and Tissue Distribution in Rat and Mouse Following a Single Intravenous Bolus Injection of 3HISIS 301012
<b>DMPK10-R024</b>	Assessment of Human Cytochrome P450 Involvement in the Metabolism of ISIS 301012
<b>301012-IS07</b>	Mipomersen (ISIS 301012) Metabolites Identified by Ion-Pair HPLC Electropray/Mass Spectrometry (IPHPLC-ES/MS) in Liver and Kidney from Mice, Rats, and Monkeys and Urine from Rats, Monkeys, and Humans
<b>301012-IS05</b>	Determination of the Inhibitory Potential of ISIS 301012 on the Activities of cypla2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4 in Cryopreserved Human Hepatocytes
<b>DMPK10-R015</b>	In Vitro Assessment of CYP450 Induction Potential in Human Hepatocytes
<b>DMPK09-R037</b>	In Vitro Evaluation of the P-Glycoprotein Substrate and Inhibition of ISIS 301012
<b>301012-IS04</b>	Isis 301012: in vitro plasma protein binding studies

**Tableau 8. Liste des études de pharmacocinétique du Kynamro®. (91)**

<b>Genzyme (ISIS) Study Number</b>	<b>Study Title</b>
<b>301012-AS01</b>	3-Month Repeat-Dose Subcutaneous Toxicity Study of ISIS 301012 in CD-1 Mice With 3-Month Recovery
<b>301012-AS14</b>	6-Month Repeat-Dose Subcutaneous Toxicity Study of ISIS 301012 and ISIS 147764 in CD-1 Mice with 3-Month Recovery
<b>301012-AS21</b>	5-Month Repeat-Dose Subcutaneous Toxicity Study of ISIS 301012 in Sprague-Dawley Rats with a 3-Month Recovery
<b>301012-AS02</b>	A 13-Week Toxicity Study and Pharmacokinetic Study of ISIS 301012 Administered by Intravenous Infusion or Subcutaneous Injection to Cynomolgus Monkeys, with a 13-Week Recovery Period
<b>301012-AS15</b>	A One Year Toxicity Study of ISIS 301012 Administered by Subcutaneous Injection to Cynomolgus Monkeys
<b>301012-IS01</b>	Bacterial Reverse Mutation Study of ISIS 301012 in the Salmonella Typhimurium/Escherichia coli Plate Incorporation Assay
<b>301012-IS02</b>	<i>In Vitro</i> L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Cell Gene Mutation Assay of ISIS 301012
<b>301012-AS12</b>	Mammalian Erythrocyte Micronucleus Assay of ISIS 301012 in ICR Mice
<b>GT-348-TX-1</b>	2-Year Subcutaneous Carcinogenicity Study of ISIS 301012 and ISIS 147764 in CD-1 Mice
<b>GT-348-TX-2</b>	2-Year Subcutaneous Carcinogenicity Study of ISIS 301012 in Sprague-Dawley Rats
<b>301012-AS07</b>	Combined Fertility and Development Toxicity Study of ISIS 301012 and ISIS 147764 Administered by Subcutaneous Injection in Mice
<b>301012-AS08</b>	Subcutaneous Developmental Toxicity Study of ISIS 301012 and ISIS 233183 in Rabbits
<b>GT-348-TX-6</b>	Study of Pre and Postnatal Development in the Rat
<b>GT-348-TX-5</b>	10-week toxicity study in the Juvenile Rat with a 4 week recovery Period
<b>GT-348-TX-8</b>	Effects of Three Oligonucleotides in a Mouse Mast Cell Degranulation Assay
<b>301012-AS20</b>	Evaluation of ISIS 301012 in the Mouse Influenza Host Resistance Model
<b>301012-AS18</b>	Repeat-Dose Subcutaneous Injection Toxicity Study with Isis 301012 Process-Related Impurities in Mice
<b>GT-348-TX-7</b>	5 Week Subcutaneous (Impurities Qualification) Toxicity Study in the Mouse

**Tableau 9. Liste des études de toxicologie du Kynamro®. (91)**

<b>Catégories de grossesse de la FDA (Food &amp; Drugs Administration)</b>	
<b>Catégorie A</b>	<i>Les études proportionnées et bien-commandées n'ont pas démontré un risque au fœtus dans le premier trimestre de la grossesse (et il n'y a aucune évidence de risque dans des trimestres postérieurs).</i>
<b>Catégorie B</b>	<i>Les études animales de reproduction n'ont pas démontré un risque au fœtus et il n'y a aucun proportionne et les études bien-commandées dans des études des animaux de femme ou enceintes ont montre un effet nuisible, mais les études proportionnées et bien-commandées dans les femmes enceintes n'ont pas démontré un risque au fœtus dans n'importe quel trimestre.</i>
<b>Catégorie C</b>	<i>Les études animales de reproduction ont montre que un effet nuisible sur le fœtus et la ne sont aucune étude proportionnée et bien-commandée chez l'homme, mais les avantages potentiels peuvent justifier l'utilisation de la drogue dans les femmes enceintes en dépit des risques potentiels.</i>
<b>Catégorie D</b>	<i>Il y a d'évidence positive du risque fœtal humain base sur des données défavorables de réaction d'une expérience d'investigation ou de vente ou étudié chez l'homme, mais les avantages potentiels peuvent justifier l'utilisation de la drogue dans les femmes enceintes en dépit des risques potentiels.</i>
<b>Catégorie X</b>	<i>Les études chez les animaux ou les humains ont démontré des anomalies fœtales et/ou il y a d'évidence positive du risque fœtal humain base sur des données défavorables de réaction d'une expérience d'investigation ou de vente, et les risques impliquees en service de la drogue dans les femmes enceintes sont supérieurs clairement aux avantages potentiels.</i>

**Tableau 10. Catégories de grossesse de la FDA. 1**



---

**BONNAIRE Simon - Les oligonucléotides antisens en thérapie, cas du Kynamro®.**

---

79 feuilles, 15 illustrations, 10 tableaux. 30 cm. - Thèse : Pharmacie ; Rennes 1; 2016.

---

Résumé français :

Lorsqu'un gène est connu pour être responsable d'une maladie, il est possible de synthétiser un brin d'acide nucléique, un oligonucléotide antisens (ASO), complémentaire à l'ARN messager (ARNm) afin de l'inactiver. Un ASO est un brin unique d'acide nucléique ou d'analogues d'acides nucléiques, de 15 à 20 nucléotides de longueur avec une séquence complémentaire à une séquence nucléotidique cible, qui est un ARNm dans le cas du Kynamro® (DCI : mipomersen). L'exemple du Kynamro® dans le traitement de l'hypercholestérolémie familiale, donne un fidèle aperçu des enjeux et problématiques de ces nouvelles thérapies.

Résumé anglais :

When a gene is known to be responsible for a disease, it is possible to synthesize a strand of nucleic acid, an antisense oligonucleotide (ASO), complementary to the messenger RNA (mRNA ) to inactivate. ASO is a single-stranded nucleic acid or nucleic acid analog, 15 to 20 nucleotides in length with a sequence complementary to a target nucleotide sequence, which is an mRNA in the case of Kynamro® (INN : mipomersen). The example of Kynamro® for the treatment of familial hypercholesterolemia, gives an accurate overview of the issues and problems of these new therapies.

---

Rubrique de classement : BIOLOGIE

---

Mots-clés : oligonucléotide antisens, thérapie antisens, Kynamro®, mipomersen, hypercholestérolémie familiale

---

Mots-clés anglais MeSH : ASO, antisens oligonucleotide, antisens therapy, Kynamro®, mipomersen, familial hypercholesterolemia

---

Président et directeur : Monsieur GILOT David

Assesseurs : Madame GALIBERT Marie-Dominique  
Monsieur LE BRAS Thibault

---

---