



HAL
open science

Les ARN interférents : d'une découverte scientifique à une nouvelle classe thérapeutique

Margot Thierry

► **To cite this version:**

Margot Thierry. Les ARN interférents : d'une découverte scientifique à une nouvelle classe thérapeutique. Sciences pharmaceutiques. 2023. dumas-04373560

HAL Id: dumas-04373560

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04373560>

Submitted on 5 Jan 2024

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.

IMPORTANT : OBLIGATIONS DE LA PERSONNE CONSULTANT CE DOCUMENT

Conformément au *Code de la propriété intellectuelle*, nous rappelons que le document est destiné à un **usage strictement personnel**. Les "analyses et les courtes citations justifiées par le caractère critique, polémique, pédagogique, scientifique ou d'information" sont autorisées sous réserve de mentionner les noms de l'auteur et de la source (article L. 122-4 du *Code de la propriété intellectuelle*). Toute autre représentation ou reproduction intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit, est illicite.

De ce fait, nous vous rappelons notamment que, **sauf accord explicite** de l'auteur de la thèse ou du mémoire, **vous n'êtes pas autorisé** à rediffuser ce document sous quelque forme que ce soit (impression papier, transfert par voie électronique, ou autre). Tout contrevenant s'expose aux peines prévues par la loi.

UNIVERSITE DE NANTES
UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

ANNEE 2023

N°

THESE
pour le
DIPÔME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par
Margot THIERRY

Présentée et soutenue publiquement le 29 septembre 2023

Les ARN interférents : d'une découverte scientifique à une nouvelle classe thérapeutique

Présidente du jury : Madame Edith BIGOT-CORBEL, Maître de Conférences des Universités, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Nantes - Praticien Hospitalier de Biochimie Clinique, CHU de Nantes.

Directeur de thèse : Monsieur Yann PEREON, Professeur des Universités, UFR de Médecine et des Techniques Médicales, Nantes - Praticien Hospitalier en Neurologie, CHU de Nantes.

Membres du jury : Monsieur Jean-Baptiste CAQUELIN, Directeur Général France, Alnylam Pharmaceuticals, Paris. Madame Françoise NAZIH, Maître de Conférences des Universités en Biochimie Pharmaceutique, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Nantes.

Remerciements

Aux membres du jury,

Je tiens tout d'abord à remercier Madame Edith Bigot-Corbel pour la présidence de ce jury de soutenance de thèse, qui représente la fin de mes études. Je vous remercie également pour vos enseignements durant ces années, à la faculté de Pharmacie de Nantes.

Je remercie Monsieur Yann Péréon, mon directeur de thèse, pour votre encadrement dans ce travail de rédaction. Merci pour votre pédagogie, votre encadrement et votre réactivité, bien que nos échanges n'aient malheureusement été qu'en distanciels.

Je remercie chaleureusement Monsieur Jean-Baptiste Caquelin, qui me fait l'honneur de prendre part à mon jury de soutenance de thèse. Merci pour ta confiance, ta bienveillance et ton leadership, qui m'accompagnent depuis presque deux ans dans mon activité professionnelle. Un grand merci pour tes précieux conseils et ta vision qui me font grandir quotidiennement.

Je remercie Madame Françoise Nazih, pour votre présence dans mon jury ainsi que votre accompagnement et votre pédagogie, depuis ma première année d'étude et tout au long de mon cursus universitaire.

Aux professeurs de la faculté de pharmacie de Nantes,

Je tiens à vous remercier pour vos enseignements durant mes six années d'études de Pharmacie qui m'ont nourrie intellectuellement.

A Hassan Herrou,

Merci de m'avoir guidé, peut être un malgré toi, vers ces belles études de Pharmacie. Je te remercie sincèrement pour ta disponibilité et tes conseils avisés, tout au long de mes études et depuis le début de ma carrière professionnelle. Je suis fière de pouvoir dire que tu es mon Mentor.

A mes rencontres professionnelles,

Je souhaite remercier sincèrement Clémentine Martres, pour ta confiance et ton accompagnement dans ma première expérience professionnelle au sein d'Amgen. Merci également à mon ancienne responsable aux affaires réglementaires, qui m'a permis d'acquérir la rigueur nécessaire pour la rédaction bibliographique de cette thèse.

Je tiens également à remercier tous mes collègues et anciens collègues au sein d'Alnylam. Merci à Caroline Tranvouez pour ta disponibilité et ta réactivité. Merci à Cyrla Hababou, Alexia Bakdache, Anne-Félice Laine, Loic Poizat, Alexandre Cheru, Alban Corvaisier et toute l'équipe, qui a contribué de près ou de loin à la rédaction de cette thèse.

A mes amis pharmaciens,

En écrivant ces quelques lignes je me remémore ces belles années passées ensemble, certainement les plus belles, faites de rires, parfois de quelques larmes, mais surtout d'un soutien sans faille. Merci pour votre aide lors de ces longues journées et soirées de travail à la BU. Merci également pour ces lundis soir à la Scierie, pour ces mardis soir au PM, pour ces mercredis soir à l'Australian et ces jeudis soir au Warehouse et surtout merci de m'avoir laissé me reposer les week-ends.

Mes chères colocataires, Célia et Jasmine, ces années de travail et de fêtes n'auraient pas été les mêmes sans votre humeur, bonne ou mauvaise, quotidienne. J'ai quitté le cocon familiale pour en créer un autre, différent, avec deux sœurs. Merci pour votre amitié si précieuse.

A mes partenaires dans la folle aventure Pharma'Libre, de la récolte de fonds à Sihanoukville, cette expérience m'a fait grandir et sortir de ma zone de confort. Elle restera certainement l'une des plus belles de ma vie, faite de péripéties, de débrouillardises mais surtout de rencontres. Célia, Jasmine, Julia, Laure, Valentin, merci pour ces si chers moments passés ensemble.

Charlotte, merci d'être une amie si fiable et sincère. Plus que des matinées partagées à écrire nos fiches à la BU, nos années universitaires nous auront permis de créer une amitié qui traversera les années, j'en suis certaine.

Amélie, ma binôme, merci d'avoir fait de ces TP ces si beaux moments de partage ; partage d'expérience et de confidences. Merci pour ton sérieux et ton travail consciencieux, mais surtout, merci pour ta franchise et ton humour, depuis notre premier TP. Ces années d'études auraient certainement eu une saveur différente si elles n'avaient pas été à tes côtés. Je suis très heureuse que tu aies trouvé ta voie et très fière de la pharmacienne que tu es devenue. C'est un réel bonheur que de pouvoir te compter dans mes plus proches amies.

A ma plus vieille amie,

Lauriane, je te remercie pour notre amitié qui est restée solide bien que nos chemins universitaires se soient séparés. Merci pour ton authenticité, tes rires et notre complicité depuis plus de dix ans.

A ma famille,

Mes chers grands parents, quelle chance incommensurable j'ai, que de vous avoir encore tous les quatre à mes côtés. Merci pour votre affection, votre protection et votre sagesse. J'espère que ce travail vous rendra fiers.

Mon petit frère, je suis reconnaissante de t'avoir à mes côtés. Saches que tu pourras toujours compter sur moi.

Mes chers parents, merci de m'avoir toujours soutenue et poussée à l'excellence pendant ces longues années d'études, jusqu'à l'impression finale de cette thèse. Merci pour votre disponibilité, votre confiance et votre éducation. J'espère que ces pages vous rendront fiers.

A toi, Kilian,

Merci pour ton amour, ton soutien sans faille et ta confiance. Merci pour cette vie à deux que nous nous sommes construits et celle qui se profile devant nous. Merci pour ta patience, certainement ta plus grande qualité pour vivre à mes côtés.

Table des matières

Remerciements	2
Liste des abréviations, sigles et acronymes	7
Liste des figures	11
Liste des tableaux	14
Introduction	15
I. Evolution du concept de médicament	17
<i>I.1. ADN, ARNm et protéines : trois cibles thérapeutiques potentielles.....</i>	17
I.1.A. Concepts de base de biologie moléculaire	17
I.1.B. Stratégies thérapeutiques	18
<i>I.2. Exploitation des données génétiques.....</i>	20
I.2.A. Apport du séquençage du génome humain.....	21
I.2.B. Données génétiques et génomiques à large échelle	21
<i>I.3. Les oligonucléotides antisens : premiers médicaments ciblant l'ARNm.....</i>	23
I.3.A. Fomivirsén : un traitement antiviral à base d'oligonucléotides	23
I.3.B. Nusinersén : un ASO agissant sur l'épissage du gène SMN2 dans l'amyotrophie spinale proximale	24
II. Développement d'ARNi comme stratégie thérapeutique.....	27
<i>II.1. Historique : origine et découverte du processus de silençage génique par ARN interférence.....</i>	27
II.1.A. Premières observations sur des modèles végétaux et des champignons	27
II.1.B. Description du phénomène d'ARN interférence chez le nématode <i>Caenorhabditis elegans</i>	28
II.1.C. Application sur des cellules de mammifères	29
II.1.D. Avancée majeure dans la compréhension de la régulation des gènes.....	29
<i>II.2. Mécanismes de régulation post-transcriptionnelle des gènes</i>	30
II.2.A. Les miARN.....	30
II.2.B. Les ARNi.....	31
<i>II.3. Elaboration d'une nouvelle classe thérapeutique.....</i>	33
II.3.A. Défis à relever pour l'élaboration d'ARNi thérapeutiques	33

II.3.B.	Caractéristiques et paramètres importants dans la conception d'une séquence d'ARNi	34
II.3.C.	Systèmes de délivrance des ARNi	35
II.3.D.	Améliorations chimiques apportées aux ARNi.....	40
III.	Applications thérapeutiques actuelles des ARNi	45
III.1.	<i>Amylose héréditaire à transthyrétine</i>	45
III.1.A.	Epidémiologie.....	45
III.1.B.	Physiopathologie	46
III.1.C.	Prise en charge thérapeutique.....	48
III.1.D.	Patisiran : premier ARNi thérapeutique formulé en LNP.....	48
III.1.E.	Revusiran : premier ARNi-GalNAc dans l'hATTR	54
III.1.F.	Vutrisiran : deuxième génération de traitement ARNi-GalNAc dans l'hATTR	55
III.2.	<i>La porphyrie hépatique aiguë (PHA)</i>	59
III.2.A.	Epidémiologie.....	59
III.2.B.	Physiopathologie	59
III.2.C.	Prise en charge thérapeutique.....	62
III.2.D.	Givosiran : un traitement de fond approuvé pour les patients atteints de PHA	62
III.3.	<i>L'hyperoxalurie primitive.....</i>	66
III.3.A.	Epidémiologie.....	66
III.3.B.	Physiopathologie	66
III.3.C.	Prise en charge thérapeutique.....	68
III.3.D.	Lumasiran	69
III.3.E.	Perspectives de traitement dans l'hyperoxalurie primitive (HP1, HP2, HP3).....	73
IV.	Développement clinique : des maladies rares aux maladies prévalentes	75
IV.1.	<i>Hémophilies A et B</i>	75
IV.1.A.	Epidémiologie.....	75
IV.1.B.	Physiopathologie	75
IV.1.C.	Prise en charge thérapeutique.....	76
IV.1.D.	Fitusiran.....	77
IV.2.	<i>Hypercholestérolémie à LDL-c.....</i>	80
IV.2.A.	Epidémiologie et généralités.....	80

IV.2.B. Aspect moléculaire : rôle de la PCSK9.....	81
IV.2.C. Prise en charge thérapeutique.....	82
IV.2.D. Inclisiran : un nouveau traitement anti-PCSK9	84
IV.3. L'hypertension artérielle.....	88
IV.3.A. Epidémiologie.....	88
IV.3.B. Physiopathologie.....	88
IV.3.C. Prise en charge thérapeutique.....	90
IV.3.D. Zilebesiran	92
V. Innovation constante dans la technologie de l'interférence à ARN .	96
V.1. Développement de nouveaux vecteurs : distribution au-delà du foie	96
V.1.A. Conjugué ARNi-C16 : optimiser la délivrance dans le SNC pour cibler la protéine précurseur de l'amyloïde	96
V.1.B. ARNi-squalène : normaliser l'expression du gène PMP22 dans la maladie de Charcot-Marie-Tooth	101
V.2. Améliorations de la plateforme technologique	104
V.2.A. IKARIA® : une nouvelle chimie pour les ARNi	104
V.2.B. REVERSIR™ : contrôle personnalisé de la pharmacologie des ARNi	105
V.2.C. GEMINI® : silençage simultané de transcrits	107
Conclusion	109
Bibliographie.....	111
Annexe.....	124

Liste des abréviations, sigles et acronymes

3'-UTR	région 3' non traduite (de l'anglais : 3' untranslated transcribed region)
5' UTR	région 5' non traduite (de l'anglais : 5' untranslated transcribed region)
6-MWT	test de marche de 6 minutes (de l'anglais : 6 minute walk test)
A β	peptide β -amyloïde
ADN	acide desoxyribonucléique
AGO	argonaute
AGT	alanine-glyoxylate aminotransférase
al-1	albino-1
ALA	acide δ -aminolévulinique
ALAS-1	l'acide δ -aminolévulinique synthase 1
ALAT	alanine aminotransférase
AMM	autorisation de mise sur le marché
ApoB	apolipoprotéine B
ApoE	apolipoprotéine E
APP	protéine précurseur de l'amyloïde (de l'anglais : amyloid precursor protein)
ARA2	antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II
ARN	acide ribonucléique
ARNdb	acide ribonucléique double brin
ARNm	acide ribonucléique messenger
ARNi	acide ribonucléique interférent
ASAT	aspartates aminotransférases
ASGPR	récepteur aux asiaglycoprotéines (de l'anglais : asioaglycoprotein receptor)
ASMR	amélioration du service médical rendu
ASO	oligonucléotide antisens (de l'anglais : antisens oligonucleotide)
ATU	autorisation temporaire d'utilisation
BRCA1	cancer du sein 1 (de l'anglais : breast cancer 1)
BRCA2	cancer du sein 2 (de l'anglais : breast cancer 2)
C16	acide palmitoléique

CEPS	comité économique des produits de santé
CHMP	comité des médicaments à usage humain (de l'anglais : Committee for Medicinal Products for Human Use)
chs	chalcone synthase
CMT	Charcot Marie-Tooth
CMV	cytomégalovirus
COMPASS-31	de l'anglais : composite autonomic symptom score
Covid	maladie à coronavirus
CRISPR	de l'anglais : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CYP450	cytochrome P450
DFG	débit de filtration glomérulaire
DFGe	débit de filtration glomérulaire estimé
DGCR8	région chromosomique 8 du syndrome de DiGeorge (de l'anglais : DiGeorge syndrome critical region 8)
EMA	agence européenne des médicaments (de l'anglais : European Medicines Agency)
ENMG	électroneuromyogramme
ESC	chimie de stabilisation renforcée (de l'anglais : enhanced stabilization chemistry)
et al	et les autres (du latin : et alii)
FAH	facteur anti-hémophilique
FDA	agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux (de l'anglais : Food and Drug Administration)
GalNAc	N-acétylgalactosamine
GO	glycolate oxydase
HAS	Haute Autorité de Santé
hATTR	amylose héréditaire à transthyrétine
HDL-c	cholestérol à lipoprotéine de haute densité (de l'anglais : high density lipoprotein cholesterol)
HER2	récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (de l'anglais human epidermal growth factor receptor 2)
HMG-CoA	hydroxyméthylglutaryl-CoA

HP1	hyperoxalurie primitive de type 1
HP2	hyperoxalurie primitive de type 2
HTA	hypertension artérielle
IEC	inhibiteur de l'enzyme de conversion
IFN- α	interféron alpha
IL-6	interleukine 6
IMC	indice de masse corporel
IMCm	indice de masse corporel modifié
IRC	insuffisance rénale chronique
IV	intraveineuse
LNA	acide nucléique verrouillé (de l'anglais : locked nucleic acid)
LDH	lactate déshydrogénase
LDL-c	cholestérol à lipoprotéine de faible densité (de l'anglais : low density lipoprotein cholesterol)
LDLR	récepteur au LDL
LNP	nanoparticules lipidiques (de l'anglais : lipid nanoparticles)
miARN	micro ARN interférent (de l'anglais : micro interfering RNA)
mNIS+7	de l'anglais : modified neuropathy impairment score + 7
NIS-W	de l'anglais : neuropathy impairment score – weakness
NYHA	New York Heart Association
PAD	pression artérielle diastolique
PAI	porphyrie aigüe intermittente
PAS	pression artérielle systolique
PBG	porphobilinogène
PCSK9	proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9
PEG	polyéthylène glycol
pH	potentiel hydrogène
PHA	porphyrie hépatique aigüe
pKa	constante d'acidité

PMP22	protéine périphérique 22 de la myéline (de l'anglais : peripheral myelin protein 22)
pré-miARN	miARN précurseur
pri-miARN	miARN primaire
PS	phosphorothioate
QoL-DN	de l'anglais : quality of life diabetic neuropathy
RISC	complexe de silençage induit par ARN (de anglais : RNA-induced silencing complex)
RLC	de l'anglais : RISC-loading complex
RODS	de l'anglais : Rasch-built Overall Disability Scale
ARNi	petit ARN interférent (de l'anglais : small interfering RNA)
SMR	service médical rendu
SNALP	particules lipidiques stables d'acide nucléique (de l'anglais : stable nucleic acid lipid particles)
SNM	protéine de survie du motoneurone (de l'anglais : survival motor neurone)
SREBP2	de l'anglais : sterol-regulatory element-binding protein 2
SQ	squalène
STC	chimie de modèle standard (de l'anglais : standard template chemistry) (chimie de modèle standard)
TAC	taux annualisé de crises
TNF- α	facteur alpha de nécrose tumorale (de l'anglais : tumor necrosis factor)
TRBP	de l'anglais : Transactivating Response RNA-Binding Protein
TRL	récepteur de type Toll (de l'anglais : Toll-Like-Receptor)
TSA	taux annualisé de saignements
TTR	transthyrétine
VP	vinylphosphonate
wtATTR	amylose à transthyrétine dite sauvage, non mutée, ou sénile (de l'anglais : wild type transthyretin amyloidosis)

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes généraux d'expression des gènes codants.	18
Figure 2 : Cibles thérapeutiques des médicaments.	19
Figure 3 : Coût par données génomiques de 2001 à 2022, d'après The National Human Genome Research Institute (13).	22
Figure 4 : Cartographie des initiatives de séquençage génétique à l'échelle de la population en 2019, d'après Khandelwal, The Smart Cube, 2019 (15).	23
Figure 5 : Schéma de la chimie et du mode d'action du fomivirsen, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).	24
Figure 6 : Production physiologique de la protéine SMN par les gènes SMN1 et SMN2, d'après Masingue et <i>al.</i> , Avancées de la Recherche, 2023 (21).	25
Figure 7 : Production insuffisante de la protéine SMN par le gène SMN2 chez les patients atteints d'amyotrophie spinale proximale, d'après Masingue et <i>al.</i> , Avancées de la Recherche, 2023 (21).	25
Figure 8 : Phénotypes des fleurs de pétunias transgéniques (<i>chs</i> chimériques), adaptés de Napoli et <i>al.</i> , The Plant Cell, 1990 (23).	27
Figure 9 : Schéma des mécanismes moléculaires de l'interférence par ARN, adapté de Forbes et <i>al.</i> , British Pharmacological Society, 2022 (36).	32
Figure 10 : Schéma des caractéristiques et paramètres importants dans la conception d'une séquence d'ARNi, adapté de Friedrich et Aigner, BioDrugs, 2022 (37).	35
Figure 11 : Schéma du transport des ARNi grâce aux LNP, adapté de Akinc et <i>al.</i> , Nature Nanotechnology, 2019 (41).	36
Figure 12 : Illustration schématique d'ARNi encapsulés dans une nanoparticule lipidique.	37
Figure 13 : Exemples de lipides cationiques ionisables usuels pour la formulation de LNP.	39
Figure 14 : Schéma d'un conjugué GalNAc-ARNi.	40
Figure 15 : Schéma des principales modifications chimiques réalisées sur des nucléotides afin d'améliorer les propriétés physico-chimiques et la pharmacodynamie, adapté de Roberts et <i>al.</i> , Nature Review Drug Discovery, 2020 (5).	41
Figure 16 : Réponse pharmacodynamique de deux ARNi de même structure avec des modifications chimiques différentes, adaptée de McDougall et <i>al.</i> , Drug Metabolism and Disposition, 2022 (58).	43
Figure 17 : Schéma de l'évolution continue de la conception des ARNi, adapté de Hu B et <i>al.</i> , Signal Transduction and Targeted Therapy, 2020 ; Alnylam R&D Day 2021, internet, 2021 ; Janas MM et <i>al.</i> , Nature Communications, 2018 ; Maier MA et <i>al.</i> , internet, 2017 (63–65).	44
Figure 18 : Frise chronologique retraçant la découverte des ARNi jusqu'à leur utilisation en médecine.	45

Figure 19 : Schéma de la diversité génotypique et corrélation génotype-phénotype dans l'amylose héréditaire à TTR, adapté de Rapezzi et <i>al.</i> , <i>European Heart Journal</i> , 2013 (71).	46
Figure 20 : Illustration des signes et symptômes potentiels de l'amylose héréditaire à transthyrétine, adaptée de Conceição et <i>al.</i> , <i>Journal of the Peripheral Nervous System</i> , 2016 (72).	47
Figure 21 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées des brins guide et passager du patisirán, adapté de Egli and Manoharan, <i>Nucleid Acids Research</i> , 2023 (17).	49
Figure 22 : Résultats des essais cliniques de phase I évaluant ALN-TTR01 et ALN-TTR02, adaptés de Coelho T et <i>al.</i> , <i>New England Journal of Medecine</i> , 2013 (47).	50
Figure 23 : Résultats des critères de jugements de l'essai clinique APOLLO dans le groupe patisirán et placebo, adaptés de Adams et <i>al.</i> , <i>New England Journal of Medecine</i> , 2018 (73).	52
Figure 24 : Schéma d'une séquence nucléotidique et modifications chimiques apportées aux brins guides et passagers du vutrisiran, adapté de Egli and Manoharan, <i>Nucleid Acids Research</i> , 2023 (17).	56
Figure 25 : Graphique des taux sérique de transthyrétine chez les patients sous vutrisiran ou patisirán, adapté de Adams et <i>al.</i> , <i>Amyloid</i> , 2022 (81).	57
Figure 26 : Illustration de la voie de biosynthèse de l'hème dans les hépatocytes, adaptée de Wang et <i>al.</i> , 2019 (84).	60
Figure 27 : Schéma simplifié de l'étiologie de la PHA.	61
Figure 28 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées aux brins guides et passagers du givosiran, adapté de Egli and Manoharan, <i>Nucleid Acids Research</i> , 2023 (17).	62
Figure 29 : Taux annuel de crise (TAC) et taux urinaires des intermédiaires neurotoxiques de l'hème, chez les patients atteints de PAI, adaptée de Balwani et <i>al.</i> , 2020 (60).	64
Figure 30 : Schéma du métabolisme du glyoxylate dans le peroxyosome hépatocytaire humain : déficits enzymatiques responsables de l'HP1, HP2, HP3, adapté de Cochat et <i>al.</i> , 2012 (95).	67
Figure 31 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées aux brins guides et passagers du lumasiran, adapté de Egli and Manoharan, <i>Nucleid Acids Research</i> , 2023 (17).	69
Figure 32 : Résultat du critère d'évaluation principal d'ILLUMINATE-A : variation en pourcentage de l'excrétion urinaire d'oxalate sur 24h corrigée en fonction de la SC, adaptée de Garrelfs et <i>al.</i> , <i>New England Journal of Medecine</i> , 2021 (99).	70
Figure 33 : Résultats des variations moyennes en pourcentage par rapport à l'inclusion de l'oxalurie sur 24h entre le jour 90 et le jour 180 chez les patients traités par nedosiran ou placebo, adaptés de Baum MA et <i>al.</i> , <i>Kidney International</i> , 2022 (109).	74
Figure 34 : Schéma du mécanisme d'action du fitusiran.	77

Figure 35 : Résultats des taux de saignements annuel (TSA) médian chez les patients hémophiles traités par fitusiran, adaptés de Srivastava et <i>al.</i> , Lancet Haematology, 2023 ; Young et <i>al.</i> , The Lancet, 2023 ; Kenet G et <i>al.</i> , Blood, 2022 (117–119).	79
Figure 36 : Mécanisme d'action complémentaire des statines et des anticorps monoclonaux dirigés contre PCSK9, d'après Sabouret et <i>al.</i> , La Presse Médicale, 2019 (127).	83
Figure 37 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées aux brins guides et passagers de l'inclisiran, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).	84
Figure 38 : Résultats d'efficacité de l'inclisiran sur la réduction du LDL-c pendant la période d'essai de 540 jours (population en intention de traiter), adaptée de Ray et <i>al.</i> , New England Journal of Medecine, 2020 (131).	86
Figure 39 : Schéma du système rénine-angiotensine-aldostérone.	89
Figure 40 : Stratégie générale de réduction de la pression artérielle chez un adulte souffrant d'hypertension, adaptée de Mancia et <i>al.</i> , European Heart Journal, 2018 (135).	91
Figure 41 : Mécanisme d'action du zilebesiran ciblant l'angiotensinogène.	92
Figure 42 : Evolution du taux moyen d'angiotensinogène après l'administration d'une dose unique de zilebesiran, adaptée de Desai et <i>al.</i> , New England Journal of Medecine, 2023 (133).	93
Figure 43 : Résultats de l'optimisation de la conception d'un ARNi pour la délivrance au SNC chez le rat, adaptés de Brown et <i>al.</i> , Nature Nanotechnology, 2022 (139).	97
Figure 44 : Illustration de la biodistribution cérébrale d'ARNi non conjugué ou modifié par C16, d'après Brown et <i>al.</i> , Nature Nanotechnology, 2022 (139).	97
Figure 45 : Graphique de l'activité de l'ARNi-C16 dans le SNC de singes, adapté de Brown et <i>al.</i> , Nature Nanotechnology, 2022 (139).	98
Figure 46 : Résultats secondaires intérimaires de phase 1 évaluant l'ALN-APP vs placebo dans les formes précoces de la maladie d'Alzheimer, adaptés de Cohen et <i>al.</i> , présentation à l'AAIC, 2023 (144).	101
Figure 47 : Résultats précliniques de l'ALN-TTRsc04 et modélisations chez l'Homme, adaptés de Alnylam R&D Day 2021 présentation (63).	104
Figure 48 : Illustration du mécanisme d'action de la technologie REVERSIR™, adaptée de Zlatev et <i>al.</i> , Nature Biotechnology, 2018 (152).	105
Figure 49 : Résultats de l'inversion <i>in vivo</i> chez la souris (n=3) de l'activité du TTR-ARNi par REVERSIR™ contenant 5 LNA, adaptés de Zlatev et <i>al.</i> , Nature Biotechnology, 2018 (152).	106
Figure 50 : Graphique des facteurs de risques individuels de maladie cardiovasculaire ou d'infarctus du myocarde, adapté de Yusuf et <i>al.</i> , The Lancet, 2020 (153).	107

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des stades d'hypertension en fonction des niveaux de pression artérielle, de la présence de facteurs de risque cardiovasculaire, de lésions organiques liées à l'hypertension ou de comorbidités, adaptée de Mancia et <i>al.</i> , European Heart Journal, 2018 (135).	90
Tableau 2 : siARN en développement clinique (à la date d'août 2023), liste non exhaustive ...	124

Introduction

Historiquement, l'acide ribonucléique (ARN) était considéré uniquement comme l'intermédiaire transmettant l'information génétique de l'acide désoxyribonucléique (ADN) aux protéines. La théorie fondamentale de la biologie moléculaire – autrement appelé dogme central - affirme que l'ADN fabrique l'ARN qui fabrique les protéines (1). Ce modèle schématique utilisé par les biologistes explique la conservation et l'utilisation de l'information génétique contenue dans l'ADN.

Cependant, en 1998 Andrew Fire et Craig Mello mettent en évidence chez le nématode *Caenorhabditis elegans*, un mécanisme de silençage génique induit par de l'ARN double brin (ARNdb) bousculant le dogme central de la biologie moléculaire (2). Cette découverte scientifique nommée interférence par ARN a été récompensée d'un prix Nobel de physiologie ou de médecine en 2006 et a depuis suscité un véritable enthousiasme de la communauté scientifique (3). En introduisant un ARNdb, nommé *small interfering ribonucleic acid* (ARNi), dont la séquence de nucléotides est homologue à un gène cible, il est possible, grâce à un processus physiologique post-transcriptionnel, de réguler l'expression génique.

Ce processus biologique offre de nombreuses perspectives d'utilisations, par exemple comme outil pour étudier la fonction de certains gènes ou encore pour valider de nouvelles cibles thérapeutiques. Les petits ARN interférents ont également un potentiel thérapeutique très important, car ils permettent de cibler sélectivement un gène et de le réduire au silence en dégradant son ARNm. Ces thérapies innovantes et spécifiques permettraient donc de traiter des maladies pour lesquelles aucun traitement standard n'est efficace.

Néanmoins, la traduction de ces avancées scientifiques, comme nouvelle classe médicamenteuse, représente un vrai défi afin de faire face aux problèmes de ciblage, de pénétration cellulaire et d'effets secondaires, notamment immunologiques des ARNi. Par ailleurs, afin d'avoir une action puissante et prolongée, il est indispensable d'augmenter la stabilité et la spécificité des ARNi contre les gènes cibles.

Les efforts scientifiques des vingt dernières années ont permis de développer des technologies d'adressage spécifiques et d'affiner le design des séquences de nucléotides donnant lieu à la commercialisation de plusieurs ARN interférents en France et dans le monde. Désormais, de nombreux patients bénéficient de ces avancées comme nouvelle modalité thérapeutique.

La présente thèse a pour objectif de faire un état des lieux sur cette nouvelle stratégie thérapeutique et d'en explorer les perspectives d'utilisation en médecine. Dans la première partie, nous reviendrons sur quelques concepts de biologie moléculaire qui permettront de mettre en regard la notion de médicament. Nous explorerons également différentes stratégies thérapeutiques qui ont évolué au cours du temps, grâce à la connaissance du génome humain.

Dans la deuxième partie, nous établirons les circonstances de la découverte du mécanisme d'interférence par ARN, un processus naturel de silençage des gènes conservés entre les espèces. De même, nous décrirons les mécanismes moléculaires de régulation des gènes post-transcriptionnel par les micro-ARN (miARN) et les ARNi. En somme, nous développerons les

grands principes de délivrance et d'amélioration chimiques nécessaires pour l'élaboration d'ARNi thérapeutiques.

Les parties trois et quatre seront consacrées aux applications cliniques, actuelles et futures, des ARNi dans des maladies génétiques rares (amylose héréditaire à transthyrétine, porphyrie hépatique aigüe, hyperoxalurie primitive de type 1) et des maladies plus prévalentes (hémophilie, hypercholestérolémie, hypertension artérielle). Nous présenterons les résultats cliniques ayant permis la mise sur le marché de quatre traitements par ARNi en France et les études cliniques en cours de développement.

Enfin, avant de conclure cette thèse, nous ouvrirons vers les futures innovations appliquées aux ARNi qui permettront dans quelques années de cibler d'autres organes que le foie, de coupler dans une seule seringue deux ARNi dirigés contre deux ARNm (GEMINI®), ou encore d'inverser l'action d'ARNi pour rétablir rapidement l'expression du gène (REVERSIR®).

I. Evolution du concept de médicament

I.1. ADN, ARNm et protéines : trois cibles thérapeutiques potentielles

I.1.A. Concepts de base de biologie moléculaire

I.1.A.i. Le génome support de l'information génétique

Le génome humain regroupe l'ensemble de l'information génétique portée par l'ADN. L'ADN est réparti sur 23 paires de chromosomes contenues dans le noyau cellulaire. Outre l'ADN nucléaire, nous disposons également d'ADN mitochondrial, hérité uniquement de la mère, représentant 1 % de l'ADN total.

L'ADN est constitué d'une structure en double hélice (brin antisens et brin sens) composée de bases azotées, aussi appelées bases nucléiques ou nucléotides, que sont l'adénine (A), la cytosine (C), la guanine (G) et la thymine (T). L'information génétique portée par l'ADN est organisée sous la forme de gènes.

Il existe deux catégories de gènes, des gènes codants et des gènes non codants. Les gènes codants sont transcrits puis traduits en protéine. Les gènes non codants produisent des transcrits qui ne seront pas traduits en protéines. Pour autant, ces gènes non codants sont essentiels pour la régulation de la transcription des ARN.

I.1.A.ii. La transcription des gènes et l'épissage

L'information génétique contenue sur les gènes s'exprime lors du phénomène de transcription. Ce processus permet de synthétiser des ARN (ou transcrits), à partir d'une séquence donnée d'ADN, grâce à une enzyme appelée ARN polymérase. La transcription se déroule dans le noyau cellulaire et permet de produire une copie du brin antisens de l'ADN sous forme d'un ARN complémentaire, le pré-ARN. Puis, intervient l'épissage, un phénomène de maturation des pré-ARN, où les segments d'introns seront éliminés par rapport aux exons. Dans le cas des gènes codants, on obtient alors un ARN messager (ARNm).

I.1.A.iii. La traduction et maturation protéique

L'ARNm mature est exporté en dehors du noyau afin d'être traduit en protéine grâce à un ribosome. Ce processus permet de synthétiser une chaîne d'acide aminés formant une ou plusieurs chaînes polypeptidiques. L'ARNm contient les plans de la chaîne d'acide aminés. Le ribosome va lire ce message grâce au code génétique faisant correspondre 3 bases (dites codon ou triplet) à un acide aminé. Il existe 64 codons possibles pour 20 acides aminés, cela signifie que plusieurs codons peuvent indiquer le même acide aminé.

Le ribosome repère sur la séquence d'ARNm le codon d'initiation (codon start), signalant le début du message génétique. Chez l'Homme, ce codon correspond à AUG. S'ensuit l'élongation et la formation des liaisons peptidiques entre les acides aminés jusqu'à ce que le ribosome rencontre l'un des 3 codons stop UGA, UAG ou UAA, indiquant la fin de la traduction.

Les séquences de nucléotides sur l'ARNm précédant ou suivant les codons d'initiation et stop ne sont pas traduites et composent les régions 5' et 3' *Untranslated Transcribed Region* (UTR).

Enfin, une phase de maturation protéique intervient lors de laquelle la chaîne polypeptidique subit des modifications biochimiques (glycosylation, fixations lipidiques, phosphorylation, ...) avant de se replier, formant ainsi une protéine mature active. Les protéines sont essentielles à l'organisme et assurent différentes fonctions telles que la signalisation cellulaire, les réactions enzymatiques, le transport, la régulation des gènes, ...

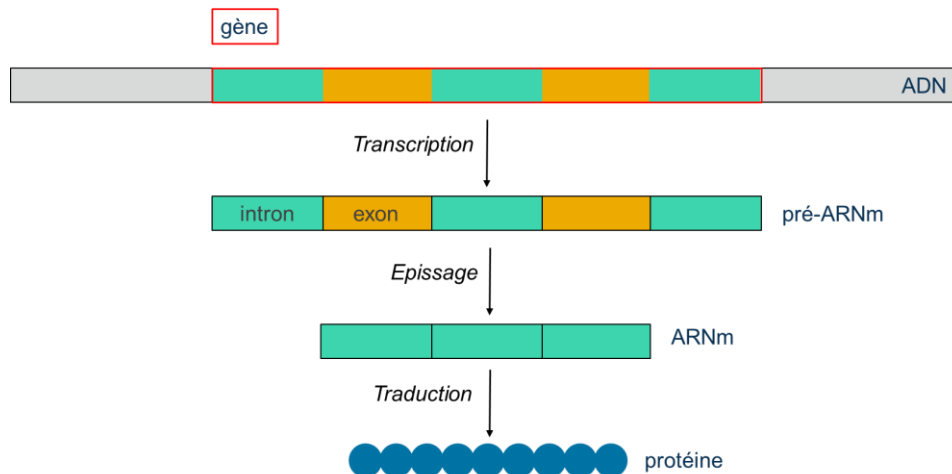


Figure 1 : Mécanismes généraux d'expression des gènes codants.

ADN = acide désoxyribonucléique ; ARNm = acide ribonucléique messenger

I.1.B. Stratégies thérapeutiques

Les scientifiques ont tiré parti de ces processus en ciblant les différents composants biologiques dans le cadre d'une stratégie thérapeutique.

I.1.B.i. Cibler la protéine

De façon très classique, l'effet pharmacologique de la majorité des médicaments résulte de leur interaction avec des protéines impliquées dans des processus physiopathologiques. La liaison du médicament à sa cible favorise son activation ou, au contraire, son blocage voire sa dégradation. Il existe différentes cibles protéiques : des récepteurs, des canaux ioniques, des enzymes, des transporteurs de molécules ou encore des récepteurs régulant la transcription de l'ADN.

Ces médicaments sont généralement de petites molécules chimiques de poids moléculaire inférieur à 1000 daltons, des molécules d'origine naturelle ou encore des protéines telles que les anticorps, l'insuline ou les hormones de croissance.

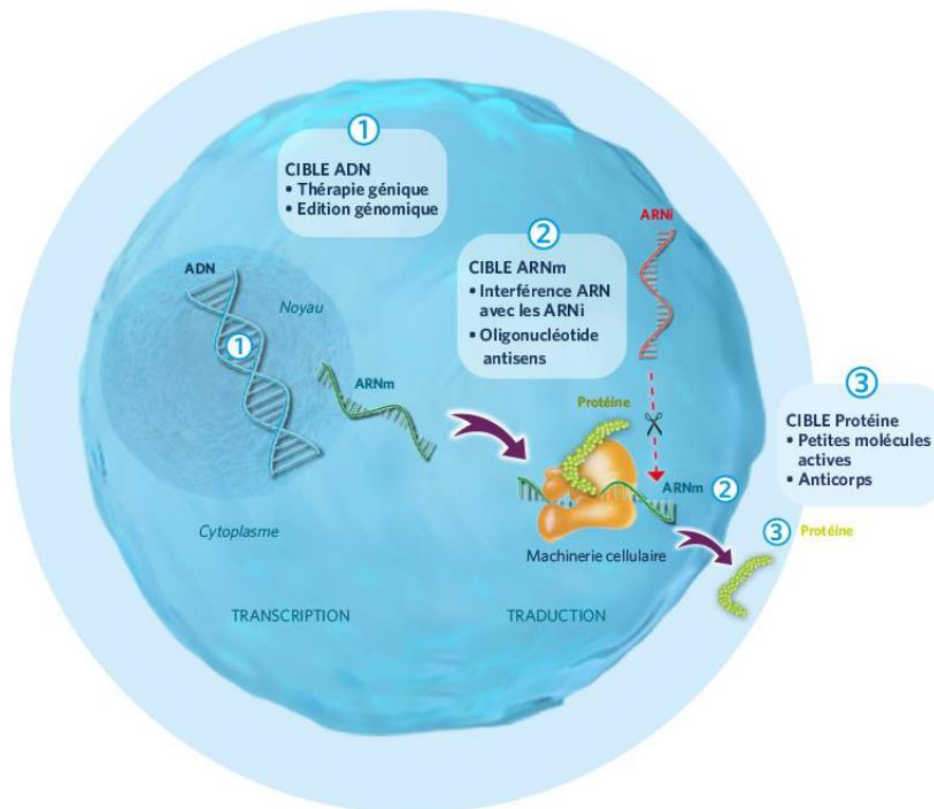


Figure 2 : Cibles thérapeutiques des médicaments.

ADN = acide désoxyribonucléique ; ARNi = acide ribonucléique interférent ; ARNm = acide ribonucléique messenger ; ASO = oligonucléotide antisens

I.1.B.ii. Cibler l'ADN

Afin de soigner des maladies génétiques ou de traiter certains cancers, les scientifiques ont développé des stratégies permettant de modifier l'ADN ou de remplacer un gène défectueux.

Thérapie génique

La thérapie génique consiste à introduire une séquence d'acide nucléique, en tant que médicament, dans les cellules d'un patient, afin de traiter une maladie. Initialement, cette stratégie a été conçue pour traiter des maladies monogéniques résultant de la dysfonction d'un gène. L'objectif est alors d'importer une copie fonctionnelle du gène dans la cellule cible, afin qu'il exprime la protéine déficiente. La thérapie génique peut être injectée *in vivo* dans la circulation sanguine, grâce à un vecteur synthétique (lipidique) ou viral, ou *ex vivo* dans des cellules prélevées au malade, puis réinjectées après modifications génétiques en laboratoire.

Edition génomique

L'édition génomique permet quant à elle de réparer des mutations génétiques, de façon ciblée, en modifiant le génome humain. Cela nécessite tout d'abord d'importer dans le noyau des nucléases appelées « ciseaux moléculaires » qui vont couper le génome humain au niveau de la séquence de nucléotides souhaitée. Il existe différentes nucléases dont les « doigt de zinc » et le CRISPR-Cas. Puis, il faut délivrer un brin d'ADN présentant la séquence souhaitée et flanquée d'extrémités homologues à celles du site de coupure.

Cette nouvelle technologie est porteuse de grands espoirs, cependant, les risques hors cibles mais également de transmission de ces modifications à la descendance sont extrêmement complexes et ne sont pas encore bien compris. En 2021, des résultats préliminaires de phase 1 d'un traitement fondé sur la technologie CRISPR-Cas9 (lauréate du prix Nobel de Chimie en 2020), dans le traitement de l'amylose héréditaire à transthyrétine (hATTR), ont été salués par la communauté scientifique (4).

I.1.B.iii. Cibler l'ARNm

Plus récemment, les chercheurs ont développé des traitements afin de silencer les gènes en agissant sur l'ARNm. Ce mécanisme d'action réversible permet d'agir en amont du ciblage protéique sans pour autant interférer avec l'ADN.

Oligonucléotides antisens

Les oligonucléotides antisens (ASO) sont de petits polymères synthétiques d'une vingtaine d'acides nucléiques, simple brin, pouvant être utilisés pour moduler l'expression des gènes. Il existe plusieurs catégories d'ASO. Tout d'abord les ASO à base d'ADN se lient spécifiquement par complémentarité de base à leur transcrits d'ARNm. L'enzyme endogène, ribonucléase H, reconnaît ces hétéroduplex ARN/ADN et dégrade l'ARNm. Le clivage de l'ARNm réduit ainsi au silence l'expression du gène cible (5). Par ailleurs, certains ASO agissent sur l'épissage alternatif des gènes en masquant des séquences spécifiques (5). Nous détaillerons ces deux mécanismes d'action par la suite grâce à deux exemples d'ASO : le fomivirsén et le nusinersén.

ARN interférents

Les ARN interférents, autrement appelés *small interfering RNA* (ARNi), sont les molécules effectrices de l'interférence par ARN, un mécanisme physiologique de régulation post-transcriptionnelle des gènes, au niveau du cytoplasme cellulaire. Ils se composent d'une structure double brin d'une vingtaine de nucléotides, complémentaire à l'ARNm cible. En entrant dans la cellule, ils se lient au *RNA-induced silencing complex* (RISC) qui va diriger le brin antisens (guide) vers le transcrit d'ARNm. Le complexe multiprotéique va alors dégrader l'ARNm de façon catalytique, ce qui conduit à l'extinction du gène. Nous reviendrons sur ce mécanisme d'action dans la partie II.2 de cette thèse.

I.2. Exploitation des données génétiques

L'apport de la connaissance du génome humain a révolutionné la recherche biomédicale et a notamment permis d'identifier de nombreux gènes impliqués dans des maladies génétiques. L'exploitation de ces données a également conduit à l'identification de cibles moléculaires impliquées dans des processus physiopathologiques. Par la suite, de nombreux médicaments spécifiques ont pu être développés.

1.2.A. Apport du séquençage du génome humain

En 2001, s'est achevé *The Human Genome Project* c'est à dire le séquençage, presque complet, du premier génome humain (6). Ce fut une avancée majeure de la science qui permit soudain d'avoir accès à l'ensemble de l'information génétique contenue dans nos cellules. Cet exploit scientifique historique a permis d'identifier et de cartographier les gènes humains et a eu un impact majeur sur la recherche médicale.

En premier lieu, ce travail a contribué à identifier environ 7000 gènes mendéliens qui, lorsqu'ils sont porteurs de mutations peuvent provoquer un phénotype chez l'Homme (7). En déterminant les causes moléculaires de maladies génétiques, cela permet de mettre au point des outils diagnostics spécifiques et fiables. Les malades peuvent ainsi bénéficier d'une meilleure prise en charge médicale permettant d'améliorer leur espérance et qualité de vie.

De plus, le séquençage du génome humain a participé à l'évaluation et la recherche de prédispositions génétiques d'une personne pour certaines maladies. Par exemple, le syndrome seins-ovariens est une prédisposition génétique, à transmission autosomique dominante, associée à des altérations génétiques constitutionnelles des gènes *breast cancer 1* (BRCA1) et *breast cancer 2* (BRCA2) impliqués dans des mécanismes de réparation de l'ADN. La présence de mutations spécifiques sur l'un de ces gènes augmente fortement le risque de cancer du sein et de l'ovaire (8).

Cette révolution génétique est également à l'origine du développement de thérapies innovantes dites « médecine de précision ». Entre autres, le développement de thérapies ciblées dans les cancers, avec par exemple le trastuzumab indiqué pour les femmes atteintes de cancer du sein, surexprimant HER2, un gène favorisant la croissance et la prolifération des cellules cancéreuses (9). Les thérapies géniques s'appuient également sur ces travaux de caractérisation des gènes (10). Par ailleurs, l'analyse du génome a un intérêt en pharmacologie pour appréhender la variabilité entre individus de réponse à un traitement en termes d'efficacité et d'effets secondaires. Ce domaine s'appelle la « pharmacogénétique » (11,12).

1.2.B. Données génétiques et génomiques à large échelle

Ces dernières années, les progrès réalisés dans l'étude du génome ont entraîné des réductions substantielles du coût du séquençage. Le coût estimé pour générer la première séquence du génome humain par *The Human Genome Project* est estimé à 2,7 milliards de dollars. En 2006, ce chiffre descendait à 14 millions de dollars, aujourd'hui pour séquencer une séquence « brouillon » de haute qualité il faut moins de 1000 dollars (**Figure 3**) (13).

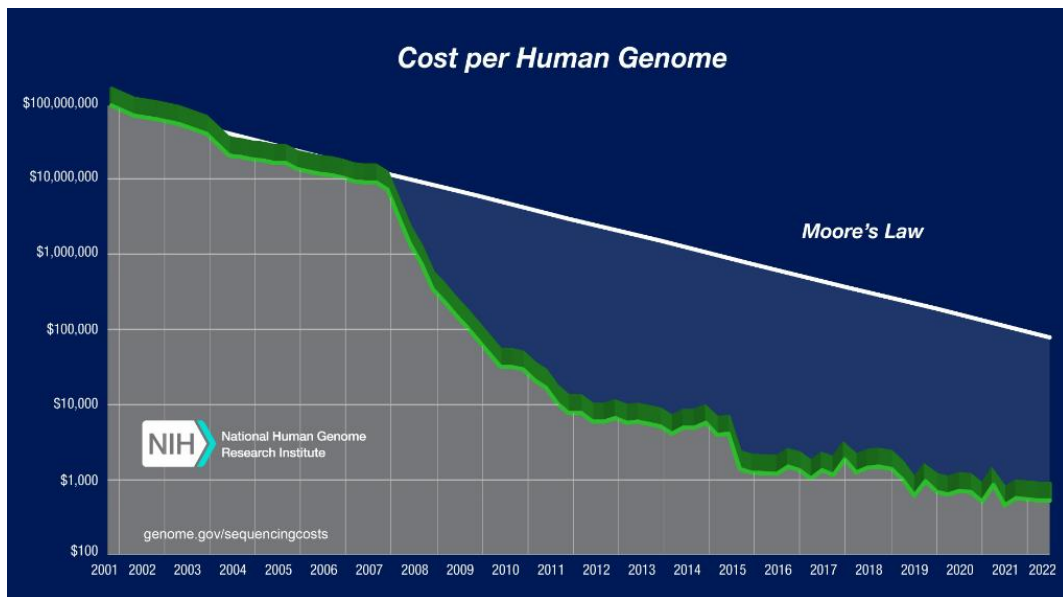


Figure 3 : Coût par données génomiques de 2001 à 2022, d'après The National Human Genome Research Institute (13).

Cet essor pour la génomique a permis d'en faire un outil d'aide thérapeutique en routine dans le milieu hospitalier. Un diagnostic génétique rapide peut guider la prise en charge clinique, améliorer le pronostic et réduire les coûts de santé chez les patients gravement malade. Un article paru début 2022 dans *The New England Journal of Medicine*, fait état de l'utilisation de nanopores afin de rendre un séquençage génétique en soins critiques en moins de 8 heures dans un hôpital à Stanford en Californie (14).

D'autre part, cela a contribué à la réalisation de projets de séquençage à l'échelle de la population mondiale, menés par des sociétés biopharmaceutiques, des organismes gouvernementaux, des institutions universitaires, des sociétés de génomique ou encore des biobanques. Ceux-ci fournissent des données génomiques sans précédent sur les populations, les maladies, les cibles, les voies moléculaires et les médicaments (**Figure 4**). Ils offrent également des opportunités aux laboratoires pharmaceutiques d'accélérer la découverte de médicaments et de proposer des traitements personnalisés pour un grand nombre de maladies. Ces initiatives de séquençage à grande échelle ont conduit à la découverte de nouvelles cibles médicamenteuses, basées sur la caractérisation moléculaire de ces gènes (15).

Aujourd'hui, grâce à une connaissance approfondie du génome humain, la majorité des gènes humains codants pour des protéines ont été décodés et annotés. L'identification précise d'un gène impliqué dans un processus pathologique et de son ARNm a contribué au développement et à la synthèse d'ARNi thérapeutiques (16).



Figure 4 : Cartographie des initiatives de séquençage génétique à l'échelle de la population en 2019, d'après Khandelwal, The Smart Cube, 2019 (15).

1.3. Les oligonucléotides antisens : premiers médicaments ciblant l'ARNm

La pandémie de Covid-19 que nous avons traversée a permis de mettre en lumière les thérapeutiques à base d'ARN, grâce au développement rapide des vaccins à ARNm pour la prévention ou l'atténuation des symptômes de l'infection par le SARS-Cov-2. Pour autant, le premier traitement composé d'oligonucléotides a été commercialisé il y a plus de vingt ans.

1.3.A. Fomivirsén : un traitement antiviral à base d'oligonucléotides

En 1998, le fomivirsén (Vitravene®) a été le premier médicament antisens approuvé par la FDA. Il fut indiqué comme traitement antiviral local à usage intravitréen dans la rétinite à cytomégalovirus (CMV) chez des patients atteints du syndrome d'immunodéficience acquise (VIH). Au moment de son approbation, la découverte des médicaments antisens et leur utilité en tant qu'agents thérapeutiques étaient considérées avec beaucoup de scepticisme.

Sa structure physicochimique se compose d'un ADN simple brin de 21 nucléotides, complémentaires à la séquence d'ARNm viral codant pour la protéine IE2, indispensable à la réplication du CMV. La chimie de cet oligonucléotide antisens (ASO) a été modifiée puisque les liaisons internucléosidiques phosphodiesters ont été remplacées par des liaisons phosphorothioates (PS) (17). Fomivirsén agit grâce à un appariement des bases avec l'ARNm cible de IE2 au niveau du noyau. Cela va induire le recrutement de la ribonucléase H, une enzyme qui hydrolyse le brin d'ARN lorsqu'il est hybridé avec un brin d'ADN. La dégradation de l'ARNm de IE2 conduit à l'inhibition de la réplication du CMV (17,18).

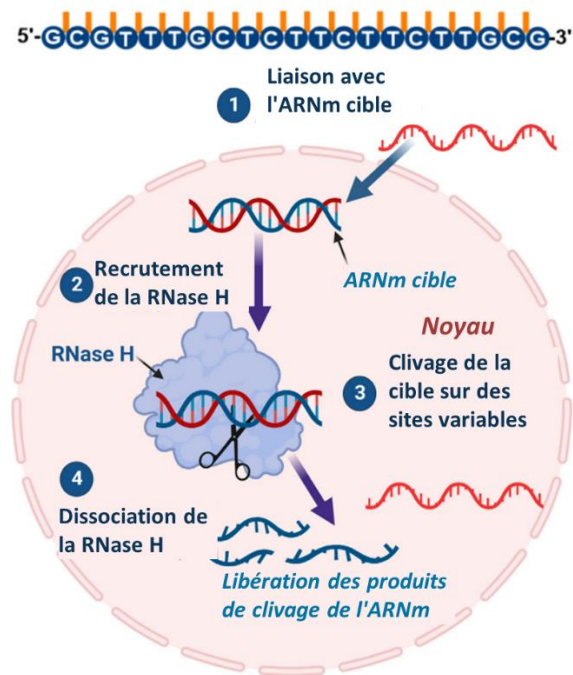


Figure 5 : Schéma de la chimie et du mode d'action du fomivirsén, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).

ARNm = ARN message ; RNase H = ribonucléase H

En haut : séquence de l'ASO et modifications chimiques ; les barres jaunes indiquent les groupements phosphorothioate (PS). En bas : étapes du mécanisme d'action de l'ASO, depuis l'absorption cellulaire jusqu'à la dégradation de la cible.

Compte tenu d'une administration locale intravitréenne, ce premier traitement ASO ne donne pas d'informations sur l'utilisation systémique et les effets secondaires pouvant être associés à ces traitements à base d'ARN. Les effets indésirables locaux restent limités à l'œil et entraînent fréquemment une inflammation intraoculaire (19). Finalement, le médicament a été retiré du marché américain en 2006, le développement de thérapies antirétrovirales hautement actives ayant permis de réduire le nombre de cas de CMV (17).

1.3.B. Nusinersen : un ASO agissant sur l'épissage du gène SMN2 dans l'amyotrophie spinale proximale

Le nusinersen (Spinraza®) est un autre exemple d'ASO ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) européenne en 2017. Il est indiqué en première intention dans le traitement de l'amyotrophie spinale proximale de type I, II et III. Cette maladie neuromusculaire progressive d'origine génétique est caractérisée par une dégénérescence des motoneurones. C'est la première cause génétique de mortalité infantile. La forme la plus fréquente résulte de mutations du gène *SMN1* sur le chromosome 5q, codant pour la protéine de survie du motoneurone (SMN), entraînant une diminution de sa production. Le déficit en protéine SMN entraîne une dégénérescence des motoneurones et une atrophie musculaire touchant en premier les muscles les plus proches du tronc (épaules, hanches). Un second gène, *SMN2*, est capable de produire la protéine SMN, mais celle-ci est majoritairement non fonctionnelle à cause d'une erreur d'épissage (20,21).

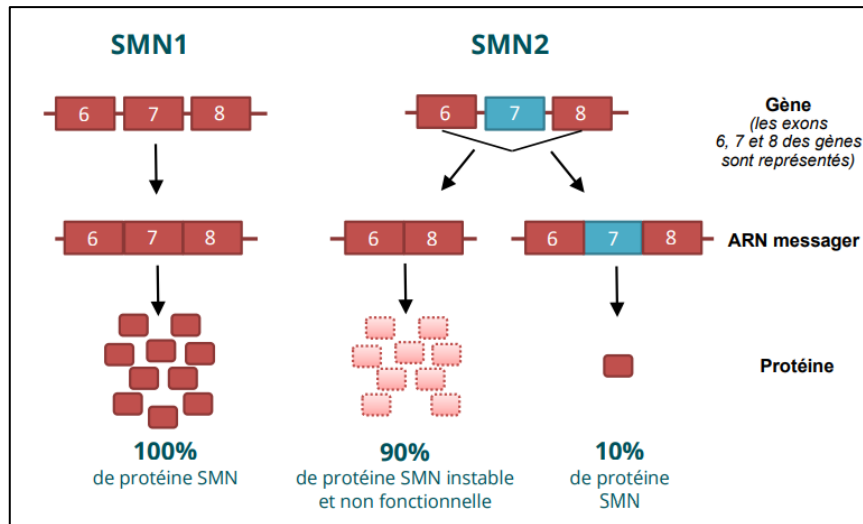


Figure 6 : Production physiologique de la protéine SMN par les gènes SMN1 et SMN2, d'après Masingue et al., *Avancées de la Recherche*, 2023 (21).

SMN = protéine de survie du motoneurone

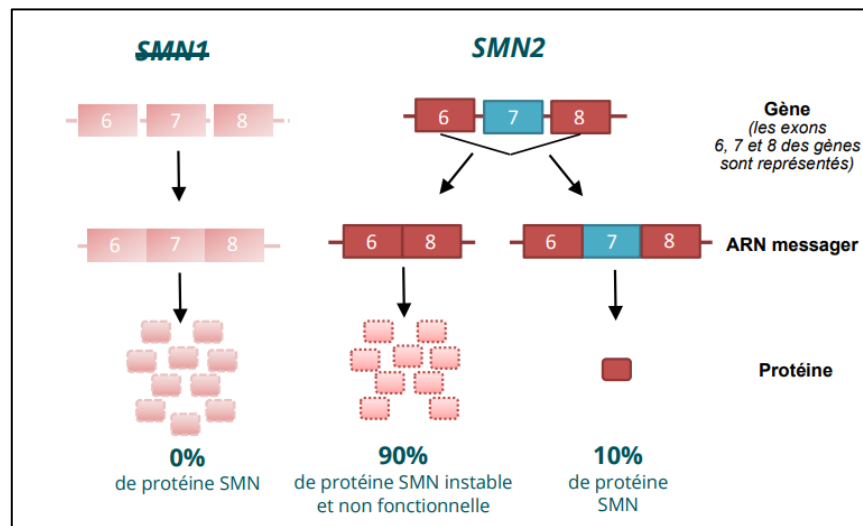


Figure 7 : Production insuffisante de la protéine SMN par le gène SMN2 chez les patients atteints d'amyotrophie spinale proximale, d'après Masingue et al., *Avancées de la Recherche*, 2023 (21).

SMN = protéine de survie du motoneurone

Le nusinersen agit comme régulateur de l'épissage de l'ARNm du gène SMN2. L'oligonucléotide va venir se lier spécifiquement et de façon complémentaire à un site d'inactivation de l'épissage intronique présent dans l'intron 7 de l'ARN pré-messager (ISS-N1). Cette liaison va entraîner un déplacement des facteurs d'épissage, empêchant ainsi le saut de l'exon 7 lors de l'épissage. L'ARNm du gène SMN2 est donc traduit en protéine SMN fonctionnelle. Comme les ASO ne traversent pas la barrière hématoencéphalique, le traitement est injecté par voie intrathécale dans l'espace sous arachnoïdien, précédé par une ponction lombaire (22).

Ce traitement permet de prolonger la survie des patients et il conduit également à des développement moteur, chez les enfants atteints d'une forme précoce ou tardive de la maladie, comme la capacité de s'asseoir ou de marcher sans soutien.

D'après les données cliniques disponibles, les effets indésirables les plus fréquents ont été les céphalées, les vomissements et les dorsalgies. Ces effets secondaires sont à priori plutôt liés à la voie d'administration qu'aux caractéristiques intrinsèques du nusinersen. Cependant, il existe des mises en garde spécifiques liées à la classe des ASO comme des anomalies de coagulation et des thrombopénies ainsi qu'une toxicité rénale (22).

II. Développement d'ARNi comme stratégie thérapeutique

II.1. Historique : origine et découverte du processus de silençage génique par ARN interférence

II.1.A. *Premières observations sur des modèles végétaux et des champignons*

La première observation du phénomène d'ARN interférence, bien que non caractérisée, a été décrite en 1990 par l'équipe de Carolyn Napoli, Christine Lemieux et Richard Jorgensen (23). Napoli et ses collaborateurs ont souhaité intensifier la couleur pourpre de pétunias. Pour cela, ils ont introduit dans les pétunias un transgène de la chalcone synthase (*chs*). Cette enzyme *chs* est impliquée dans la voie de la biosynthèse des anthocyanes, responsables de la coloration des fleurs.

De manière inattendue, plus de 40 % des plantes, issues des pétunias modifiés, ont donné des fleurs totalement ou partiellement blanches (**Figure 8**). L'introduction de ce transgène de *chs* a bloqué la biosynthèse des anthocyanes et ainsi diminué la pigmentation des fleurs. Par ailleurs, l'analyse des transcrits a montré que les taux d'ARNm codant pour la *chs* étaient 50 fois plus faibles dans les pétales des fleurs transgéniques que dans ceux des fleurs du bras contrôle (23).

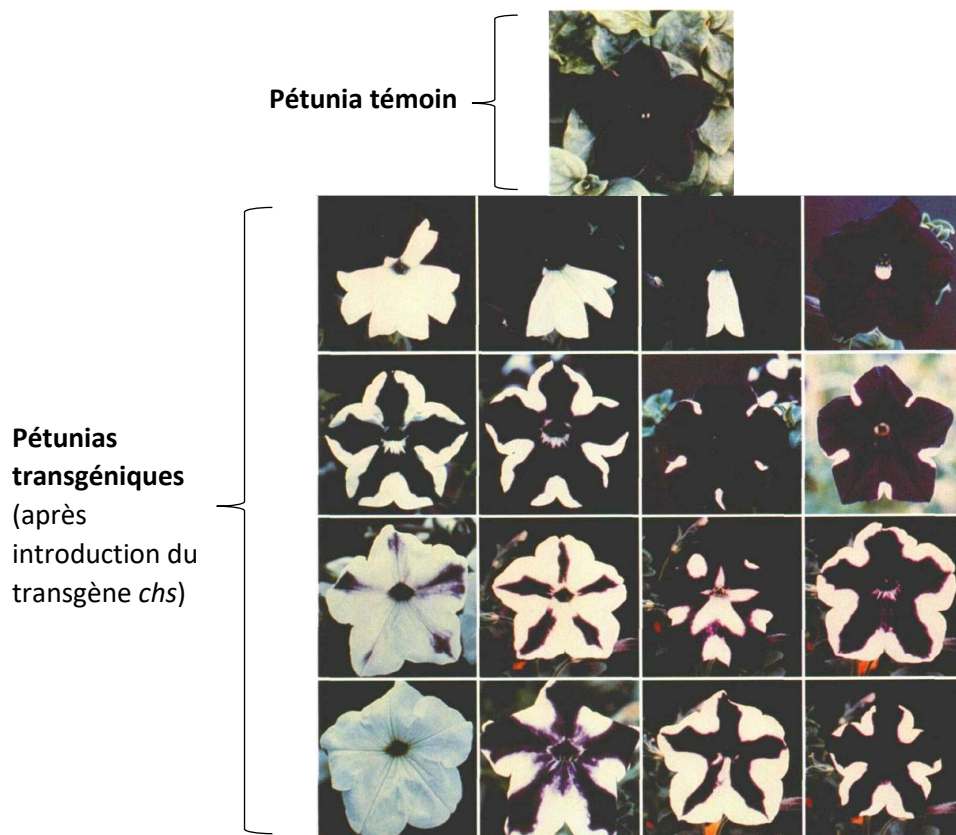


Figure 8 : Phénotypes des fleurs de pétunias transgéniques (*chs* chimériques), adaptés de Napoli et *al.*, *The Plant Cell*, 1990 (23).

Ces résultats ont non seulement démontré que le transgène *chs* introduit ne s'était pas exprimé, mais que l'expression du gène endogène de la *chs* avait été inhibée. Par ailleurs, lors de la perte du transgène dans les lignées issues des plantes chimériques, les fleurs ont retrouvé leur pigmentation violette. Ce phénomène totalement réversible a été nommé « co-suppression ». Les deux copies du gène, endogène et transgène, semblaient interagir de manière négative en se « co-supprimant » (23).

En 1992, Romano et Macino ont décrit un phénomène similaire d'inactivation des gènes chez le champignon *Neurospora crassa*, qu'ils ont nommé « quelling » (terme que l'on peut traduire par « répression ») (24). Les deux chercheurs ont introduit par transgénèse des copies du gène de la désaturase albino-1 (*al-1*), enzyme impliquée dans la biosynthèse des caroténoïdes donnant la couleur orange du champignon. Cela a abouti à la répression de toutes les copies du gène, y compris la copie endogène de l'*al-1*. 36 % des colonies de *Neurospora crassa* sont apparues blanches. Les observations ont été les mêmes que sur les pétunias, c'est-à-dire que le phénomène a été transitoire et réversible dès la perte du transgène (24). L'analyse des niveaux d'ARNm correspondant aux différents phénotypes des champignons transgéniques a révélé que les transgéniques albinos contenaient des niveaux à peine détectables d'ARNm de l'*al-1* par rapport aux souches sauvages. Les chercheurs ont conclu que des phénotypes albinos, plus ou moins sévères, sont caractérisés par une inactivation génique plus ou moins forte (24).

II.1.B. Description du phénomène d'ARN interférence chez le nématode *Caenorhabditis elegans*

En 1998, deux chercheurs américains, Andrew Fire et Craig Mello, ont publié un article majeur qui fournit une explication sur ce phénomène qu'ils ont appelé « interférence médiée par l'ARN ». Ils ont étudié l'introduction expérimentale de brins d'ARN chez le ver *Caenorhabditis elegans*, afin d'inhiber l'expression d'un gène endogène, *unc-22*¹ et d'établir les conditions de structure et de délivrance des brins d'ARN (2).

Pour se faire, ils ont injecté chez le nématode des préparations purifiées contenant des brins simples d'ARN sens, antisens et de l'ARN double brin (ARNdb), spécifiques du gène *unc-22*. Les ARN sens et antisens n'ont eu qu'une activité d'interférence minime nécessitant l'injection d'une dose très élevée pour produire un effet observable. A contrario, l'injection d'une faible dose d'ARNdb, homologue au gène visé a conduit à une inhibition complète et spécifique du gène *unc-22*. Les phénotypes des animaux injectés ainsi que de leur progéniture étaient extrêmement marqués (2).

Bien que ce travail ait établi un nouveau cadre de recherche, à ce stade Fire et Mello ne connaissaient pas encore le mécanisme et les cibles de ce phénomène de silençage génique post-transcriptionnel, médié par un ARNdb. Ils ont observé que les segments d'ARNdb, spécifiques d'introns et de promoteur, n'ont pas produit d'interférence. Cependant, ils n'ont pas exclu une interférence au niveau du gène. En revanche, ils ont constaté que l'injection d'ARNdb a entraîné une diminution des niveaux d'ARNm endogènes (2).

¹ Unc-22 est une protéine du myofilament, abondante et non essentielle.

En 2000, Zamore et son équipe caractérisent le mécanisme d'interférence par ARN au niveau moléculaire. Les molécules d'ARNdb sont clivées en segments d'ARN plus courts de 21 à 23 nucléotides qui sont les principaux effecteurs de l'interférence par ARN (25).

II.1.C. Application sur des cellules de mammifères

À la suite de la découverte centrale de Fire et Mello, des équipes de recherche ont tenté de reproduire ce phénomène d'ARN interférence par injection d'ARNdb exogènes dans des cellules de mammifères. Des difficultés sont alors rencontrées car les longues molécules d'ARNdb, utilisées chez la plante et le ver, se sont avérées toxiques sur les cellules de mammifères (26).

En 2001, l'équipe de recherche des Docteurs Sayda Elbashir et Thomas Tuschl a publié dans *Nature* les premiers travaux sur l'interférence par ARN sur les cellules de mammifères (27). Ils ont mis en évidence la suppression spécifique de l'expression de gènes endogènes et exogènes, par des ARNdb de 21 nucléotides, nommés *small interfering ribonucleic acid* (ARNi), dans différentes lignées cellulaires de mammifères (27). Jusqu'alors, l'injection d'ARNdb supérieur à 30 paire de bases dans le cytoplasme des cellules de mammifères déclenchait une réponse de défense antivirale non spécifique appelée « réponse interféron ». Les ARNdb exogènes sont reconnus comme des ARN viraux entraînant l'activation de l'immunité innée médiée par les Toll-Like-Receptors (TLR). S'ensuit la production de cytokines pro-inflammatoires antivirales (IFN- α , IL-6 ou le TNF- α) qui activent la protéine kinase R (PKR) et la 2'5'-oligoadéylate synthétase (2'5'-AS) provoquant *in fine* la dégradation de l'ARNdb exogène. La synthèse d'ARNi de 21 nucléotides, a permis de contourner cette réaction physiologique et de démontrer le potentiel thérapeutique de ces ARNdb exogènes (27). Ces petits ARN interférents ont été générés à partir d'une séquence plus longue d'ARNdb, clivée par la ribonucléase III. Ils ont ainsi médié la dégradation d'un ARNm cible dans la cellule de mammifère (27).

II.1.D. Avancée majeure dans la compréhension de la régulation des gènes

Andrew Fire et Craig Mello, alors âgés respectivement de 47 et 45 ans, ont été récompensés en 2006 du Prix Nobel de physiologie ou médecine pour leur découverte d'un « mécanisme fondamental du contrôle des flux d'informations génétiques » (28). Leur travail sur l'interférence par ARN, publié en 1998 dans *Nature*, a été qualifié de « découverte scientifique majeure » (28). Cette distinction a suscité une grande ébullition au sein de la communauté scientifique et des laboratoires privés et a démontré l'intérêt de la recherche fondamentale sur des organismes modèles comme le ver *C. elegans* (3,29).

Aussi, de nombreuses perspectives sur l'utilisation des ARNi sont apparues au début des années 2000. En premier lieu, l'interférence par ARN fournirait un outil pour étudier la fonction des gènes. L'ARN interférence permettrait d'analyser les conséquences de la perte de fonction d'un gène, en l'inhibant de manière très spécifique. De même, l'utilisation de cette technique à haut débit permettrait, d'une part de dénombrer les gènes impliqués dans les processus biologiques et, d'autre part d'explorer des voies métaboliques impliquées dans des pathologies, facilitant ainsi la découverte de cibles thérapeutiques potentielles (30). De plus, les chercheurs envisageraient les ARNi comme outils thérapeutiques pour cibler spécifiquement des gènes

impliqués dans certaines pathologies. Ce serait alors une approche tout à fait novatrice dans la découverte et le développement de médicaments (30). Les parties III et IV de cette thèse se concentreront sur les applications thérapeutiques des ARNi et le développement de nouveaux médicaments.

II.2. Mécanismes de régulation post-transcriptionnelle des gènes

II.2.A. *Les miARN*

En parallèle de cette découverte d'interférence par ARN médiée par des ARNdb exogènes, d'autres équipes de chercheurs ont décrit un phénomène naturel similaire induit par des ARN simple brin endogènes appelés miARN (31).

II.2.A.i. Rôle des miARN

Les miARN constituent un groupe de petits ARN endogènes non codants retrouvés chez les organismes eucaryotes (majoritairement chez les plantes et les mammifères). Ces ARN simple brin sont constitués d'environ 22 nucléotides (32). Ils ont été caractérisés pour la première fois en 1993 chez *C elegans* par Lee et al. (31).

Chez les végétaux, la voie des miARN est un mécanisme de protection contre les ARN d'origine virale. La séquence nucléotidique du miARN est alors parfaitement complémentaire de l'ARNm cible d'origine exogène, entraînant sa dégradation.

Chez l'Homme, les miARN jouent un rôle majeur dans le contrôle de l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel. La séquence nucléotidique du miARN est partiellement complémentaire à la séquence de nucléotides de l'ARNm endogène cible. Le miARN va ainsi réprimer la traduction de l'ARNm cible en protéine grâce à un mécanisme moléculaire médié par le *RNA-Induced Silencing Complex* (RISC). On estime qu'un tiers du génome humain est régulé par environ 2000 miARN. Ils sont notamment impliqués dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose cellulaire. De nombreux processus biologiques sont ainsi régulés par les miARN comme le développement neural, la physiologie cardiaque ou l'hématopoïèse. En outre, ils agissent également comme des oncogènes ou des suppresseurs de tumeurs. Lors de certains phénomènes de cancérogenèse, on a pu observer une modification négative de l'expression des miARN (33).

II.2.A.ii. Biogenèse des miARN

La biogenèse classique des miARN chez les mammifères (voie canonique) débute dans le noyau cellulaire lors de la transcription d'une séquence d'ADN, codant pour un miARN, par une ARN polymérase de type II. Cette première étape conduit à la formation d'un miARN primaire, nommé pri-miARN, dont la séquence nucléotidique est généralement supérieure à 1000 nucléotides. Ces structures primaires de miARN contiennent des motifs en épingle à cheveux (34,35). Ces arrangements tridimensionnels particuliers sont reconnus par un complexe multiprotéique appelé complexe multiprocesseur, composé de l'enzyme Drosha (une ribonucléase de type III) et de son cofacteur *DiGeorge critical region-8* (DGCR8). Grâce à son activité endonucléolytique, Drosha-DGCR8 va cliver le pri-miARN pour libérer les épingles à cheveux. Ces petites structures, comportant mésappariements de bases, sont composées d'une

tige et d'une boucle de 60 à 80 nucléotides et forment les miARN précurseurs (pré-miARN) (34,35). Les pré-miARN sont ensuite exportés du noyau vers le cytoplasme grâce à l'exportine-5 et son cofacteur Ran-GTP. L'exportine 5 et Ran-GTP permettent le passage du pré-miARN au niveau d'un pore nucléaire (34,35).

Dans le cytoplasme, les pré-miARN vont subir une dernière étape de maturation avant d'interagir avec leur(s) cible(s). Les boucles terminales des structures en épingle à cheveux sont clivées par l'enzyme Dicer (endonucléase de la famille des ribonucléases III, comme Drosha) et la *Transactivating Response RNA-Binding Protein* (TRBP), formant ainsi un miARN double brin. Ces miARN matures sont des duplex de 19-22 nucléotides, avec un surplomb de 2 nucléotides libres à chaque extrémité 3' terminal, et un groupe phosphate à chaque extrémité 5' terminal (34,35). Le duplex miARN reste lié au complexe Dicer-TRBP et s'associe avec une protéine argonaute (AGO). Ces trois protéines forment un nouveau complexe multiprotéique nommé RISC-loading complex (RLC). Le miARN est alors transféré au sein de la protéine AGO qui va dénouer l'ARNdb grâce à son activité hélicase. Le brin passager (brin sens) va être dissocié et dégradé au profit du brin guide (antisens) (**Figure 9**) formant ainsi le miARN simple brin. Le choix du brin antisens comme brin guide par la protéine AGO, dépendrait de la stabilité thermodynamique des extrémités 5' du duplex d'ARN. La protéine AGO tend à sélectionner le brin le plus instable thermodynamiquement en 5' terminal. Le brin antisens va servir de guide pour le RISC afin de cibler un ARNm par complémentarité de bases (34,35).

II.2.A.iii. Mécanisme de régulation des gènes médié par les miARN

Le complexe RISC activé s'apparie avec l'ARNm cible principalement au niveau de son extrémité 3'UTR. La complémentarité partielle des séquences entraîne une répression de la traduction de l'ARNm endogène en protéine (32). En raison de leur petite taille et des mésappariements des nucléotides chaque miARN peut cibler 100 à 200 ARNm. Inversement, l'expression d'un seul gène peut être régulée par différents miARN (33). Parfois, le miRISC présente une homologie parfaite avec l'ARNm cible qui s'accompagne alors d'un clivage de la séquence de nucléotides grâce à l'activité endonucléasique de la protéine AGO (32) (**Figure 9**). Ce processus est catalytique puisque le complexe RISC est ensuite recyclé afin de cibler de nouveaux ARNm.

II.2.B. Les ARNi

Les ARNi, ces petits ARNdb exogènes, empruntent la même voie biologique que les miARN afin de réguler l'expression des gènes. Ils sont synthétisés à partir d'un long ARNdb homologue de l'ARNm cible, avec une complémentarité parfaite entre les deux brins. Tout comme les miARN, ils agissent au niveau du cytoplasme cellulaire où ils sont clivés par le complexe Dicer-TRBP en ARNdb de 22 nucléotides environ, avec 2 nucléotides libres en 3' terminal. La protéine AGO est ensuite recrutée et le brin guide (antisens) est conservé puis incorporé au complexe RISC. Le RISC s'oriente vers l'ARNm cible et le dégrade grâce à l'appariement complet de l'ARNi et de l'ARNm en raison d'une parfaite homologie des séquences. L'ARNm cible est ainsi inhibé empêchant sa traduction en protéine.

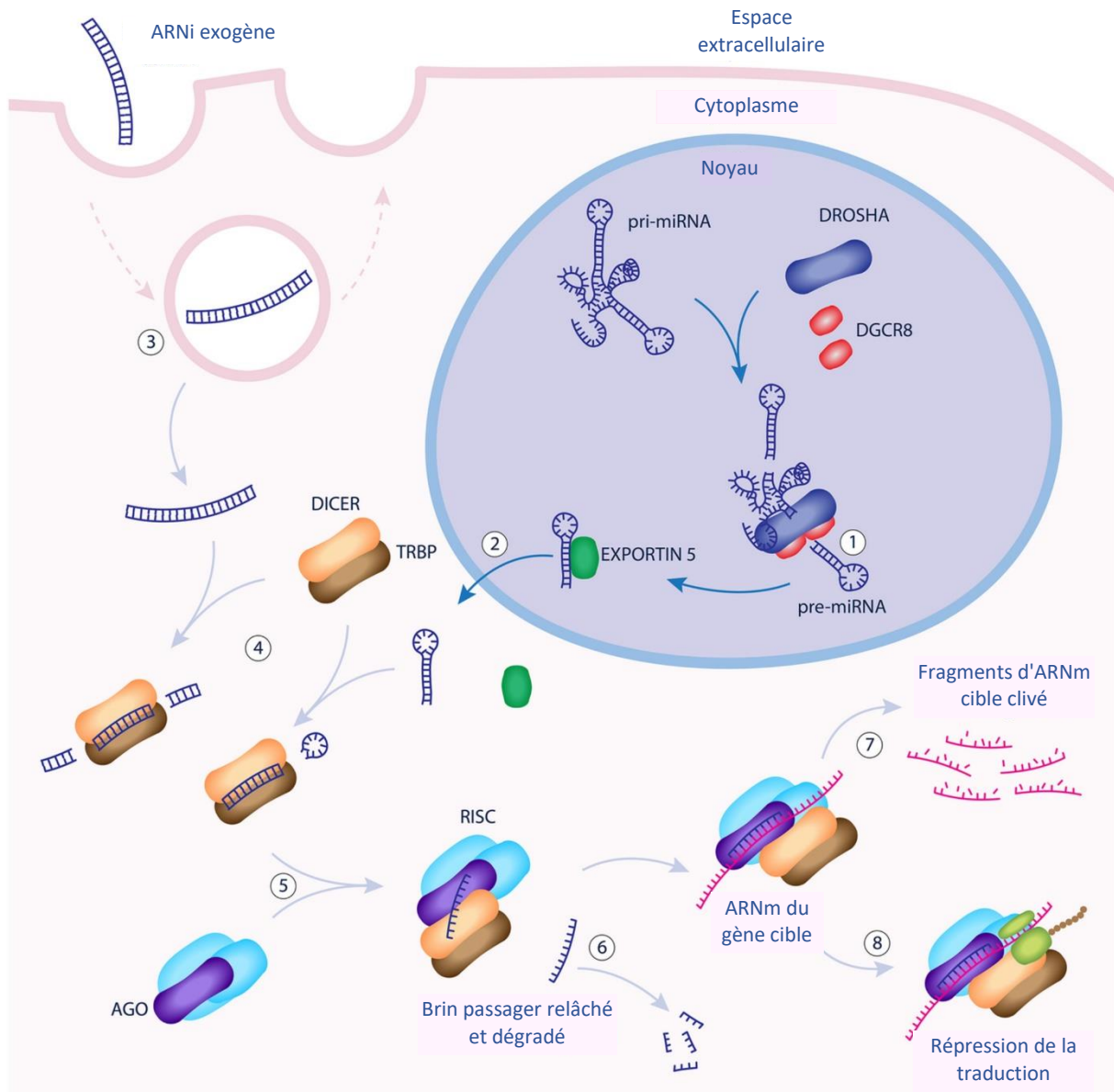


Figure 9 : Schéma des mécanismes moléculaires de l'interférence par ARN, adapté de Forbes et al., British Pharmacological Society, 2022 (36).

DGCR8 = région chromosomique 8 du syndrome de DiGeorge ; TRBP = Transactivating Response RNA-binding protein ; RISC = RNA-induced silencing complex ; AGO = protéine Argonaute

Dans le noyau, les pré-miARN sont formés à partir des pri-miARN par le complexe multiprocasseur DROSHA/DGCR8 (1). Les pré-miARN sont exportés dans le cytoplasme grâce à l'exportine-5 (2). Les molécules d'ARN double brin exogènes (ARNi) entrent dans la cellule par endocytose (3). Les duplex d'ARN (pré-miARN et ARNi) sont reconnus par le complexe Dicer/TRBP dans le cytoplasme (4) avant de s'associer à la protéine Argonaute (AGO) pour former le RISC (5). Le complexe RISC dissocie l'ARNdb et charge le brin guide (antisens), libérant le brin passager (sens) qui est dégradé (6). Le brin antisens sert de guide pour orienter le RISC vers les ARNm cibles ; en fonction de l'homologie de séquence nucléotidique, les ARNm sont clivés (7), ou leur traduction est réprimée (8).

II.3. Elaboration d'une nouvelle classe thérapeutique

II.3.A. Défis à relever pour l'élaboration d'ARNi thérapeutiques

Les sociétés de biotechnologie et les entreprises pharmaceutiques ont montré un grand enthousiasme pour ces petites molécules d'ARNi grâce à un mécanisme d'action attrayant et la facilité relative de fabrication des ARNi. Assurément, ces ARNi constituent une option thérapeutique intéressante pour les maladies ayant pour cause une dysrégulation ou un gain de fonction d'un gène. En intervenant au niveau post-transcriptionnel sur les ARNm, plutôt que post-translationnel sur les protéines, les ARNi peuvent agir sur des cibles pour lesquelles aucun traitement n'était jusqu'à lors disponible ou impossible à développer en utilisant des molécules chimiques ou des anticorps monoclonaux (10). Contrairement aux oligonucléotides antisens, l'action des ARNi repose sur un processus physiologique catalytique, car après le clivage de l'ARNm, le complexe RISC se dissocie de l'ARNm dégradé pour se lier à une autre copie du transcrit. Dès lors, de très faibles concentrations d'ARNi, de l'ordre du picomolaire, sont capables d'induire une inhibition de l'expression des gènes, limitant ainsi les potentiels effets toxiques (37,38).

D'un point de vue thérapeutique, l'aspect le plus important est de sélectionner la bonne cible moléculaire, le bon ARNm, afin de traiter une maladie particulière. Les traitements par ARNi actuellement commercialisés visent des ARNm codant pour des protéines. Néanmoins, une grande partie du génome humain code pour des ARNm non codants, potentielles cibles thérapeutiques pour le traitement du cancer. De même, l'approche thérapeutique d'interférence par ARN est prometteuse pour lutter contre les virus pathogènes dont les génomes sont constitués d'ARN monocaténaire (hépatite C, virus respiratoire syncytial, influenza, coronavirus) (37).

Malgré cela, les propriétés physico-chimiques des ARNi ont été à l'origine de multiples défis pour permettre leur adressage aux cellules d'intérêt et conduire à une action thérapeutique. L'administration systémique de duplex d'ARNi offre à la fois les meilleures opportunités thérapeutiques mais également de grands défis. Afin, d'adresser spécifiquement l'ARNi vers l'organe cible, une vectorisation du duplex est indispensable (37,38).

Outre leurs propriétés immunostimulantes vues précédemment, les ARNi sont des molécules instables et fragiles, de haut poids moléculaire (environ 14 kDa), polyanioniques et hydrophiles. Ces propriétés limitent leur diffusion passive à travers les membranes cellulaires impliquant un système de transport membranaire actif ou la voie d'endocytose (5,37,38).

Par ailleurs, un ARNi nu formulé dans une solution saline et injecté par voie intraveineuse a une demi-vie allant de quelques minutes à une heure. En effet, il sera rapidement reconnu par les ribonucléases plasmatiques et dégradé. Simultanément, les ARNi nus sont soumis à une clairance rénale rapide puisque leur poids moléculaire est inférieur à 50 kDa. L'administration systémique d'ARNi doit donc faire appel à des technologies permettant d'augmenter la demi-vie du duplex en le protégeant des nucléases et en évitant la filtration glomérulaire (37,38).

Enfin, des effets *off target*, c'est-à-dire une extinction génique sur des ARNm hors cible, peuvent avoir lieu par deux mécanismes distincts de type miARN ou médié par le brin passager

(sens). D'une part, les ARNi peuvent emprunter la voie des miARN. La régulation des gènes par les miARN ne nécessite pas une complémentarité parfaite avec leur ARNm cible. Ainsi, en plus de son homologie complète avec l'ARNm cible, le brin guide de l'ARNi peut s'apparier partiellement au niveau de sa région d'amorçage (nucléotides 2 - 8 de l'extrémité 5') avec un ARNm hors cible (39). D'autre part, le brin sens peut être intégré accidentellement dans le RISC, à la place du brin antisens, réorientant le complexe vers un autre ARNm. Ces effets *off target* sont problématiques car ils entraînent des changements dans l'expression des gènes pouvant affecter le fonctionnement des cellules saines (39).

Des modifications sur la structure nucléotidique du duplex sont donc nécessaires. Pour autant, elles ne doivent pas altérer le mécanisme d'action de l'ARNi qui doit être incorporé dans le complexe RISC. Ainsi, le développement de stratégies d'amélioration a constitué une limitation majeure dans l'application thérapeutique des traitements par ARNi (5,37,38) .

Les premières études se sont concentrées sur des traitements par administration locale, notamment par injection intravitréenne (l'œil étant considéré comme un organe immuno-privilégié) ou pour une action hépatique. En effet, le foie est un organe fortement perfusé avec un endothélium sinusoidal discontinu et de nombreux récepteurs à la surface de ses cellules (par exemple les récepteurs Scavengers ou les récepteurs aux asialoglycoprotéines), facilitant la captation des grosses molécules (5,37,38).

II.3.B. Caractéristiques et paramètres importants dans la conception d'une séquence d'ARNi

Afin de concevoir un ARNi optimal – spécifique de l'ARNm cible, n'entraînant pas d'effet *off-target* sur des gènes non ciblés et ne provoquant pas d'activation du système immunitaire inné – il est nécessaire que la séquence nucléotidique présente des caractéristiques spécifiques (37).

Comme discuté précédemment, le premier protocole de conception d'un ARNi efficace a été publié dès 2001 par l'équipe d'Elbashir. Ces chercheurs ont recommandé l'utilisation d'un ARNi de 21 nucléotides de long avec une teneur en bases G/C de ~ 50 % et des extrémités libres en 3' de deux nucléotides (27). Depuis, des recherches approfondies ont contribué à améliorer l'élaboration des ARNi afin de déterminer la structure idéale (**Figure 10**) (37).

La teneur en bases guanine et cytosine (G/C) est un paramètre fondamental afin d'obtenir une liaison spécifique de l'ARNi à l'ARNm cible. Elle doit être comprise entre 30 et 60 %. En effet, une teneur trop faible en bases guanine et cytosine peut conduire à une liaison non spécifique avec l'ARNm cible. Au contraire, une teneur trop élevée en bases guanine et cytosine peut empêcher le déroulement et l'incorporation de l'ARNi dans le complexe RISC. Toutefois, il est important de noter qu'une faible proportion en bases guanine et cytosine entre les nucléotides 9 et 14 est importante afin d'augmenter la performance du complexe RISC lors de l'étape de clivage de l'ARNm cible (37).

Pour prévenir l'activation du système immunitaire, la longueur des ARNi doit être située entre 19 à 29 nucléotides. Les ARNi trop courts peuvent manquer de spécificité et engendrer des effets *off-target* tandis que les séquences trop longues contribuent à déclencher une réponse

inflammatoire *virus-like* (cf II.1.C). Il faut par ailleurs éviter les séquences nucléotidiques avec une teneur élevée en uracile (U) qui sont reconnues par les TLR (37).

De plus, afin d'assurer le chargement préférentiel du brin antisens dans le complexe RISC et réduire le risque d'incorporation du brin sens, il est indispensable d'avoir plus d'adénosine (A) et d'uracile (U) à l'extrémité 5' du brin antisens et plus de GC à l'extrémité 5' du brin sens. Des extrémités en 3'-terminal, comportant 2 nucléotides libres non appariés, permettent de contourner le clivage de l'ARNi par l'enzyme Dicer. D'autres recommandations incluent notamment la présence d'adénosine, en position 4 et 19 du brin sens et la présence d'uracile, en position 10 du brin sens, afin d'augmenter l'efficacité de l'ARNi (37).

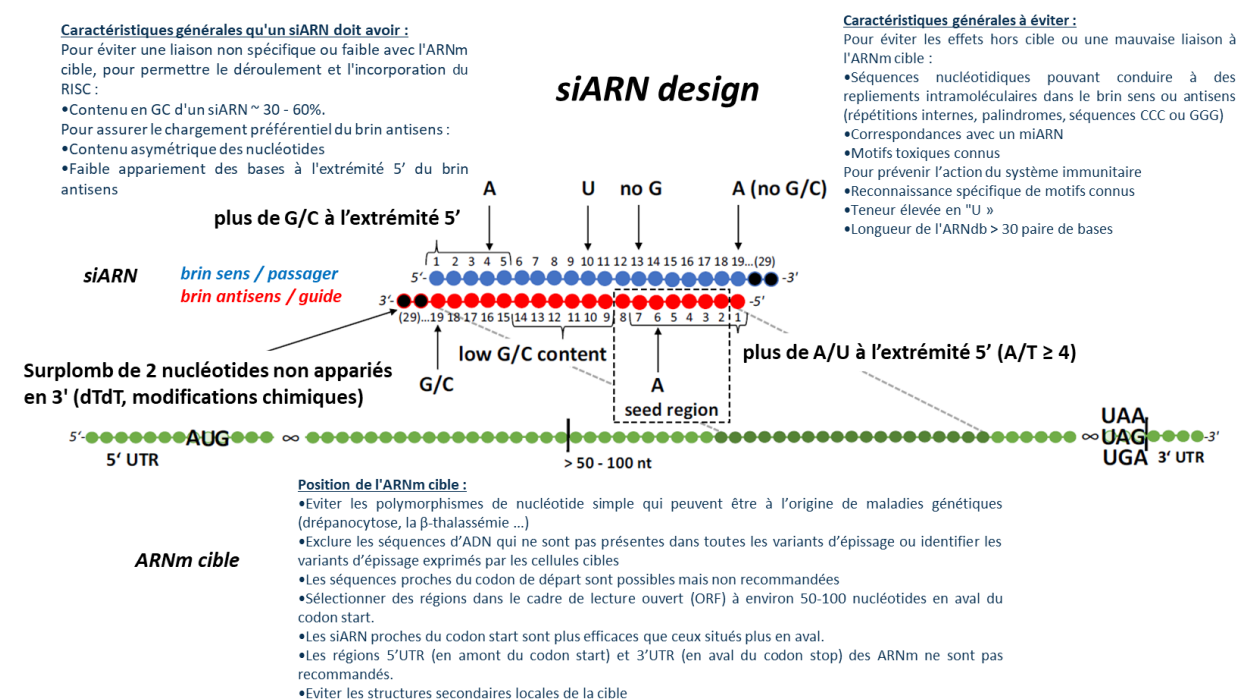


Figure 10 : Schéma des caractéristiques et paramètres importants dans la conception d'une séquence d'ARNi, adapté de Friedrich et Aigner, BioDrugs, 2022 (37).

ARNi = petit ARN interférent ; dTdT = dinucléotide de désoxythymidine ; ARNm = ARN messenger ; A = adénine, C = cytosine ; G = guanine ; T = thymine ; U = uracile

II.3.C. Systèmes de délivrance des ARNi

L'un des plus grands défis pour exploiter le plein potentiel des thérapies ARNi est la délivrance efficace des molécules jusqu'à la cellule cible. Comme vu précédemment, les caractéristiques physico-chimiques des ARNi empêchent leur diffusion passive à travers les membranes cellulaires. Par conséquent, la mise au point de systèmes d'administration sûrs et efficaces est nécessaire pour délivrer systématiquement l'ARNi jusqu'à l'organe cible et lui permettre de franchir la membrane jusque dans le cytoplasme. Actuellement, deux vecteurs ont été cliniquement validés afin de développer des médicaments ciblant le foie.

II.3.C.i. Les nanoparticules lipidiques

La première solution développée afin de résoudre la difficulté de l'administration intracellulaire mais également l'excrétion rapide de l'ARNi, a été d'utiliser des nanoparticules lipidiques (LNP). Cette formulation était déjà utilisée depuis de nombreuses années notamment afin de vectoriser des molécules thérapeutiques pour les traitements contre le cancer (Doxil®, DaunoXome®, ...). Elle présente l'avantage d'être biocompatible et peu coûteuse mais nécessite une administration par voie intraveineuse (IV).

Les LNP sont des vésicules sphériques, de 20 à 100 nm de diamètre, formées de manière artificielle en présence de phospholipides en milieu aqueux. Ces lipides amphiphiles, constitués d'une tête hydrophile et d'une queue hydrophobe, vont s'assembler pour créer une bicouche lipidique dans laquelle est enfermée un compartiment aqueux. C'est une méthode d'encapsulation efficace de l'ARNi aux propriétés hydrophiles. Ces sphères lipidiques permettent un adressage spécifique de l'ARNi au niveau hépatique et lui apportent une protection contre les ribonucléases lors du transport dans l'organisme.

L'affinité remarquable des LNP pour le foie s'explique par l'adsorption des ApoE endogènes plasmatiques à la surface des LNP. Ces nanoparticules transitent alors à travers l'endothélium plasmatique vers le foie. Les ApoE complexées agissent comme un ligand de ciblage et sont reconnues par les récepteurs au LDL cholestérol (LDLR) présents au niveau des hépatocytes. Cela déclenche l'absorption des LNP dans les cellules hépatiques par endocytose. Grâce au différentiel de pH dans l'endosome, la bicouche lipidique de la LNP interagit avec les lipides anioniques endogènes et se fragmente. Elle libère ainsi les ARNi libres dans le cytoplasme qui sont alors incorporés dans le RISC entraînant la destruction de l'ARNm cible (40). Ce vecteur présente donc une très forte spécificité hépatique évitant ainsi un effet *off target*.

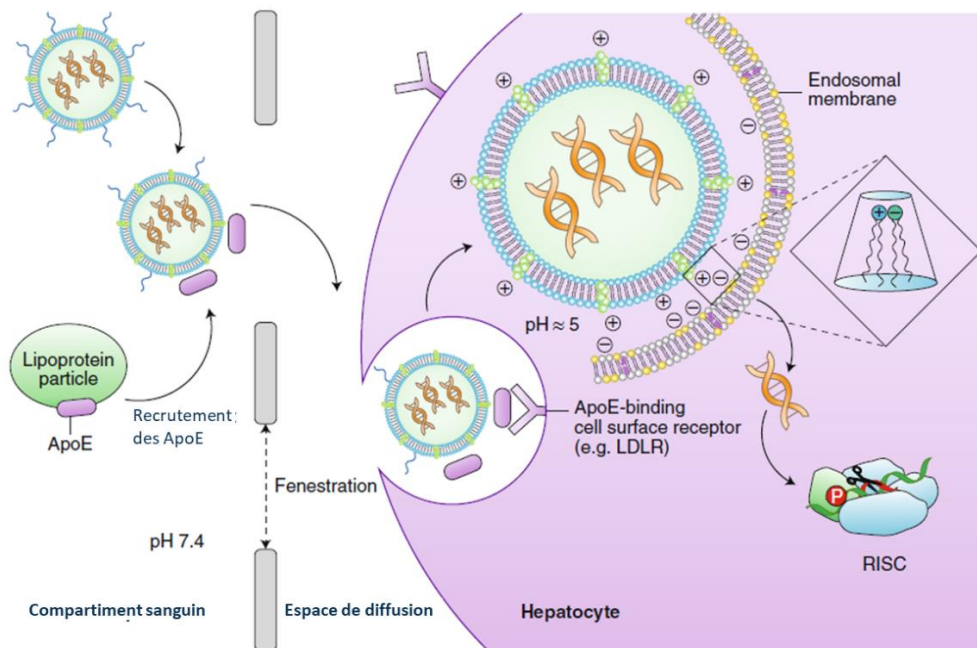


Figure 11 : Schéma du transport des ARNi grâce aux LNP, adapté de Akinc et *al.*, Nature Nanotechnology, 2019 (41).

ApoE = apolipoprotéine E ; *pH* = potentiel hydrogène ; *RISC* = complexe de silençage induit par l'ARN

Afin de composer un système LNP-ARNi efficace, ayant un potentiel de traduction clinique, les chercheurs se sont attardés sur le choix des lipides qui constituent les LNP. En effet, la composition biochimique des nanoparticules est déterminante afin de délivrer l'ARNi. Les LNP doivent notamment être faiblement chargées à leur surface et avoir un diamètre inférieur à 100 nm (41).

Dans un premier temps, des lipides cationiques (chargés positivement) ont été utilisés puisqu'ils permettent de créer facilement des interactions électrostatiques avec les acides nucléiques encapsulés. Seulement, *in vivo* ils engendrent le déclenchement d'une réponse inflammatoire et d'une hépatotoxicité (41). C'est pourquoi, les chercheurs ont eu recours à des lipides cationiques ionisables, présentant un pKa inférieur au pH neutre. Dans l'endosome où le pH est acide, ils sont protonés mais au niveau plasmatique où le pH est de 7,4 ils sont faiblement chargés. Cela leur confère une bonne innocuité (41).

Par ailleurs, l'ajout de cholestérol dans la bicouche permet de moduler la structure en la rigidifiant et d'augmenter ainsi sa stabilité. *In vivo*, cela impactera sa résistance dans la circulation plasmatique et sa capacité à libérer les ARNi une fois internalisés (41).

Les LNP peuvent être fonctionnalisées en additionnant des polyéthylènes glycols (PEG). Ces composés permettent de moduler la taille de la LNP (entre 20 et 100 nm) et d'améliorer sa stabilité dans le système vasculaire en conférant une protection supplémentaire aux ARNi. Cependant, la présence de composés PEGylés limite les interactions avec la membrane cellulaire et donc l'internalisation de la LNP dans le cytoplasme (41). Pour contourner ce problème, les PEG ont été remplacés par des PEG-lipides. L'ajout de PEG-lipides à courtes chaînes acyles (C14), sur la structure de la LNP, favorise un encombrement stérique tout en limitant l'autoassemblage des LNP entre elles lors de la formulation (42). Par ailleurs, les PEG-lipides se dissocient de la LNP au contact des protéines plasmatiques. La LNP peut donc ensuite entrer en contact avec la cellule hépatocytaire et être internalisée (42).

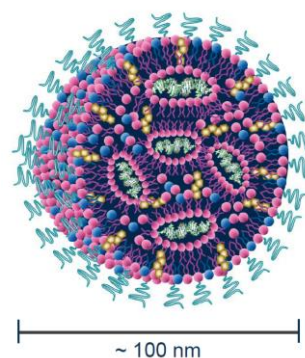


Figure 12 : Illustration schématique d'ARNi encapsulés dans une nanoparticule lipidique.

ARNi (vert) ; lipides cationiques ionisables (rose) ; PEG-lipides (bleu) ; cholestérol (jaune)

Cette formulation LNP-ARNi remplit les critères de base pour un développement clinique. Comme la puissance *in vitro* des nanomédicaments est rarement corrélée avec les performances *in vivo*, les études ont été réalisées rapidement sur des modèles animaux afin d'optimiser le silençage génique (41). Par la suite, quelques grandes avancées pré-cliniques, qui ont permis d'aboutir au premier médicament à base d'ARN formulé en LNP, vous seront présentées.

Première génération de LNP composées de lipides ionisables DLin-DMA

En 2006, Zimmerman et *al.* publient les résultats du premier essai pré-clinique évaluant l'efficacité d'un système LNP-ARNi, après administration systémique, chez des primates non humain (43). Les ARNi, ciblant l'ARNm de l'ApoB, ont été formulés en particules lipidiques stables d'acide nucléique (SNALP) et administrés par voie IV à des doses de 1 ou 2,5 mg/kg. Cette formulation lipidique contient notamment le lipide ionisable DLin-DMA (1,2-dilinoleyloxy-N,N-diméthyl-3-aminopropane) (43). Après une seule injection, l'expression de l'ARNm de l'ApoB a diminué rapidement et durablement (réduction > 90 % de l'ARNm de l'ApoB 48h après l'injection d'une dose de 2,5 mg/kg chez des primates) (43). De plus, les modifications biologiques attendues par la répression du gène de l'ApoB ont été observées. Les primates ont présenté une réduction du taux de protéine ApoB, associée à une diminution du cholestérol total et du LDL-c qui a persisté au-delà des 11 jours de l'étude (43). Cependant le système SNALP présentait un index thérapeutique étroit entraînant notamment une élévation transitoire des transaminases (43,44).

Ces résultats ont démontré l'intérêt clinique de traitement par ARNi afin de silencer les gènes chez les primates et ont permis de soutenir le développement d'ARNi comme nouvelle classe thérapeutique. Le développement galénique a été poursuivi afin d'optimiser principalement le lipide aminé ionisable de la LNP (41,43,44).

Conception de nouveaux lipides ionisables et développement du DLin-KC2-DMA

Une première avancée a eu lieu avec le développement du lipide ionisable DLin-KC2-DMA. Semple et *al.* ont conçus sur la base du DLin-DMA, largement testé en préclinique, de nouveaux lipides avec un $pK_a < pH = 7,0$ (45). Pour cela, des modifications ont été réalisées sur la structure des lipides ionisables - la chaîne alkyle hydrophobe, le lieur et la tête hydrophile – aboutissant au lipide DLin-KC2-DMA (2,2-dilinoleyl-4-diméthylaminoethyl-[1,3]-dioxolane). L'ARNi-LNP formulé avec DLin-KC2-DMA ($pK_a = 6,4$) a permis de réduire l'expression du facteur VII chez la souris et les primates non humains. La formulation avait une puissance 10 fois supérieure au SNALP formulé avec le DLin-DMA (45). Ces données ont permis d'identifier des relations structure-activité, notamment liées au pK_a du lipide cationique ionisable. En effet, au pH plasmatique, les LNP à base de DLin-KC2-DMA ont une charge superficielle limitée ce qui va notamment influencer l'adsorption des protéines plasmatiques. Au contraire, dans l'endosome, les LNP à base de DLin-KC2-DMA seront protonées ce qui permettra un échappement rapide de l'endosome vers le cytoplasme après endocytose (41,45).

Deuxième génération de LNP composées de lipides ionisables DLin-MC3-DMA

Par la suite, Jayaraman et *al.* ont réalisé des modifications structurelles sur la tête hydrophile aminée du lipide DLin-KC2-DMA. Ces changements ont permis de moduler le pK_a du lipide ionisable jusqu'à une valeur optimale située entre 6,2 et 6,5. Ces données participent à la conception de LNP capables de délivrer des ARNi actifs dans les hépatocytes afin de réduire l'expression génique *in vivo*. L'étude a notamment permis de mettre en évidence un lipide ionisable particulièrement puissant : le DLin-MC3-DMA (46).

Une nouvelle formulation de LNP-ARNi, intégrant le DLin-MC3-DMA, dirigée contre l'ARNm de la transthyréline a été étudiée chez les primates non humains (nom de la molécule :

ALN-TTR02). Les résultats ont montré une puissance d'extinction des gènes dix fois supérieure à celle du complexe LNP-ARNi de première génération (nom de la molécule : ALN-TTR01) (41,47). Les résultats cliniques chez l'homme seront détaillés dans la partie III.1.D.

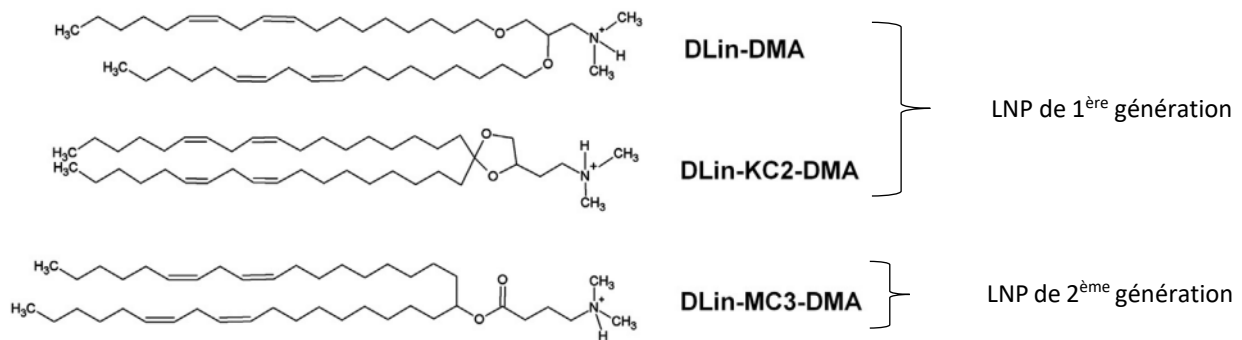


Figure 13 : Exemples de lipides cationiques ionisables usuels pour la formulation de LNP.

LNP = nanoparticule lipidique

II.3.C.ii. Sucres GalNAc

Bien que les LNP de deuxième génération aient permis le développement clinique d'ARNi thérapeutiques, l'administration par voie IV pouvait constituer un inconvénient majeur. Grâce aux améliorations chimiques réalisées en parallèle (*cf* partie II.3.D), qui ont permis d'améliorer la stabilité des ARNi et de contourner les problèmes de tolérance, la conjugaison des ARNi nus à des ligands de ciblage était prometteuse.

Le récepteur aux asialoglycoprotéines (ASGPR), découvert dans les années soixante, était une cible thérapeutique bien connue pour délivrer des médicaments au niveau hépatique. En effet, c'est un récepteur présent en grande quantité à la surface des hépatocytes (environ 500 000 récepteurs par hépatocyte) et rapidement recyclé vers la membrane cellulaire après endocytose. Il reconnaît spécifiquement les résidus galactose et N-acétylgalactosamine (GalNAc), avec une affinité plus importante pour le GalNAc triantennaires ou tétraantennaires (48).

Des conjugués GalNAc-ARNi ont donc été développés afin de cibler spécifiquement l'hépatocyte pour délivrer l'ARNi dans le cytoplasme. Le trimère GalNAc est conjugué au niveau du brin sens de l'ARNi en extrémité 3' ou 5' par une liaison covalente. Ils présentent l'avantage de pouvoir être administrés par voie sous-cutanée et sont mieux tolérés que les LNP. De plus, ils nécessitent un faible coût de production et présentent une efficacité à des doses plus faibles. Les premiers essais cliniques chez l'Homme ont montré que les ARNi-conjugués suppriment de manière robuste l'expression génique de l'ARNm ciblé (49).

La fixation spécifique du ligand GalNAc, aux ASGPR à la surface des hépatocytes, entraîne l'internalisation du complexe dans une vésicule d'endocytose. Dans l'endosome, l'acidification du milieu conduit à la dissociation du conjugué GalNAc du ASGPR qui est recyclé vers la membrane hépatocytaire. Le ligand GalNAc est rapidement clivé de l'ARNi qui reste libre, piégé dans l'endosome. Les ARNi vont alors traverser lentement la bicouche endosomale, par un mécanisme encore inconnu, pour pénétrer le cytoplasme. L'endosome va se transformer peu à peu en lysosome constituant une réserve d'ARNi expliquant cette action prolongée (5,48).

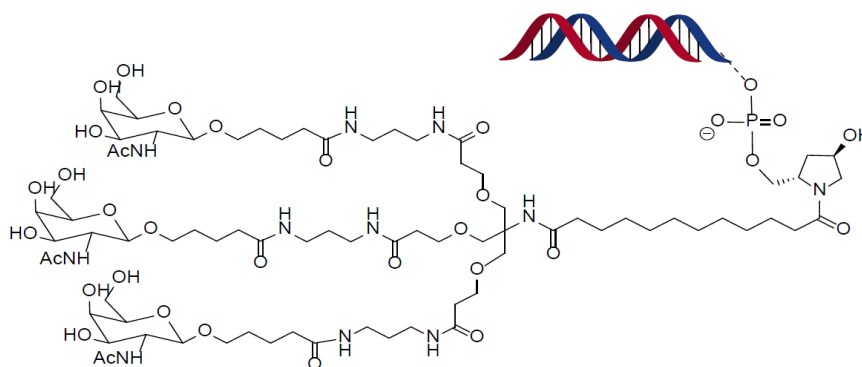


Figure 14 : Schéma d'un conjugué GalNAc-ARNi.

II.3.D. Améliorations chimiques apportées aux ARNi

A la différence des oligonucléotides antisens, composés d'un simple brin d'ARN, la structure en double brin des ARNi permet d'effectuer des modifications chimiques importantes sur les nucléotides. Celles-ci vont améliorer la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des ARNi en augmentant notamment la stabilité chimique du squelette nucléotidique. Elles représentent également une approche efficace afin de répondre aux nombreux problèmes liés au développement des ARNi-conjugués. Elles ont notamment permis de supprimer l'activation de la réponse immunitaire innée, d'accroître la résistance aux nucléases et d'améliorer la spécificité des ARNi diminuant ainsi leur toxicité liée aux potentiels effets *off target*. Ces optimisations chimiques peuvent être réalisées sur la partie ribose, les liaisons phosphodiester inter-nucléosidiques ou directement sur les bases du squelette de nucléotides (37).

II.3.D.i. Modifications chimiques apportées sur le ribose

Le groupe 2'-OH sur la partie ribose des nucléotides est la position préférentielle pour effectuer des modifications chimiques. En effet, ce groupe hydroxyle n'est pas requis pour l'activité de l'ARNi. Il peut être remplacé par exemple par un groupe 2'-O-méthyle (2'-OMe), modification la plus utilisée sur les ARNi (**Figure 15**). Elle permet d'augmenter de manière significative la stabilité et la demi-vie de l'ARNi et de réduire l'immunogénicité déclenchée par les ARNi non modifiés. D'autre part, la méthylation du ribose en 2', précisément sur l'extrémité 5' du brin sens, permet d'augmenter l'affinité de l'ARNi avec l'ARNm cible. En effet, cette modification sur le brin sens diminue sa probabilité d'être sélectionné comme le brin guide lors de la formation du complexe RISC, limitant ainsi les effets *off target* (37).

Par ailleurs, la substitution du groupe 2'-OH du ribose par un fluor (2'-deoxy-2'-fluoro) est également largement employée dans le développement d'ARNi en pré-clinique et clinique, en raison de la petite taille du 2'-F qui est comparable au groupe hydroxyle de l'ARN naturel (37,50). Le fluor étant hautement électro-négatif cela confère au sucre modifié une conformation C3-endo bénéfique pour l'activité de la liaison (**Figure 15**) (37,51).

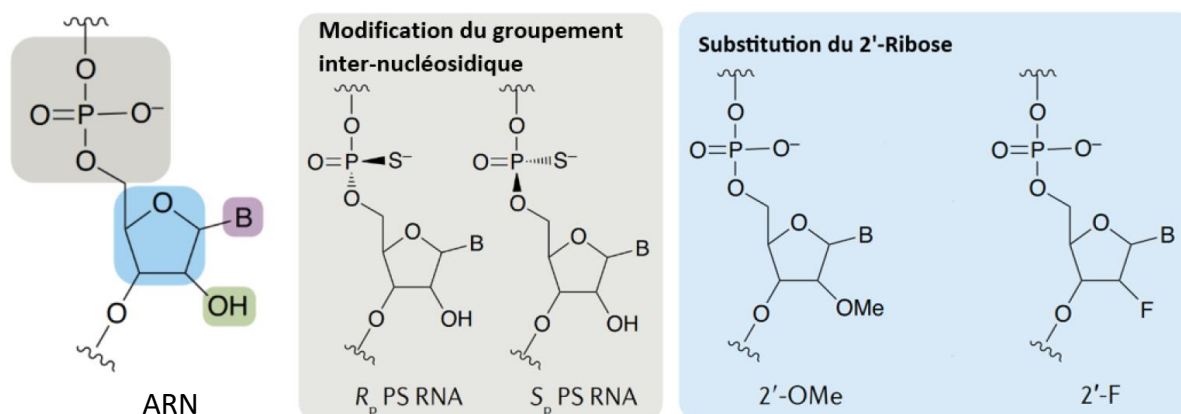


Figure 15 : Schéma des principales modifications chimiques réalisées sur des nucléotides afin d'améliorer les propriétés physico-chimiques et la pharmacodynamie, adapté de Roberts et *al.*, Nature Review Drug Discovery, 2020 (5).

ARN = acide ribonucléique ; F = fluor, O = oxygène ; OH = hydroxyle ; OMe = méthoxyle ; P = phosphore ; PS = phosphorothioate ; S = soufre

Plus récemment, de nouvelles modifications au niveau du ribose ont été employées. Entre autres, l'introduction d'un acide nucléique glycolé sur l'extrémité 5' du brin antisens permet de le fragiliser. Les acides nucléiques glycolés agissent comme des nucléotides thermiquement déstabilisants. Lors de la formation du complexe RISC, le choix du brin guide (antisens), par rapport au brin passager (sens) dépend de l'asymétrie chimique dans le duplex ARNi. C'est le brin présentant la plus grande instabilité qui sera sélectionné pour être le brin guide. La stabilité thermodynamique des extrémités 5' terminales est donc déterminante. Ces modifications chimiques minimisent ainsi les effets *off target* en bloquant l'entrée du brin sens passager (sens) et en favorisant le chargement du brin guide (antisens) par le RISC (37).

Toutefois, ces modifications chimiques doivent être appliquées judicieusement car les contraintes stériques introduites par ces optimisations peuvent diminuer sensiblement l'activité d'interférence par ARN (52).

II.3.D.ii. Optimisations chimiques des liaisons phosphodiester inter-nucléosidiques

De nombreuses modifications sur les liaisons phosphodiester inter-nucléosidiques sont également utilisées pour optimiser la structure des ARNi. Par exemple, l'incorporation d'une liaison phosphorothioate (O_3PS-3 , abréviation PS). La liaison PS est obtenue en remplaçant un atome d'oxygène non pontant (ou libre) du groupe phosphodiester par un atome de soufre (**Figure 15**). Cette modification chimique a été initialement introduite dans la conception des ASO où elle est très bien tolérée et ne perturbe pas l'activité de la ribonucléase H (38). Elle confère au ARNi une résistance contre les nucléases plasmatiques et intracellulaires, enzymes capables de cliver le squelette nucléotidique au niveau de la liaison phosphodiester. Cela entraîne une augmentation de la demi-vie des ARNi dans le plasma, puis dans le cytoplasme, permettant d'allonger la durée d'action du traitement. D'autre part, l'ajout d'une liaison PS favorise les propriétés de liaisons de l'ARNi aux protéines hydrophobes, telle que l'albumine plasmatique. Cela a pour effet d'améliorer la pharmacocinétique du duplex en augmentant sa demi-vie dans

la circulation sanguine et donc en réduisant la clairance rénale. Les ARNi sulfatés semblent également présenter des interactions avec les protéines membranaires facilitant ainsi l'internalisation cellulaire du duplex (5,37).

Néanmoins, il a été démontré qu'une modification substantielle des liaisons phosphodiester par des liaisons PS induit une liaison excessive non spécifique avec des protéines membranaires, associée à une toxicité *in vivo*. L'autre risque est de réduire, dans une certaine mesure, la capacité de liaison de l'ARNi à sa séquence d'ARNm cible en altérant la forme tridimensionnelle de l'ARNdb. Il a été montré qu'un ARNi ne comportant que des liaisons PS sera moins actif que son homologue avec des liaisons phosphodiester (5,37). C'est pourquoi, les ARNi thérapeutiques cliniquement approuvés (givosiran, lumasiran et inclisiran développés par Alnylam Pharmaceuticals) contiennent des modifications PS uniquement aux extrémités 5' du brin sens et antisens et deux liaisons PS supplémentaires aux deux premiers nucléotides de l'extrémité 3' du brin antisens.

Divers modèles de modifications chimiques ont été commercialisés tels que la chimie de modèle standard (STD), la chimie de stabilisation améliorée (ESC), ESC avancé (Advanced ESC) et ESC plus (ESC +), toutes établies par Alnylam Pharmaceuticals (37,44). Dicerna et Arrowhead ont également développé d'autres modèles de chimie qui ne seront pas détaillés par la suite (37,53).

II.3.D.iii. Evolution des modèles d'ARNi conjugués

STC : standard template chemistry (chimie de modèle standard)

Les premiers conjugués ARNi-GalNac ont été développés avec une conception de chimie de modèle standard (STC). Dans ce format, des modifications 2'-OMe et 2'-F alternées sont placées tout au long des brins sens et antisens, excepté au centre du duplex où trois groupes 2'-F et trois groupes 2'-OMe consécutifs sont placés (**Figure 17**). Le premier ARNi-GalNac-STC développé en thérapeutique est le revusiran. Ce traitement ciblait la protéine transthyréline (TTR) dans l'amylose héréditaire à TTR. Lors des essais cliniques, les chercheurs ont mis en évidence que ce ARNi-GalNac-STC était métaboliquement instable, nécessitant l'injection de très fortes doses afin de produire un effet thérapeutique. Le développement du revusiran a été abandonné en phase 3 à cause de la mauvaise tolérance au traitement (44,54). Nous reviendrons sur ce premier échec clinique dans la partie **III.1.E**.

ESC : enhanced stabilization chemistry (chimie de stabilisation renforcée)

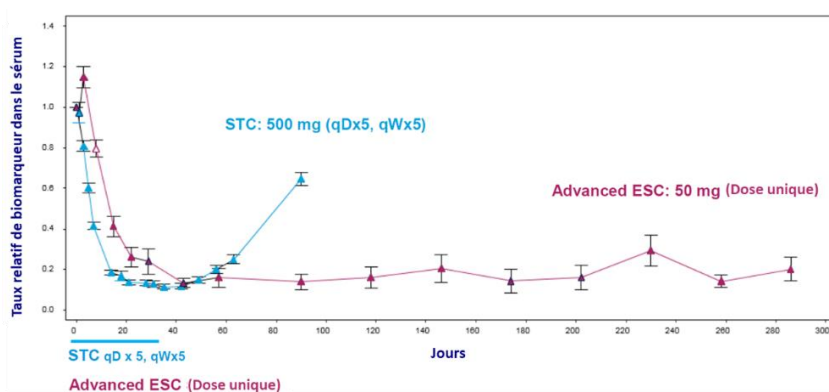
Alnylam Pharmaceuticals s'est ensuite concentré sur la conception d'ARNi-GalNac avec une chimie de stabilisation renforcée (ESC), conçue pour augmenter la puissance et la durabilité des traitements. Par rapport à la chimie standard STC, le squelette nucléotidique contient moins de substitutions 2'-F, et plus de groupes 2'-OMe de ce qui améliore la stabilité métabolique. De plus, deux liaisons PS supplémentaires aux extrémités 5' des deux brins ont été ajoutées par rapport aux ARNi-GalNac-STC, avec au total six liaisons PS (**Figure 17**) (44,55,56). Celles-ci vont apporter une protection supplémentaire contre l'attaque de la 5'-exonucléase dans le lysosome et entraîner une exposition hépatique plus élevée, avec une durée prolongée de l'extinction des gènes cibles (49,56).

Plusieurs ARNi-GalNAc-ESC sont actuellement commercialisés comme le givosiran pour le traitement de la porphyrie hépatique aigüe et l'inclisiran dans l'hypercholestérolémie familiale et la maladie cardiovasculaire athéroscléreuse nécessitant des mesures supplémentaires de baisse du cholestérol (44,49). Par rapport à la chimie standard STC, les ARNi-GalNAc-ESC présentent une efficacité et une durée d'action considérablement améliorées (55,56). Par exemple, l'inclisiran permet de réduire significativement le niveau de proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9) et de LDL-c pendant au moins 6 mois avec une dose inférieure à 300 mg (57).

Advanced ESC : advanced enhanced stabilization chemistry (chimie de stabilisation renforcée avancée)

Pour aller encore plus loin, un travail de criblage poussé a été conduit afin d'optimiser les positions des groupes 2'-F et 2'-OMe dans les deux brins du duplex ARNi. En diminuant de plus de 50 % la teneur en 2'-F, par rapport au modèle ESC, avec une augmentation concomitante de 2'-OMe (**Figure 17**), les ARNi-GalNAc ont montré une plus grande stabilité métabolique (52). Cela s'est traduit par une augmentation de la puissance et de la durée d'action des ARNi-GalNAc dans le foie. Ces nouvelles modifications ont donné lieu à la conception ESC avancée (52).

Les conjugués ARNi-GalNAc-AdvancedESC ont montré une puissance d'interférence nettement supérieure à celle des ARNi-GalNAc-STC. Par exemple, le revusiran (chimie STC) et le vutrisiran (chimie ESC avancée) contiennent la même séquence nucléotidique ciblant l'ARNm de la TTR. Pour autant, afin d'obtenir une réduction similaire de la TTR circulante, il est nécessaire d'administrer 500 mg tous les 5 jours de revusiran contre 25 mg tous les 3 mois pour le vutrisiran, soit une dose 280 fois plus faible (58,59). De plus, les modifications chimiques apportées par la technologie ESC ont montré une amélioration inattendue de la durabilité d'action. Après l'arrêt de l'administration de revusiran, les taux sériques de TTR se rétablissent rapidement alors qu'une réduction de la TTR sérique a été maintenue pendant plusieurs mois chez les patients traités par vutrisiran (**Figure 16**) (58).



*Données de phase 1 chez des volontaires sains provenant d'études distinctes

Figure 16 : Réponse pharmacodynamique de deux ARNi de même structure avec des modifications chimiques différentes, adaptée de McDougall et al., Drug Metabolism and Disposition, 2022 (58).

ESC = chimie de stabilisation renforcée ; qDx5 = tous les 5 jours ; qWx5 = pendant 5 semaines ; STC = chimie de modèle standard

Bien que les plateformes ESC et ESC avancée aient permis un silençage très puissant et durable de l'ARNm cible, certaines de ces molécules (notamment le givosiran) ont montré des signes d'effets *off-target* dans les premières études cliniques chez l'Homme (44). Ces effets se sont manifestés par des élévations des enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) imputés au traitement (44,60,61). C'est pourquoi, un quatrième modèle de modifications chimiques a été élaboré (44).

ESC + : enhanced stabilization chemistry plus (chimie de stabilisation renforcée plus)

Afin de traiter des maladies prévalentes, touchant une large population de patients, il est indispensable que les thérapies ARNi soient aussi bien tolérées que possible. C'est pourquoi, Alnylam Pharmaceuticals a développé le modèle ESC+. Sur le brin antisens, un acide nucléique glycolique (GNA), nucléotide thermiquement déstabilisant, a été ajouté dans la région d'amorçage de l'ARNi (nucléotides ~ 2-7 du brin antisens) (Figure 17). Cette modification a démontré une réduction des effets *off-target*. Le modèle ESC+ conserve les six liaisons PS par rapport à la conception ESC et la proportion de modifications 2'-F et 2'-OMe (44).

Actuellement, aucune thérapie commercialisée n'est conçue sur la base ESC+. Cependant, plusieurs ARNi-GalNac-ESC+ sont évalués chez l'Homme comme ALN-HBV02 dans le traitement de l'hépatite B ou ALN-HSD pour la stéato-hépatite non alcoolique (NASH) (44,62). Des injections annuelles d'ARNi permettraient également l'utilisation de modes d'administration invasifs ne pouvant être renouvelés fréquemment (par exemple une injection intravitréenne, ou l'administration intratumorale locale par voie endoscopique pour le cancer du pancréas ou de la prostate).

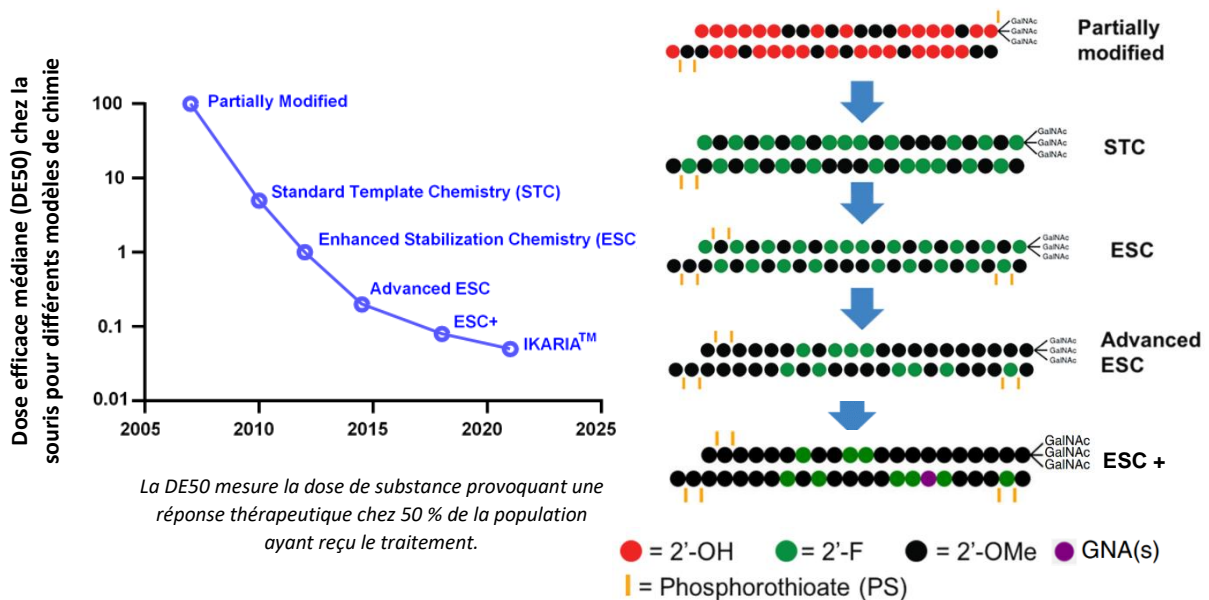


Figure 17 : Schéma de l'évolution continue de la conception des ARNi, adapté de Hu B et al., *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020 ; Alnylam R&D Day 2021, internet, 2021 ; Janas MM et al., *Nature Communications*, 2018 ; Maier MA et al., internet, 2017 (63–65).

ESC = chimie de stabilisation renforcée ; F = fluor ; GNA = acide nucléique glycolique ; OH = hydroxyle ; OMe = méthoxyle ; STC = chimie de modèle standard

III. Applications thérapeutiques actuelles des ARNi

Ces avancées sur les vecteurs et la structure des ARNi ont permis à ces petites molécules de passer le stade de la recherche préclinique et de devenir une véritable option thérapeutique pour les patients. Ainsi, trente ans après les premières observations de Napoli et Jorgensen chez le pétunia, quatre traitements utilisant le processus d'ARN interférence, patisiran, vutrisiran, givosiran et lumasiran, sont commercialisés en France dans le traitement de maladies rares.

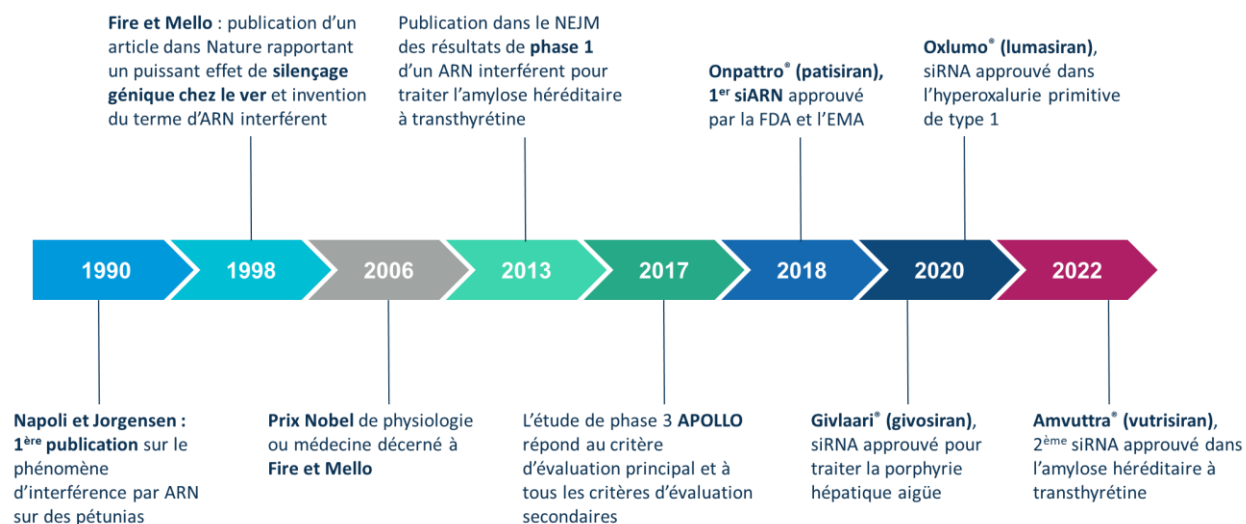


Figure 18 : Frise chronologique retraçant la découverte des ARNi jusqu'à leur utilisation en médecine.

ARN = acide ribonucléique ; EMA = European Medicines Agency ; FDA = Food and Drug Administration ; NEJM = New England Journal of Medicine

III.1. Amylose héréditaire à transthyréline

L'amylose héréditaire à transthyréline (hATTR) est une maladie monogénétique rare de transmission autosomique dominante, causée par une mutation ponctuelle sur le gène de la transthyréline (TTR) entraînant la production de TTR mutée. Les symptômes neurologiques périphériques, cardiaques, gastriques, etc. résultent de dépôts tissulaires amyloïdes. Non traitée, c'est une pathologie avec un pronostic péjoratif dont la sévérité est liée à l'âge de début de la maladie (66).

III.1.A. *Epidémiologie*

Bien que la prévalence exacte soit difficile à déterminer, on estime environ 50 000 personnes atteintes d'hATTR dans le monde (10 000 personnes avec polyneuropathie et 40 000 avec cardiomyopathie) (67). Endémique au Portugal (1/1000 à 1/10 000) (68), en Suède et dans certaines régions du Japon, des cas d'hATTR ont été rapportés dans 36 pays. En France, la prévalence estimée est de 7,62 par million d'habitants soit environ 500 personnes (69). Malgré tout, ce nombre est certainement sous-estimé, notamment avec des malades présentant peu ou pas de symptômes de la maladie.

III.1.B. Physiopathologie

III.1.B.i. Aspects génétiques et moléculaires

La synthèse de TTR (autrement appelée pré-albumine) se fait principalement dans le foie. Elle est sécrétée dans la circulation sanguine où elle sert de protéine de transport à la *rétilinol binding protein* et à la thyroxine (T4). Les mutations sur le gène de la TTR conduisent à une substitution d'acides aminés qui rendent la structure protéique tertiaire sujette à un mauvais repliement de ses feuillets *bêta*, formant alors des fibrilles amyloïdes insolubles. Ceux-ci se déposent dans de multiples organes incluant les nerfs, le cœur, le système gastro-intestinal et les reins entraînant des lésions responsables de symptômes cliniques (70).

Plus de 120 mutations du gène de la TTR ont été reportées et sont à l'origine d'une grande hétérogénéité phénotypique de la maladie, représentant un défi diagnostique. La majorité des patients présente des atteintes multisystémiques et un tableau clinique hétérogène. Certains patients présentent, quant à eux, une atteinte presque exclusivement neurologique – la mutation Val30Met est endémique au Portugal avec une apparition précoce des symptômes vers 30 ans – d'autres une atteinte prédominante ou exclusivement cardiologique – mutations Thr60Ala, Leu11Met, Ile68Leu et Val122Ile qui est majoritairement retrouvée chez les Afro-Américains avec une sévérité et une évolution plus rapide de la maladie (66,70,71) (**Figure 19**).

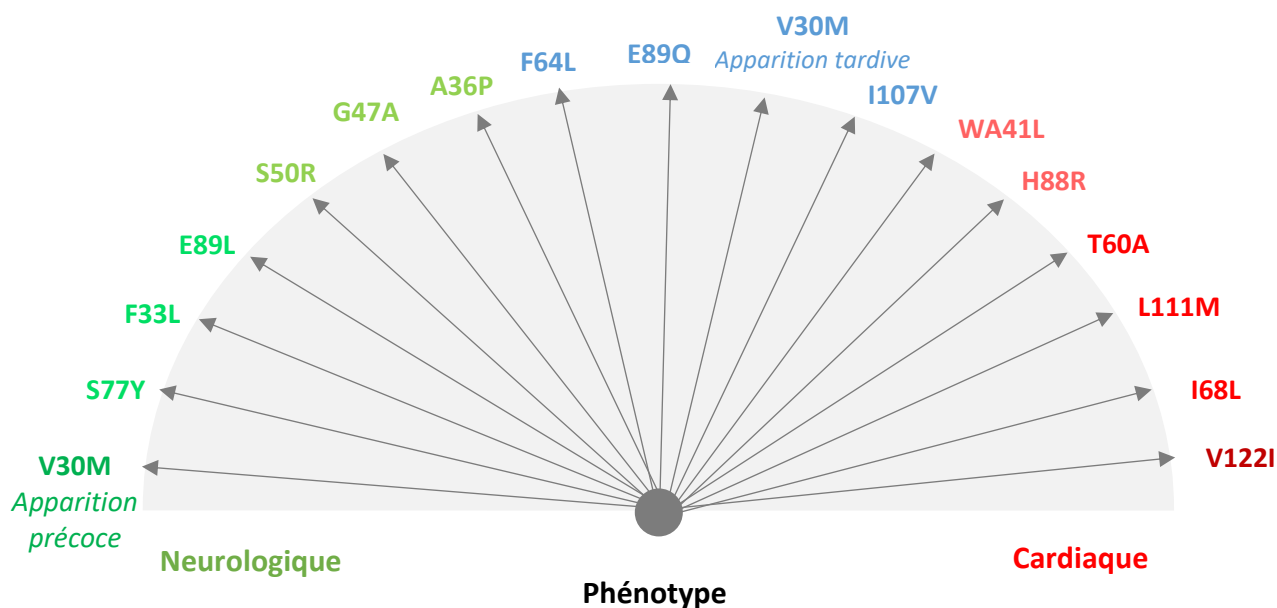


Figure 19 : Schéma de la diversité génétique et corrélation génotype-phénotype dans l'amylose héréditaire à TTR, adapté de Rapezzi et *al.*, *European Heart Journal*, 2013 (71).

III.1.B.ii. Signes cliniques

Les symptômes cliniques de l'hATTR se manifestent à l'âge adulte et peuvent comprendre une neuropathie périphérique sensitivo-motrice (troubles de la marche), des dysfonctionnements autonomiques (hypotension orthostatique, dysfonction érectile), des troubles gastro-intestinaux (alternance de symptômes de constipation et diarrhée, perte de poids involontaire), un syndrome du canal carpien bilatéral, des manifestations cardiovasculaires (bloc de conduction, cardiomyopathie hypertrophique, arythmie), des manifestations oculaires (opacités du vitrée) et une néphropathie (protéinurie, insuffisance rénale) (**Figure 20**) (72).

Ces manifestations multisystémiques engendrent rapidement un déclin important de la qualité de vie des patients ainsi qu'une perte d'autonomie dans les activités de la vie quotidienne ou la marche. En l'absence de traitement, les patients atteints d'hATTR présentent des symptômes progressifs jusqu'au décès survenant une dizaine d'années après les premières manifestations cliniques. (70)

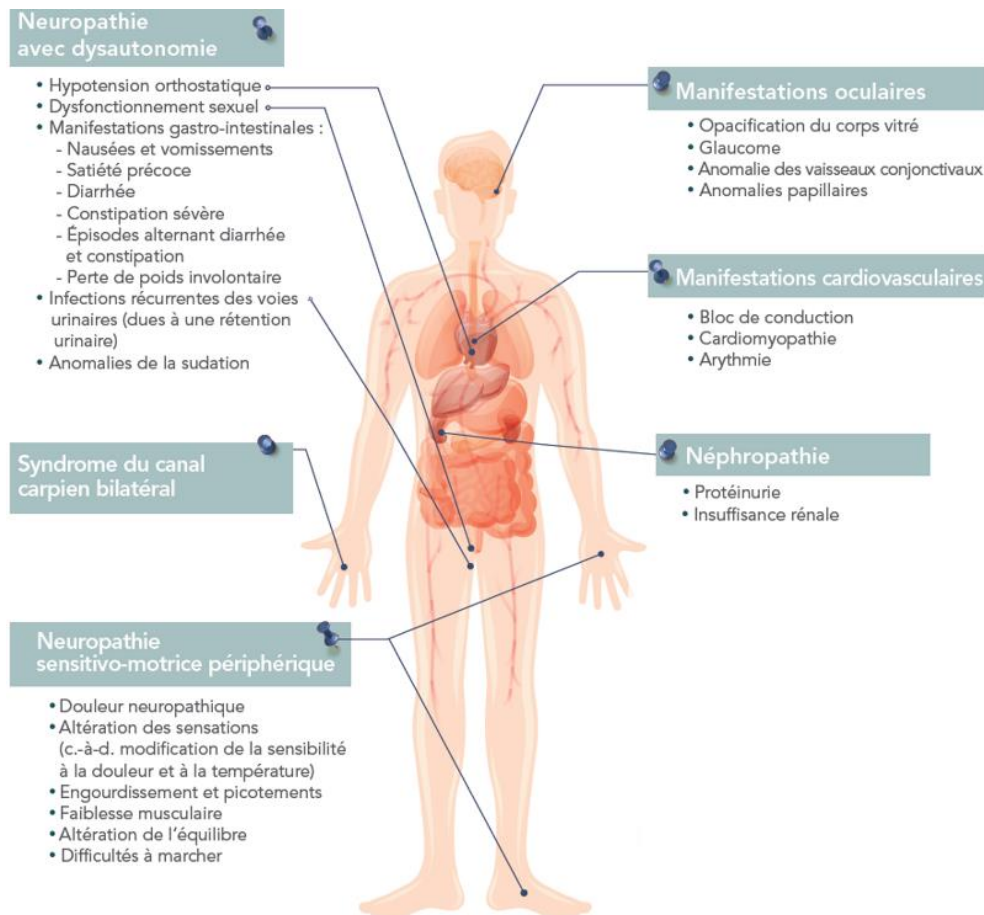


Figure 20 : Illustration des signes et symptômes potentiels de l'amylose héréditaire à transthyréine, adaptée de Conceição et al., Journal of the Peripheral Nervous System, 2016 (72).

III.1.B.iii. Diagnostic

La confirmation du diagnostic repose sur deux examens. Tout d'abord la présence d'une mutation amyloïdogène sur le gène de la TTR. L'analyse génétique en biologie moléculaire est un séquençage du gène TTR situé sur le chromosome 18q, réalisé après avoir obtenu un consentement éclairé du patient. Toutes les mutations répertoriées comme pathogène sont des mutations faux-sens, entraînant une conformation anormale de la protéine TTR (66). Par ailleurs, la mise en évidence de dépôts amyloïdes TTR est essentielle pour valider le diagnostic. Les dépôts amyloïdes sont identifiés par coloration rouge Congo et une biréfringence verte au microscope à la lumière polarisée. Les sites de prélèvement généralement biopsiés sont les glandes salivaires accessoires, la peau ou le nerf (66).

III.1.C. *Prise en charge thérapeutique*

III.1.C.i. Traitements symptomatiques

La prise en charge symptomatiques des patients repose notamment sur :

- Un traitement médicamenteux spécifique pour les douleurs neuropathiques (antidépresseurs tricycliques, inhibiteurs de la recapture de la sérotonine-noradrénaline, gabapentine, toxine botulique A ...) ;
- Des mesures hygiéno-diététiques en cas d'hypotension symptomatique, voire un traitement par midodrine en cas d'échec ;
- Un contrôle de la volémie pour les patients souffrant de cardiopathie restrictive avec l'utilisation de diurétiques de l'anse (furosémide, bumétanide) ;
- Une prise en charge gastroentérologique adaptée en fonctions des troubles digestifs.

III.1.C.ii. Traitements anti-amyloïde : un besoin médical non satisfait

Au début des années 2010, un besoin thérapeutique majeur persistait dans la prise en charge thérapeutique de l'hATTR. La transplantation hépatique, pratiquée depuis 20 ans, présentait plusieurs limites ; la disponibilité des greffons, et une morbi-mortalité importante. Par ailleurs, les patients transplantés hépatiques ne produisaient plus de TTR mutée, mais la production de TTR sauvage entraînait la majoration des dépôts amyloïdes, aggravant la maladie et notamment la cardiomyopathie. Le tafamidis (Vyndaquel®), développé par le laboratoire Pfizer, a été approuvé dans l'Union européenne en 2011. Cette molécule chimique est un stabilisateur du tétramère de la TTR qui permet de ralentir la progression de la polyneuropathie amyloïde familiale à un stade précoce (47). La perspective d'un traitement par ARNi, supprimant la production de TTR mutée et non mutée, représentait un réel espoir thérapeutique pour ces 50 000 patients dans le monde.

III.1.D. *Patisiran : premier ARNi thérapeutique formulé en LNP*

III.1.D.i. Formulation galénique et mécanisme d'action

Patisiran est un ARNi composé de 21 nucléotides sur chaque brin (guide et passager) encapsulé dans une LNP formulée avec un lipide ionisable le DLin-MC3-DMA (cf II.3.C.i). Les deux brins comportent des modifications 2'-désoxythymidines aux extrémités 3'-UTR ainsi que des modifications 2'-OMe permettant d'accroître la résistance aux nucléases (17).



Figure 21 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées des brins guide et passager du patisiran, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).

OMe = méthoxyle ; PS = phosphorothioate

L'élément central de la physiopathologie de l'hATTR est la TTR, ce qui fait de cette maladie un modèle thérapeutique très intéressant pour développer un premier ARNi. Patisiran va agir en dégradant l'ARNm de la TTR entraînant une diminution de la production hépatique *de novo* de TTR. D'un point de vue clinique, cela s'accompagne d'une inhibition des nouveaux dépôts amyloïdes permettant de ralentir l'évolution de la maladie, voire de l'arrêter.

III.1.D.ii. Essais cliniques de phase 1 dans l'hATTR

En 2013, Alnylam Pharmaceuticals publie les premiers résultats cliniques de deux candidats médicaments, ALN-TTR01 et ALN-TTR02, dans l'amylose héréditaire à transthyréline (47). Des ARNi identiques double brin, anti-transthyréline, ont été encapsulés dans deux nanoparticules lipidiques distinctes, de première et deuxième générations, produisant respectivement ALN-TTR01 et ALN-TTR02 (ALN pour Alnylam Pharmaceuticals). ALN-TTR01 était formulé avec DLinDMA alors que ALN-TTR02 utilisait DLin-MC3-DMA (41,47).

Deux essais cliniques séquentiels de phase 1 ont été réalisés entre 2010 et 2012, afin d'évaluer la sécurité et l'efficacité d'une dose unique d'ALN-TTR01 chez des patients atteints d'hATTR avec polyneuropathie précoce ou d'ALN-TTR02 chez des volontaires sains. Les deux études étaient multicentriques, randomisées, en simple aveugle, contrôlées par placebo et à doses variables (47). L'activité pharmacodynamique des deux formulations a été évaluée par une diminution des taux de transthyréline sérique ainsi que des taux de vitamine A et de la protéine de liaison au rétinol (47).

Après l'administration d'une dose ALN-TTR01, aucun résultat significatif sur la diminution des taux de TTR sérique, n'a été obtenu par rapport au placebo, aux doses de 0,01 mg/kg à 0,7 mg/kg chez les patients atteints d'hATTR. Cependant, une baisse significative de 38 % des taux de TTR sérique a été observée chez les patients recevant ALN-TTR01 à la dose d'1 mg/kg (**Figure 22, a**) (47).

En revanche, une diminution notable et signification vs placebo ($p < 0,001$) des taux de TTR sérique a été observée chez tous les volontaires sains recevant des doses de 0,15 à 0,5 mg/kg d'ALN-TTR02. La diminution de la TTR a été rapide, dose-dépendante et persistante jusqu'à J28 (**Figure 22, b**) (47). Par ailleurs, le profil de sécurité associé était favorable avec une seule réaction modérée liée à la perfusion chez le seul participant ayant reçu l'ALN-TTR02 à une dose de 0,5 mg/kg (47).

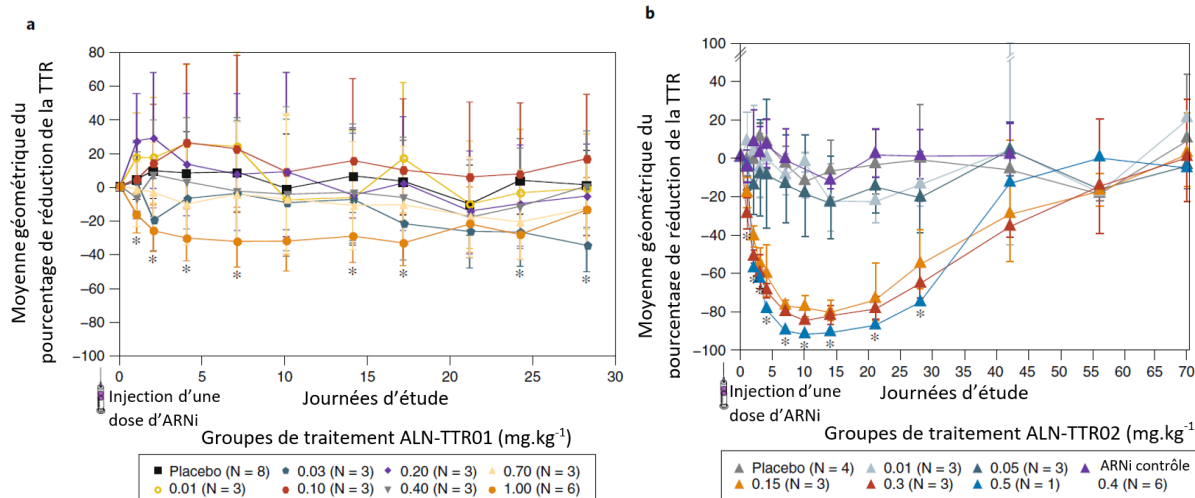


Figure 22 : Résultats des essais cliniques de phase I évaluant ALN-TTR01 et ALN-TTR02, adaptés de Coelho T et al., New England Journal of Medicine, 2013 (47).

TTR = transthyrétine

Ces premiers résultats cliniques chez l'homme d'un ARNi anti-TTR ont ouvert la voie à une nouvelle ère thérapeutique. En réduisant la production de TTR mutée et sauvage, l'ALN-TTR02 offre un avantage sur la transplantation hépatique qui n'affecte que la production de TTR mutée. Au regard de ces résultats, Alnylam Pharmaceuticals a poursuivi le développement clinique d'ALN-TTR02 (patisiran) et a publié en 2018 les résultats de l'essai clinique de phase 3, APOLLO, dans *The New England Journal of Medicine*.

III.1.D.iii. APOLLO : premier essai clinique de phase 3 d'un ARNi

Méthodologie de l'étude et posologie

L'étude pivot APOLLO, publiée en juillet 2018 dans le *New England Journal of Medicine* a recruté 225 patients entre fin 2013 et début 2016. C'est la plus vaste étude internationale de phase 3, randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo, menée dans l'hATTR (19 pays). Elle a évalué l'efficacité et la sécurité du patisiran chez les patients atteints de polyneuropathie héréditaire à TTR de stade 1 ou 2 (73).

Les patients ont reçu du patisiran à la dose de 0,3 mg/kg, ou du placebo, administré par perfusion IV toutes les 3 semaines pendant 18 mois (73).

Caractéristiques des patients

Concernant la population de l'essai APOLLO, 39 mutations de la TTR étaient représentées (dont la mutation V30M précoce et tardive), les patients présentaient une polyneuropathie symptomatique et plus de la moitié de la population (56 %) avait également une atteinte cardiaque. De plus, 53 % des patients avaient été précédemment traités par tafamidis ou diflunisal (73). Les deux groupes ont été équilibrés en fonction de la gravité de la maladie et des variants génétiques.

Pharmacodynamie

Sur le plan pharmacodynamique, patisiran entraîne une diminution rapide, importante et maintenue dans le temps du taux sérique moyen de protéine TTR (critère exploratoire, réduction médiane à 18 mois de 81 %). Ces résultats confirment le mécanisme d'action du traitement par ARNi ciblant spécifiquement l'ARNm de la TTR dans les hépatocytes. La production hépatique de transthyrétine mutée et sauvage est alors bloquée (**Figure 23 A**) (73).

Critère d'évaluation principal

Le critère de jugement principal était la variation du score mNIS+7 (modified Neuropathy Impairment Score) à 18 mois. Ce score composite mesure l'atteinte neuropathique spécifiquement chez les patients atteints d'hATTR. Patisiran a démontré un bénéfice statistiquement significatif vs placebo sur l'atteinte progressive de la polyneuropathie sensitive, motrice et autonome à 18 mois. Le score mNIS+7 a diminué chez les patients traités par patisiran par rapport à la valeur initiale, avec une différence à 18 mois vs placebo de -34,0 points ($p < 0,001$) (**Figure 23 B**). 56,1 % des patients traités par patisiran ont amélioré leur polyneuropathie par rapport à leur état initial vs 3,9 % des patients sous placebo ($p < 0,001$) (**Figure 23 D**) (73).

Critères d'évaluation secondaires

Tous les critères d'évaluation secondaires et un certain nombre de critères exploratoires ont également été atteints de façon statistiquement significative (73). Le principal critère d'évaluation secondaire était le changement à 18 mois, par rapport à sa valeur initiale, du score total du questionnaire Norfolk QoL-DN mesurant la qualité de vie dans la neuropathie diabétique. Patisiran a diminué le score Norfolk QoL-DN par rapport à la valeur initiale, se traduisant par une amélioration de la qualité de vie. La différence à 18 mois vs placebo était de -21,1 points ($p < 0,001$) (**Figure 23 C**). 51,0 % des patients traités par patisiran ont présenté une amélioration de la qualité de vie par rapport à l'état initial, et ce dès le 9^{ème} mois, contre 10 % des patients traités par placebo ($p < 0,001$) (**Figure 23 D**) (73).

Concernant les autres critères secondaires, les patients traités avec patisiran ont présenté une diminution des symptômes neurologiques évalués par le score COMPASS-31². Ils étaient également plus aptes à effectuer des activités quotidiennes comme démontré par le score R-ODS³. Les patients traités avec patisiran ont démontré un meilleur statut nutritionnel à 18 mois comparativement au placebo, comme en témoigne la différence de l'IMCm⁴. Par ailleurs, ils ont amélioré leur vitesse de marche lors du test de marche sur 10 mètres et leur force motrice évaluée grâce au score NIS-W⁵ (73).

² **COMPASS-31** : Composite Autonomic SymptomScore 31 (score des symptômes rapportés par le patient). Questionnaire de 31 items évaluant les fonctions du système autonome parmi 6 domaines - Un petit chiffre indique une altération moindre/moins de symptômes

³ **RODS** : Rasch-Built Overall Disability (capacité rapportée par le patient à réaliser les activités quotidiennes Echelle de 24 items) – Un chiffre élevé indique une altération moindre

⁴ **IMCm** : indice de masse corporelle (IMC ; kg/m²) multiplié par albumine sérique (g/l) ; un chiffre élevé indique un meilleur statut nutritionnel ; le statut nutritionnel est amélioré avec Onpattro dès le 3^{ème} mois

⁵ **NIS-W** : NIS-weakness (force motrice) - Un petit chiffre indique une altération moindre/moins de symptômes

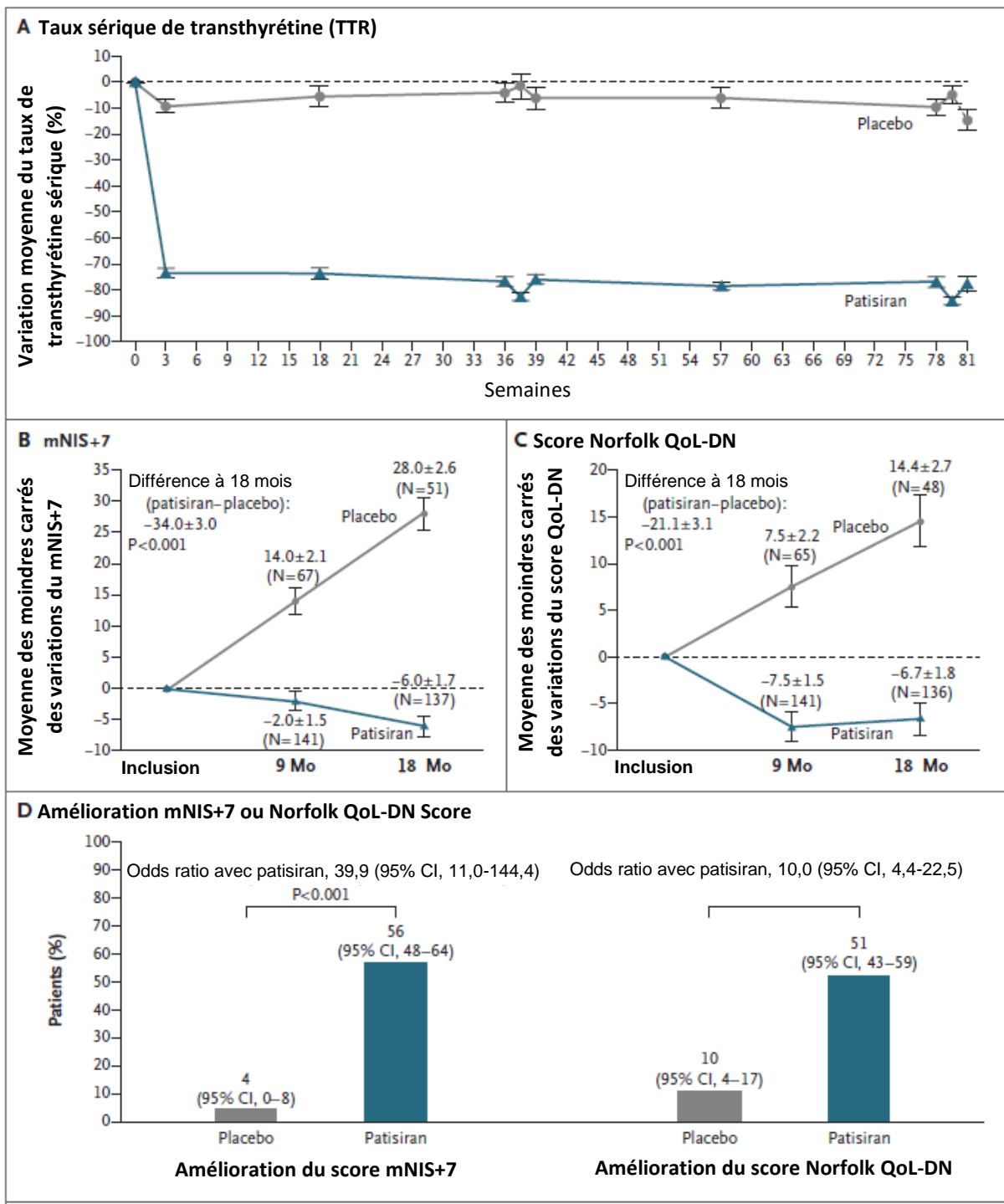


Figure 23 : Résultats des critères de jugements de l'essai clinique APOLLO dans le groupe patisiran et placebo, adaptés de Adams et al., New England Journal of Medicine, 2018 (73).

CI = intervalle de confiance ; mNIS+7 = modified neuropathy impairment score + 7 ; Mo = mois ; QoL-DN = quality of life diabetic neuropathy

Effets indésirables et sécurité d'emploi

Les effets indésirables les plus fréquemment signalés chez les patients traités par patisiran étaient l'œdème périphérique (29,7 %) et les réactions liées à la perfusion (18,9 %), leur fréquence diminuant avec le temps (73).

Tous les patients doivent recevoir une prémédication au moins 60 minutes avant l'injection du patisiran afin de prévenir les réactions liées à la perfusion. Celle-ci est composée de paracétamol 1 g, corticoïdes 10 mg, antihistaminique H1 50 mg et H2 50 mg. De plus, les patients traités par patisiran doivent prendre une supplémentation orale d'environ 2500 UI de vitamine A par jour afin de réduire le risque de toxicité oculaire, liée au manque de transporteur au rétinol (74).

III.1.D.iv. Onpattro® premier ARNi commercialisé

Obtention de l'autorisation de mise sur le marché

Sur la base de ces résultats cliniques, vingt ans après la publication d'Andrew Fire et Craig Mello sur le mécanisme d'interférence par ARN, le premier ARNi, Onpattro® (patisiran), a obtenu, en 2018, une AMM par l'agence européenne des médicaments (EMA) et l'agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) pour la prise en charge de l'amylose héréditaire à TTR avec polyneuropathie de stade I et II. Onpattro® a également été désigné comme médicament orphelin dans le traitement de l'hATTR par l'EMA et la FDA. Par ailleurs, grâce à son mécanisme d'action, permettant de réduire la charge amyloïdes liée à la TTR qu'elle soit mutée ou sauvage, Onpattro® est le seul traitement autorisé chez les patients hATTR ayant une progression de leur maladie après transplantation hépatique.(74,75)

Avis de la commission de transparence de la HAS

À la suite de l'obtention de l'AMM centralisée européenne, Alnylam Pharmaceuticals a fait une demande aux instances de santé françaises afin que l'utilisation d'Onpattro® soit remboursée en France. Ainsi, la Commission de la Transparence de la Haute Autorité de santé (HAS), dans son évaluation en 2019, a accordé au traitement Onpattro®, sur la base des résultats d'APOLLO, un service médical rendu (SMR) important (76). Le SMR est un critère utilisé en santé publique afin d'analyser l'intérêt global d'un médicament dans la prise en charge d'une pathologie. Il évalue plusieurs aspects : d'une part la gravité de l'affection pour laquelle le médicament est indiqué ; d'autre part des données spécifiques au médicament dans une indication particulière (efficacité et effets indésirables, place dans la stratégie thérapeutique, intérêt de santé publique). Il existe 4 niveaux de SMR qui permettent de définir un taux de remboursement pour le médicament évalué (majeur ou important, modéré, faible et insuffisant).

Si le SMR conditionne le remboursement d'une spécialité, l'amélioration du service médical rendu (ASMR) est un critère pour la fixation du prix du médicament remboursable par le comité économique des produits de santé (CEPS). L'ASMR correspond au progrès thérapeutique apporté par un traitement par rapport aux solutions thérapeutiques existantes dans la pathologie. La Commission de la Transparence considère que Onpattro® apporte une amélioration du service médical rendu modérée (ASMR III) ainsi qu'un intérêt de santé publique positif (76).

Place dans la stratégie thérapeutique

La Commission de la Transparence de la HAS considère que la spécialité Onpattro® est un traitement de première intention (76). Onpattro® a été récompensé par le Prix Galien en France et aux Etats Unis en 2020 dans la catégorie médicaments destinés aux maladies rares ou orphelines (77).

III.1.D.v. APOLLO-B : évaluation du patisiran dans le traitement des cardiomyopathies amyloïdes à TTR

Le patisiran a par ailleurs été évalué dans un essai de phase 3, randomisé vs placebo en double aveugle, multicentrique, incluant 360 patients suivis pour une amylose cardiaque à TTR, sauvage ou héréditaire et peu sévère (91,3 % des patients en stade I ou II de la NYHA⁶). Le critère de jugement principal reposait sur la capacité fonctionnelle appréciée par le test de marche de 6 min (6-MWT), à 12 mois. Les patients du groupe patisiran avaient une moindre dégradation de la distance parcourue à 12 mois comparés aux patients dans le bras placebo (différence médiane estimée de Hodges-Lehmann : 14,69 ; p = 0,0162). De plus, des bénéfices sur l'état de santé et la qualité de vie ont également été observés chez les patients traités par patisiran par rapport au placebo. Ces résultats sont encourageants et continuent à être étudiés dans la phase d'extension en ouvert de l'étude APOLLO-B (78).

III.1.E. Revusiran : premier ARNi-GalNAc dans l'hATTR

III.1.E.i. Formulation galénique

Parallèlement au programme clinique du patisiran, Alnylam Pharmaceuticals a développé un second ARNi anti-TTR, le revusiran (ALN-TTRSC), cette fois-ci conjugué à un ligand GalNAc. Le revusiran est le premier ARNi conjugué GalNAc, basé sur la chimie standard (STC) nécessitant donc une administration une fois par semaine, à des doses relativement élevées (doses hebdomadaires de 500 mg, soit 28 mg d'ARNi la première année de traitement). L'avantage de ce ARNi conjugué GalNAc est son administration par voie sous-cutanée (54).

III.1.E.ii. ENDEAVOUR – Déséquilibre de mortalité en défaveur du revusiran

Le revusiran a fait l'objet d'une première étude de phase 1 chez des volontaires sains, puis d'une étude de phase 2 avec une extension en ouvert. En 2015, Alnylam Pharmaceuticals fait progresser le revusiran vers une étude de phase 3 ENDEAVOUR, multicentrique, randomisée 2:1, double-bras contrôlée par placebo, visant à évaluer l'efficacité et la sécurité du revusiran chez les patients atteints d'hATTR et présentant une cardiomyopathie (54).

Alors que le recrutement de patients était en cours pour l'étude ENDEAVOUR, les résultats d'extension de l'étude ouverte de phase II du revusiran ont montré une aggravation de la neuropathie chez les patients traités (79). Pour prévenir l'aggravation de la maladie chez les patients dans le bras revusiran, notamment concernant la neuropathie périphérique, Alnylam Pharmaceuticals (sponsor de l'essai clinique) demande alors au *Data Safety Monitoring Board* (comité de surveillance et de suivi des données d'essais cliniques) d'évaluer le profil bénéfices-risques du revusiran dans l'étude en cours ENDEAVOUR (54). En octobre 2016, le *Data Safety*

⁶ NYHA : New-York Heart Association, classification de gravité des insuffisances cardiaques

Monitoring Board, recommande d'arrêter ENDEAVOUR, en raison d'un déséquilibre de la mortalité en défaveur du groupe traité par revusiran. 20 patients sont alors décédés, 18 (12,9 %) dans le groupe traité par revusiran et 2 (3,0 %) sous placebo. Le *Data Safety Monitoring Board* n'a d'autre part pas identifié d'aggravation de la neuropathie périphérique chez les patients traités. L'étude de phase 3 est interrompue le 5 octobre 2016, après une durée médiane de traitement par revusiran de 6,71 mois (54).

Une étude post-hoc a été menée afin de comprendre les causes du déséquilibre de mortalité observée, associées au revusiran. Les décès survenus étaient principalement d'origine cardiovasculaire dus à l'insuffisance cardiaque, ce qui correspond à l'évolution naturelle de la maladie. 55,6 % des décès sous revusiran étaient des patients de plus de 75 ans et présentaient des signes cliniques d'insuffisance cardiaque plus avancés par rapport aux patients en vie (66,7% des patients décédés étaient de stade NYHA III). Les caractéristiques démographiques des deux groupes étaient équilibrées sauf concernant le nombre de patients de plus de 75 ans, en plus grande proportion dans le groupe revusiran (30,7 % vs 18,2 % dans le groupe placebo). Cependant cette différence dans la distribution des âges dans les deux groupes ne peut pas expliquer totalement la différence observée dans les taux de mortalité. De façon surprenante, le déséquilibre des décès dans le bras revusiran n'a pas été accompagné d'une augmentation des hospitalisations cardiovasculaires, ni d'effets délétères sur les paramètres échocardiographiques, ou d'une augmentation accrue des biomarqueurs cardiaques par rapport au groupe placebo (54).

Le mécanisme causal du déséquilibre de la mortalité associé au traitement par revusiran n'a donc pas pu être identifié de façon claire. Un autre conjugué GalNAc-ARNi, le vutrisiran est aujourd'hui disponible en accès précoce dans l'hATTR avec polyneuropathie et en cours d'évaluation chez les patients atteints d'amylose avec cardiomyopathie (sauvage ou héréditaire) dans l'étude de phase 3 HELIOS-B (premiers résultats cliniques attendus pour juin 2024) (80). Le vutrisiran est un conjugué de deuxième génération avec une chimie améliorée (Advanced ESC) lui conférant une stabilisation métabolique et donc une durée d'action allongée (54). L'exposition plus faible aux ARNi pour les composés de nouvelle génération GalNAc-ARNi-ESC, fait espérer des résultats de sécurité, notamment cardiaques, plus favorables que pour le revusiran.

III.1.F. Vutrisiran : deuxième génération de traitement ARNi-GalNAc dans l'hATTR

III.1.F.i. Formulation galénique

Vutrisiran est le troisième ARNi double brin ciblant l'ARNm cytoplasmique du gène de la TTR. Sa séquence nucléotidique est identique à celle du revusiran, cependant des améliorations chimiques ont été apportées (Advanced ESC) conduisant à une stabilité métabolique plus importante. Cela s'accompagne d'une diminution de la dose d'ARNi administrée (28 g par an pour le revusiran contre 100 mg par an pour le vutrisiran). L'ARNi est conjugué à un ligand GalNAc, reconnu spécifiquement à la surface des cellules hépatiques, lieu de synthèse de la TTR, par les ASGPR (44,54,81).

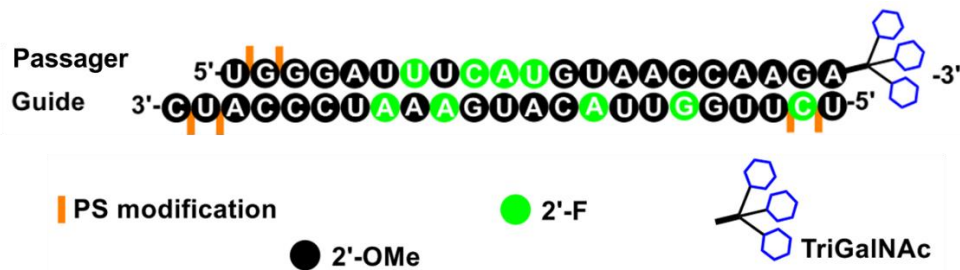


Figure 24 : Schéma d'une séquence nucléotidique et modifications chimiques apportées aux brins guide et passager du vutrisiran, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).

F = fluor ; OMe = méthoxyle ; PS = phosphorothioate

III.1.F.ii. HELIOS-A : essai clinique de phase 3 dans la polyneuropathie amyloïde familiale

En juillet 2022, les résultats de l'étude HELIOS-A, ont été publiés dans la revue *Amyloid*. C'est le deuxième essai clinique sponsorisé par Alnylam Pharmaceuticals, après APOLLO, évaluant un ARNi chez des patients atteints d'hATTR présentant une neuropathie.

Méthodologie de l'étude et posologie

HELIOS-A est un essai clinique de phase 3, mondial (57 sites dans 22 pays), en ouvert, évaluant l'efficacité et la sécurité du vutrisiran chez 164 patients, randomisés 3:1 vutrisiran ou patisiran (traitement de référence) pendant 18 mois. Un groupe placebo externe, issu de l'essai de phase 3 APOLLO, a été utilisé comme groupe contrôle pour évaluer l'efficacité et la sécurité du vutrisiran (les populations des deux études étaient cliniquement comparables) (81). En effet, l'utilisation d'un bras placebo dans l'étude HELIOS-A aurait été contraire à l'éthique, étant donné la disponibilité de traitements efficaces dans l'hATTR.

Les patients ont reçu du vutrisiran à la dose de 25 mg administré en sous-cutanée tous les 3 mois, ou du patisiran à la dose de 0,3 mg/kg administré par perfusion IV toutes les 3 semaines pendant 18 mois (81).

Caractéristiques des patients

La population de l'étude HELIOS-A est comparable à celle de l'étude APOLLO. 26 mutations de la TTR étaient représentées (dont la mutation V30M précoce et tardive), les patients présentaient une polyneuropathie symptomatique et 33 % avaient également une atteinte cardiaque. De plus, 66 % des patients avaient été précédemment traités par tafamidis ou diflunisal (81).

Pharmacodynamie

Comme attendu, la réduction de TTR sérique avec le vutrisiran est rapide et maintenue dans le temps, similaire à celle observée avec le comparateur de référence le patisiran (respectivement de -87,6 % et -81,0 % par rapport à l'inclusion) (**Figure 25**). Un échantillon de grande taille aurait été nécessaire pour démontrer la non-infériorité du vutrisiran par rapport au patisiran à l'aide des critères d'efficacité clinique ; par conséquent, l'étude a été conçue pour

démontrer la non-infériorité par rapport au biomarqueur pharmacodynamique TTR. La corrélation entre la réduction de la concentration sérique de TTR et l'amélioration de l'efficacité clinique étant bien établie (73,81).

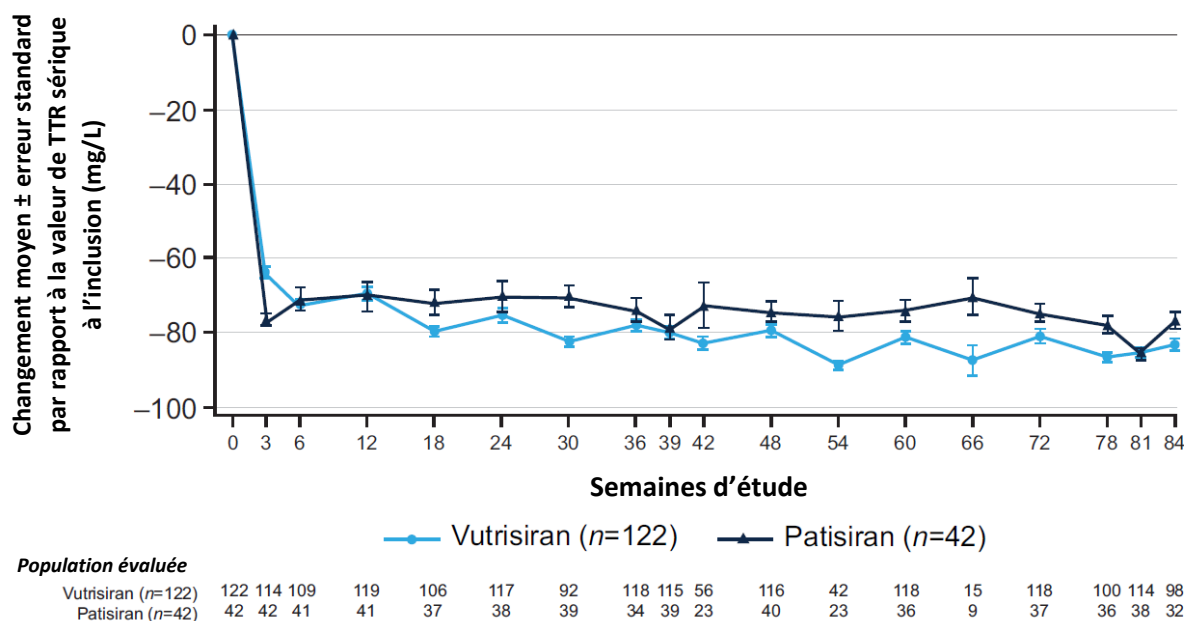


Figure 25 : Graphique des taux sérique de transthyréine chez les patients sous vutrisiran ou patisiran, adapté de Adams et *al.*, Amyloid, 2022 (81).

TTR = transthyréine

Critère d'évaluation principal

Le critère d'évaluation primaire de l'essai HELIOS-A a été atteint. Les patients traités par vutrisiran ont présenté une stabilisation ou une amélioration du score mNIS+7 dès 9 mois maintenu à 18 mois. 50,4 % des patients sous vutrisiran ont amélioré leur score mNIS+7 à 9 mois vs 18,2 % des patients du groupe placebo externe ($p < 0,0001$) (81).

Critères d'évaluation secondaires

Tous les critères d'évaluation secondaires d'efficacité ont également été atteints de façon statistiquement significative à 9 et 18 mois (Norfolk QoL-DN évaluant la qualité de vie, test de marche de 10 mètres, IMCm, échelle d'invalidé globale évaluée par le R-ODS) (81).

Effets indésirables et sécurité d'emploi

Le profil de sécurité du vutrisiran est acceptable. Les effets indésirables les plus fréquemment signalés lors de l'étude clinique (bras vutrisiran) comprenaient des chutes (18,0%), des extrémités douloureuses (14,8 %), des diarrhées (13,9 %), des œdèmes périphériques (13,1%), des infections des voies urinaires (13,1 %), de l'arthralgie (10,7 %) et étourdissements (10,7 %). Ces données de tolérance renforcent la confiance dans l'approche des traitements par ARNi dans l'hATTR (81).

Les résultats de l'étude HELIOS-A confirme la puissance et la stabilité des ARNi-ESC conjugué à un ligand GalNac. Les doses de traitement sont ainsi espacées et administrées en

sous-cutané sans nécessité de prémédication. Les avantages de cette nouvelle génération de traitement par ARNi ont été particulièrement mis en évidence dans cet essai clinique qui a été conduit pendant la pandémie de Covid-19.

III.1.F.iii. Evaluation de Amvuttra® par les autorités de santé

Obtention de l'autorisation de mise sur le marché

En juin 2022 Amvuttra® (vutrisiran) a été approuvé par la FDA aux Etats-Unis pour le traitement des patients adultes atteints d'hATTR avec neuropathies. Amvuttra® a également obtenu une AMM européenne centralisée en septembre 2022.

Avis de la commission de transparence de la HAS

Par ailleurs, la commission de transparence de la HAS a attribué un SMR important à la spécialité Amvuttra® et un intérêt de santé publique positif, mais considère que « la spécialité Amvuttra® (vutrisiran) n'apporte pas d'amélioration du service médical rendu (ASMR V) vs Onpattro® (patisiran) dans le traitement des patients adultes atteints d'amylose hATTR avec une polyneuropathie de stade 1 ou 2 ».

Place dans la stratégie thérapeutique

Ce médicament est un traitement de seconde intention après la spécialité Onpattro® (82).

Autorisation d'accès précoce

L'Amvuttra® bénéficie depuis le 8 décembre 2022, et pour 12 mois, d'une autorisation d'accès précoce dans l'indication « Traitement de l'amylose héréditaire à transthyrétine (hATTR) chez les patients adultes atteints de polyneuropathie de stade 1 ou de stade 2 en cas d'impossibilité d'administration des traitements disponibles ». La commission de la transparence de la HAS a notamment considéré que le besoin médical, chez les patients adultes atteints d'amylose hATTR avec polyneuropathie de stade 1 ou de stade 2, est actuellement partiellement couvert par les thérapeutiques disponibles, à savoir les spécialités Onpattro® (patisiran), Tegsedi® (inotersen) et Vyndaqel® (tafamidis). Il persiste un besoin médical à disposer de médicaments efficaces, bien tolérés et favorisant l'observance dans cette indication. Cette autorisation d'accès précoce est toutefois soumise à un protocole d'utilisation thérapeutique (83).

III.1.F.iv. HELIOS-B : vutrisiran en cours d'évaluation chez les patients d'amylose à transthyrétine avec cardiomyopathie

Le vutrisiran est également en cours d'évaluation dans un second essai de phase 3, HELIOS-B, multicentrique (123 sites dans 32 pays), randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo. L'étude incluant 655 patients vise à évaluer l'efficacité et l'innocuité du vutrisiran chez les patients atteints d'amylose à transthyrétine avec cardiomyopathie (hATTR ou wtATTR) (80). Le critère primaire est un critère composite de mortalité toutes causes et d'événements cardiovasculaires récurrents (hospitalisations, visites aux urgences pour insuffisance cardiaque) à 30 - 36 mois. Le critère secondaire principal est la variation du score du test de marche sur 6 minutes (6-MWT) entre l'inclusion et 30 mois (80). Les résultats cliniques intermédiaires de cet essai n'ont pas encore été décrits et sont attendus pour le premier trimestre 2024 (80). La

tolérance du vutrisiran sera notamment très regardée et permettra de valider ou non la sécurité d'utilisation des ARNi-GalNAc dans l'amylose cardiaque.

III.2. La porphyrie hépatique aigüe (PHA)

Les porphyries correspondent à huit maladies métaboliques génétiques rares, résultant d'une altération enzymatique dans la voie de biosynthèse de l'hème. Elles sont classées en deux catégories selon leurs principales manifestations cliniques, la porphyrie hépatique aigüe (PHA) et la porphyrie cutanée (84). Nous traiterons par la suite uniquement la prise en charge de la PHA.

III.2.A. *Epidémiologie*

La PHA se subdivise en quatre types différents, chacun associé à un déficit enzymatique particulier dans la voie de biosynthèse de l'hème. La porphyrie aigüe intermittente (PAI) est le type le plus fréquent de PHA, représentant environ 80 % des cas. On évalue sa prévalence à environ 1/10000 (85). Cependant une PHA symptomatique n'est diagnostiqué que chez 1 personne sur 100 000. Tout comme la coproporphyrine héréditaire et la porphyrie variegata, elle est caractérisée par une transmission autosomique dominante, tandis que la porphyrie par déficit en acide aminolévulinique déshydratase est une maladie héréditaire de transmission autosomique récessive (84).

III.2.B. *Physiopathologie*

III.2.B.i. Aspects génétiques et moléculaires

L'hème (protoporphyrine de fer) est principalement produit dans les cellules érythroïétiques (75 %) pour la synthèse de l'hémoglobine et dans les hépatocytes (25 %) où il est incorporé dans les enzymes du cytochrome P450 (CYP450) (84). Au niveau hépatique, la biosynthèse de l'hème débute par la formation d'acide δ -aminolévulinique (ALA), qui est catalysé par l'acide δ -aminolévulinique synthase 1 (ALAS-1). Puis l'ALA-deshydratase transforme l'ALA en porphobilinogène (PBG) qui est ensuite métabolisé en intermédiaires porphyriques avant de former le produit final après incorporation de l'atome de fer Fe^{2+} (85). L'étape cinétiquement limitante de cette chaîne est la formation d'ALA par l'enzyme ALAS-1. L'organisme régule alors la quantité d'hème produite à partir du pool d'hème hépatique, grâce à un rétrocontrôle négatif par inhibition de la quantité d'ALAS1 (**Figure 26**) (84,85).

Huit enzymes sont impliquées dans la production hépatique de l'hème. Chaque enzyme mutée ou déficiente est corrélée à un type de PHA et, par conséquent, se caractérise par une accumulation d'intermédiaires de l'hème en fonction de l'emplacement de l'enzyme dans la voie de biosynthèse de l'hème (**Figure 27**) (84).

Les mutations à l'origine de la PAI, la coproporphyrine héréditaire et la porphyrie variegata ont une faible pénétrance, c'est-à-dire que le gène muté peut ne pas être exprimé. La pénétrance de la porphyrie par déficit en acide aminolévulinique déshydratase est quant à elle non caractérisée (84). Une étude en population générale en France a déterminé que la prévalence génétique de la PAI (le type de PHA le plus fréquent) est d'environ 1 sur 1 675 en termes de mutation sur le gène hydroxymethylbilane synthase (*HMBS*) (86). Cependant, on estime qu'environ 1 à 2 % seulement des personnes porteuses de mutations présenteront des symptômes de la maladie (84).

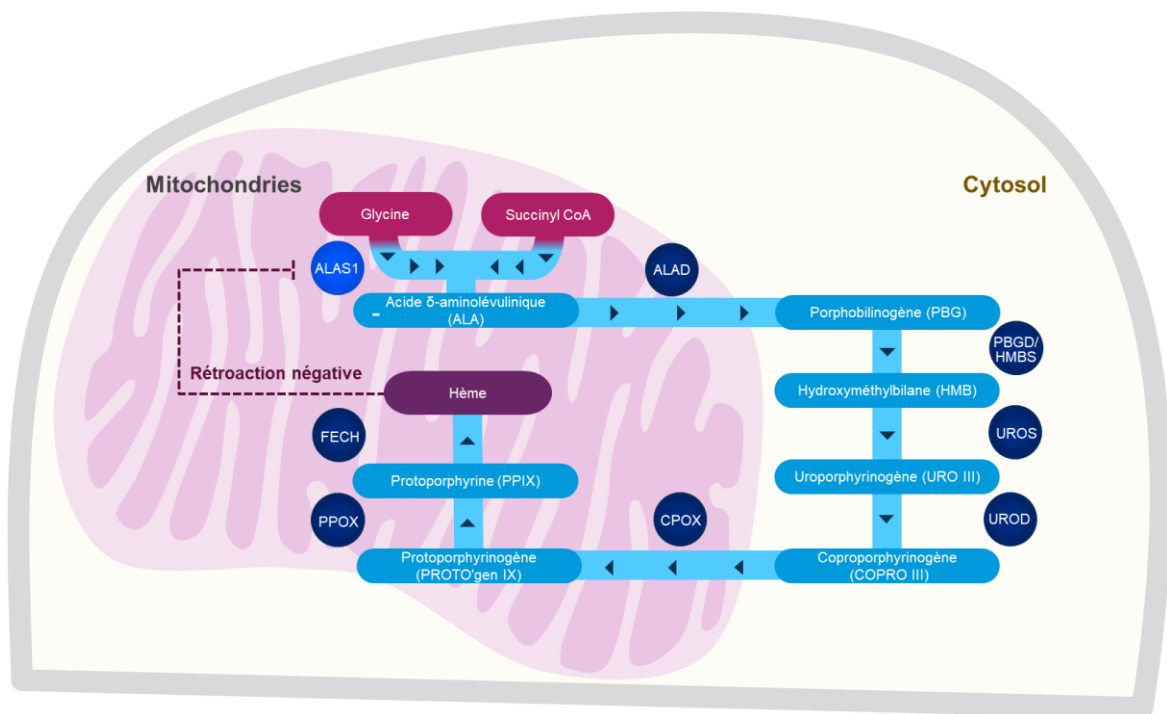


Figure 26 : Illustration de la voie de biosynthèse de l'hème dans les hépatocytes, adaptée de Wang et al, 2019 (84).

ALAD = acide δ-aminolévulinique déshydratase ; ALAS1 = acide δ-aminolévulinique synthase ; CPOX = coproporphyrinogène oxydase ; FECH = ferrocélatase ; HMBS = hydroxyméthylbilane synthase ; PBGD = porphobilinogène désaminase ; PPOX = protoporphyrinogène oxydase ; UROS = uroporphyrinogène III synthase ; UROD = uroporphyrinogène décarboxylase ;

III.2.B.ii. Signes cliniques

L'apparition des symptômes dus à la PHA intervient généralement entre 20 et 40 ans. Bien que les deux sexes héritent dans les mêmes proportions des gènes mutés, les femmes (environ 80 % des cas de PHA diagnostiqués) sont davantage susceptibles de présenter des symptômes de PHA.

Certains facteurs déclenchants, tels que des médicaments métabolisés par le CYP450, le jeûne ou les régimes hypocaloriques, l'alcool, le tabagisme, les infections, le stress et les fluctuations hormonales peuvent stimuler l'activité enzymatique d'ALAS1 chez les patients atteints de PHA. Cette stimulation de l'ALAS1, associée à un déficit enzymatique au niveau de la voie de biosynthèse de l'hème, entraîne une diminution du métabolisme des intermédiaires toxiques ALA et PBG et donc leur accumulation (**Figure 27**) (87).

L'accumulation de ces précurseurs se traduit par des crises neuroviscérales épisodiques, avec ou sans signes cutanés, susceptibles d'engager le pronostic vital. Au niveau clinique, les patients atteints de PHA présentent des urines porto caractéristiques (85).

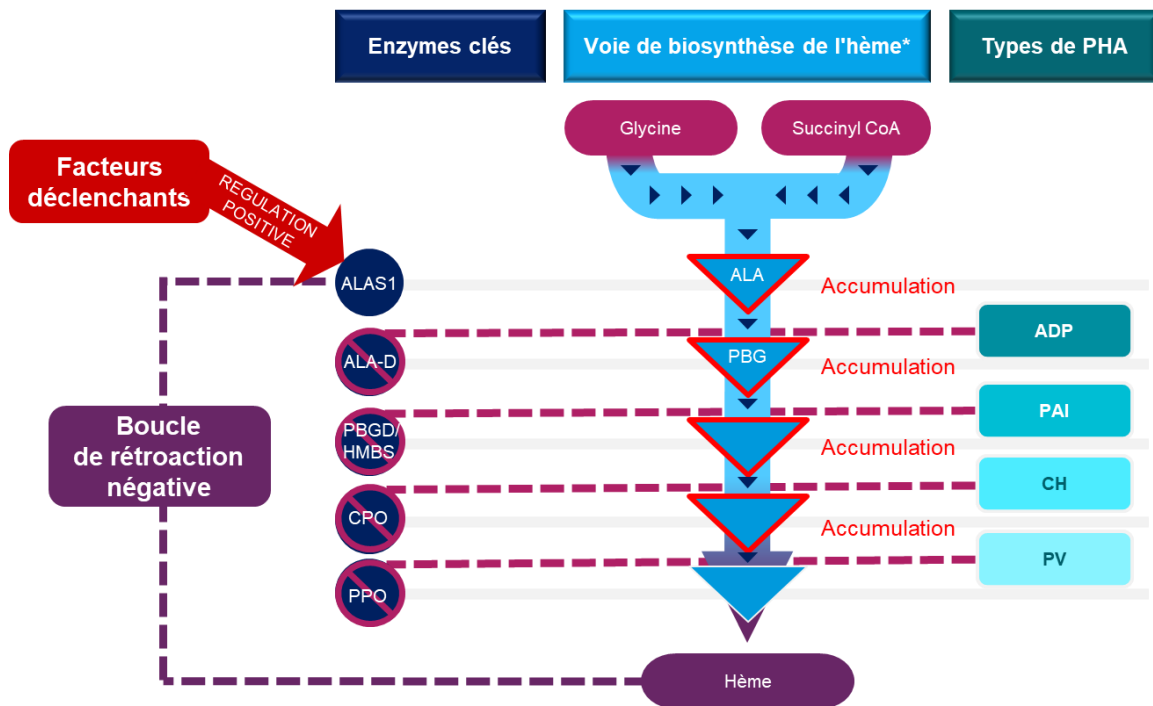


Figure 27 : Schéma simplifié de l'étiologie de la PHA.

ADP = porphyrie par déficit en acide δ -aminolévulinique déshydratase ; ALA = acide δ -aminolévulinique ; ALAD = acide δ -aminolévulinique déshydratase ; ALAS1 = acide δ -aminolévulinique synthase ; CH = coproporphyrine héréditaire ; CPO = coproporphyrinogène oxydase ; HMBS = hydroxyméthylbilane synthase ; PAI = porphyrie aiguë intermittente ; PBG = porphobilinogène ; PBGD = porphobilinogène désaminase ; PHA = porphyrie hépatique aiguë ; PPO = protoporphyrinogène oxydase ; PV = porphyrie variegata.

Les symptômes de la PHA sont causés par cette augmentation de la concentration des intermédiaires neurotoxiques ALA et PBG. Ils sont ensuite transportés par le plasma et touchent les neurones, entraînant des lésions du système nerveux (84). Les crises aiguës de PHA, à l'origine de la découverte de la maladie, sont imprévisibles et peuvent être mortelles. Elles durent généralement 3 à 7 jours et peuvent conduire à une hospitalisation des patients (88). Sur le plan clinique, la douleur abdominale sévère et diffuse est le symptôme le plus couramment signalé par les patients, accompagnée de l'une ou plusieurs des manifestations suivantes : faiblesse ou douleurs dans les membres ; anxiété et/ou confusion ; nausées et/ou vomissements et, dans le cas de la coproporphyrine héréditaire et de la porphyrie variegata uniquement, lésions cutanées sur la peau exposée au soleil (87). Entre les crises de PHA, 65 % des patients présentent des symptômes chroniques pouvant se manifester quotidiennement (douleurs abdominales, douleurs neuropathiques, anxiété, fatigue, nausées, ...) (89). D'autre part, des complications à long terme sont associées à la PHA tel que le cancer primitif du foie, l'hypertension artérielle, les maladies rénales chroniques et l'atteinte neurologique et les troubles psychiatriques (87).

III.2.B.iii. Diagnostic

La PHA est souvent mal diagnostiquée en raison du caractère non spécifique de ses symptômes. L'errance diagnostique est importante dans cette pathologie, avec un retard de diagnostic pouvant aller jusqu'à quinze ans. Le dosage urinaire des porphyrines ALA et PBG peut orienter le diagnostic d'une PHA qui doit être confirmé par un test génétique (89).

III.2.C. *Prise en charge thérapeutique*

III.2.C.i. Traitement de la crise aigüe de porphyrie

La crise aigüe de porphyrie est une urgence métabolique responsable de complications neurologiques potentiellement graves. Elle doit être prise en charge en milieu hospitalier avec administration d'hémine humaine (Normosang®) qui est le traitement de première intention de la crise porphyrique. Cet apport d'hème exogène permet de réprimer par rétroaction l'ALAS1. Cela induit une diminution des concentrations d'ALA et PBG et une régression des symptômes aigus en quelques jours (90).

III.2.C.ii. Traitement des crises récurrentes de porphyrie

Moins de 10 % des patients qui ont présenté une première crise aigüe feront des crises récurrentes. Pour cette population, outre les traitements de supports appropriés (antalgiques, antiémétiques, hypotenseurs, antiépileptiques...), la prise en charge constitue en l'administration prophylactique d'hémine comme traitement de long terme. Cependant, ce traitement est peu efficace et de nombreux patients continuent de faire des crises répétées nécessitant une hospitalisation. Par ailleurs, l'hémine est une molécule potentiellement toxique et son usage répété peut contribuer à une inflammation chronique hépatique. Jusqu'en 2019, la transplantation hépatique était l'option de dernier recours pour les patients PHA les plus sévères (90).

III.2.D. *Givosiran : un traitement de fond approuvé pour les patients atteints de PHA*

III.2.D.i. Formulation galénique et mécanisme d'action

Givosiran est le premier ARNi double brin conjugué à un ligand GalNAc, commercialisé par le laboratoire Alnylam Pharmaceuticals depuis 2019. Des modifications chimiques ont été apportées sur sa séquence nucléotidique sur la base du modèle ESC permettant une durée prolongée de l'extinction des gènes cibles par rapport à la chimie standard. Toutes les extrémités, à l'exception de 3'-UTR du brin passager, sont modifiées par des liaisons PS au niveau des deux nucléotides. Les groupements 2'-OMe et 2'-F s'alternent sur la quasi-totalité du brin guide ; sur le brin passager, ils se limitent aux 11 nucléotides centraux (17).

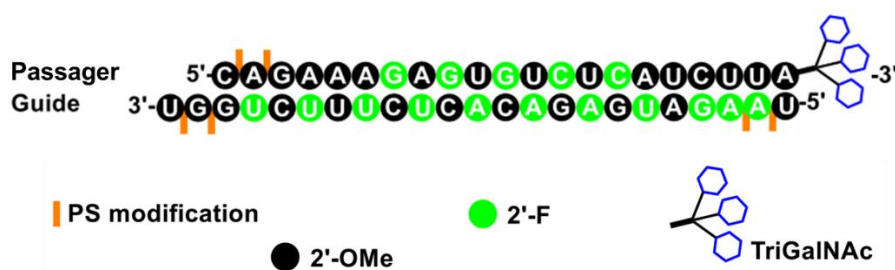


Figure 28 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées aux brins guide et passager du givosiran, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).

F = fluor ; OMe = méthoxyle ; PS = phosphorothioate

Ce traitement utilise le processus naturel d'ARN interférence pour cibler l'ARNm de l'ALAS1, enzyme impliquée dans la voie de biosynthèse de l'hème. L'interférence par ARN entraîne la réduction de l'activité enzymatique de l'ALAS1 et par conséquent diminue la production des intermédiaires neurotoxiques ALA et PBG, principaux facteurs de causalité des crises et des symptômes de la PHA (60).

III.2.D.ii. ENVISION : la plus grande étude interventionnelle réalisée dans la PHA

Méthodologie de l'étude et posologie

L'étude pivot ENVISION est essai clinique de phase 3, multicentrique, mené entre 2017 et 2018, chez 94 patients randomisés, en double aveugle. Elle visait à évaluer l'efficacité et la sécurité de givosiran contrôlé par placebo chez des patients atteints de formes sévères de PHA avec des crises répétées (≥ 2 crises au cours des 6 mois précédents) pendant 6 mois (60). L'administration d'hémine en prophylaxie n'était pas autorisée dans l'étude, mais les patients, présentant des crises aiguës au cours de l'essai ENVISION, pouvaient recevoir du Normosang® (60).

L'administration de givosiran se fait par voie sous-cutanée. La dose recommandée est de 2,5 mg/kg une fois par mois. La posologie est adaptée en fonction du poids corporel du patient (61).

Caractéristiques des patients

Les patients inclus devaient être âgés de plus de 12 ans avec un taux urinaire d'ALA ou PBG supérieur ou égal à 4 fois la limite normale. Les deux groupes de l'essai étaient bien équilibrés en termes de caractéristiques de la population de patients atteints de PHA. 89 % de patients inclus étaient des femmes et 89 % des patients présentaient une PAI. Par ailleurs, plus de la moitié des patients rapportaient des symptômes chroniques. Enfin, 29 % des malades avaient déjà eu recours à l'utilisation d'opioïdes au long terme (60).

Critère d'évaluation principal

En comparaison avec le placebo, le givosiran a entraîné une réduction de 74% du taux annualisé de crises (TAC⁷) moyen chez les patients atteints de PAI à 6 mois ($p < 0,001$) (**Figure 29 A**). Des résultats comparables ont été observés chez tous les patients présentant une PHA, avec une réduction de 73 % du TAC. Par ailleurs, 50% des patients atteints de PAI dans le bras traité par givosiran n'ont pas présentés de crise au cours de la période de l'essai clinique de 6 mois, contre 16 % des patients atteints de PAI sous placebo (60). Ces résultats sont maintenus à 12 mois, avec un TAC médian de 0,0 chez les patients ayant poursuivi l'administration du traitement pendant la période d'extension en ouvert (61).

Critères d'évaluation secondaires

D'autre part, l'administration mensuelle continue de givosiran s'est traduite par une réduction rapide et durable des taux médians d'ALA (- 83,7 % par rapport à la valeur initiale) et

⁷ TAC : comprenait des crises composites ayant nécessité une hospitalisation, une consultation médicale en urgence ou l'administration d'hémine par voie intraveineuse. (60)

PBG (-75,1 % par rapport à l'inclusion) urinaires (**Figure 29 C et D**) (60). Concernant les autres critères d'évaluation secondaires, les patients traités par givosiran ont rapporté une diminution de la douleur ($p < 0,05$) et une diminution du recours à l'hémine comparativement au bras placebo ($p < 0,001$). Givosiran n'a pas eu d'impact significatif sur les scores relatifs de nausée et fatigue quotidienne chez les patients (60).

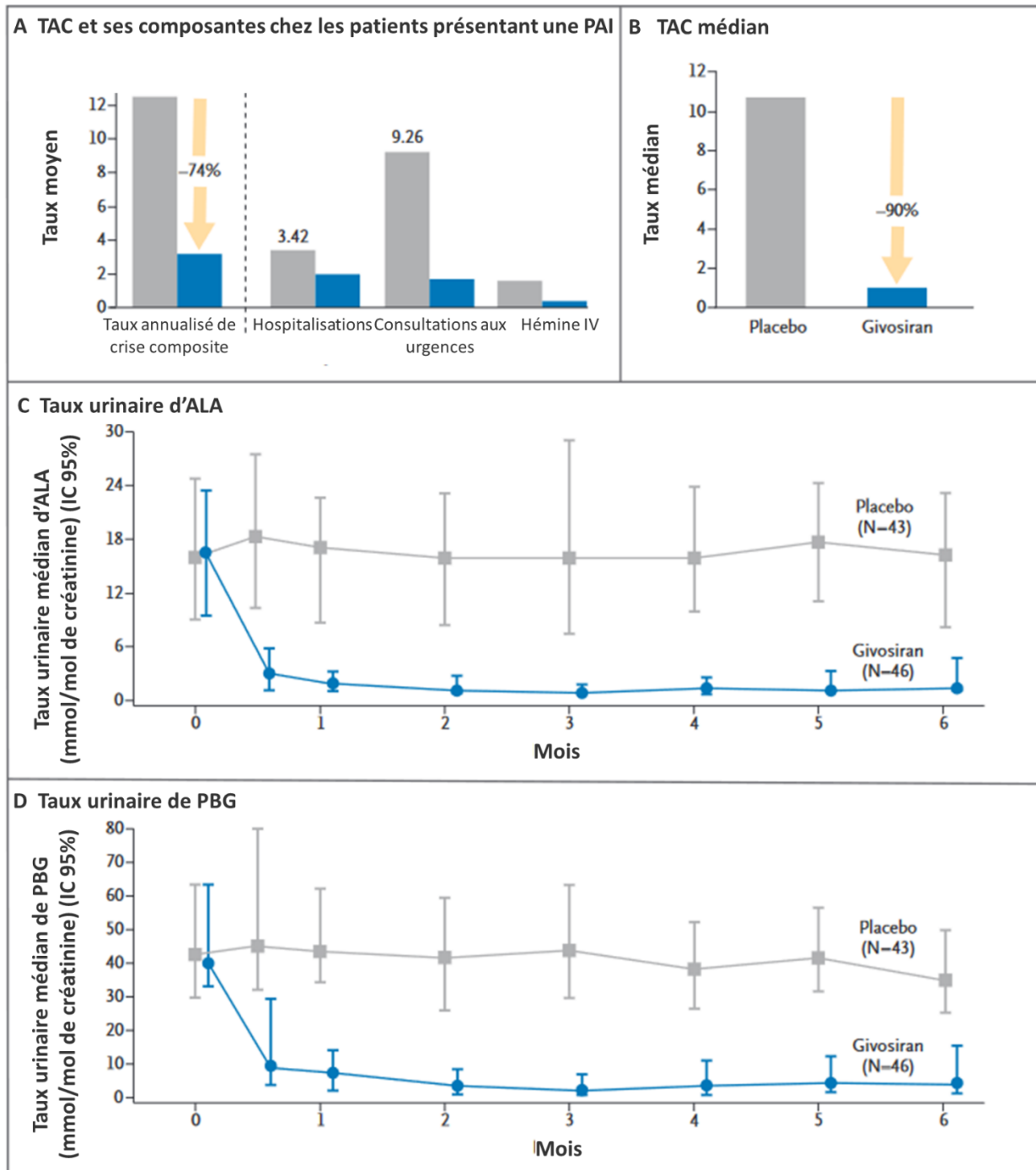


Figure 29 : Taux annuel de crise (TAC) et taux urinaires des intermédiaires neurotoxiques de l'hème, chez les patients atteints de PAI, adaptée de Balwani et al, 2020 (60).

ALA = acide δ -aminolévulinique ; PBG = porphobilinogène

Effets indésirables et sécurité d'emploi

Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés chez les patients traités par givosiran étaient les réactions au site d'injection (36 %), les nausées (32,4 %) et la fatigue (22,5%). Des élévations des transaminases ont également été observées chez 7 patients traités par givosiran, survenues principalement entre 3 et 5 mois après l'instauration du traitement (61). Un patient (atteint de porphyrie variegata), présentant un taux d'alanine aminotransférase (ALAT) plus de 8 fois supérieur à la limite supérieure de la normale, a arrêté le traitement (61).

III.2.D.iii. Evaluation de Givlaari® par les autorités de santé

Obtention de l'autorisation de mise sur le marché

En 2019 Givlaari® (givosiran) a été approuvé par la FDA aux Etats-Unis suivi de l'obtention d'une AMM européenne par l'EMA comme médicament de première intention dans le traitement de la PHA chez les adultes et les adolescents âgés de 12 ans et plus (91).

Avis de la commission de transparence de la HAS

La Commission de Transparence considère dans son évaluation en 2020, que Givlaari® est un traitement de la PHA uniquement chez les patients de 18 ans et plus et ayant une maladie active caractérisée par des crises récurrentes de porphyrie (≥ 4 crises par an) nécessitant une hospitalisation, une visite médicale urgente ou un traitement par hémine IV à domicile. Dans ce cadre, elle accorde au traitement un SMR important (91). Pour cette population de patients, le traitement prophylactique par hémine au long cours ne doit plus reposer sur l'administration répétée d'hémine (91).

La Commission de Transparence a émis un avis défavorable au remboursement de Givlaari®, avec un SMR insuffisant, dans les autres situations cliniques couvertes par l'AMM (prise en charge des patients âgés de 12 à 18 ans) (91).

Par ailleurs, sur la base des résultats publiés dans l'étude ENVISION, du maintien des résultats d'efficacité à 12 mois dans les données de suivi en ouvert et également « de l'absence d'alternative thérapeutique permettant de prévenir les crises porphyriques aiguës et donc du besoin médical considéré comme non couvert », la Commission de Transparence de la HAS considère que Givlaari® apporte une amélioration du service médical rendu importante (ASMR II) (91). La population cible prévalente en France est estimée au maximum à 60 patients (91).

Place dans la stratégie thérapeutique

Givlaari® est aujourd'hui le seul médicament à avoir l'AMM en France dans le traitement de la PHA chez les patients âgés de plus de 18 ans et présentant une maladie active caractérisée des crises récurrentes de porphyrie (≥ 4 crises par an) (91).

III.3. L'hyperoxalurie primitive

L'hyperoxalurie primitive est une maladie génétique rare, autosomique récessive, caractérisée par la surproduction hépatique d'oxalate, métabolite insoluble, dont la principale voie d'excrétion est le rein. On connaît trois types d'hyperoxalurie primitive (1, 2, 3) dont la forme la plus sévère, l'hyperoxalurie primitive de type 1 (HP1) conduit à une insuffisance rénale terminale ainsi que l'accumulation de dépôt d'oxalate dans tous les tissus et organes (92). Nous traiterons par la suite principalement de l'HP1.

III.3.A. *Epidémiologie*

L'HP1 représente 80 % des cas d'hyperoxalurie primitive. On estime sa prévalence de 1 à 3 cas / 1 000 000 d'habitants dans le monde, avec un sous-diagnostic important étant donné l'hétérogénéité des phénotypes (93). En France, la filière des maladies rénales rares ORKid (Orphan Kidney Diseases) évalue entre 100 et 150 patients atteints d'HP1. Du fait du caractère récessif de la transmission génétique, cette pathologie est plus fréquente dans les pays où la consanguinité est courante, notamment au Moyen Orient et en Afrique du Nord (92).

III.3.B. *Physiopathologie*

III.3.B.i. Aspects génétiques et moléculaires

L'HP1 résulte d'une mutation du gène *AGXT* entraînant un déficit de l'enzyme alanine glyoxylate aminotransférase (AGT). Cette enzyme est localisée spécifiquement dans le péroxysome des hépatocytes et sa coenzyme est le phosphate de pyridoxine (vitamine B6). Deux autres types d'hyperoxalurie primitive existent - l'HP2 est liée à une mutation sur le gène de glyoxylate-réductase/hydroxypyruvate réductase (*GRHPR*) ; l'HP3 résulte d'une perte de fonction d'une enzyme mitochondriale la 4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase (*HOGA*) (94).

Dans l'HP1, l'enzyme déficitaire AGT est normalement impliquée dans le métabolisme du glyoxylate en glycine. En l'absence d'activité enzymatique de l'AGT, le glyoxylate s'accumule et est converti en oxalate par la glycolate oxydase peroxysomale (GO) ou par la lactate déshydrogénase cytosolique (LDH) (**Figure 30**). L'oxalate est un métabolite insoluble, principalement excrété par les reins où il se lie au calcium formant ainsi des cristaux d'oxalate de calcium monohydraté. L'accumulation d'oxalate de calcium provoque des lithiases urinaires et une néphrocalcinose conduisant progressivement à une insuffisance rénale. Au fur et à mesure que la fonction rénale se dégrade, l'oxalate n'est plus excrété de façon efficace et peut s'accumuler dans le plasma. Quand les taux plasmatiques dépassent le seuil de saturation (concentration plasmatique d'oxalate > 30 – 50 $\mu\text{mol/L}$), l'oxalate de calcium se dépose dans différents tissus du corps entraînant une oxalose systémique. Il va se condenser préférentiellement là où la concentration de calcium est la plus élevée : dans les os, les vaisseaux sanguins, la moelle osseuse, le cœur, la thyroïde, la rétine, ... (95).

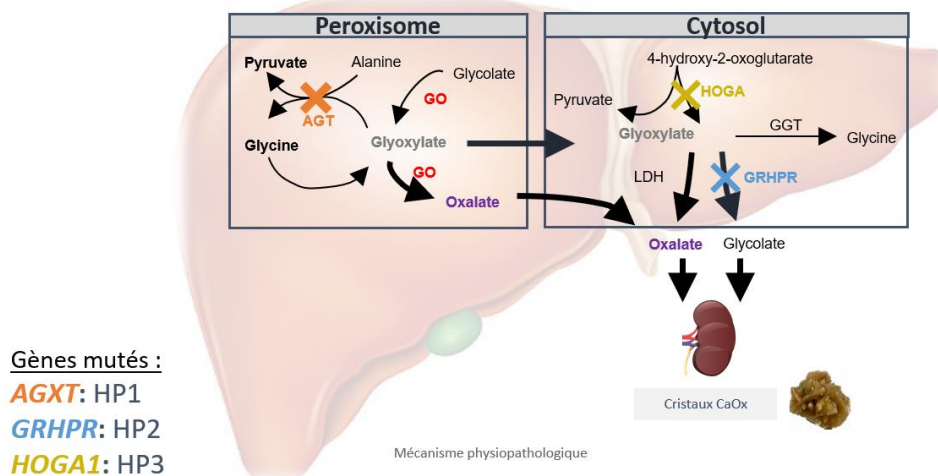


Figure 30 : Schéma du métabolisme du glyoxylate dans le peroxysome hépatocytaire humain : déficits enzymatiques responsables de l'HP1, HP2, HP3, adapté de Cochat et al, 2012 (95).

AGT = alanine-glyoxylate aminotransférase ; AGXT = gène de l'AG ; CaOx = oxalate de calcium ; GGT = glutamate-glycine transaminase ; GO = glycolate oxydase ; GRHPR = glyoxylate réductase/hydroxypyruvate réductase ; HOGA1 = 4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase 1 ; LDH = lactate déshydrogénase

III.3.B.ii. Signes cliniques

Bien que les mutations à l'origine de l'HP1 soient congénitales, les symptômes et leur sévérité peuvent être hétérogènes d'un patient à l'autre, même au sein d'une même famille. Généralement, les patients présentent des calculs rénaux récurrents associés à une altération progressive de la fonction rénale dans l'adolescence et au début de l'âge adulte. Certains patients présentent un phénotype infantile très sévère, avec une néphrocalcinose diffuse et une insuffisance rénale terminale dès la petite enfance. D'autres seront diagnostiqués très tardivement, au stade l'oxalose systémique, ou au détour d'une récurrence de la maladie après transplantation rénale et sans diagnostic d'HP1 avant la greffe (92,95).

III.3.B.iii. Diagnostic

D'après les recommandations du consortium OXALEUROPE et du protocole national de diagnostic et de soins sur l'hyperoxalurie, le diagnostic de l'HP1 repose sur une évaluation clinique, radiologique, biochimique et génétique chez tous les patients avec un phénotype évocateur ou antécédents familiaux d'HP. D'un point de vue clinique, le diagnostic d'HP doit être envisagé en cas de premier calcul rénal chez un enfant ou chez tout adulte présentant des calculs rénaux récidivants et/ou bilatéraux (96). La présence de néphrocalcinose, en particulier associée à un déclin du débit de filtration glomérulaire (DFG), ainsi que de cristaux d'oxalate de calcium doit être considérée. Concernant l'évaluation biochimique, il est nécessaire de doser l'oxalate ainsi que la créatinine sur des urines de 24h si le DFG est préservé (94,96). Chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique (IRC) au stade 4 ou plus, il faudra s'orienter vers un dosage de l'oxalate plasmatique. Lors d'une crise de colique néphrétique, il est important de recueillir le calcul afin de réaliser une analyse morphologique et spectrophotométrique qui constitue un élément-clé du diagnostic étiologique (96). En effet, les calculs d'oxalate de calcium provoqués par l'hyperoxalurie primitive sont pathognomoniques de type Ic, selon la classification des calculs établie par le Professeur Michel Daudon (96,97). Enfin, il est nécessaire de réaliser un

génotypage pour chaque patient présentant un tableau clinique et/ou biochimique évocateur d'une hyperoxalurie afin de confirmer le diagnostic (94).

III.3.C. *Prise en charge thérapeutique*

III.3.C.i. Traitement conservateur

Jusqu'en 2020, la prise en charge thérapeutique, des patients atteints d'HP1, reposait principalement sur un traitement conservateur. L'objectif de ces mesures est de préserver la fonction rénale le plus longtemps possible, en augmentant la solubilité de l'oxalate de calcium urinaire et en réduisant sa production. Elles doivent être mise en place dès la suspicion du diagnostic d'HP1 (94).

Tout d'abord, la prise en charge médicale consiste en une hyperhydratation continue (diurne et nocturne) de 3,5 à 4L / jour chez l'adulte, permettant d'obtenir une dilution des urines (94,96). Ces objectifs contraignants sont souvent difficiles à atteindre et nécessitent une forte adhésion des patients. Chez l'enfant, la mise en place d'une gastrostomie est souvent nécessaire (96). De plus, la prescription de citrate de potassium est utilisée afin de réduire la sursaturation des urines en oxalate de calcium, tant que la fonction rénale est préservée (risque d'hyperkaliémie en cas d'insuffisance rénale) (94,96). Le citrate de potassium est un inhibiteur de la cristallisation. Il se complexe au calcium empêchant la formation des cristaux d'oxalate. Aussi, l'administration de vitamine B6, coenzyme de l'AGT, est recommandée afin de réduire l'oxalurie. On estime que 30 % des patients sont répondeurs. Le traitement doit donc être testé systématiquement en débutant à 5 mg/kg/jour sans dépasser 20 mg/kg par jour (94,96). Une réponse positive à la pyridoxine est définie par une diminution d'au moins 30 % de l'excrétion urinaire d'oxalate. Les patients répondeurs poursuivront le traitement au long cours tandis que l'administration de vitamine B6 sera interrompue chez les patients non répondeurs (96). Enfin, aucun régime alimentaire particulier, autre que les éventuels régimes prévus dans le cadre de l'insuffisance rénale chronique, n'est à prévoir (96).

III.3.C.ii. Dialyse

Chez les patients présentant une maladie rénale de stade 5, l'hémodialyse intensive est indiquée temporairement en attendant la greffe rénale. En effet, elle ne permet pas de contre balancer la surproduction d'oxalate quotidienne. Les patients sont hémodialysés cinq à six fois par semaine (2 à 3 heures par séance) en association avec une dialyse péritonéale nocturne pour les enfants diagnostiqués très jeunes en insuffisance rénale terminale (96).

III.3.C.iii. Greffe hépatique

Avant l'avènement des ARNi, la greffe hépatique était le traitement de référence permettant de restaurer la métabolisation du glyoxylate par l'AGT en glycine (96). C'est toujours le seul traitement curatif guérissant la maladie métabolique (94,96). Aujourd'hui, elle n'est indiquée que pour les patients ne bénéficiant pas d'un accès aux traitements ARNi ou ne répondants pas à la pyridoxine (94).

III.3.D. Lumasiran

III.3.D.i. Formulation galénique et mécanisme d'action

Le lumasiran est un ARNi double brin, conjugué à un ligand GalNAc, commercialisé par le laboratoire Alnylam Pharmaceuticals. Tout comme le givosiran, des modifications chimiques ont été apportées sur sa séquence nucléotidique sur la base du modèle ESC permettant une durée prolongée de l'extinction des gènes cibles par rapport à la chimie standard. Les brins guide et passager, respectivement de 21 et 23 nucléotides, sont entièrement modifiés. Les 3 extrémités (à l'exception de l'extrémité 3'-UTR du brin guide liée au GalNAc) sont modifiées avec des paires de liaisons PS (17).

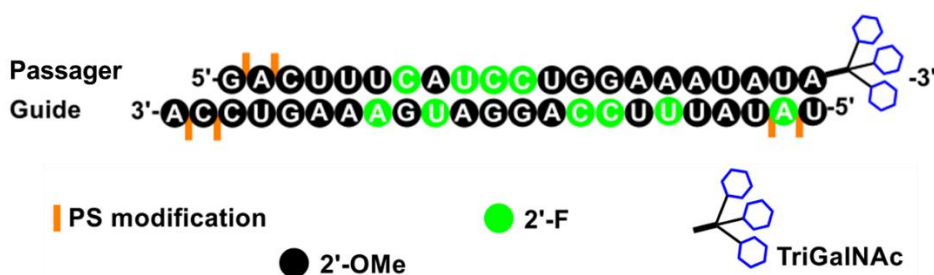


Figure 31 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées aux brins guide et passager du lumasiran, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).

F = fluor ; OMe = méthoxyle ; PS = phosphorothioate

Ce traitement permet de diminuer la production de l'enzyme GO, en ciblant l'ARNm du gène de l'hydroxyacide oxydase 1 (HAO1) dans les hépatocytes. La GO est une enzyme en amont de l'enzyme déficiente AGT à l'origine de l'HP1. Le lumasiran va ainsi diminuer le taux de glyoxylate produit, métabolite substrat pour la production d'oxalate, entraînant une réduction des taux d'oxalate urinaires et plasmatiques (**Figure 30**). Le mécanisme d'action du lumasiran est donc indépendant de la mutation du gène *AGXT* sous-jacente. (98)

L'efficacité et la sécurité du lumasiran ont été évaluées sur un large spectre de patients grâce au programme de développement clinique ILLUMINATE. Trois essais cliniques de phase 3 ont été conduits en parallèle à partir de 2018.

III.3.D.ii. ILLUMINATE A : la plus grande étude interventionnelle réalisée dans l'HP1

Méthodologie de l'étude et posologie

L'étude internationale de phase 3 ILLUMINATE-A, multicentrique, a été menée chez 39 patients diagnostiqués avec une HP1, randomisés 2:1 en double aveugle lumasiran vs placebo (99). Elle visait à évaluer l'efficacité du lumasiran à 6 mois sur un critère biologique d'oxalurie.

Les patients ont reçu cinq injections administrées par voie sous cutanée sur la période de l'étude, au mois 0, 1, 2, 3 et 6. La posologie est adaptée en fonction du poids du patient (3 mg/kg).

Caractéristiques des patients

La population évaluée dans cette étude comprenait des patients âgés de 6 ans et plus, avec un DFGe ≥ 30 mL/min/1,73 m². L'âge médian était de 14 ans avec un DFGe moyen de 81,6 mL/min/1,73m². Le niveau d'oxalurie médian était de 1,72 mmol/24h/1,73m². 84,6 % des patients avaient des antécédents de calculs rénaux symptomatiques et 53,8 % présentaient une néphrocalcinose à l'inclusion. Par ailleurs, 56 % des patients ont été traités concomitamment par pyridoxine (vitamine B6) (99).

Critères d'évaluation principal et secondaires

Le critère de jugement principal était la variation en pourcentage de l'oxalurie sur 24h, corrigée en fonction de la surface corporelle, entre l'inclusion et après 6 mois de traitement. Ce critère a été atteint puisqu'il a été observé à 6 mois une réduction de 65,4 % de l'excrétion d'oxalate urinaire sur 24 heures corrigée en fonction de la surface corporelle (SC) chez les patients traités par lumasiran (contre 11,8 % dans le groupe placebo), ce qui correspond à une différence moyenne absolue de 53,5 % ($p < 0,0001$) (Figure 32) (99).

De plus, 84 % des patients sous lumasiran affichaient des taux d'oxalate urinaire sur 24 heures réduits à la normale ou proches de la normale ($< 0,75$ mmol/24 h/1,73 m²) après 6 mois de traitement. Comparativement, aucun des patients dans le groupe placebo n'a atteint un niveau normal ou quasi-normal d'oxalurie à 6 mois ($p < 0,0001$) (99).

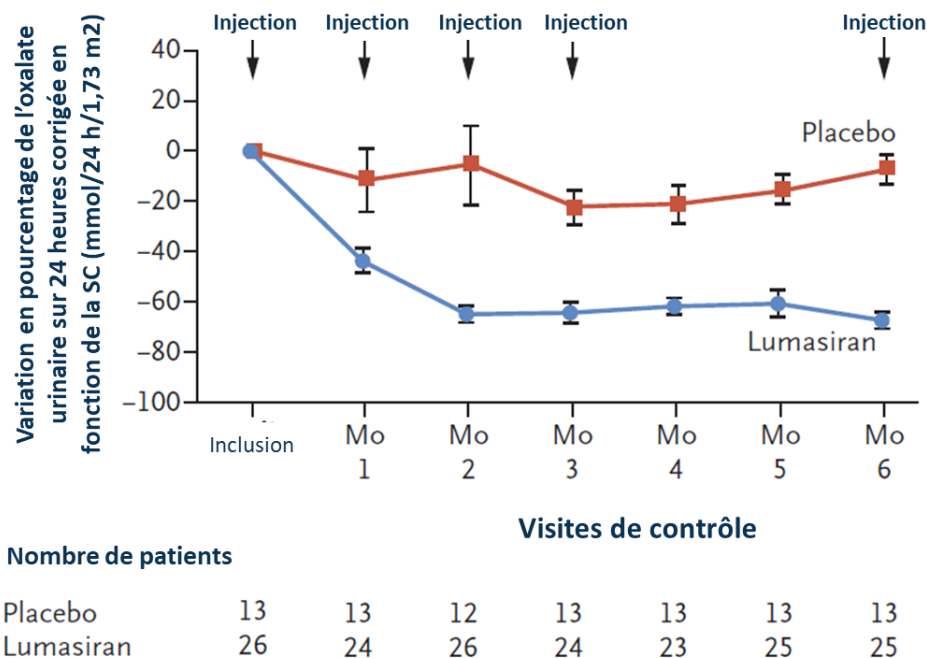


Figure 32 : Résultat du critère d'évaluation principal d'ILLUMINATE-A : variation en pourcentage de l'excrétion urinaire d'oxalate sur 24h corrigée en fonction de la SC, adaptée de Garrelfs et al., New England Journal of Medicine, 2021 (99).

SC = surface corporelle ; Mo = mois

Phase d'extension : résultats cliniques exploratoires

La phase d'extension en ouvert (OLE) de l'essai ILLUMINATE-A est toujours en cours. Après 6 mois de double aveugle, tous les patients ont été traités par lumasiran à la dose trimestrielle de 3 mg/kg, pour une période de suivi de 54 mois. Les résultats du lumasiran à 24 mois confirment son efficacité sur les troubles biologiques des patients atteints d'HP1 et apportent des données intéressantes quant à son influence sur l'évolution clinique de la maladie. En effet, la diminution de l'oxalurie observée à 6 mois est maintenue à 24 mois, associée à une diminution significative de l'oxalémie. Le DFGe est resté stable durant les 24 mois de l'étude chez les patients traités par lumasiran/lumasiran ou placebo/lumasiran (100). Par ailleurs, le taux d'apparition de calculs rénaux (critère exploratoire) est passé de 3,19/personne-année au cours des 12 mois précédant l'inclusion dans ILLUMINATE-A, à 0,80/personne-année au 24ème mois, dans le groupe lumasiran/lumasiran (100). Enfin, la tendance à l'amélioration de la néphrocalcinose (critère exploratoire) évaluée à 6 mois est confirmée dans OLE à 12 mois (amélioration chez 11/24 soit 46 % des patients traités par lumasiran/lumasiran) (101). Ces données sont en faveur d'une efficacité durable du lumasiran.

III.3.D.iii. ILLUMINATE-B : évaluation de l'efficacité chez des patients âgés de moins de 6 ans

Méthodologie de l'étude et posologie

Les résultats cliniques du lumasiran ont été confirmés chez la population pédiatrique, grâce à une deuxième étude d'enregistrement ILLUMINATE-B. C'est un essai clinique international, multicentrique, de phase 3, en ouvert, non comparatif, mené chez 18 patients atteints d'HP1 et âgés de moins de 6 ans. Ils présentaient un DFGe > 45 mL/min/1,73 m² pour les patients de 12 mois et plus et une créatininémie normale chez les patients de moins de 12 mois.

Les enfants ont reçu des doses de 3 mg/kg à 6 mg/kg mensuelle ou trimestrielle en fonction de leur poids (102). En effet, la clairance plasmatique est plus rapide chez les enfants de moins de 20 kg, nécessitant une adaptation posologique pour obtenir le même effet thérapeutique que chez les adultes.

Caractéristiques des patients

L'âge médian des patients inclus était de 50,1 mois (4,2 ans) avec un DFG médian de 111 mL/min/1,73m². Sur l'ensemble des patients, le ratio médian oxalurie / créatinine dans un spot urinaire était de 0.469 mmol/mmol. 17 % des enfants avaient eu un événement de calcul rénal dans les 12 derniers mois et 78 % présentaient une néphrocalcinose à l'inclusion. Enfin, 61 % étaient traité concomitamment par de la pyridoxine (vitamine B6) (102).

Critères d'évaluation principal et secondaires

Le critère d'évaluation primaire était la variation en pourcentage du ratio oxalate / créatinine dans un spot urinaire par rapport à l'inclusion. Lumasiran était associé à une réduction moyenne du ratio oxalate urinaire / créatinine urinaire de 72 % maintenue à 12 mois et cohérente avec les données d'ILLUMINATE-A (102,103).

Outre ces résultats biologiques, sur le plan clinique le DFGe est resté stable sur la période de 12 mois et la néphrocalcinose a régressé chez 11 des 14 patients (79 %) présentant une atteinte à l'inclusion (103).

III.3.D.iv. ILLUMINATE-C : évaluation de l'efficacité chez des patients avec une fonction rénale altérée

Méthodologie de l'étude et posologie

Une troisième étude pivot a évalué l'efficacité du lumasiran chez les patients atteints d'HP1 de tout âge présentant une fonction rénale altérée définie par un DFGe ≤ 45 mL/min/1,73m² ou une augmentation de la créatinine sérique pour les patients de moins de 12 mois (104). ILLUMINATE-C est un essai clinique international, multicentrique, de phase 3, en ouvert, non comparatif conduit sur 21 patients répartis dans deux cohortes. La cohorte A (6 patients) inclue des patients non dialysés et la cohorte B (15 patients) des patients hémodialysés.

Caractéristiques des patients

L'âge médian des patients inclus est de 8 ans avec une oxalémie de 100,9 μ mol/L et un DFGe de 16,5 mL/min/1,73m² (104).

Critères d'évaluation principal et secondaires

A la différence des deux premiers essais cliniques, le critère d'évaluation principal ne porte pas sur la variation de l'oxalurie, mais, de l'oxalémie, qui est un critère biologique plus pertinent chez les patients atteints d'HP1 avec une fonction rénale dégradée. Les 21 patients ont été séparés dans deux cohortes. Dans la cohorte A (n=6), incluant des patients non dialysés, il a été observé une réduction moyenne de l'oxalate plasmatique de 33,33 % entre l'inclusion et le mois 6. Dans la cohorte B (n=15), avec des patients hémodialysés, il y a eu une réduction moyenne de 42,43 % de l'oxalate plasmatique en pré-dialyse après 6 mois de traitement (104). Ces premiers résultats chez les patients atteints d'HP1 à un stade avancé de la maladie rénale chronique sont encourageants et seront complétés par des données à plus long terme pour confirmer cette tendance.

III.3.D.v. Effets indésirables et sécurité d'emploi

Concernant le profil de sécurité d'emploi du lumasiran, il s'est avéré similaire chez les enfants et les adultes. L'événement le plus fréquemment rapporté était une réaction au site d'injection (35 %). Elles sont légères et transitoires et incluent l'érythème, la tuméfaction, la douleur, l'hématome, le prurit et une coloration anormale. Elles n'ont entraîné aucune interruption de traitement. Aussi, 16 des 98 patients ont rapporté des douleurs abdominales passagères et réversibles (98).

III.3.D.vi. Evaluation de l'Oxlumo® par les autorités de santé

Obtention de l'autorisation de mise sur le marché

La démonstration de l'efficacité du lumasiran est actuellement basée sur des critères biologiques jugés pertinents. En effet, l'hyperoxalurie entraîne des calculs rénaux qui vont *in fine* altérer la fonction rénale. L'hyperoxalémie est quant à elle la cause principale des complications extra-rénales. Le lumasiran n'a donc pas démontré de bénéfice clinique direct, mais a permis

d'améliorer les critères biologiques chez les patients de tout âge, quelle que soit la fonction rénale. L'incapacité du lumasiran à démontrer un bénéfice sur des paramètres cliniques est largement imputable à la courte période d'observation contrôlée par placebo (6 mois) et la petite taille de l'échantillon (39 patients). En prenant en compte l'ensemble des critères pré-cliniques et cliniques, le Comité des Médicaments à Usage Humain (CHMP) a évalué la balance bénéfique/risque du lumasiran positive le 15 octobre 2020

En novembre 2020, le lumasiran a obtenu une AMM centralisée européenne dans l'indication « traitement de hyperoxalurie primitive de type 1 (HP1) dans tous les groupes d'âge » (105) ainsi qu'une approbation par la FDA aux Etats-Unis. Il est aujourd'hui le seul médicament à avoir l'AMM en France dans cette indication (106). Dans l'attente du remboursement du traitement en France, des autorisations temporaires d'utilisation (ATU) nominatives et de cohorte ont été octroyées dans la même indication, respectivement, à partir de décembre 2019 et novembre 2020 (105).

Avis de la commission de transparence de la HAS

La Commission de Transparence de la HAS a accordé un SMR important et propose un remboursement du traitement dans l'indication de l'AMM (106). Par ailleurs, sur la base des résultats publiés, du besoin médical très partiellement couvert, mais en considérant notamment l'absence de données sur des critères cliniques pertinents et les incertitudes sur l'utilisation du traitement à long terme, la Commission de Transparence attribue une ASMR III dans la stratégie actuelle de l'HP1 (106). Enfin, Oxlumo® n'est pas susceptible d'avoir un impact sur la santé publique (106).

Place dans la stratégie thérapeutique

La HAS, dans son évaluation en 2021, considère que Oxlumo® est un traitement de première intention de l'HP1 chez les patients de tout âge.

III.3.E. Perspectives de traitement dans l'hyperoxalurie primitive (HP1, HP2, HP3)

Si le lumasiran cible la GO, responsable du métabolisme du glycolate et du glyoxylate dans le peroxysoxe des hépatocytes, c'est la LDH qui joue un rôle central dans la production d'oxalate (**Figure 30**). Cette enzyme est en aval des trois enzymes déficitaires dans les hyperoxaluries (types 1, 2 et 3), *AGT*, *GRHPR*, *HOGA*. Elle est responsable de l'étape finale de la synthèse de l'oxalate en métabolisant le glyoxylate dans le cytosol hépatique (95).

Ainsi, le laboratoire Dicerna Pharmaceuticals a développé le nedosiran un ARNi qui interfère avec l'ARNm du gène *LDHA* dans les hépatocytes, diminuant ainsi la production de la LDH et réduisant les taux d'oxalate urinaire et plasmatique. Le mécanisme d'action du nedosiran est indépendant de la mutation des trois gènes *AGXT*, *GRHPR* et *HOGA-1* sous-jacents dans l'hyperoxalurie primitive (107). L'administration de nedosiran se fait par voie sous-cutanée grâce à un vecteur GalNAc. La dose recommandée consiste en une injection mensuelle adaptée en fonction du poids corporel du patient.

Le nedosiran a été évalué lors d'une étude internationale PHYOX2, multicentrique, de phase 2, randomisée, en double aveugle, nedosiran vs placebo (n = 35). Les patients inclus étaient diagnostiqués avec une HP1 ou une HP2 et âgés de plus de 6 ans avec un DFGe ≥ 30 mL/min/1,73 m² (83). Le critère d'évaluation principal a été atteint avec une réduction statistiquement plus importante de l'oxalate urinaire, telle que mesurée par l'aire sous la courbe du jour 90 au jour 180 dans le bras nedosiran par rapport au bras placebo ($p < 0,001$). Les participants atteints d'HP1 traités par nedosiran ont présenté une réduction moyenne de l'oxalate urinaire de 59 % versus placebo par rapport à l'inclusion entre le jour 90 et le jour 180 (**Figure 33**). Aucun effet sur la réduction moyenne de l'oxalate urinaire n'a été montré dans le sous-groupe HP2 malgré l'effet thérapeutique attendu d'après le mode d'action du nedosiran et les résultats de l'étude de phase 1 PHYOX-1⁸ (**Figure 33**) (107). Concernant la tolérance du traitement, aucun signe d'alerte n'est ressorti de l'étude. Les effets indésirables les plus fréquents sont, comme le lumasiran, les réactions au site d'injection (107). D'autres essais cliniques se poursuivent afin d'évaluer l'efficacité et la tolérance du nedosiran.

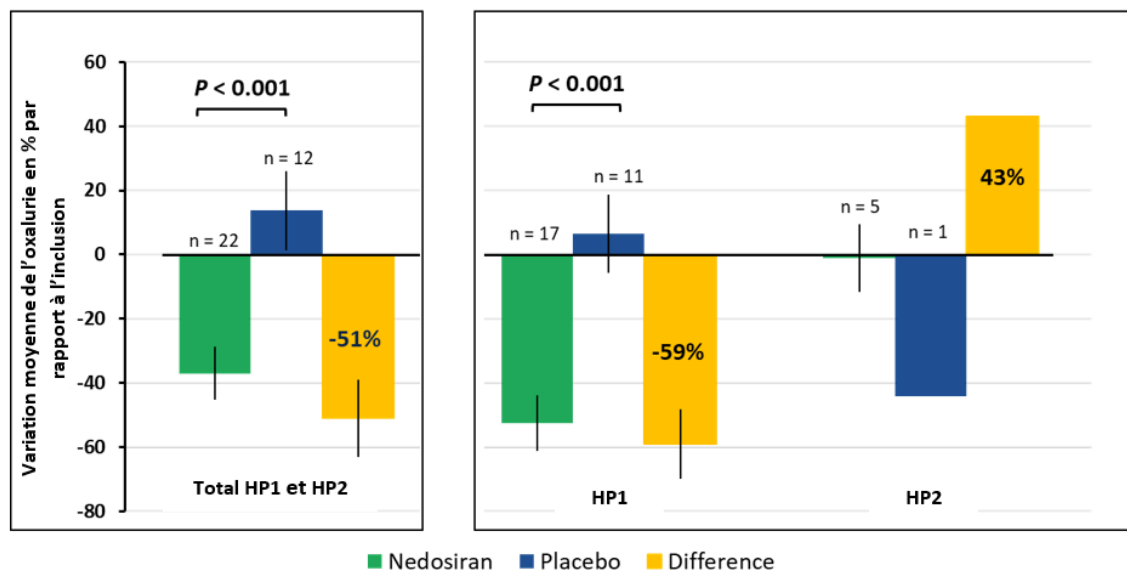


Figure 33 : Résultats des variations moyennes en pourcentage par rapport à l'inclusion de l'oxalurie sur 24h entre le jour 90 et le jour 180 chez les patients traités par nedosiran ou placebo, adaptés de Baum MA et al., Kidney International, 2022 (109).

HP1 = hyperoxalurie primitive de type 1 ; HP2 = hyperoxalurie primitive de type 2

⁸ **PHYOX-1** : Essai clinique de phase 1 en deux parties, randomisée, à dose unique croissante permettant d'évaluer l'innocuité, la pharmacocinétique, la pharmacodynamie et la relation exposition-réponse au nedosiran par voie sous-cutanée chez 25 volontaires sains (groupe A) et 18 patients atteints d'HP1 ou HP2. Le groupe A a reçu du nedosiran (0,3, 1,5, 3,0, 6,0, puis 12,0 mg/kg) ou un placebo, et le groupe B a reçu du nedosiran en ouvert (1,5, 3,0, ou 6,0 mg/kg). (108)

IV. Développement clinique : des maladies rares aux maladies prévalentes

Outre les ARNi approuvés et commercialisés en France, de nombreux essais cliniques évaluant des ARNi dans différentes pathologies ont été enregistrés sur *clinicaltrials.com*. Le mécanisme d'action de ces thérapies offre un potentiel d'applications très large pour traiter des maladies avec des besoins thérapeutiques non satisfaits élevés, notamment les maladies infectieuses, les troubles métaboliques, les cancers, les anomalies génétiques rares, ou les maladies dégénératives. A date, une trentaine de laboratoires pharmaceutiques conduisent plus de 200 essais cliniques sur plus de 50 ARNi thérapeutiques. Ceux-ci sont résumés dans le **Tableau 2** en **Annexe**. Dans cette quatrième partie, nous nous concentrerons sur les résultats prometteurs de trois molécules : le fitusiran dans l'hémophilie, l'inclisiran dans l'hypercholestérolémie à lipoprotéine à basse densité (LDL-c) et le zilebesiran dans l'hypertension artérielle (HTA).

IV.1. Hémophilies A et B

L'hémophilie est une maladie hématologique rare héréditaire, liée au chromosome X, dus à un déficit en facteur VIII (hémophilie A) ou IX (hémophilie B). Elle se traduit par l'incapacité du sang à coaguler correctement, provoquant des hémorragies récurrentes et spontanées et/ou des saignements prolongés mettant en jeu le pronostic vital (110,111).

IV.1.A. *Epidémiologie*

On estime environ à 1 125 000 hommes hémophiles dans le monde, dont la majorité n'est pas diagnostiquée et environ 418 000 personnes atteintes d'hémophilie sévère (112). La prévalence estimée à la naissance est de 1/5000 (111). L'hémophilie A représente 80 à 85 % de tous les cas d'hémophilie et l'hémophilie B concerne 15 à 20% des cas (112). En France, le réseau FranceCoag répertorie 7290 patients atteints d'hémophilie A et 1732 atteints d'hémophilie B (113).

IV.1.B. *Physiopathologie*

IV.1.B.i. Aspects génétique et moléculaire

L'hémophilie résulte d'un déficit en facteurs VIII (FVIII) ou IX (FIX) de la coagulation entraînant une production insuffisante de thrombine. L'hémostase dépend de l'équilibre entre les voies procoagulantes et anticoagulantes qui génèrent suffisamment de thrombine pour contrôler les saignements. Un équilibre hémostatique normal nécessite des niveaux de FVIII et FIX supérieurs à 30 %.

Cette pathologie héréditaire est transmise par un chromosome X porteur d'une mutation sur le gène *F8* ou *F9*. Ainsi, l'hémophilie n'atteint que les hommes, sauf rares exceptions, qui héritent d'un chromosome X maternel affecté. Les femmes, dont l'un des chromosomes X est altéré, sont dites « porteuses » d'hémophilie et majoritairement asymptomatiques. Toutefois, il est à noter que 30 % des cas d'hémophilie résultent de variants génétiques spontanés, sans antécédents connus dans la famille (112).

IV.1.B.ii. Signes cliniques

Les hémophilies A ou B se manifestent par les mêmes symptômes, c'est-à-dire des saignements prolongés, dont la sévérité est déterminée par l'activité résiduelle du FVIII ou du FIX. Dans les formes mineures, ils surviennent après une coupure, un accident ou une intervention médicale ; dans les formes sévères, des hémorragies spontanées peuvent se produire. Des hémorragies internes peuvent affecter les articulations. Ces hémarthroses répétées peuvent conduire à une arthropathie hémophilique, principale complication de l'hémophilie. Elles entraînent des atteintes articulaires et des douleurs chroniques, pouvant conduire à une invalidité ayant un impact significatif sur la qualité de vie.

IV.1.B.iii. Diagnostic

Le diagnostic d'hémophilie est très souvent suspecté devant une symptomatologie hémorragique, en cas de saignements récidivants ou d'hémarthroses inexplicables. Il peut également être réalisé à l'occasion d'un dépistage familial en cas d'antécédents connus. La maladie est confirmée grâce à un bilan biologique qui repose sur un dosage de l'activité fonctionnelle du FVIII ou du FIX. Un déficit en facteurs, c'est-à-dire un taux inférieur à 40 % soit 0,4 UI/ml de FVIII ou FIX, définit l'hémophilie A ou B. Pour les hémophilies A, il faut également écarter la maladie de Willebrand (114).

IV.1.B.iv. Classification

La majorité des personnes atteintes d'hémophilie ont des valeurs inférieures à 5 % en facteurs VIII ou IX. L'expression de l'hémophilie est variable selon le taux de facteur circulant et dépend de la mutation spécifique du gène *F8* ou *F9*. Elle est sévère si ce taux est inférieur à 1 % ; modérée s'il se trouve entre 1 et 5 % ; mineure entre 6 et 30 % (114). Les femmes porteuses de mutations du gène *F8* ou *F9* sur le chromosome X ont des niveaux de facteur de coagulation d'environ 50 %.

IV.1.C. Prise en charge thérapeutique

Actuellement, les thérapies existantes reposent principalement sur des facteurs anti-hémophiliques (FAH) employés à visée substitutive des FVIII ou FIX déficitaires. Ces traitements de remplacement sont d'origine plasmatique (FAH plasmatiques), ou d'origine biotechnologique (FAH recombinants). Il existe plusieurs spécialités disponibles disposant d'une AMM en France. Cependant, à terme, les patients traités risquent de développer des allo-anticorps dits « inhibiteurs ».

C'est pourquoi, il est souvent nécessaire de recourir à d'autres stratégies thérapeutiques tels que les agents court-circuitant (« by-passant »). Ces médicaments conduisent à une activité coagulante en contournant l'action du facteur déficitaire.

Enfin, depuis 2018 l'emicizumab (HEMLIBRA®) est le traitement de première intention en prophylaxie des épisodes hémorragiques dans l'hémophilie A congénitale (115). Cet anticorps monoclonal humanisé imite l'action du FVIII en se liant aux FIXa et FX, rétablissant ainsi une hémostase efficace chez les patients atteints d'hémophilie A. Ce traitement a également l'avantage d'être administré une fois par semaine par voie sous cutanée, à la différence des FAH injectés par perfusion IV (112,114).

IV.1.D. Fitusiran

IV.1.D.i. Formulation galénique et mécanisme d'action

Le laboratoire pharmaceutique Sanofi Genzyme développe un nouveau traitement prophylactique pour les patients atteints d'hémophilies A et B, avec ou sans inhibiteurs appelé fitusiran. C'est un ARNi expérimental développé grâce à la technologie ESC du laboratoire Alnylam Pharmaceuticals ce qui lui confère une puissance et une durée d'action augmentées. Conjugué à un GalNAc, il est reconnu à la surface des hépatocytes par les récepteurs ASGPR.

L'objectif du fitusiran est d'induire un état prothrombique qui compense le déficit en FVIII ou FIX. Cet ARNi expérimental est dirigé spécifiquement contre l'ARNm hépatique de l'antithrombine, principale protéine inhibitrice de la coagulation. En diminuant les taux d'antithrombine, cela améliore la génération de thrombine, favorisant l'hémostase dans l'hémophilie (116).

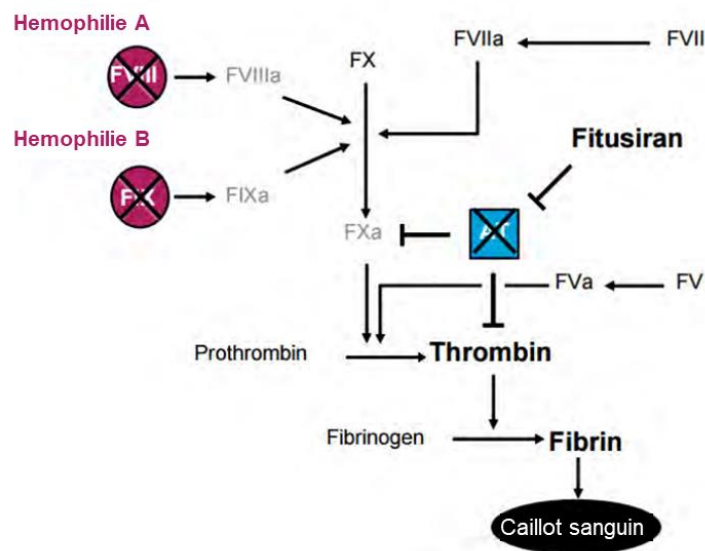


Figure 34 : Schéma du mécanisme d'action du fitusiran.

AT = antithrombine ; FV = facteur V ; FVa = facteur Va ; FVII = facteur VII ; FVIIa = facteur VIIa ; FVIII = facteur VIII ; FVIIIa = facteur VIIIa ; FIX = facteur IX ; FIXa = facteur IXa ; FX = facteur X ; FXa = facteur Xa

IV.1.D.ii. ATLAS A/B : traitement prophylactique par fitusiran chez les personnes atteintes d'hémophilie A ou B sévère sans inhibiteurs (117)

Méthodologie de l'étude et posologie

L'étude ATLAS-A/B est une étude de phase 3 multicentrique, en ouvert cherchant à évaluer l'efficacité et la sécurité du fitusiran chez des hommes âgés de plus de 12 ans présentant une hémophilie A ou B sévère, sans inhibiteurs, ayant reçu antérieurement un traitement épisodique par concentrés de facteurs de coagulation. Les 120 participants ont été randomisés selon un rapport 2:1 pour recevoir soit une prophylaxie mensuelle par fitusiran (80 mg) en injection sous-cutanée, soit un traitement à la demande par concentré de facteur de coagulation (117).

Caractéristiques des patients

Au moment du dépistage, le taux de FVIII devait être inférieur à 1 % (hémophilie A) et le taux de FIX inférieur à 2 % (hémophilie B). Les patients ne recevaient pas de prophylaxie et ont eu au moins 6 événements hémorragiques ayant nécessité l'administration de facteurs de coagulation dans les 6 mois précédents l'inclusion (117).

Critères d'évaluation principal et secondaires

L'étude a atteint ses critères d'évaluation primaire et secondaires. Le traitement prophylactique par fitusiran a permis d'obtenir une réduction du taux de saignements traités annualisé de 89,9 % ($p < 0,0001$). Ce résultat est statistiquement et cliniquement significatif en termes de prévention des saignements, par rapport au groupe placebo ayant bénéficié d'un traitement par facteur de coagulation à la demande (**Figure 35**) (117).

Les patients traités en prophylaxie par fitusiran ont présenté un taux de saignements annuel médian de 0,0, contre 21,8 pour les patients ayant reçu un traitement à la demande par facteurs de coagulation. Par ailleurs, 50,6 % (n=40) des patients dans le groupe fitusiran n'ont présenté aucun saignement durant la période d'évaluation (médiane de suivi 7,8 mois) comparativement à 5,0 % (n=2) des patients recevant des facteurs de coagulation à la demande (117).

IV.1.D.iii. ATLAS-INH : traitement prophylactique par fitusiran chez les personnes atteintes d'hémophilie A ou B sévère avec inhibiteurs (118)

Méthodologie de l'étude et posologie

L'étude de phase 3 ATLAS-INH, multicentrique, en ouvert, a été conçue pour évaluer l'efficacité et la sécurité du fitusiran chez des hommes âgés de plus de 12 ans atteint d'hémophilie sévère A ou B, avec inhibiteurs du FVIII ou FIX. 57 patients ont été randomisés selon un rapport 2:1 pour recevoir soit une prophylaxie par injection sous cutanée mensuelle de fitusiran (80 mg), soit un traitement à la demande par agents by-passant l'action des facteurs anti-hémophiliques (118).

Caractéristiques des patients

Tout comme pour l'étude ATLAS A/B, les participants éligibles devaient présenter une hémophilie sévère documentée par un bilan biologique mais également des anticorps inhibiteurs du FVIII ou FIX (118).

Critère d'évaluation principal et secondaires

Cette deuxième étude est également positive puisque le critère d'évaluation primaire a été atteint. Le traitement prophylactique par fitusiran a permis de réduire de 90,8 % le taux de saignements annualisé ($p < 0,0001$) en comparaison au traitement par agents by-passant (118).

Le taux de saignements annualisé médian s'établit à 0,0 dans le groupe fitusiran, comparativement à 16,8 dans le groupe agents court-circuitant. 25 participants, soit 65,8 % des patients du bras fitusiran, n'ont eu aucun saignement traité par contre 1 patient (5,8 %) dans le groupe traité par agents by-passant à la demande (118).

IV.1.D.iv. ATLAS-PPX : traitement prophylactique par fitusiran chez les personnes atteintes d'hémophilie A ou B sévère, ayant reçu précédemment un traitement prophylactique par facteurs de coagulation ou agents by-passant

Méthodologie de l'étude et posologie

ATLAS-PPX est une étude de phase 3 internationale, en ouvert visant à évaluer l'efficacité et la sécurité du fitusiran chez des hommes âgés de plus de 12 ans atteints d'hémophilie A ou B sévère, avec ou sans inhibiteurs, ayant reçu antérieurement un traitement prophylactique par facteur de remplacement ou par agent by-passant. Pendant une période de 6 mois, les 80 participants ont poursuivi leur traitement prophylactique par facteur de coagulation ou agent by-passant, puis ils ont reçu un traitement par fitusiran pendant sept mois (119).

Critère d'évaluation principal et secondaires

Cette étude a atteint son critère d'évaluation primaire. Le taux de saignements annualisé (TSA) médian s'est établi à 0,0 pour les patients ayant reçu une prophylaxie par fitusiran, comparativement à 4,4 avec la prophylaxie antérieure. 41 patients (63,1 %) traités par fitusiran n'ont présenté aucun saignement, contre 11 patients (16,9 %) ayant reçu une prophylaxie antérieure par facteur de coagulation ou par agent by-passant (119).

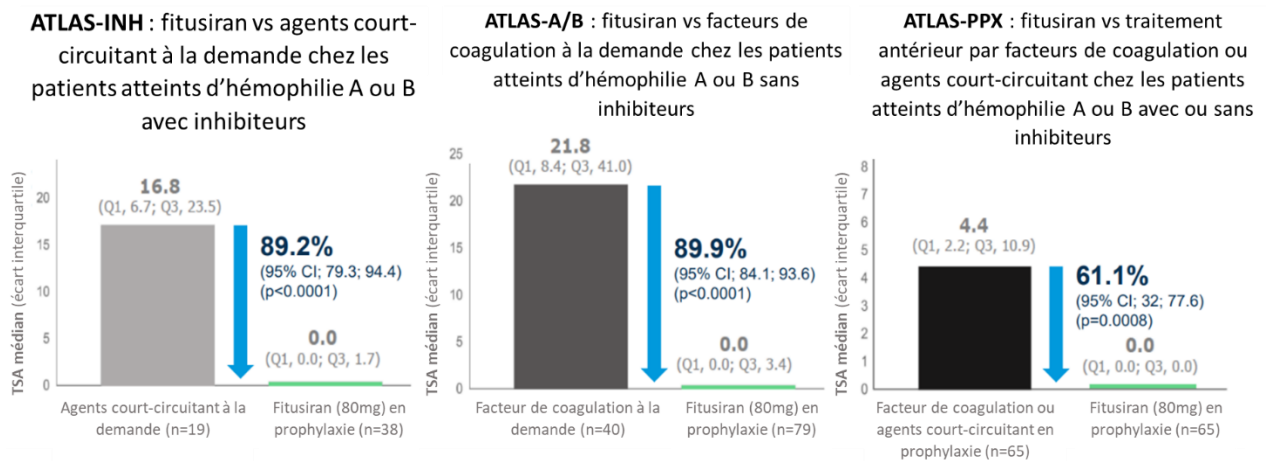


Figure 35 : Résultats des taux de saignements annuel (TSA) médian chez les patients hémophiles traités par fitusiran, adaptés de Srivastava et al., Lancet Haematology, 2023 ; Young et al., The Lancet, 2023 ; Kenet G et al., Blood, 2022 (117–119).

TSA = taux de saignements annuel

IV.1.D.v. Effets secondaires et sécurité d'emploi

Dans les trois études de phase 3 du programme de développement clinique ATLAS, les événements indésirables les plus fréquents rapportés, chez les patients traités en prophylaxie avec du fitusiran, et présentant un intérêt particulier ont été une élévation du taux d'ALAT ou d'ASAT supérieure à 3 fois la limite supérieure de la normale et les événements de thromboembolie suspectée ou confirmée. Aucun décès n'a été signalé dans les trois études (117–119).

IV.1.D.vi. Discussion

Ces données cliniques démontrent que le fitusiran réduit significativement le taux de saignement annualisé chez toutes les populations atteintes d'hémophilie incluses dans ces trois études (patients avec ou sans inhibiteurs, traités par facteur de coagulation ou agent by-passant à la demande ou en prophylaxie). En réduisant les épisodes hémorragiques, le fitusiran se positionne comme une alternative thérapeutique pour répondre aux besoins médicaux de tous les patients atteints d'hémophilie et améliorer leur qualité de vie.

Le laboratoire Sanofi Genzyme poursuit l'évaluation clinique de ce traitement dans deux études ATLAS-PEDS (*clinicaltrials.gov* NCT03974113) et ATLAS-NEO (*clinicaltrials.gov* NCT05662319). Le traitement n'a pas encore été évalué par les autorités de santé française et ne fait donc pas l'objet d'un remboursement dans la prise en charge prophylactique de l'hémophilie. Cependant les résultats cliniques prometteurs offrent une nouvelle perspective thérapeutique contre les deux formes d'hémophilie.

IV.2. Hypercholestérolémie à LDL-c

Fort de son succès dans les maladies rares, cette nouvelle approche thérapeutique est également une stratégie prometteuse pour la prise en charge de maladies cardio-métaboliques. L'hypercholestérolémie constitue un facteur de risque majeur de maladies cardiovasculaires. Malgré l'utilisation de statines, pouvant être associées à d'autres médicaments hypolipémiants, de nombreux patients à risque continuent de présenter des taux élevés de cholestérol à lipoprotéine à basse densité (LDL-c).

IV.2.A. *Epidémiologie et généralités*

IV.2.A.i. Maladie cardiovasculaire athéroscléreuse

Un taux élevé de LDL-c reste l'un des principaux facteurs de risque modifiables et l'un des marqueurs les plus étroitement liés aux maladies cardiovasculaires athéroscléreuse avec le tabagisme, l'hypertension artérielle et le diabète. En 2021, 3,81 millions de décès dans le monde pour cause de maladie cardiovasculaire ont été attribués à des taux élevés de LDL-c (120). Au contraire, l'exposition à des taux cumulés de LDL-c plus faibles, chez l'adulte jeune, a été associée à une réduction du risque cardiovasculaire à long terme (120).

La maladie cardiovasculaire athéroscléreuse se caractérise par la formation d'une plaque d'athérome, principalement constituée de cholestérol, sur la paroi interne des artères au niveau de l'intima. La plaque d'athérome se développe progressivement provoquant un rétrécissement de l'artère gênant la circulation sanguine. Ses manifestations cliniques graves, comme l'infarctus du myocarde et l'accident vasculaire cérébral ischémique, sont la principale cause de morbidité et mortalité dans le monde (121). Elles découlent de la rupture de la plaque d'athérome formant un thrombus qui va obstruer la circulation sanguine et provoquer une ischémie.

IV.2.A.ii. Hypercholestérolémie familiale

L'hypercholestérolémie familiale hétérozygote est une maladie génétique autosomique dominante qui se caractérise par un taux élevé de LDL-c dès la naissance. Cette pathologie résulte d'une mutation sur l'un des trois gènes codant pour une protéine impliquée dans le catabolisme de LDL-c : les récepteurs aux LDL (LDL-R), l'apolipoprotéine B (ApoB) ou la proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9). 90 % des patients atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote sont porteurs d'une mutation sur le gène *LDLR*, conduisant à une absence de tout ou partie des LDL-R présents à la surface des hépatocytes qui sont alors incapables de capter le LDL-c du sang (122).

L'accumulation de LDL-c au niveau sanguin entraîne un risque accru de maladies cardiovasculaires athéroscléreuse treize fois supérieure par rapport à la population générale. La prévalence de cette pathologie est estimée à 1 pour 500, soit 130 000 personnes en France et 30 millions dans le monde (122).

IV.2.B. *Aspect moléculaire : rôle de la PCSK9*

La PCSK9, principalement excrétée par le foie, est une protéine clé de l'homéostasie du cholestérol. Elle permet de réguler le nombre de récepteurs au LDL-c à la surface cellulaire diminuant ainsi le captage hépatique du LDL-c. Son expression est principalement régulée par le facteur de transcription *sterol-regulatory element-binding protein 2 (SREBP2)*. Lorsque le taux de cholestérol intra-hépatocytaire diminue, cela active le facteur de transcription *SREBP2* qui stimule de manière simultanée l'expression du gène *LDLR* et *PCSK9*. Cette régulation concomitante de l'expression génétique a un effet paradoxal. D'une part elle augmente la captation du LDL-c circulant, grâce à la synthèse de récepteurs membranaires au LDL-c. A contrario, la sécrétion de PCSK9 favorise la dégradation de ces mêmes récepteurs au LDL-c. Ceux-ci, normalement recyclés dans l'endosome en l'absence de PCSK9, sont alors dirigés vers le lysosome où ils sont dégradés. La production de PCSK9 conduit *in fine* à une diminution de l'absorption hépatique du LDL-c plasmatique et donc une augmentation des taux de LDL-c sanguin (123).

Ce mécanisme tend à expliquer l'effet pharmacologique limité des statines sur la baisse de LDL-c plasmatique. Ces molécules agissent en inhibant l'activité de l'HMG-CoA réductase, enzyme limitante dans la synthèse de cholestérol endogène. En réduisant la production de LDL-c intracellulaire, cela stimule secondairement l'expression des récepteurs au LDL-c, favorisant l'absorption du LDL-c circulant, mais également l'expression du *PCSK9* qui dégrade ces LDL-R (**Figure 36**) (123) (124).

IV.2.C. Prise en charge thérapeutique

Les statines constituent la pierre angulaire de la prévention primaire et secondaire des maladies cardiovasculaires. Cependant, les progrès successifs ont permis d'identifier d'autres classes thérapeutiques efficaces telles que l'ezetimibe ou les anti-PCSK9 afin de réduire le LDL-c et par conséquent la mortalité cardiovasculaire.

IV.2.C.i. Stratégies thérapeutiques d'inhibition de la PCSK9

La PCSK9 a donc été identifiée et validée comme cible thérapeutique dans le traitement de l'hypercholestérolémie. L'inhibition de cette protéine offre une voie supplémentaire pour réguler les niveaux de LDL-c circulants. En association avec une statine, un inhibiteur de PCSK9 permettrait d'augmenter le nombre de LDL-R fonctionnels à la surface des hépatocytes afin de diminuer le taux de LDL-c plasmatique (123). Deux approches ont été envisagées pour inhiber le PCSK9 : soit au niveau extracellulaire grâce à des anticorps monoclonaux, soit au niveau intracellulaire grâce à l'action d'oligonucléotides.

Actuellement, deux anticorps monoclonaux humanisés anti-PCSK9, alirocumab (Praluent®) et évolocumab (Repatha®), sont commercialisés dans l'hypercholestérolémie et la dyslipidémie mixte en association avec une statine, dans l'hypercholestérolémie familiale homozygote et dans la maladie cardiovasculaire athéroscléreuse en association avec une statine (125,126). Ces traitements agissent en se fixant de manière spécifique à la protéine PCSK9 circulante, l'empêchant ainsi de se lier aux récepteurs au LDL-c et d'engendrer leur dégradation (**Figure 36**). Ils sont administrés une à deux fois par mois par voie sous-cutanée (125,126).

D'autre part, l'inhibition de la synthèse intracellulaire de PCSK9 est également étudiée. La PCSK9 circulante est presque entièrement synthétisée par le foie. Par conséquent, les thérapies qui ciblent la production hépatique de PCSK9 peuvent fournir une alternative aux anticorps monoclonaux. Des ASO inhibant la synthèse de PCSK9 ont été étudiés, mais les programmes de développement clinique ont été stoppés en phase 1 pour des raisons de toxicité. En revanche, Alnylam Pharmaceuticals a mis au point un ARNi, l'inclisiran, dirigé spécifiquement contre l'ARNm du PCSK9 bloquant ainsi sa traduction. Le traitement a été racheté en 2019 par le laboratoire Novartis qui poursuit actuellement le développement clinique (123).

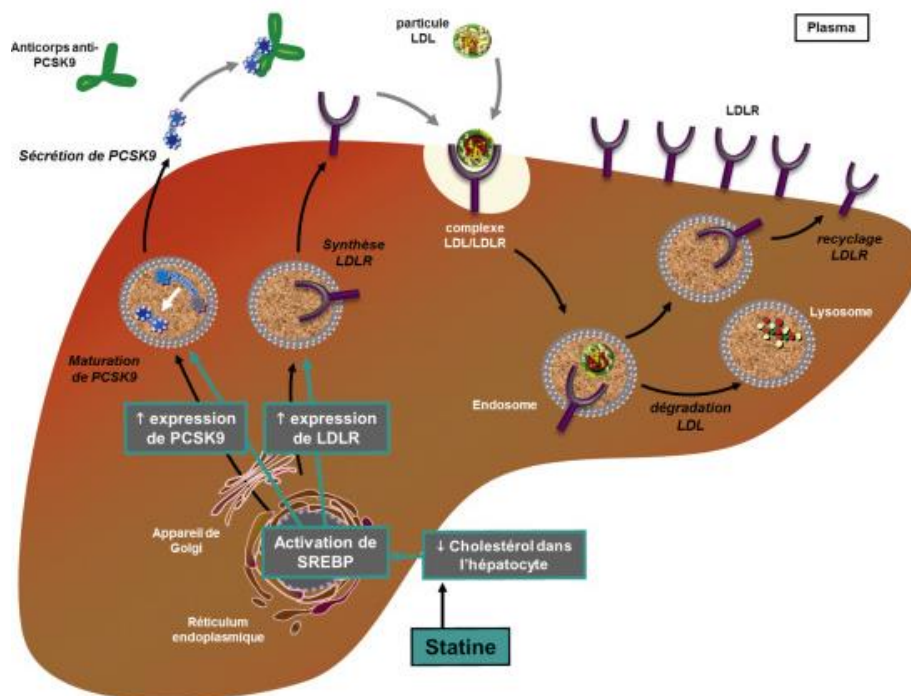


Figure 36 : Mécanisme d'action complémentaire des statines et des anticorps monoclonaux dirigés contre PCSK9, d'après Sabouret et *al.*, La Presse Médicale, 2019 (127).

LDL = lipoprotéine de faible densité, LDLR = récepteur au LDL, PCSK9 = proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9, SREBP = sterol-regulatory element-binding protein

IV.2.C.ii. Recommandations de l'European Society of Cardiology 2021 pour la prévention des maladies cardiovasculaires

Les dernières recommandations de l'European Society of Cardiology préconisent l'introduction d'un traitement hypolipémiant par étape, avec une éventuelle intensification selon le risque cardiovasculaire dont découle les objectifs de taux de LDL-c. Le niveau maximal de LDL-c recommandé est de 1,0 g/L avec des objectifs abaissés à 0,7 g/L pour les patients à haut risque cardiovasculaire, voire 0,55g/L pour les patients présentant un très haut risque cardiovasculaire (128).

La stratégie thérapeutique comporte dans un premier temps l'utilisation de statine en monothérapie à la dose maximale tolérée. Elle permet d'atteindre les objectifs de LDL-c chez de nombreux patients. Cependant, une grande proportion de patients à haut risque ou très haut risque cardiovasculaire ont besoin d'une thérapie supplémentaire (129). L'association d'ézétimibe est donc recommandée si l'objectif de LDL-c n'est pas atteint. Enfin, les anti-PCSK-9 arrivent en troisième ligne de traitement pour atteindre les objectifs (128).

IV.2.D. Inclisiran : un nouveau traitement anti-PCSK9

IV.2.D.i. Formulation galénique et mécanisme d'action

Inclisiran est un ARNi-GalNAc double brin, qui utilise le processus naturel d'ARN interférence pour cibler l'ARNm de la PCSK9. Sa séquence est composée de 21 nucléotides appariés avec deux nucléotides libres en à l'extrémité 3'UTR du brin guide. Elle a été modifiée chimiquement afin d'améliorer sa stabilité moléculaire et permettre ainsi une prolongation de sa durée d'action (17,57). Comme le givosiran, l'inclisiran comporte sur son brin guide des modifications 2'-F et 2'-OMe avec des paires de PS aux extrémités 5'UTR et 3'UTR. Le brin passager se compose majoritairement de nucléotides modifiés avec des groupements 2'-OMe et présente une paire de modification PS à son extrémité 5-UTR (**Figure 37**) (17). Grâce au ligand GalNAc, l'inclisiran est formulé dans une seringue pour une administration sous-cutanée (130).

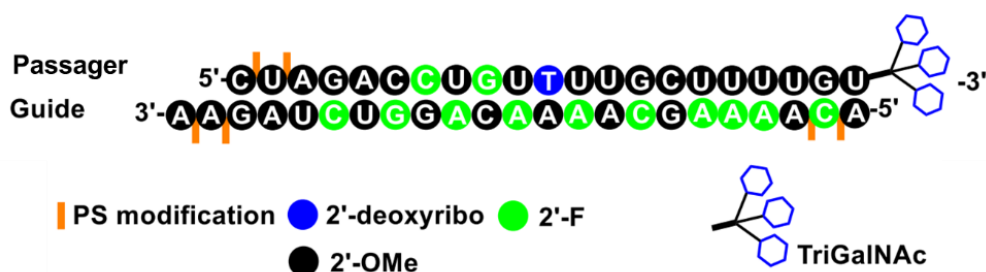


Figure 37 : Schéma d'une séquence nucléotidique et des modifications chimiques apportées aux brins guide et passager de l'inclisiran, adapté de Egli and Manoharan, Nucleid Acids Research, 2023 (17).

F = fluor ; OMe = méthoxyle ; PS = phosphorothioate

Ce traitement est reconnu spécifiquement par les récepteurs membranaires hépatiques ASGPR. Il est internalisé dans une vésicule d'endocytose qui va libérer les molécules d'ARNi dans le cytoplasme de l'hépatocyte. L'ARNi se lie au complexe RISC qui clive spécifiquement et de façon catalytique l'ARNm de la PCSK9. Cela entraîne la diminution des niveaux protéiques de PCSK9 et par conséquent limite la dégradation des récepteurs au LDL-c qui absorbent le cholestérol plasmatique (57).

IV.2.D.ii. ORION 10 et 11 : évaluation de l'inclisiran chez les patients à haut risque de maladie cardiovasculaire athéroscléreuse

Méthodologie de l'étude et posologie

Les essais cliniques ORION 10 et ORION 11 sont des études de phase 3, randomisées, en double aveugle, multicentrique, contrôlées contre placebo, visant à évaluer l'efficacité, la sécurité et le profil bénéfices-risques de l'inclisiran chez des patients à haut risque de maladie cardiovasculaire, présentant des valeurs de LDL-c élevées malgré la prise de statine à la dose maximale tolérée, avec ou sans traitement hypolipémiant supplémentaire (131).

Dans l'étude ORION 10, menée aux Etats-Unis, 1561 patients atteints de maladie cardiovasculaire athéroscléreuse et présentant un taux de cholestérol à l'inclusion ≥ 70 mg/dL (1,8 mmol/L) ont été randomisés. L'essai ORION 11 a quant à lui été mené en Europe et en Afrique du Sud sur 1617 patients, évaluant l'efficacité de l'inclisiran sur la même population que ORION 10 et chez des patients présentant un risque équivalent de maladie cardiovasculaire athéroscléreuse (diabète de type 2, hypercholestérolémie familiale ou risque d'événement cardiovasculaire à 10 ans ≥ 20 %) avec un taux de LDL-c ≥ 100 mg/dL (2,6 mmol/L) (131).

Les patients ont reçu soit de l'inclisiran (284 mg) en sous-cutané, soit un placebo en complément d'un traitement hypolipémiant (statine et/ou ézétimibe). Le schéma d'administration du traitement s'est fait au J1, à 3 mois, puis tous les 6 mois pendant 18 mois.

Caractéristiques des patients

Les taux de LDL-c moyen des patients à l'inclusion pour ORION 10 et ORION 11 étaient respectivement de $104,7 \pm 38,3$ mg/dL (soit $2,71 \pm 0,99$ mmol/L) et $105,5 \pm 39,1$ mg/dL (soit $2,73 \pm 1,01$ mmol/L) (131).

Pharmacodynamie

Sur le plan pharmacodynamique, inclisiran entraîne une diminution importante et maintenue dans le temps du taux de PCSK9 (critère secondaire principal). Dans l'étude ORION 10 on mesure une diminution de -69,8 % de PCSK9 à J510 chez les patients traités et dans l'étude ORION 11 de -63,6 %. Ces résultats confirment le mécanisme d'action du traitement par ARNi ciblant spécifiquement l'ARNm de la PCSK9 dans les hépatocytes (131).

Critères d'évaluation principaux et secondaires

Au jour 510 (mois 17), l'administration d'inclisiran a entraîné une diminution du taux de LDL-c de 52,3 % par rapport au bras placebo ($p < 0,001$) dans l'étude ORION 10 et de 49,9% ($p < 0,001$) dans l'étude ORION 11 (**Figure 38**). Le co-critère de jugement principal a également été atteint dans les deux études, avec une variation du taux de LDL-c corrigé dans le temps entre le mois 3 et 18, par rapport au placebo, respectivement de 53,8 % ($p < 0,001$) et de 49,2 % ($p < 0,001$) (**Figure 38**) (131).

La variation absolue du taux de LDL-c au jour 510, chez les patients sous inclisiran, était d'environ -56 mg/dL dans l'étude ORION 10 et -51 mg/dL dans l'étude ORION 11 (**Figure 38**). L'inclisiran a également permis d'abaisser le taux de cholestérol total, d'apoB, de cholestérol non HDL, de triglycérides et d'augmenter les taux de HDL-c dans les deux essais cliniques (131).

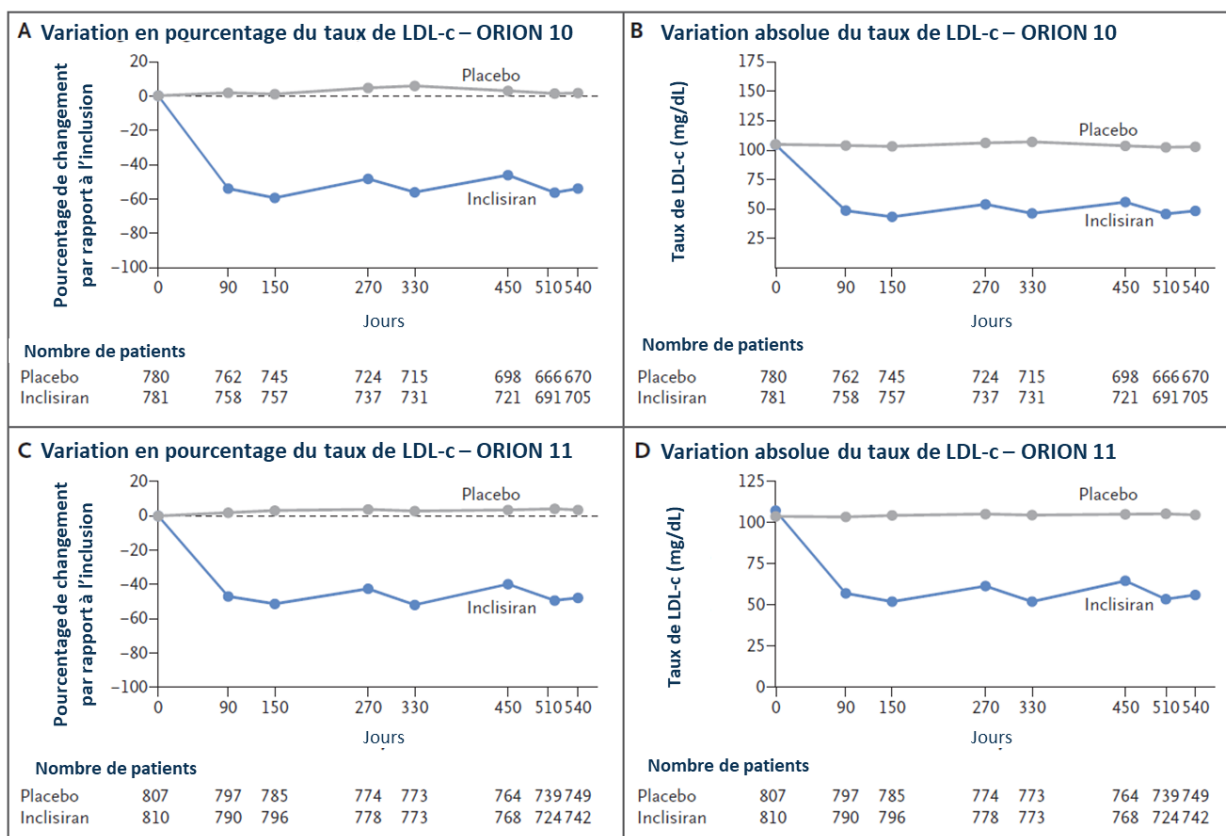


Figure 38 : Résultats d'efficacité de l'inclisiran sur la réduction du LDL-c pendant la période d'essai de 540 jours (population en intention de traiter), adaptée de Ray et al., New England Journal of Medicine, 2020 (131).

LDL-c = cholestérol à lipoprotéine de faible densité

IV.2.D.iii. ORION 9 : évaluation de l'inclisiran chez les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote

Méthodologie de l'étude et posologie

L'étude de phase 3 ORION-9, randomisée, en double aveugle, multicentrique, contrôlée contre placebo, a évalué l'efficacité, la sécurité et la tolérance de l'inclisiran chez 482 patients présentant une hypercholestérolémie familiale hétérozygote documentée et des taux de LDL-c supérieurs à 100 mg/dL (2,6 mmol/L) malgré la prise d'une dose maximale acceptée de statine.

Les patients ont reçu soit de l'inclisiran (284 mg) en sous-cutanée, soit un placebo en complément d'un traitement hypolipémiant (statine et/ou ézétimibe). Le schéma d'administration du traitement s'est fait au J1, jour 90 puis tous les 6 mois pendant 540 jours (122).

Caractéristiques des patients

Le taux de LDL-c moyen à l'inclusion était de $153,1 \pm 54,0$ mg/dL (soit $4,0 \pm 1,4$ mmol/L). 90 % des patients recevaient des statines de manière concomitante.

Critères d'évaluation principaux et secondaires

Les deux critères principaux de l'étude ORION-9 ont été atteints. L'administration d'inclisiran a permis de réduire au jour 510 le taux de LDL-c de 39,7 % par rapport à l'inclusion ($p < 0,001$). De plus, la variation moyenne dans le temps du taux de cholestérol LDL entre le jour 90 et le jour 540 était une réduction de 38,1 % dans le groupe inclisiran et une augmentation de 6,2 % dans le groupe placebo, soit une différence entre les groupes de - 44,3 % ($p < 0,001$) (122).

Concernant les critères d'évaluation secondaires, au jour 510, le taux de PCSK9 avait diminué de 60,7 % dans le groupe inclisiran et augmenté de 17,7 % dans le groupe placebo ($p < 0,001$). Par ailleurs, l'administration d'inclisiran a été associée à des taux plus faibles de cholestérol total, de cholestérol non HDL, d'apoB et de triglycérides que le placebo, ainsi qu'à des taux plus élevés de HDL-c (122).

IV.2.D.iv. Effets secondaires : validation du profil de sécurité de l'inclisiran, un ARNi à longue durée d'action

Une des préoccupations pour les thérapies à longue durée d'action concerne les effets indésirables au long terme, potentiellement irréversibles. D'un point de vue pharmacodynamique et pharmacocinétique, les concentrations maximales plasmatiques d'inclisiran sont atteintes environ quatre heures après l'administration sous cutanée du traitement et la majeure partie est excrétée au niveau rénal. L'absorption hépatique est rapide. Le ligand GalNAc, couplé à la séquence double brin de nucléotides complémentaires à l'ARNm de la PCSK9, est reconnu à la surface des hépatocytes par ASGPR. 24 à 48 heures après l'administration du traitement, l'inclisiran est indétectable au niveau plasmatique. (131)

L'effet thérapeutique hypocholestérolémiant de l'inclisiran s'inverse d'environ 2 % par mois, ce qui signifie que 2 ans après l'administration d'une seule injection, des effets peuvent persister. Il est donc rassurant de constater que le profil de sécurité de l'inclisiran a été comparable à celui du placebo dans les deux essais cliniques ORION 10 et ORION 11 à l'exception des réactions au site d'injection, en majorité d'intensité légère à modérée, plus fréquentes dans le groupe inclisiran que dans le groupe placebo (131). Les études d'extension en ouvert fourniront des données complémentaires sur le profil de sécurité du traitement à plus long terme.

IV.2.D.v. Evaluation du Leqvio® par les autorités de santé

Obtention de l'autorisation de mise sur le marché

L'inclisiran a été approuvé dans l'Union Européenne et aux Etats Unis sous le nom de marque de Leqvio® en tant qu'adjuvant au régime alimentaire et au traitement par statine à doses maximales tolérées pour le traitement des adultes ayant une maladie cardiovasculaire athéroscléreuse ou souffrant d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote nécessitant un abaissement supplémentaire du LDL-c.

IV.2.D.vi. Discussion

Les données cliniques fournies dans ces trois études de phase 3 sont très encourageantes et ont permis l'approbation de l'inclisiran par la FDA fin 2021. Le laboratoire Novartis poursuit le développement clinique de l'inclisiran, notamment dans l'étude ORION-4 visant à évaluer

l'efficacité du traitement sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaire chez 15 000 patients atteints de maladie cardiovasculaire athéroscléreuse (*clinicaltrials.gov* NCT03705234). Dans cette attente, le traitement n'a pas encore été évalué par les autorités françaises et sa prescription n'est donc aujourd'hui pas remboursée en France.

Contrairement aux autres thérapies ARNi actuellement approuvées et utilisées pour le traitement de maladies génétiques rares, l'inclisiran pourrait devenir le premier ARNi, administré deux fois par an en sous-cutanée, prescrit pour des millions de personnes à l'échelle mondiale.

IV.3. L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) constitue le principal facteur évitable de décès d'origine cardiovasculaire dans le monde. Malgré des options thérapeutiques efficaces, près de la moitié des patients souffrant d'HTA n'atteignent pas les objectifs de pression artérielle recommandés, en partie à cause de l'échec du médecin à initier ou à intensifier le traitement antihypertenseur et de la faible adhésion du patient aux médicaments oraux quotidiens qui lui sont prescrits.

IV.3.A. Epidémiologie

L'organisation mondiale de la santé estime que près d'1,3 milliard de personnes dans le monde, âgées de 30 à 79 ans, sont atteintes d'HTA, et que deux tiers d'entre elles vivent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. Par ailleurs, presque la moitié des adultes atteints d'HTA l'ignorent et ne bénéficient pas de traitement pour maîtriser leur pression artérielle (132). Par ailleurs, même lorsque la pression artérielle semble contrôlée, sur la base de mesures périodiques en cabinet médical, le contrôle peut rester sous optimal en raison de la variabilité de la pression artérielle au cours du cycle diurne (133).

En France, l'HTA touche presque un tiers des adultes, soit 17 millions de personnes. Bien qu'elle constitue un facteur de risque majeur de cardiopathie ischémique, d'accident vasculaire cérébral et de néphropathie chronique, la connaissance, le traitement et le contrôle de l'HTA restent également sous-optimaux en France et n'ont montré aucune amélioration ces dernières années. Selon Santé Publique France, près de 6 millions de Français souffrent d'HTA sans le savoir et 4 millions d'adultes traités n'ont pas une pression artérielle contrôlée (134).

IV.3.B. Physiopathologie

IV.3.B.i. Système rénine-angiotensine-aldostérone et régulation de la pression artérielle

Le système rénine-angiotensine-aldostérone désigne un système hormonal localisé dans le rein dont le rôle est de préserver l'homéostasie hydrosodée. Il constitue l'un des principaux mécanismes de régulation de la pression artérielle. Les deux principaux effecteurs sont l'angiotensine II, un peptide formé à la suite d'une cascade de réactions enzymatiques, et l'aldostérone, une hormone minéralocorticoïde sécrétée par les glandes surrénales.

Physiologiquement, lorsque la pression artérielle ou la concentration en sodium diminuent, l'appareil juxtaglomérulaire du rein sécrète la rénine, une enzyme qui est libérée dans la circulation sanguine. La rénine va catalyser la dégradation de l'angiotensinogène, une protéine inactive sécrétée par le foie, en angiotensine I. Ce peptide est ensuite transformé en angiotensine

Il active, par l'action de l'enzyme de conversion de l'angiotensine produite par les poumons. L'angiotensine II va enfin stimuler la production d'aldostérone par les glandes surrénales.

L'angiotensine II exerce différents effets qui participent à la régulation de la pression artérielle. Tout d'abord, elle exerce une vasoconstriction des artéioles entraînant une augmentation des résistances périphériques et donc de la pression artérielle. Par ailleurs, elle induit une réabsorption tubulaire d'eau et de sodium en agissant directement sur le rein et grâce à la stimulation de la sécrétion d'aldostérone. Enfin, elle va actionner le système sympathique concourant à la libération de catécholamines (noradrénaline).

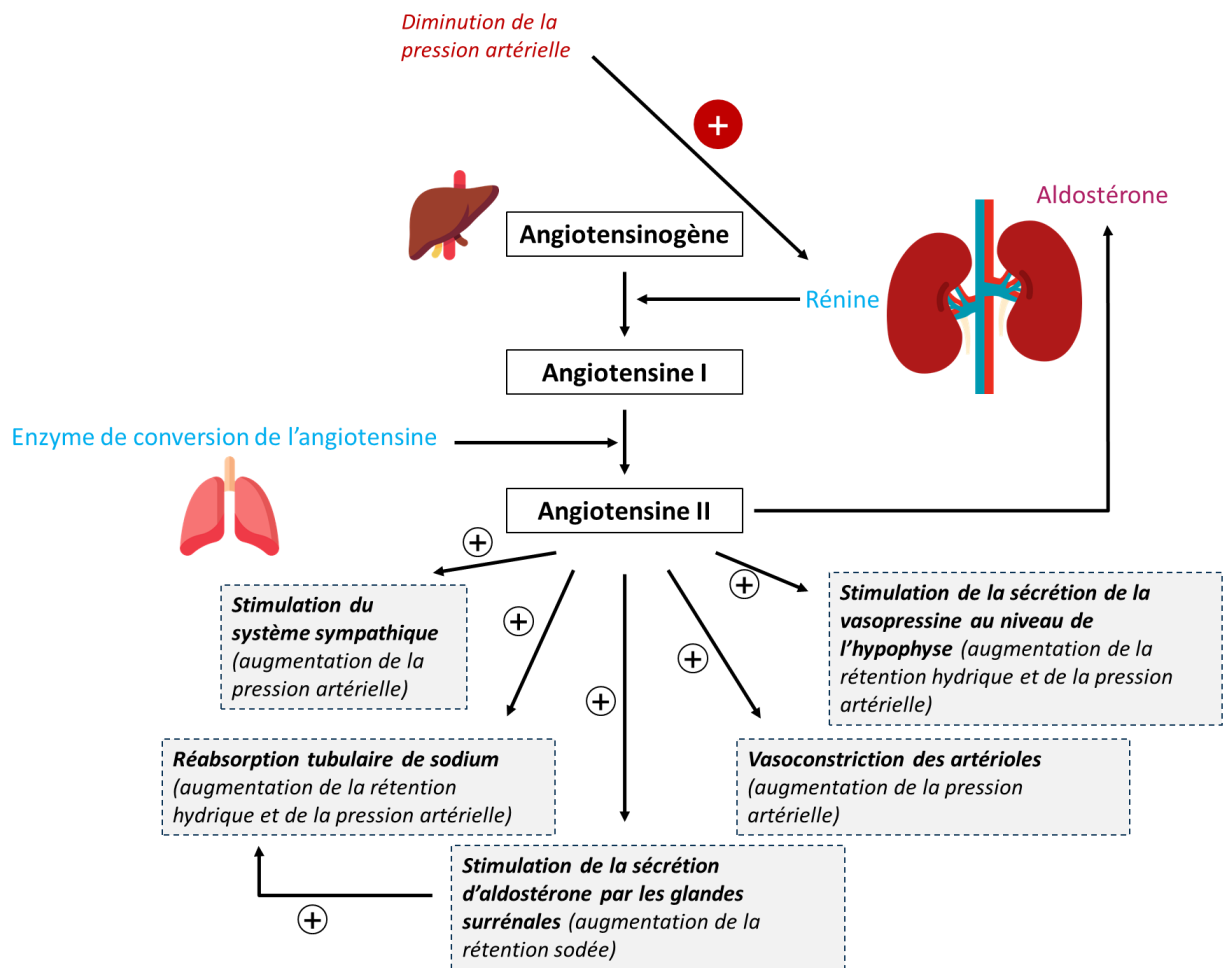


Figure 39 : Schéma du système rénine-angiotensine-aldostérone.

IV.3.B.ii. Définition et classification

La relation entre la pression artérielle et les événements cardiovasculaires et rénaux est continue, ce qui rend la distinction entre la normotension et l'hypertension arbitraire. Toutefois, dans la pratique, des valeurs seuils d'HTA sont utilisées afin de faciliter le diagnostic et prendre une décision thérapeutique (140/90mmHg). L'hypertension est définie comme « le niveau de pression artérielle auquel les avantages du traitement l'emportent sur les risques, tels que documentés par des essais cliniques » (135).

Stades d'HTA	Autres facteurs de risques, HMOD, ou maladie	Pression artérielle (mmHg)			
		Normal haut PAS 130-139 PAD 85-89	Grade 1 PAS 140-159 PAD 90-99	Grade 2 PAS 160-179 PAD 100-109	Grade 3 PAS ≥ 180 ou PAD ≥ 110
Stade 1	Pas de facteurs de risques	Risque faible	Risque faible	Risque modéré	Risque élevé
	1 – 2 facteurs de risques	Risque faible	Risque modéré	Risque modéré à élevé	Risque élevé
	≥ 3 facteurs de risques	Risque faible à modéré	Risque modéré à élevé	Risque élevé	Risque élevé
Stade 2 (maladie asymptomatique)	HMOD, MRC grade 3, diabète sans lésions organiques	Risque élevé	Risque élevé	Risque élevé	Risque élevé à très élevé
Stade 3 (maladie établie)	MCV établie, MRC grade ≥ 4 ou diabète avec lésions organiques	Risque très élevé	Risque très élevé	Risque très élevé	Risque très élevé

Tableau 1 : Classification des stades d'hypertension en fonction des niveaux de pression artérielle, de la présence de facteurs de risque cardiovasculaire, de lésions organiques liées à l'hypertension ou de comorbidités, adaptée de Mancia et al., European Heart Journal, 2018 (135).

HMOD = lésions organiques liées à l'hypertension ; HTA = hypertension artérielle ; MCV = maladie cardiovasculaire ; MRC = maladie rénale chronique ; PAD = pression artérielle diastolique ; PAS = pression artérielle systolique

IV.3.C. Prise en charge thérapeutique

IV.3.C.i. Traitements anti-hypertenseurs

Il existe cinq classes de traitement anti-hypertenseurs recommandées sur la base : de leur capacité avérée à réduire la PA ; des preuves issues d'études contrôlées par placebo qu'ils réduisent les événements cardiovasculaires ; des preuves d'une large équivalence sur la morbidité et la mortalité cardiovasculaires globales avec la conclusion que le bénéfice de leur utilisation d'écoule principalement de la réduction de la PA (135,136).

Tout d'abord, les diurétiques sont les traitements les plus anciens et les mieux évalués. Ils favorisent l'élimination d'eau et de sodium par les reins diminuant ainsi la volémie qui va entraîner une diminution de la pression artérielle.

D'autre part, les bêtabloquants agissent sur le cœur en diminuant le débit cardiaque et les résistances périphériques totales mais également en ralentissant la conduction cardiaque. Sur le rein, ils entraînent une diminution de la production de rénine conduisant à une diminution de l'angiotensine II et de l'aldostérone et donc une baisse de la volémie.

La troisième classe médicamenteuse correspond aux inhibiteurs calciques. Ils bloquent les canaux calciques voltage dépendant de type 1 sur les cellules musculaires lisses vasculaires et les muscles striés cardiaques. Cela conduit à une vasorelaxation artérielle ainsi qu'à une diminution de la contraction cardiaque, un ralentissement de la conduction et de la fréquence cardiaque.

Quatrièmement, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) agissent sur le système rénine angiotensine aldostérone en bloquant la production d'angiotensine II. Cela conduit à une inhibition de libération d'aldostérone, une vasodilatation mais également à une diminution de la stimulation du système sympathique.

Enfin, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA2 = sartans) bloquent l'action de l'angiotensine II en se liant préférentiellement aux récepteurs présents à la surface des vaisseaux sanguins. Ils empêchent ainsi la vasoconstriction diminuant la pression artérielle.

IV.3.C.ii. Recommandations 2018/2023 de l'European Society of Cardiology et de l'European Society of Hypertension pour la prise en charge de l'HTA

Avant la prescription d'un traitement spécifique, il est recommandé d'instaurer des mesures hygiéno-diététiques pour tous patients présentant une pression artérielle normal-haute (> 130 / 80 mmHg). Selon les recommandations 2023 de la société Européenne et Internationale d'Hypertension Artérielle et de la Société Européenne de Néphrologie, un traitement médicamenteux est démarré dès lors que la pression artérielle dépasse 140/90 mmHg. Cependant, pour les patients en prévention secondaire le seuil s'abaisse à 130/80 mmHg (135).

Les recommandations préconisent l'utilisation d'une bithérapie combinée en première intention, permettant d'améliorer la rapidité, l'efficacité et la prévisibilité du contrôle tensionnel. Les associations préférentielles sont les IEC ou ARA2 avec un inhibiteur calcique ou un diurétique. Les bêtabloquants peuvent être prescrits en monothérapie ou en combinaison s'il y a une indication spécifique. Une triple association doit être utilisée en deuxième ligne de traitement si la pression artérielle n'est pas contrôlée par une bithérapie à pleine dose. Dans ce cas il faut associer un IEC (ou un ARA2) avec un inhibiteur calcique et un diurétique. En cas d'HTA résistante, l'addition de spironolactone (si le DFG > 30 ml/min/1,73 m²) est recommandée (135).

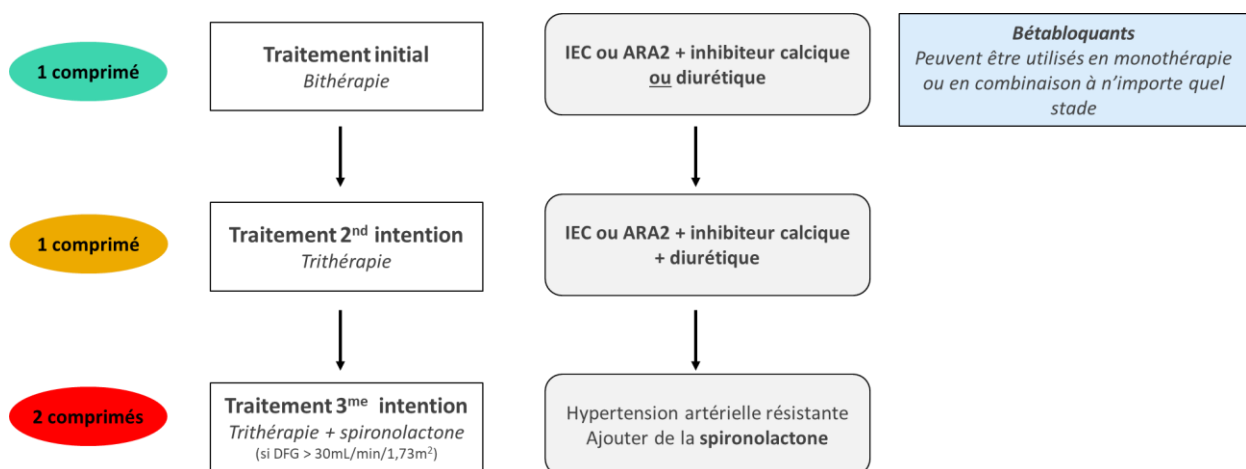


Figure 40 : Stratégie générale de réduction de la pression artérielle chez un adulte souffrant d'hypertension, adaptée de Mancia et al., European Heart Journal, 2018 (135).

IV.3.D. Zilebesiran

IV.3.D.i. Formulation galénique et mécanisme d'action

Le zilebesiran est un ARNi-GalNAc expérimental conçu pour réduire spécifiquement les niveaux d'ARNm de l'angiotensinogène hépatique, une cible thérapeutique pour l'HTA. Grâce à une délivrance ciblée sur les hépatocytes, l'expression extra-hépatique de l'angiotensinogène est conservée, limitant notamment les effets hors cibles rénaux. Le zilebesiran bénéficie des modifications chimiques du modèles ESC lui conférant une stabilité accrue avec des effets pharmacodynamiques prolongés. Les chercheurs espèrent ainsi réduire la pression artérielle rapidement et durablement grâce à une administration sous-cutanée biannuelle ou trimestrielle (133).

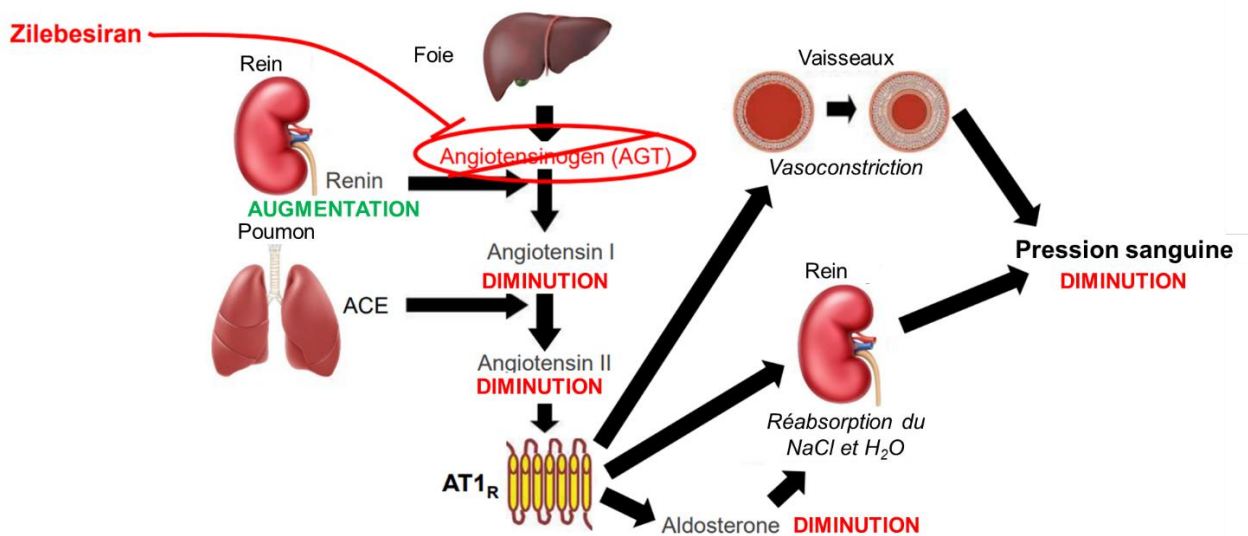


Figure 41 : Mécanisme d'action du zilebesiran ciblant l'angiotensinogène.

IV.3.D.ii. Essai clinique de phase 1

Méthodologie de l'étude

Cette étude de phase 1, multicentrique (4 sites au Royaume-Uni), en quatre parties, a été menée afin d'évaluer la sécurité, la tolérance, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du zilebesiran (ALN-AGT01) administré par voie sous cutanée chez les patients hypertendus, pendant 12 semaines, avec une période de sécurité prolongée pendant 24 semaines (6 mois) (133).

En juillet 2023, les résultats des parties A, B et E ont été publiés dans *The New England Journal of Medicine* (133). Les designs sont les suivants :

- Partie A : les patients éligibles (n=84) ont été randomisés 2:1 (12 par cohorte), en double aveugle, afin de recevoir une administration sous-cutanée d'une dose unique ascendante de zilebesiran (10, 25, 50, 100, 200, 400, 800 mg) ou d'un placebo ;
- Partie B : les patients hypertendus (n=12) ont reçu un régime pauvre ou riche en sel puis ont été randomisés 2:1, en double aveugle pour recevoir une administration d'une dose unique de 800 mg de zilebesiran ou d'un placebo. L'objectif principal était

d'évaluer la capacité de la consommation du sel alimentaire à moduler les effets antihypertenseurs du zilebesiran ;

- Partie E : tous les patients (n=16) ont reçu une dose unique de 800 mg de zilebesiran à J1. Ceux présentant une PAS ≥ 120 mmHg à J41 (n=10) ont été traités de manière concomitante et quotidienne par irbesartan pendant 14 jours (133).

Caractéristiques des patients

Les patients éligibles devaient avoir entre 18 et 65 ans et présenter une HTA primaire de stade I (PAS > 140-159 et/ou PAD > 90-99 mmHg) ou stade 2 (PAS > 160 et/ou PAD > 100 mmHg) sans hypotension orthostatique, diabète ou événements cardiovasculaires antérieurs. Parmi les 107 patients inclus, la moyenne d'âge était de 53,5 ans, 62 % des participants étaient des hommes et 25 % étaient issus de la population noire (population représentative des hypertendus au Royaume-Uni). La PAS moyenne mesurée sur 24h était de 140,3 mmHg (133).

Pharmacodynamie

Dans la partie A de l'étude, il a été observé une diminution des taux sériques d'angiotensinogène corrélée à la dose de zilebesiran administrée. L'administration de dose unique ≥ 100 mg a entraîné une réduction ≥ 90 % de l'angiotensinogène sérique par rapport aux valeurs initiales et ce, dès la semaine 3 et maintenue jusqu'à la semaine 12. Par ailleurs, tous les patients ayant reçu une dose unique de 800 mg de zilebesiran ont maintenu une réduction supérieure à 90 % de l'angiotensinogène sérique jusqu'à la semaine 24 (133). En outre, les résultats de la partie E n'ont pas montré l'existence d'un effet supplémentaire de l'irbesartan sur la pharmacodynamie de l'angiotensinogène.

Partie A

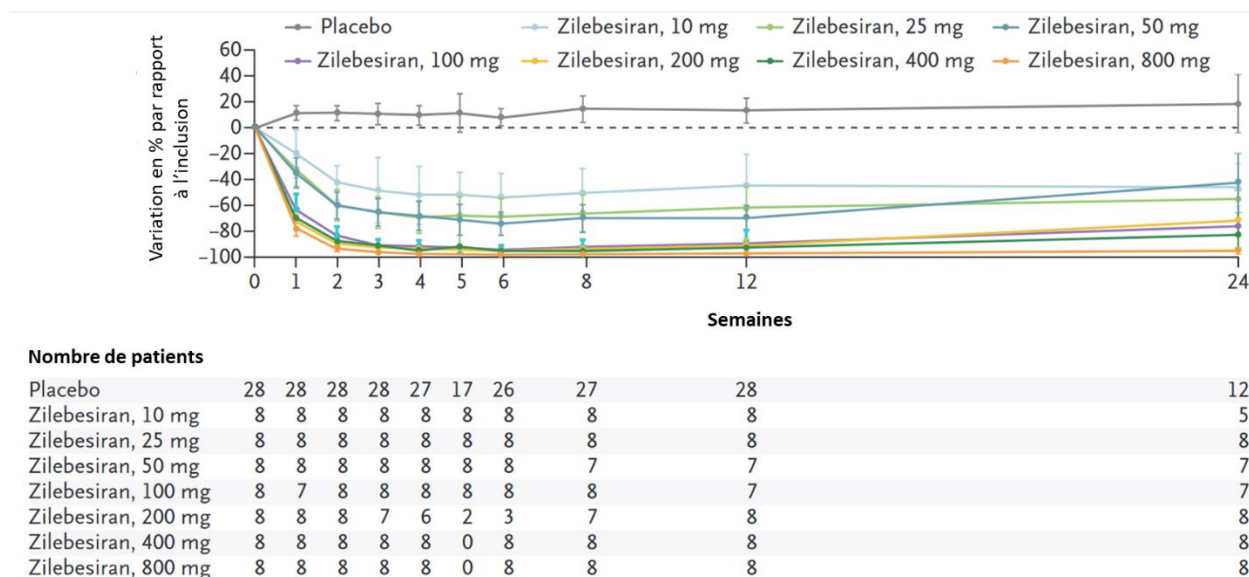


Figure 42 : Evolution du taux moyen d'angiotensinogène après l'administration d'une dose unique de zilebesiran, adaptée de Desai et al., New England Journal of Medicine, 2023 (133).

Critère d'évaluation primaire

Dans l'ensemble, les événements indésirables ont été signalés chez 52 % des patients recevant le zilebesiran et 88 % des patients recevant le placebo. Cinq patients traités par zilebesiran ont présenté des réactions légères et transitoires au site d'injection qui a été le seul effet indésirable lié au traitement rapporté chez plus de deux patients. Aucun cas d'hypotension, d'hyperkaliémie ou d'aggravation de la fonction rénale n'a été signalé et n'a donné lieu à une intervention médicale. Enfin, il n'y a pas eu de décès ni d'hospitalisations imprévues (133).

Critères d'évaluation exploratoires

Dans la partie A de l'étude, des doses uniques de zilebesiran ≥ 200 mg ont été associées à des diminutions moyennes de la PAS sur 24h supérieure à 10 mmHg et de la PAD supérieure à 5 mmHg à la semaine 8. Ces changements ont par ailleurs été constants tout au long du cycle diurne et se sont maintenus à 24 semaines. Après une dose unique de 800 mg de zilebesiran, les 8 patients (dont 6 n'ont pas reçu de traitement antihypertenseur supplémentaire) ont présenté une réduction moyenne de la PAS sur 24h supérieure à 20 mmHg à la semaine 24 (133).

Dans la partie B de l'étude, les patients ayant reçu du zilebesiran après un régime pauvre en sel ont montré une diminution plus importante de la PAS, que les patients ayant simplement suivi un régime pauvre en sel sans ARNi. Par ailleurs, la baisse de la PAS, après un traitement par zilebesiran, a été inversée par un régime riche en sel alimentaire. Ces données suggèrent qu'un apport élevé en sel pourrait permettre de récupérer partiellement la baisse de pression associée au zilebesiran en cas d'hypotension sévère survenant à la suite de circonstances imprévues (133).

La partie E de l'étude a mis en évidence une majoration de l'effet hypertenseur du zilebesiran par l'administration concomitante d'irbesartan (133).

IV.3.D.iii. Essais cliniques de phase 2 : KARDIA-1 et KARDIA-2

Le zilebesiran fait l'objet d'études plus poussées en tant que traitement potentiel de l'HTA dans le cadre de deux études de phase 2 randomisées.

KARDIA 1 : méthodologie de l'étude

KARDIA-1 est une étude de phase 1 multicentrique, randomisée, en double aveugle, contrôle par placebo, visant à évaluer l'efficacité et la sécurité du zilebesiran utilisé en monothérapie chez 375 patients présentant une hypertension modérée ($135 \text{ mmHg} \leq \text{PAS} \leq 160 \text{ mmHg}$) pendant 12 mois. Le critère d'évaluation principal de l'étude est la variation de la PAS moyenne sur 24h au mois 3, par rapport à l'inclusion. Les patients inclus seront randomisés dans l'un des cinq bras de traitement suivant :

- zilebesiran 150 mg tous les 6 mois
- zilebesiran 300 mg tous les 6 mois
- zilebesiran 300 mg tous les 3 mois
- zilebesiran 600 mg tous les 6 mois
- placebo

Les résultats de l'étude sont attendus pour la mi-année 2023 (137).

KARDIA 2 : méthodologie de l'étude

KARDIA-2 est une étude de phase 2 multicentrique, randomisée, en double aveugle pendant 6 mois, contrôlée par placebo, visant à évaluer l'efficacité et la sécurité du zilebesiran utilisé comme traitement adjuvant chez 630 patients souffrant d'hypertension modérée ($135 \text{ mmHg} \leq \text{PAS} \leq 160 \text{ mmHg}$) insuffisamment contrôlée par un traitement antihypertenseur standard (olmesartan, amlodipine, indapamide). Le critère d'évaluation principal de l'étude est la variation de la PAS moyenne sur 24h au mois 3, par rapport à l'inclusion. Les résultats de l'étude sont attendus pour la fin d'année 2023 (138).

IV.3.D.iv. Discussion

Les résultats actuels du zilebesiran, sont encourageants mais doivent être considérés dans le contexte d'importantes limitations. En effet, l'étude comprenait un petit échantillon de patient sur une durée relativement courte du suivi, limitant la possibilité de tirer des conclusions définitives sur l'innocuité ou l'efficacité du zilebesiran. D'autre part, le recrutement des patients a notamment été limité à des personnes jeunes sans HTA sévère. Les données présentées ne peuvent donc pas être extrapolées dans la population générale (133). Les résultats de phase 2, attendus pour l'année 2023, apporteront des données plus robustes et permettront de valider l'angiotensinogène comme nouvelle cible thérapeutique pour l'HTA.

V. Innovation constante dans la technologie de l'interférence à ARN

V.1. Développement de nouveaux vecteurs : distribution au-delà du foie

V.1.A. *Conjugué ARNi-C16 : optimiser la délivrance dans le SNC pour cibler la protéine précurseur de l'amyloïde*

De nombreuses maladies neurodégénératives sont associées à des mutations génétiques validées et responsables de gains de fonction, ce qui en fait des candidates appropriées pour une approche thérapeutique par ARNi. Pour certaines maladies touchant le système nerveux central telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Huntington, ou encore la sclérose latérale amyotrophique (maladie de Charcot), le besoin thérapeutique est très important. Actuellement, aucune thérapie n'est disponible pour prévenir ou restaurer les fonctions neurologiques atteintes chez ces patients. C'est pourquoi, le développement de nouvelles thérapies ARNi, dirigées vers les gènes exprimés dans le système nerveux central (SNC) à l'origine des maladies, représente une opportunité de traitement importante pour les patients.

V.1.A.i. Elaboration d'un conjugué ARNi-C16

Afin de cibler d'autres organes que le foie, il est nécessaire de trouver de nouvelles solutions de délivrance d'ARNi. L'ajout d'une entité lipophile à une séquence de nucléotides, telle qu'une chaîne d'atome de carbone, représente l'une des premières approches pour améliorer l'absorption cellulaire et la délivrance d'ARNi ou d'ASO au niveau du SNC. L'optimisation d'ARNi dans ce sens implique pour autant une approche invasive par injection intrathécale pour avoir une action au niveau du SNC. En effet, aucune technologie n'a encore été découverte permettant la délivrance d'ARNi à travers la barrière hémato-encéphalique après une administration systémique.

En 2022, un article est paru dans *Nature Biotechnology* démontrant l'efficacité chez l'animal d'ARNi conjugués C16 (2'-O-hexadécyl) afin de cibler le SNC (139). L'article a reçu le prix du papier de l'année par l'*Oligonucleotide Therapeutic Society* (140).

Les entités lipophiles constituent l'une des premières approches permettant d'améliorer l'absorption cellulaire et la délivrance d'ARNi ou d'ASO. Les chercheurs ont donc introduit sur le duplex d'ARNi un groupe C16 en 2' (2'-O-hexadécyl) du squelette du ribose dans l'objectif d'améliorer la biodistribution générale dans le SNC, renforcer la puissance d'action et conserver la sécurité d'utilisation. La position N6 sur le brin sens de l'ARNi a été choisie afin de maintenir l'activité fonctionnelle du RISC et de réduire le risque de clivage du conjugué par l'exonucléase. Les éléments de conception d'ARNi connus, tels que le placement stratégique de modifications chimiques 2'-F et 2'-OMe vu dans la partie II.3.D, ont été conservés pour augmenter la puissance d'action de l'ARNi au niveau du SNC. Par ailleurs, à l'extrémité 5' du brin antisens, un groupe vinylphosphonate (VP, imitateur du phosphate) a été ajouté afin de favoriser le chargement de l'ARNi dans le complexe RISC et ainsi contribuer à une durée d'action prolongée (139).

En vue d'optimiser la conjugaison de l'ARNi et de déterminer son activité dans le SNC, des ARNi ciblant la superoxyde dismutase (Sod1) (impliquée dans la physiopathologie de la SLA), non conjugués ou modifiés par C16, ont été administrés à des rats par injection intrathécale unique en bolus à raison de 0,9 mg. L'ARNi combinant la modification en 5' VP et la conjugaison avec le C16 a eu la meilleure activité dans toutes les régions du SNC (**Figure 43**), avec une diminution de l'ARNm cible allant jusqu'à 90 % et 75 % dans la moelle épinière et le cerveau. Aucune activité n'a par ailleurs été observée dans le corps strié, le foie ou les reins du rat (**Figure 43**) (139). La biodistribution de l'ARNi a été évaluée dans le cerveau entier 24 heures après l'administration en utilisant l'immunohistochimie avec l'anticorps anti-ARNi. La biodistribution cérébrale était supérieure pour l'ARNi-C16 par rapport au ARNi non conjugué (**Figure 44**) (139).

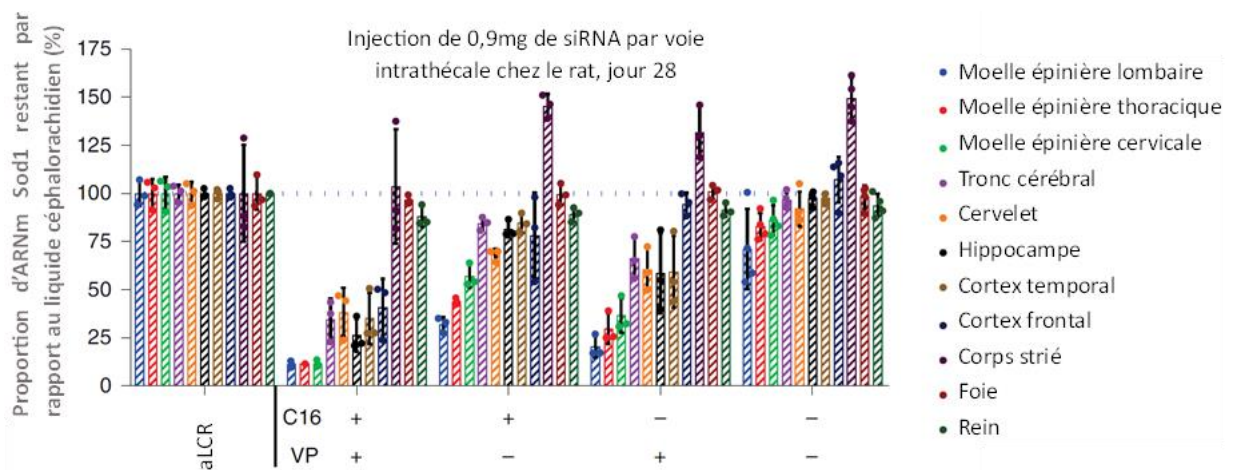


Figure 43 : Résultats de l'optimisation de la conception d'un ARNi pour la délivrance au SNC chez le rat, adaptés de Brown et al., Nature Nanotechnology, 2022 (139).

ARNm = ARN messenger, LCR = liquide céphalo-rachidien siRNA = petit ARN interférent, C16 = acide palmitoléique, VP = vinylphosphonate

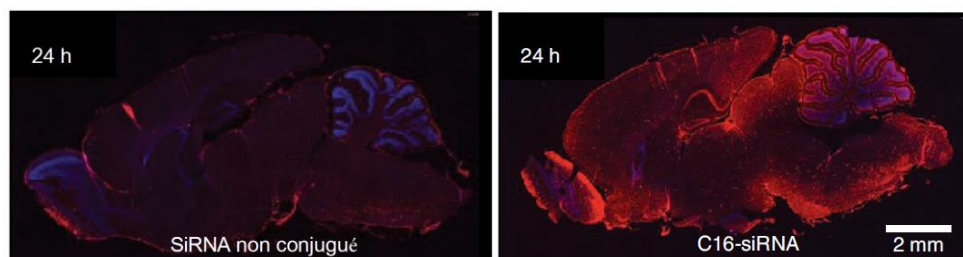


Figure 44 : Illustration de la biodistribution cérébrale d'ARNi non conjugué ou modifié par C16, d'après Brown et al., Nature Nanotechnology, 2022 (139).

C16 = acide palmitoléique ; siRNA = petit ARN interférent

Suite à ces résultats chez le rat, un ARNi ciblant la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) a été injecté par voie intrathécale chez le primate non humain. L'objectif est de déterminer si les ARNi-C16 modifiés en 5'VP peuvent produire une activité d'interférence par ARN robuste dans le SNC des singes. Après l'administration d'une dose unique de 60 mg d'ARNi ciblant l'APP, non conjugué ou modifié par C16, avec ou sans la modification en 5' VP, tout comme chez le rat, l'ARNi-C16 et VP a eu la meilleure activité dans toutes les régions du SNC. L'injection d'ARNi ciblant l'ARNm de l'APP a permis une inhibition de l'APP jusqu'à 70 % dans la moelle épinière et

80 % dans le cerveau. La durée d'action a été évaluée en analysant des échantillons de liquide céphalorachidien contenant les protéines solubles biomarquées APP α et APP β . Le silençage génique est rapide et durable avec une inhibition de l'APP maintenue à plus de 75 % à 2,5 mois (139).

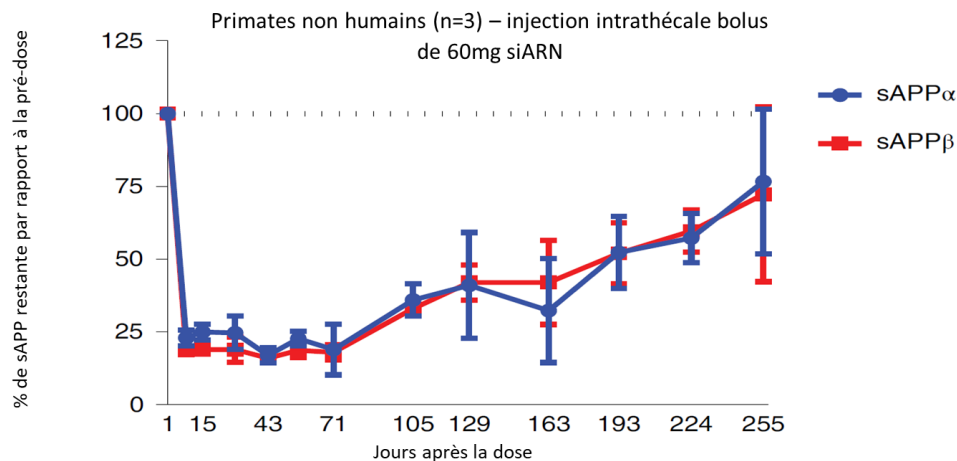


Figure 45 : Graphique de l'activité de l'ARNi-C16 dans le SNC de singes, adapté de Brown et al., Nature Nanotechnology, 2022 (139).

sAPP = protéine précurseur de l'amyloïde soluble ; ARNi = petit ARN interférent

V.1.A.ii. ALN-APP : conception d'un ARNi ciblant la protéine précurseur de l'amyloïde

Alnylam Pharmaceuticals s'est concentré sur le développement d'un premier candidat médicament nommé ALN-APP agissant au niveau du SNC afin de cibler cette APP. Celle-ci est directement impliquée dans la maladie d'Alzheimer et l'angiopathie amyloïde cérébrale.

APP : une cible impliquée dans deux processus physiopathologiques

APP est une protéine de 87kDA associée à la membrane et produite dans de nombreux tissus, mais dont l'expression la plus élevée se trouve dans le SNC. Elle est transformée par clivage en série par l'action de diverses enzymes pour produire une variété de peptides dont le peptide amyloïde beta (A β).

Les mutations qui augmentent ou modifient le métabolisme de l'APP sont à l'origine de l'apparition précoce de la maladie d'Alzheimer. Au contraire les mutations qui diminuent le métabolisme de l'APP en A β sont protectrices. Concernant l'angiopathie amyloïde cérébrale, les mutations sur le gène de l'APP qui altèrent le clivage de la protéine et augmentent l'agrégation de l'A β déterminent l'AAC héréditaire (141). Les dépôts d'amyloïde dans les parois des vaisseaux du SNC provoquent des hémorragies cérébrales et des troubles cognitifs chez ces patients.

Cette stratégie de développement clinique ciblant l'APP s'appuie donc sur un gène cible génétiquement validé dans deux pathologies neurodégénératives. Alnylam Pharmaceuticals souhaite également tirer parti du succès de ses ARNi dans d'autres types d'amyloses (patisiran, vutrisiran). Par ailleurs, la protéine APP est un biomarqueur facilement dosable chez l'Homme

qui permettra d'établir la preuve de concept d'efficacité lors de la phase 1. De plus, afin d'évaluer la progression de la maladie d'Alzheimer, des biomarqueurs pourront être utilisés (tTau, pTau, neurofilaments, ...) ou encore la neuro-imagerie. Pour l'AAC les études cliniques précoces pourront évaluer les mesures de la réactivité vasculaire ou utiliser l'imagerie cérébrovasculaire afin de déterminer l'évolution de la maladie. Enfin, il n'existe pas ou peu de traitement pour ces deux pathologies permettant d'envisager un accès au marché rapide pour les patients.

Hypothèse thérapeutique

L'ALN-APP est un ARNi conçu pour réduire la production de l'APP en amont du processus amyloïdogène. L'hypothèse thérapeutique est qu'en diminuant la production d'APP dans le SNC, cela induit une diminution des fragments de protéines amyloïdogènes (peptides A β). Dès lors, on devrait observer une réduction des dépôts amyloïdes dans les tissus entraînant une stabilité voire une amélioration des manifestations cliniques de la maladie d'Alzheimer et de l'angiopathie amyloïde cérébrale.

Pour rappel, la maladie d'Alzheimer est la cause la plus fréquente de démence dans le monde. Environ un million de personnes sont touchées en France et plus de 45 millions dans le monde en 2015 (142). Le nombre de malades continue d'augmenter chaque année, notamment avec le vieillissement de la population. On estime que 225 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année en France. L'apparition précoce et les formes génétiques ont un impact sur la cognition à un stade prématuré de la vie. Aujourd'hui, les thérapies disponibles ne permettent pas de stopper ou encore d'inverser la progression de la maladie.

L'angiopathie amyloïde cérébrale sporadique est quant à elle une microangiopathie cérébrale fréquente, liée à l'âge, débutant généralement après 60 ans caractérisée de façon générale par l'accumulation de peptide amyloïde A β dans la paroi des artères lepto-méningées et des vaisseaux corticaux. Ces dépôts amyloïdes, dus à des changements dans les mécanismes de clairance de l'A β liés à l'âge, entraînent une perturbation de l'architecture vasculaire et une perte de réactivité vasculaire. C'est une maladie évolutive avec des lésions vasculaires qui s'aggravent. La manifestation clinique la plus courante de l'AAC est l'accident vasculaire cérébral hémorragique, dont c'est la deuxième cause derrière l'HTA. Cette pathologie entraîne également un déclin cognitif plus rapide. Aucun traitement n'est actuellement disponible pour cibler la progression de la maladie. Le développement d'anticorps spécifiques, pour cibler les dépôts amyloïdes vasculaires, a été infructueux.

V.1.A.iii. Données préliminaires de phase 1 dans la maladie d'Alzheimer à début précoce

Design de l'étude et caractéristiques des patients inclus

ALN-APP est évalué dans une étude de phase 1, randomisée en double aveugle contre placebo, chez les patients atteints d'une forme précoce de la maladie d'Alzheimer. L'objectif principal est d'évaluer la sécurité et la tolérance du traitement. L'objectif secondaire est d'évaluer la pharmacologie de l'ALN-APP en augmentant les doses administrées afin de déterminer une dose efficace (143).

Dans la partie A de l'étude, vingt patients, atteints de la maladie d'Alzheimer à un stade précoce, ont reçu une dose unique d'ALN-APP ou de placebo, administrée par voie intrathécale (144).

- Cohorte 1 : ALN-APP 25 mg intrathécale (randomisation 2:1, n=6)
- Cohorte 2 : ALN-APP 75 mg intrathécale (randomisation 2 :1, n=6)
- Cohorte 3 : ALN-APP 50 mg intrathécale (randomisation 3:1, n=8)

Les patients présentaient un début des symptômes avant 65 ans, un score global du Clinical Dementia Rating⁹ de 0,5 ou 1,0 (indiquant des troubles cognitifs et globaux incertains ou bénins) ainsi qu'un score global au Mini-Mental State Examination¹⁰ supérieur à 20 (désignant une démence peu sévère, voire un état cognitif normal) (144).

Résultats préliminaires

Les résultats préliminaires, de la partie A de l'essai clinique, ont été communiqués en avril 2023 par les laboratoires pharmaceutiques avant d'être présentés à la Conférence internationale de l'Association Alzheimer (AAIC) à Amsterdam fin juillet 2023 (144).

Le traitement est à priori bien toléré avec des effets indésirables signalés comme légers ou modérés. Il n'y a pas eu de décès, de suspicions d'effets indésirables graves et inattendus du médicament, ni d'interruption du traitement ou de l'étude. De nombreux effets indésirables ont été signalés et jugés liés à la ponction lombaire par l'investigateur (syndrome post ponction lombaire, vomissements, gonflement au point d'injection ...). Les taux de globules blancs dans le LCR de tous les patients sont restés dans la fourchette de référence. Les évaluations de laboratoire en routine n'ont révélé aucune anomalie significative (144).

Les données intermédiaires ont montré que les patients ayant reçu l'ALN-APP ont présenté une diminution dose-dépendante, rapide et soutenue de l'APP α soluble (sAPP α) et de l'APP β (sAPP β) dans le liquide céphalorachidien, avec une réduction maximale moyenne au mois 2 de 69 % et 82 %, respectivement (144). La réduction médiane des deux biomarqueurs est de plus de 70 % et a été maintenue pendant au moins trois mois à la dose la plus élevée (75 mg) (**Figure 46**) (145).

⁹ **Clinical Dementia Rating (CDR)** : échelle permettant la stratification des patients selon la sévérité de la démence grâce à une évaluation des fonctions cognitives et globales. Trois facteurs reflètent les aptitudes cognitives : mémoire (« M » axe principal), orientation et jugement / résolution de problèmes et trois autres évaluent les actes de la vie courante : participation à la vie collective, comportement à la maison et hobbies, soins personnels. L'examineur cote chaque axe séparément en fonction de la sévérité : 0 en l'absence de trouble ; 0,5 pour des troubles incertains ; 1 pour des troubles bénins ; 2 pour des troubles modérés ; 3 pour des troubles sévères. Si 3 des axes secondaires ou plus ont le même score que « M », le score de l'échelle CDR est celui de « M ». Si 3 des axes secondaires ou plus ont un score inférieur ou supérieur à « M », le score de l'échelle CDR est celui de la majorité des axes secondaires.

¹⁰ **Mental-State Examination (MMSE)** : outil pratique pour l'évaluation de l'état cognitif des patients par le clinicien. Un score supérieur à 27 (sur 30) est normal ; en dessous, 20-26 indique une démence légère ; 10-19 démence modérée et moins de 10 démence sévère.

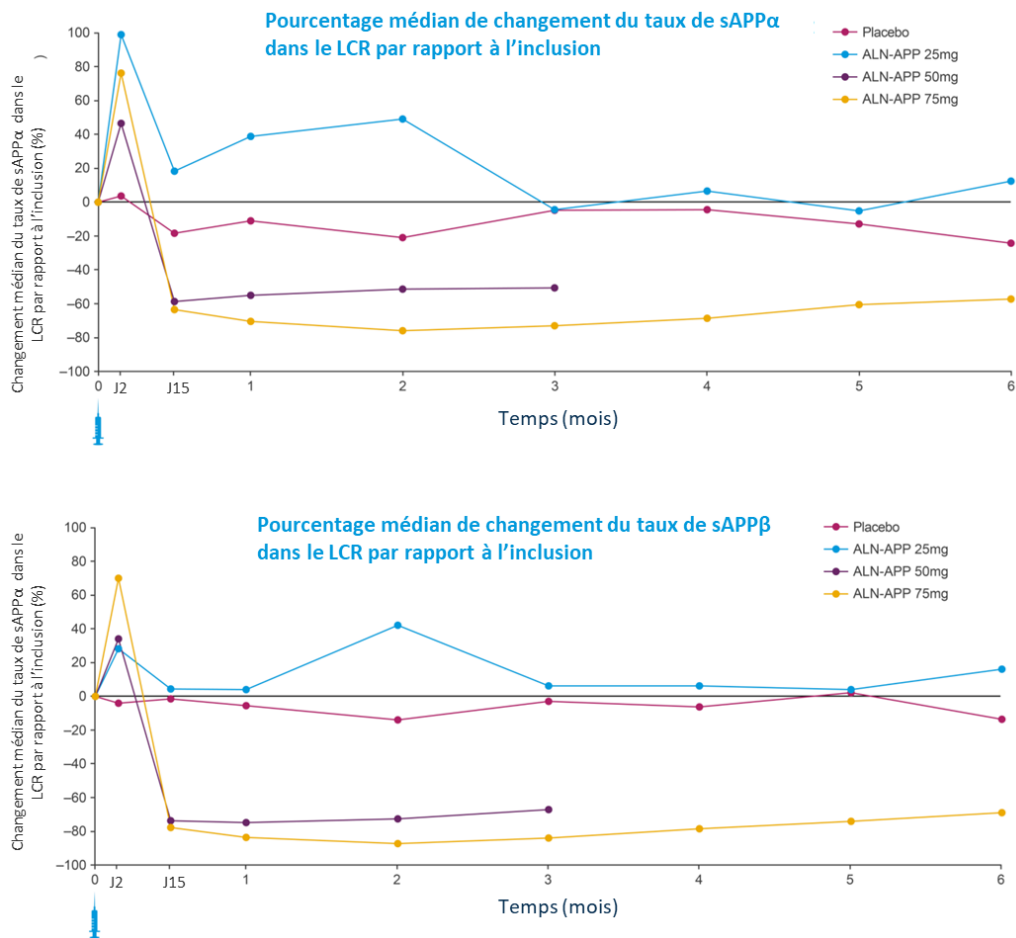


Figure 46 : Résultats secondaires intérimaires de phase 1 évaluant l'ALN-APP vs placebo dans les formes précoces de la maladie d'Alzheimer, adaptés de Cohen et *al.*, présentation à l'AAIC, 2023 (144).

Ces données initiales établissent la première traduction chez l'homme de la plateforme conjuguée ARNi-C16 pour l'administration dans le SNC. Ils constituent également la première démonstration clinique de l'inhibition de gènes dans le cerveau humain à l'aide d'une thérapie par ARNi.

V.1.B. ARNi-squalène : normaliser l'expression du gène PMP22 dans la maladie de Charcot-Marie-Tooth

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) regroupe un ensemble de neuropathies périphériques héréditaires, caractérisées par une atteinte à prédominance distale des nerfs périphériques, responsable d'une atrophie musculaire progressive et entraînant un handicap à la marche, l'absence de réflexes tendineux et la présence de déformations ostéoarticulaires (pieds creux) (146). Elle doit son nom aux trois neurologues qui l'ont décrite pour la première fois en 1886. Il s'agit de l'affection neurologique génétique la plus fréquente au monde avec une prévalence estimée à 1/2500. Elle toucherait entre 30 000 et 50 000 patients en France (147). Malgré sa forte prévalence dans la population générale et son impact majeur sur la motricité et les fonctions sensibles, aucun traitement médicamenteux étiologique n'est à ce jour commercialisé.

V.1.B.i. Physiopathologie et signes cliniques

Plus de 80 gènes ont été identifiés comme pouvant être impliqués dans la CMT et plus de 1000 mutations ont été rapportées. Les perspectives thérapeutiques actuelles se concentrent sur la forme de CMT la plus fréquente, la CMT1A, à laquelle nous nous intéressons dans la suite de cette partie (147,148). Elle touche environ 60 à 70 % des patients atteints de CMT (146). De transmission autosomique dominante, elle est due à une duplication du gène *PMP22* localisé sur le chromosome 17.

La glycoprotéine peripheral myelin protein 22 (PMP22) est produite par les cellules de Schwann. Elle est impliquée dans les stades précoces de la myélinisation des nerfs qui permet la rapidité de la conduction de l'influx nerveux. Dans le système nerveux périphérique, elle représente 2 à 5 % de l'ensemble des protéines de la myéline et possède un rôle prépondérant dans la myélinisation du système nerveux périphérique (146,149).

Les patients atteints de CMT1A produisent en excès la PMP22 qui provoque une dégénérescence de la gaine de myéline et conduit à une neuropathie démyélinisante. La transmission de l'influx nerveux est ralentie, il s'y associe une perte nerveuse axonale, ce qui entraîne une atteinte motrice amyotrophiante et sensitive des extrémités. Les premiers signes cliniques apparaissent, dans la moitié des cas, avant l'âge de dix ans. Cependant, la maladie peut se révéler à tous les âges. Les patients atteints de CMT1A présentent de manière quasi-constante des pieds creux, dans 30 % des cas une cyphoscoliose et fréquemment une surdité ou une dysurie. L'évolution, chronique et lentement progressive de la maladie, conduit à des troubles de la marche importants, mais qui nécessitent rarement le recours au fauteuil roulant. L'espérance de vie n'est pas affectée (147,148).

L'examen physique caractéristique met en évidence un déficit moteur progressif, des déformations squelettiques (pieds creux, orteils en griffes et scoliose) ainsi qu'une hypo ou une aréflexie tendineuse. Des anomalies respiratoires, un syndrome d'apnée du sommeil, une surdité ou encore un syndrome des jambes sans repos peuvent être retrouvés dans certaines formes de CMT. (147,148). Celles-ci sont classées selon 3 critères (147,148) :

- Le mode de transmission génétique : la CMT peut se transmettre sur un mode autosomique dominant ou récessif ou dominant lié à l'X.
- L'évaluation de l'atteinte nerveuse : l'ENMG permet d'évaluer la vitesse de conduction nerveuse et de différencier ainsi les formes démyélinisantes (CMT1, CMT4), axonales (CMT2) ou intermédiaires.
- L'anomalie génétique en cause : les gènes *PMP22* et *GJB1* sont prépondérants et présentent des variations génétiques dans 60 % des cas de CMT, le gène *MPZ* codant pour la protéine zéro (P0) est également fréquemment retrouvé pour les formes démyélinisantes.

V.1.B.ii. Etude d'un ARNi conjugué au squalène chez la souris pour le traitement de la CMT1A

En raison de leur mécanisme d'action et de leur sécurité d'emploi, les ARNi offrent une solution thérapeutique intéressante afin de réguler l'expression du gène *PMP22* surexprimé dans la CMT1A, dans les cellules de Schwann. L'inhibition de l'expression d'un gène par un ARNi afin de diminuer la production d'une protéine d'intérêt a déjà été démontrée (patisiran, vutrisiran, lumasiran, ...). Néanmoins, la normalisation d'un gène grâce à l'utilisation d'ARNi n'a jamais été envisagée. En effet, la diminution de la production de PMP22 en deçà des niveaux normaux entraîne une autre forme de neuropathie périphérique héréditaire (hypersensibilité des nerfs à la pression). C'est pourquoi cette stratégie thérapeutique dans la CMT1A est confrontée à de multiples défis. Par ailleurs, les molécules d'ARNi étant hydrophiles, l'acheminement vers les cellules de Schwann représente un obstacle majeur (149).

Dans un article publié dans *Communications Biology*, une équipe de chercheurs Français soutenue par l'Agence National de la Recherche a mis au point un ARNi conjugué au squalène (ARNi PMP22-SQ) grâce à la « Chimie-Click » sans cuivre, afin de cibler l'ARNm de la protéine PMP22 chez la souris. Le squalène est un triterpène biocompatible et biodégradable, précurseur du cholestérol, pouvant s'auto-assembler sous la forme de nanoparticules (149).

Après validation in vitro des ARNi PMP22-SQ, leur efficacité thérapeutique a été testée sur 2 modèles de souris transgéniques porteuses d'une ou deux copies supplémentaires du gène PMP22, ayant entraîné une démyélinisation des fibres nerveuses chez la souris adulte. Les chercheurs ont considéré que ces modèles animaux étaient représentatifs de la neuropathie CMT1A pour l'évaluation d'ARNi thérapeutiques. Les souris ont reçu cinq injections d'ARNi PMP22-SQ consécutives, à la dose de 0,5 mg/kg deux fois par semaine (injections à J0, J4, J7, J11, J14 – dose cumulée de 2,5 mg/kg) (149).

Elles ont montré un rétablissement et une normalisation de l'activité motrice et de la force musculaire. Les données démontrent que les nanoparticules d'ARNi PMP22-SQ induisent une récupération remarquable de la neuropathie CMT1A, avec une amélioration des paramètres moteurs et électrophysiologiques atteignant des niveaux observés chez les souris témoins (149).

Après analyse des marqueurs moléculaires, l'analyse par Western blot a montré que les niveaux de PMP22 étaient normalisés après traitement par les ARNi PMP22-SQ. Les niveaux de la protéine P0 (protéine structurale majeur de la gaine de myéline dans les nerfs périphériques exprimée par les cellules de Schwann) n'ont pas été affecté et indiquent une inhibition spécifique par les ARNi PMP22-SQ sans effet hors cible. Par ailleurs, l'une des observations les plus pertinentes d'un point de vue clinique est que lors du traitement par ARNi PMP22-SQ, l'expression du neurofilament lourd de 200 kDa (NF-H), un marqueur des axones matures de grand diamètre, a été rétabli à des niveaux normaux (149).

Cette étude apporte la preuve de concept que l'administration dosée d'ARNi stabilisés dans les nanoparticules de squalène permet de normaliser l'expression d'un gène. Les ARNi PMP22-SQ représentent une thérapie puissante et prometteuse pour les patients atteints de CMT1A. Enfin la normalisation de l'expression d'un gène grâce à un ARNi offre également de

nouvelles perspectives pour le traitement d'un large éventail de maladie, notamment de troubles du système nerveux (149).

V.2. Améliorations de la plateforme technologique

V.2.A. **IKARIA® : une nouvelle chimie pour les ARNi**

Les progrès réalisés dans la conception des ARNi, principalement par le biais de modifications chimiques sur les nucléotides, ont conduit à des améliorations constantes de la puissance et de la durée d'action des conjugués ARNi-GalNac. Pour cela, il est nécessaire d'apporter une grande stabilité métabolique afin d'accroître la demi-vie dans les compartiments intracellulaires acides, tels que les lysosomes. En effet, Brown et *al* ont démontré qu'une libération lente de l'ARNi stabilisé à partir des compartiments intracytoplasmiques permet un chargement continu du RISC et une action prolongée sur l'ARNm cible. Ce « réservoir » intracellulaire d'ARNi est primordial afin d'espérer une durée d'action importante (55).

Ces efforts apportés sur le design des ARNi se poursuivent encore aujourd'hui, puisque qu'Alnylam Pharmaceuticals développe une plateforme, nommée IKARIA™, avec pour objectif de produire des thérapies ARNi administrées une fois par an, comme un vaccin (44).

Les premiers résultats précliniques chez l'animal de l'ALN-TTRsc04, un ARNi-GalNac thérapeutique conçu pour traiter l'amylose à TTR, ont démontré une spécificité très élevée afin de réprimer l'expression du gène de la *TTR* (**Figure 47 A**) (résultats non publiés). Par ailleurs, les données indiquent une puissance d'action importante du médicament qui diminue la TTR sérique après une injection unique à la dose de 0,5 mg/kg. L'efficacité de l'ALN-TTRsc04 est au moins similaire au vutrisiran à dose identique (**Figure 47 B**). Les modélisations chez l'Homme prévoient un potentiel d'une dose annuelle de 300 mg permettant de réduire de plus de 90 % la TTR circulante (**Figure 47 C**).

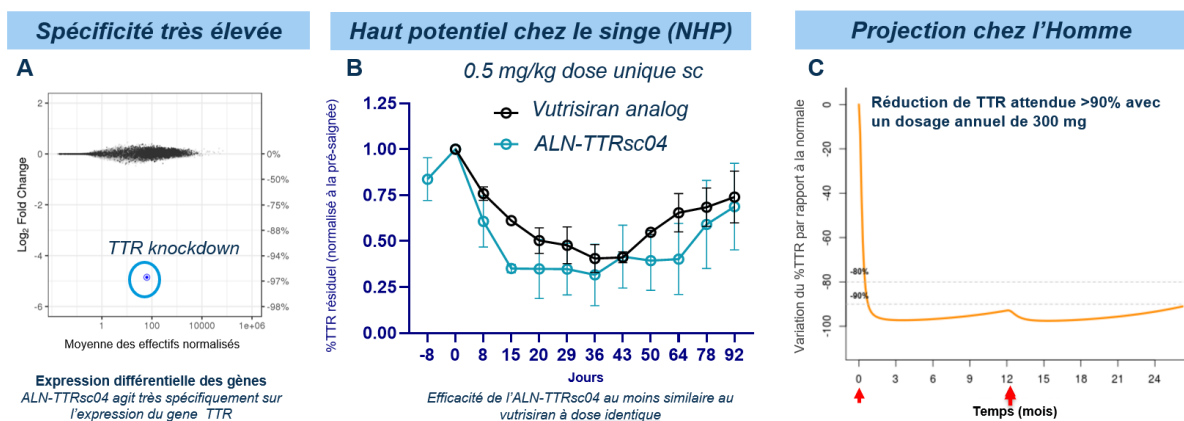


Figure 47 : Résultats précliniques de l'ALN-TTRsc04 et modélisations chez l'Homme, adaptés de Alnylam R&D Day 2021 présentation (63).

NHP = primate non humain, TTR = transthyrétine

Ce traitement expérimental est actuellement évalué dans une étude de phase 1 randomisée en double aveugle contrôlée par placebo, à dose unique croissante, visant à déterminer la sécurité, la tolérance, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de l'ALN-

TTRsc04 administré par voie sous-cutanée chez des volontaires sains. Le critère principal est la fréquence des événements indésirables sur 12 mois (150). Les résultats sont attendus en fin d'année 2023 et permettront d'apprécier la puissance de la plateforme IKARIA™.

V.2.B. REVERSIR™ : contrôle personnalisé de la pharmacologie des ARNi

L'efficacité des ARNi, jusqu'à six mois, voire un an, après l'injection d'une dose unique, peut être considérée comme un avantage pour une administration peut fréquente pour le traitement de maladies chroniques, contournant les problèmes d'observance, elle constitue également un risque dans certains cas.

A titre d'illustration, le zilebesiran, détaillé précédemment dans la partie IV.3.D, ciblant l'ARNm de l'angiotensinogène hépatique bénéficie d'améliorations chimiques permettant des injections sous-cutanée espacées jusqu'à six mois. Du fait de sa durée d'action prolongée, ce traitement pourrait permettre une baisse stable et durable de la pression artérielle favorisant l'adhésion thérapeutique par rapport aux médicaments antihypertenseurs conventionnels. Cependant, en cas d'urgence, par exemple lorsqu'une hypotension sévère survient, il est nécessaire de réactiver rapidement le système rénine angiotensine aldostérone en bloquant l'action de l'ARNi (151).

L'un des moyens de moduler l'activité du complexe RISC consiste à diriger un oligonucléotide synthétique complémentaire du brin guide antisens de l'ARNi chargé par le RISC. Cet oligonucléotide s'hybride alors avec le brin guide de l'ARNi avec une grande affinité, rendant le RISC inactif (152).

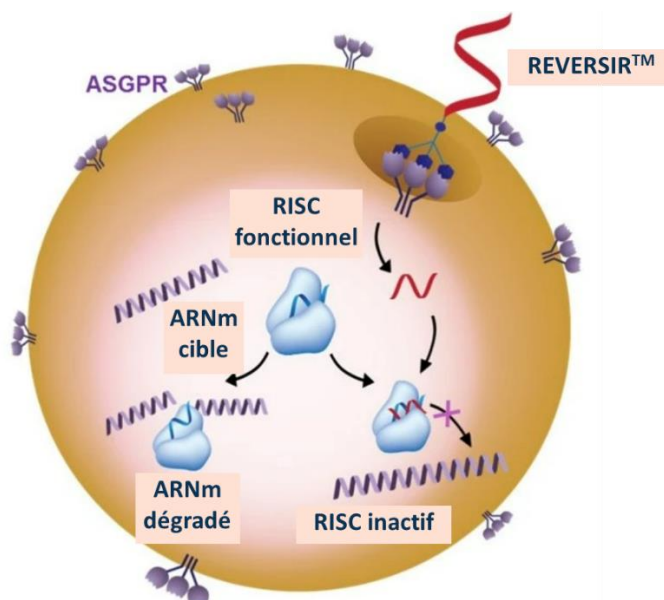


Figure 48 : Illustration du mécanisme d'action de la technologie REVERSIR™, adaptée de Zlatev et al., Nature Biotechnology, 2018 (152).

ARNm = ARN message, RISC = complexe de silençage induit par ARN

Les chimistes ont donc étudié un nouvel outil, nommé REVERSIR™, capable d'inverser de manière aiguë l'effet d'ARN interférence. Cette approche modulaire et spécifique de la séquence nucléique peut améliorer le profil de sécurité de tout GalNAC-ARNi à longue durée d'action en contrôlant la pharmacologie. REVERSIR™ est composé de courts oligonucléotides synthétiques, complémentaires du brin guide de l'ARNi, pouvant être dirigé spécifiquement vers le foie en utilisant la conjugaison avec un ligand GalNAC trivalent (152).

Des modifications chimiques ont été apportées permettant une affinité élevée et une stabilité métabolique. L'ajout de groupements 2'-OMe, d'acides nucléiques verrouillés (LNA) ainsi qu'un squelette PS uniforme ont été associés à une meilleure inversion du knockdown de l'ARNm cible par l'ARNi. L'injection du REVERSIR™, sept jours après l'administration de GalNAC-ARNi anti-TTR, a permis d'inverser complètement l'inhibition de la TTR et de la ramener à la normale en quatre jours (152).

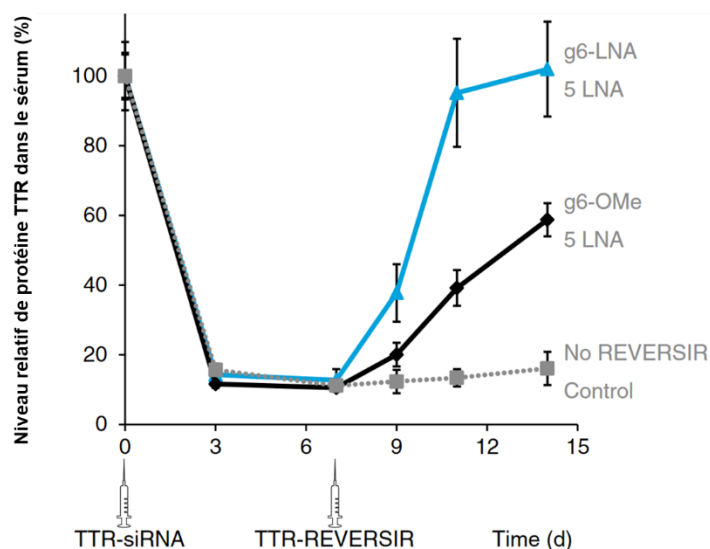


Figure 49 : Résultats de l'inversion *in vivo* chez la souris (n=3) de l'activité du TTR-ARNi par REVERSIR™ contenant 5 LNA, adaptés de Zlatev et al., Nature Biotechnology, 2018 (152).

LNA = acide nucléique verrouillé ; OMe = méthoxyl ; TTR = transthyréline

TTR-ARNi injecté par voie sous-cutanée à J0 (3 mg/kg), TTR-REVERSIR injecté par voie sous-cutanée à J7 (0,1 mg/kg) contenant 5 LNA avec un LNA en g6 ou un 2'-OMe

D'après les résultats décrits ci-dessous, le modèle REVERSIR™ semble puissant et généralisable. Il permettrait d'inverser rapidement l'activité de silençage génique induit par un ARNi avec une seule administration à faible dose. Cette technologie pourrait donc s'avérer bénéfique sur le plan thérapeutique en permettant un contrôle fin et personnalisé de la durée d'action d'ARNi-GalNAC, en particulier dans un contexte d'indication aiguë (152).

V.2.C. GEMINI® : silençage simultané de transcrits

Une des dernières innovations rapportées dans le domaine de l'interférence par ARN est la perspective de silencer deux transcrits grâce à une seule entité chimique. Alnylam Pharmaceuticals développe un composé nommé GEMINI® permettant de combiner dans une seule seringue deux ARNi afin d'inhiber simultanément deux ARNm dans une même cellule. Cette nouvelle plateforme permettrait de développer des traitements pour des maladies multigéniques par exemple la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou encore la maladie de Charcot.

Dans le domaine des maladies cardio-métaboliques, l'élévation de la pression artérielle associée à un taux élevé de LDL-c représentent deux facteurs de risques majeurs de maladies cardiovasculaires et d'infarctus du myocarde (**Figure 50**). En 2017, on estimait à 55 millions le nombre de décès dans le monde dont 17,7 millions ont été attribués à des maladies cardiovasculaires. Leur prévention primaire ou secondaire, grâce à des thérapies efficaces, est donc primordiale (153).

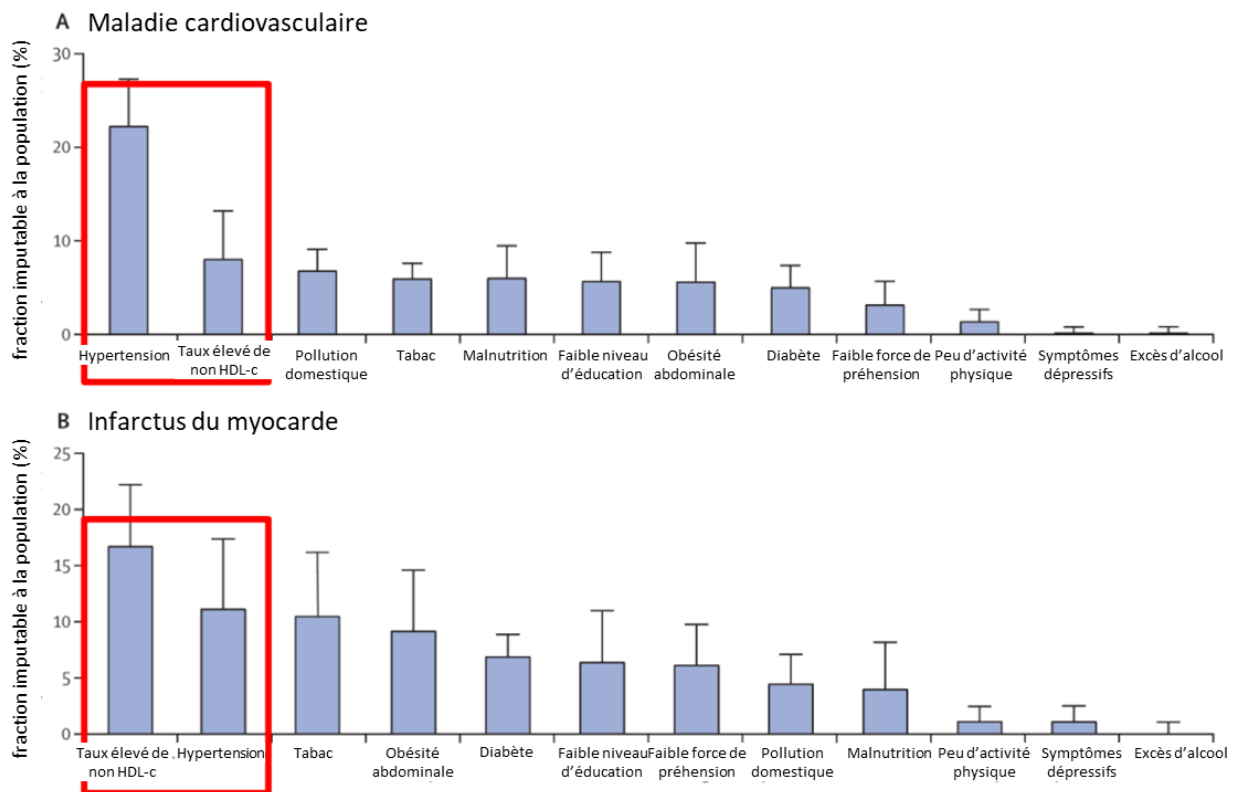


Figure 50 : Graphique des facteurs de risques individuels de maladie cardiovasculaire ou d'infarctus du myocarde, adapté de Yusuf et al., The Lancet, 2020 (153).

HDL-c = cholestérol à lipoprotéine de haute densité

Dans cette perspective, Alnylam Pharmaceuticals prévoit d'identifier en 2023 un candidat médicament ciblant l'ARNm de l'angiotensinogène et l'ARNm de l'angiopoïétine like 3 afin de réduire durablement le LDL-c et la pression artérielle (154).

L'angiotensinogène est une cible pharmacologiquement validée impliquée dans la régulation de la pression artérielle. L'angiopoïétine like 3 est quant à elle une protéine qui intervient dans le métabolisme des trois principaux lipides : le LDL-c, le HDL-c et les triglycérides. C'est un inhibiteur de la lipoprotéine lipase, qui hydrolyse les triglycérides transportés dans les lipoprotéines. Elle permet également d'inhiber la lipase endothéliale pour moduler le métabolisme du HDL-c. Il a été montré que, les personnes présentant une mutation avec perte de fonction du gène *ANGPTL3*, ont une hypolipidémie. L'angiopoïétine like 3 serait donc une cible moléculaire intéressante pour réguler les niveaux de LDL-c, HDL-c et triglycérides, conférant ainsi une protection contre les maladies cardiovasculaires (155). Un anticorps monoclonal ciblant l'angiopoïétine like 3 a d'ailleurs permis de réduire efficacement les taux de LDL-c, validant ainsi cette stratégie thérapeutique (156).

Cette perspective de développement clinique encourageante sera à suivre dans les prochaines années, avec un potentiel d'inhibition simultanée de deux transcrits, durable, sûre et pratique pour le traitement de maladies multigéniques.

Conclusion

Le concept de médicament a largement évolué depuis le début du siècle avec l'arrivée de nouvelles thérapies innovantes, dirigées contre l'ADN ou l'ARNm, en amont de l'action des thérapies conventionnelles sur les protéines. L'exploitation des données génétiques a révolutionné la recherche biomédicale, permettant d'identifier de nouvelles cibles moléculaires impliquées dans des processus physiopathologiques. Le séquençage du génome humain a également contribué au développement de médicaments spécifiques tels que les thérapies ciblées dans les cancers, la thérapie génique ou les oligonucléotides. Dès 1998, un premier traitement par oligonucléotides antisens, à usage intravitréen, dirigé contre l'ARNm du cytomégalovirus, a été commercialisé chez les patients atteints du VIH. Ce traitement novateur, accueilli avec incertitude par la communauté scientifique, a ouvert la voie aux médicaments ciblant les ARNm.

La découverte du mécanisme physiologique d'ARN interférence par Fire et Mello, en 1998, fut une avancée majeure dans la compréhension de la régulation post-transcriptionnelle des gènes. Ces ARN double brins exogènes d'une vingtaine de nucléotides, parfaitement complémentaires de l'ARNm cible, permettent de réprimer l'expression des gènes en dégradant spécifiquement les ARNm. Cela conduit à une diminution de la synthèse protéique. Cependant, l'exploitation de ce phénomène biologique comme option thérapeutique, pour des maladies monogéniques de dysrégulation ou de gain de fonction, a constitué un réel défi. Les chercheurs ont dû mettre au point des technologies d'adressage spécifique afin de, contourner la dégradation des chaînes de nucléotides par les nucléases, d'acheminer spécifiquement l'ARNi à la cellule cible et de limiter la clairance rénale. Deux vecteurs sont aujourd'hui cliniquement validés, les nanoparticules lipidiques et le conjugué trivalent GalNAc. Ils permettent une action spécifique des ARNi au niveau du foie. Ceux-ci sont alors reconnus spécifiquement à la surface des hépatocytes avant d'être internalisés puis libérés dans le cytoplasme. Par ailleurs, une optimisation de la conception de la séquence nucléotidique et des modifications chimiques sur les acides nucléiques étaient indispensables. Elles ont permis de prévenir l'action du système immunitaire contre ces ARN exogènes et limiter les effets *off target* des ARNi. Plusieurs modèles d'optimisation chimiques sont aujourd'hui utilisés par les laboratoires pharmaceutiques. L'ajout de liaisons phosphorothioates ou de groupements chimiques méthoxyle ou fluor sur la séquence de nucléotides a conduit à l'amélioration la pharmacodynamie des traitements et l'augmentation de leur spécificité.

Ces progrès ont permis d'envisager l'utilisation d'ARNi comme une réelle option thérapeutique pour les patients. En 2018, vingt ans après la découverte de Fire et Mello, le premier traitement par ARNi, patisiran (Onpattro®), indiqué dans la prise en charge de la neuropathie amyloïde à transthyrétine, a été commercialisé en Europe et aux Etats Unis. Il est à noter que les centres français, dont l'APHP et le Kremlin-Bicêtre, ont fortement collaboré lors des essais cliniques au développement de cette thérapie. Le patisiran a ouvert la voie à trois autres traitements aujourd'hui commercialisés en France : le givosiran en 2019 dans la porphyrie hépatique aigüe, un an après le lumasiran dans l'hyperoxalurie primitive de type 1 et très récemment le vutrisiran dans l'amylose héréditaire à transthyrétine avec neuropathie.

Les programmes cliniques évaluant des ARNi sont nombreux, avec notamment deux thérapies à des stades avancés que sont, le fitusiran dans d'hémophilie et l'inclisiran dans l'hypercholestérolémie. Les maladies cardiovasculaires représentent un domaine très porteur pour ces nouveaux traitements, puisqu'un ARNi est également évalué dans deux études de phase 2 dans l'hypertension artérielle.

L'innovation se poursuit avec le développement de nouveaux vecteurs et l'espoir de cibler d'autres organes que le foie. Les résultats de phase 1 de l'ALN-APP, un ARNi ciblant l'ARNm de la protéine précurseur de l'amyloïde, dans les stades précoces de la maladie d'Alzheimer, sont encourageants. L'ARN double brin est conjugué à une chaîne de seize carbones, permettant une distribution dans le SNC après administration intrathécale. Enfin, les améliorations de la plateforme technologique entrouvrent des éventualités d'administration annuelle de ces médicaments, comme des vaccins.

Au terme de cette mise au point, nous avons démontré que les ARN interférents compteront comme une nouvelle classe thérapeutique novatrice dans les prochaines années, peut-être même à l'image des anticorps monoclonaux à la fin du vingtième siècle. A date, plus de 200 essais cliniques, évaluant une soixante d'ARNi, ont été enregistré, dont deux tiers ont débuté ces cinq dernières années (**Tableau 2**). Cette expansion de ces nouveaux traitements, dans les années à venir, permettra certainement de prendre en charge des maladies jusque-là incurables.

Il faut encore évoquer un aspect, à l'instar des thérapies géniques, les prix de ces médicaments, commercialisés aujourd'hui dans des maladies rares, sont très élevés et la soutenabilité par la solidarité nationale ne se conçoit que dans le cadre de populations cibles très restreintes, de l'ordre d'une centaine de patients. Malgré tout, il est à noter que, les dates d'obtention des AMM, des quatre ARNi commercialisés, ont été superposables en Europe et aux Etats-Unis, à l'encontre de la représentation que l'innovation est plus tardivement reçue en Europe par rapport à l'Amérique (157). Dans la perspective de la commercialisation d'ARNi dans des maladies prévalentes, les prix devraient considérablement diminuer, notamment grâce à des coûts de fabrication moindre pour des médicaments plus largement utilisés.

Bibliographie

1. Crick F. Central Dogma of Molecular Biology. *Nature*. 1970;227:561-3.
2. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. févr 1998;391(6669):806-11.
3. Harel-Bellan A. Prix Nobel de Médecine 2006 Andrew Z. Fire et Craig C. Mello : Silence, on désactive les gènes. *médecine/sciences*. nov 2006;22(11):993-4.
4. Gillmore JD, Gane E, Taubel J, Kao J, Fontana M, Maitland ML, et al. CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med*. 5 août 2021;385(6):493-502.
5. Roberts TC, Langer R, Wood MJA. Advances in oligonucleotide drug delivery. *Nat Rev Drug Discov*. oct 2020;19(10):673-94.
6. International Human Genome Sequencing Consortium, Whitehead Institute for Biomedical Research, Center for Genome Research, Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 15 févr 2001;409(6822):860-921.
7. Online Mendelian Inheritance in Man. OMIM Gene Map Statistics [Internet]. 2023 [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://omim.org/statistics/geneMap>
8. Institut National du Cancer (INCa). Les prédispositions génétiques [Internet]. 2023 [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/L-organisation-de-l-offre-de-soins/Oncogenetique-et-plateformes-de-genetique-moleculaire/Les-predispositions-genetiques>
9. Institut National du Cancer (INCa). Médecine de précision : exemples d'avancées pour les patients [Internet]. [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Comprendre-la-recherche/La-medecine-de-precision/Exemples-d-avancees-pour-les-patients>
10. AFM Téléthon. Thérapie génique [Internet]. 2019 [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.afm-telethon.fr/fr/termes/therapie-genique>
11. Carrasco-Ramiro F, Peiró-Pastor R, Aguado B. Human genomics projects and precision medicine. *Gene Ther*. sept 2017;24(9):551-61.
12. van Ommen GJB. The Human Genome Project and the future of diagnostics, treatment and prevention. *J Inherit Metab Dis*. 2002;25:183-8.
13. National Institute of Health (NIH). national Human Genome Research Institute. [cité 21 juin 2023]. The Cost of Sequencing a Human Genome. Disponible sur: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Sequencing-Human-Genome-cost>

14. Gorzynski JE, Goenka SD, Shafin K, Jensen TD, Fisk DG, Grove ME, et al. Ultrarapid Nanopore Genome Sequencing in a Critical Care Setting. *N Engl J Med*. 17 févr 2022;386(7):700-2.
15. Khandelwal K. The Smart Cube. 2019 [cité 21 juin 2023]. The Next Big Life Sciences Opportunity: Leveraging Data from Population-scale Sequencing Projects. Disponible sur: <https://www.thesmartcube.com/resources/blog/the-next-big-life-sciences-opportunity-leveraging-data-from-population-scale-sequencing-projects/>
16. Zhang MM, Bahal R, Rasmussen TP, Manautou JE, Zhong X bo. The growth of siRNA-based therapeutics: Updated clinical studies. *Biochem Pharmacol*. juill 2021;189:114432.
17. Egli M, Manoharan M. Chemistry, structure and function of approved oligonucleotide therapeutics. *Nucleic Acids Res*. 11 avr 2023;51(6):2529-73.
18. Belfort Jr R, Goldstein DA, Johnson DW, Mansour SE, Muccioli C, Sheppard JD, et al. A randomized controlled clinical trial of intravitreal fomivirsen for treatment of newly diagnosed peripheral cytomegalovirus retinitis in patients with aids. *Am J Ophthalmol*. avr 2002;133(4):467-74.
19. Résumé des Caractéristiques Produit - Vitravene [Internet]. [cité 24 juin 2023]. Disponible sur: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/1999/199907293331/anx_3331_fr.pdf
20. Vidal [Internet]. 2019. SPINRAZA (nusinersen) : premier médicament à visée curative contre l'amyotrophie spinale 5q. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/23209-spinraza-nusinersen-premier-medicament-a-visee-curative-contre-l-amyotrophie-spinale-5q.html>
21. Masingue M. Avancées dans les amyotrophies spinales proximales liées à SMN1. AFM Téléthon, éditeur. Avancées Rech [Internet]. juin 2023 [cité 24 juin 2023]; Disponible sur: https://www.myobase.org/index.php?lvl=notice_display&id=77432
22. Résumé des Caractéristiques Produit - Spinraza [Internet]. [cité 24 juin 2023]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spinraza-epar-product-information_fr.pdf
23. Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell*. avr 1990;2:279-89.
24. Romano N, Macino G. Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. *Mol Microbiol*. nov 1992;6(22):3343-53.
25. Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA, Bartel DP. RNAi: Double-Stranded RNA Directs the ATP-Dependent Cleavage of mRNA at 21 to 23 Nucleotide Intervals.

26. Caplen NJ, Fleenor J, Fire A, Morgan RA. dsRNA-mediated gene silencing in cultured *Drosophila* cells: a tissue culture model for the analysis of RNA interference. *Gene*. juill 2000;252(1-2):95-105.
27. Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature*. mai 2001;411(6836):494-8.
28. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006 [Internet]. Communiqué de Presse présenté à; 2006 oct 2 [cité 28 oct 2022]; Karolinska Institutet. Disponible sur: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2006/summary/>
29. Mello C. Return to the RNAi world: rethinking gene expression and evolution. *Cell Death Differ*. déc 2007;14(12):2013-20.
30. Fire AZ. Gene Silencing by Double-Stranded RNA (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed*. 17 sept 2007;46(37):6966-84.
31. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. déc 1993;75(5):843-54.
32. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol*. 3 août 2018;9:402.
33. Makarova JA, Shkurnikov MU, Wicklein D, Lange T, Samatov TR, Turchinovich AA, et al. Intracellular and extracellular microRNA: An update on localization and biological role. *Prog Histochem Cytochem*. nov 2016;51(3-4):33-49.
34. Wilson RC, Doudna JA. Molecular Mechanisms of RNA Interference. *Annu Rev Biophys*. 6 mai 2013;42(1):217-39.
35. Bartel DP. MicroRNAs : genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. janv 2004;116(2):281-97.
36. Forbes TA, Brown BD, Lai C. Therapeutic RNA interference: A novel approach to the treatment of primary hyperoxaluria. *Br J Clin Pharmacol*. juin 2022;88(6):2525-38.
37. Friedrich M, Aigner A. Therapeutic siRNA: State-of-the-Art and Future Perspectives. *BioDrugs*. sept 2022;36(5):549-71.
38. Vaishnaw AK, Gollob J, Gamba-Vitalo C, Hutabarat R, Sah D, Meyers R. A status report on RNAi therapeutics. 2010;13.
39. Jackson AL, Linsley PS. Recognizing and avoiding siRNA off-target effects for target identification and therapeutic application. *Nat Rev Drug Discov*. janv 2010;9(1):57-67.
40. Akinc A, Querbes W, De S, Qin J, Frank-Kamenetsky M, Jayaprakash KN, et al. Targeted Delivery of RNAi Therapeutics With Endogenous and Exogenous Ligand-Based Mechanisms. *Mol Ther*. juill 2010;18(7):1357-64.

41. Akinc A, Maier MA, Manoharan M, Fitzgerald K, Jayaraman M, Barros S, et al. The Onpattro story and the clinical translation of nanomedicines containing nucleic acid-based drugs. *Nat Nanotechnol.* déc 2019;14(12):1084-7.
42. Mui BL. Influence of Polyethylene Glycol Lipid Desorption Rates on Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of siRNA Lipid Nanoparticles. *Mol Ther.*
43. Zimmermann TS, Lee ACH, Akinc A, Bramlage B, Bumcrot D, Fedoruk MN, et al. RNAi-mediated gene silencing in non-human primates. *Nature.* mai 2006;441(7089):111-4.
44. Maraganore J. Reflections on Alnylam. *Nat Biotechnol.* :10, 641–650 (2022).
45. Semple SC, Akinc A, Chen J, Sandhu AP, Mui BL, Cho CK, et al. Rational design of cationic lipids for siRNA delivery. *Nat Biotechnol.* févr 2010;28(2):172-6.
46. Jayaraman M, Ansell SM, Mui BL, Tam YK, Chen J, Du X, et al. Maximizing the Potency of siRNA Lipid Nanoparticles for Hepatic Gene Silencing In Vivo**. *Angew Chem Int Ed.* 20 août 2012;51(34):8529-33.
47. Coelho T, Adams D, Silva A, Lozeron P, Hawkins PN, Mant T, et al. Safety and Efficacy of RNAi Therapy for Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med.* 29 août 2013;369(9):819-29.
48. Springer AD, Dowdy SF. GalNAc-siRNA Conjugates: Leading the Way for Delivery of RNAi Therapeutics. *Nucleic Acid Ther.* juin 2018;28(3):109-18.
49. Nair JK, Willoughby JLS, Chan A, Charisse K, Alam MdR, Wang Q, et al. Multivalent N-Acetylgalactosamine-Conjugated siRNA Localizes in Hepatocytes and Elicits Robust RNAi-Mediated Gene Silencing. *J Am Chem Soc.* 10 déc 2014;136(49):16958-61.
50. Kenski DM, Butora G, Willingham AT, Cooper AJ, Fu W, Qi N, et al. siRNA-optimized Modifications for Enhanced In Vivo Activity. *Mol Ther.*
51. Wan WB, Seth PP. The Medicinal Chemistry of Therapeutic Oligonucleotides. *J Med Chem.* 10 nov 2016;59(21):9645-67.
52. Foster DJ, Brown CR, Shaikh S, Trapp C, Schlegel MK, Qian K, et al. Advanced siRNA Designs Further Improve In Vivo Performance of GalNAc-siRNA Conjugates. *Mol Ther.* mars 2018;26(3):708-17.
53. Hu B, Zhong L, Weng Y, Peng L, Huang Y, Zhao Y, et al. Therapeutic siRNA: state of the art. *Signal Transduct Target Ther.* 19 juin 2020;5(1):101.
54. Judge DP, Kristen AV, Grogan M, Maurer MS, Falk RH, Hanna M, et al. Phase 3 Multicenter Study of Revusiran in Patients with Hereditary Transthyretin-Mediated (hATTR) Amyloidosis with Cardiomyopathy (ENDEAVOUR). *Cardiovasc Drugs Ther.* juin 2020;34(3):357-70.
55. Brown CR, Gupta S, Qin J, Racie T, He G, Lentini S, et al. Investigating the pharmacodynamic durability of GalNAc-siRNA conjugates. *Nucleic Acids Res.* 2 déc 2020;48(21):11827-44.

56. Nair JK, Attarwala H, Sehgal A, Wang Q, Aluri K, Zhang X, et al. Impact of enhanced metabolic stability on pharmacokinetics and pharmacodynamics of GalNAc–siRNA conjugates. *Nucleic Acids Res.* 2 nov 2017;45(19):10969-77.
57. Fitzgerald K, White S, Borodovsky A, Bettencourt BR, Strahs A, Clausen V, et al. A Highly Durable RNAi Therapeutic Inhibitor of PCSK9. *N Engl J Med.* 5 janv 2017;376(1):41-51.
58. McDougall R, Ramsden D, Agarwal S, Agarwal S, Aluri K, Arciprete M, et al. The Nonclinical Disposition and Pharmacokinetic/ Pharmacodynamic Properties of N-Acetylgalactosamine–Conjugated Small Interfering RNA Are Highly Predictable and Build Confidence in Translation to HumanS. *Drug Metabolism and Disposition.* juin 2022;Vol. 50, Issue 6:781-97.
59. Habtemariam BA, Karsten V, Attarwala H, Goel V, Melch M, Clausen VA, et al. Single-Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Transthyretin Targeting N-acetylgalactosamine–Small Interfering Ribonucleic Acid Conjugate, Vutrisiran, in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Ther.* févr 2021;109(2):372-82.
60. Balwani M, Sardh E, Ventura P, Peiró PA, Rees DC, Stölzel U, et al. Phase 3 Trial of RNAi Therapeutic Givosiran for Acute Intermittent Porphyria. *N Engl J Med.* 11 juin 2020;382(24):2289-301.
61. Résumé des Caractéristiques Produit - Givlaari [Internet]. [cité 20 oct 2022]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/givlaari-epar-product-information_fr.pdf
62. Alnylam Clinical Development Pipeline [Internet]. [cité 3 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.alnylam.com/index.php/alnylam-rnai-pipeline>
63. Alnylam R&D Day 2021 presentation [Internet]. 2021 nov [cité 3 janv 2023]. Disponible sur: <https://capella.alnylam.com/our-science/capella-rnai-innovation/page/3>
64. Janas MM, Schlegel MK, Harbison CE, Yilmaz VO, Jiang Y, Parmar R, et al. Selection of GalNAc-conjugated siRNAs with limited off-target-driven rat hepatotoxicity. *Nat Commun.* déc 2018;9(1):723.
65. Maier MA, Foster DJ, Nair JK, Attarwala H, Brown CR, Zhang X, et al. Impact of Enhanced Metabolic Stability on In Vivo Performance of GalNAc–siRNA Conjugates [Internet]. [cité 3 janv 2023]. Disponible sur: https://www.alnylam.de/wp-content/uploads/2017/09/OTS-2017_Poster-3_Maier-et-al..pdf
66. Centre de Référence des Maladies Rares « Neuropathies Périphériques Rares » CHU de Bicêtre. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) - Neuropathie amyloïde héréditaire à transthyrétine (NAH-TTR) [Internet]. 2022 juill [cité 20 oct 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-07/texte_pnds_ttr_final.pdf
67. Hawkins PN, Ando Y, Dispenzeri A, Gonzalez-Duarte A, Adams D, Suhr OB. Evolving landscape in the management of transthyretin amyloidosis. *Ann Med.* 17 nov 2015;47(8):625-38.

68. Parman Y, Adams D, Obici L, Galán L, Guergueltcheva V, Suhr OB, et al. Sixty years of transthyretin familial amyloid polyneuropathy (TTR-FAP) in Europe: where are we now? A European network approach to defining the epidemiology and management patterns for TTR-FAP. *Curr Opin Neurol.* févr 2016;29(Supplement 1):S3-13.
69. Schmidt HH, Waddington-Cruz M, Botteman MF, Carter JA, Chopra AS, Hopps M, et al. Estimating the global prevalence of transthyretin familial amyloid polyneuropathy: ATTR-FAP Global Prevalence. *Muscle Nerve.* mai 2018;57(5):829-37.
70. Gertz MA. Hereditary ATTR Amyloidosis: Burden of Illness and Diagnostic Challenges. *Am J Manag Care.* 13 juin 2017;23(7).
71. Rapezzi C, Quarta CC, Obici L, Perfetto F, Longhi S, Salvi F, et al. Disease profile and differential diagnosis of hereditary transthyretin-related amyloidosis with exclusively cardiac phenotype: an Italian perspective. *ada.* 1 févr 2013;34(7):520-8.
72. Conceição I, González-Duarte A, Obici L, Schmidt HH -J., Simoneau D, Ong M, et al. “Red-flag” symptom clusters in transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst.* mars 2016;21(1):5-9.
73. Adams D, Gonzalez-Duarte A, O’Riordan WD, Yang CC, Ueda M, Kristen AV, et al. Patisiran, an RNAi Therapeutic, for Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med.* 5 juill 2018;379(1):11-21.
74. Résumé des Caractéristiques Produit - Onpattro [Internet]. [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2022/20220216154884/anx_154884_fr.pdf
75. Comité des Médicaments Orphelins. La désignation des médicaments orphelins dans l’Union européenne [Internet]. [cité 3 mars 2023]. Disponible sur: https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/Medicaments_Orphelins.pdf
76. HAS. Commission de la transparence. Avis du 20 mars 2019. Onpattro 2 mg/mL, solution pour injection [Internet]. 2019 [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2912139/fr/onpattro-20032019-avis-ct17388
77. Présentation du palmarès 2020 du Prix Galien France [Internet]. [cité 4 oct 2022]. Disponible sur: https://www.prixgalien.fr/wp-content/uploads/2020/12/DOSSIER_PRESSE_PRIX-GALIEN-2020.pdf
78. Maurer MS, Fontana M, Berk JL, Gustafsson F, Simões M, Grogan M, et al. Principaux résultats d’APOLLO-B, une étude de phase 3 du patisiran chez des patients atteints d’amylose à transthyrétine avec cardiomyopathie. *Rev Médecine Interne.* juin 2023;44:A117-8.
79. Alnylam Pharmaceuticals. A Phase 2, Open-label Extension Study to Evaluate the Long-Term Safety, Clinical Activity, and Pharmacokinetics of ALN-TTRSC in Patients With Transthyretin (TTR) Cardiac Amyloidosis Who Have Previously Received ALN-TTRSC [Internet]. clinicaltrials.gov; 2020 juill [cité 18 oct 2022]. Report No.: results/NCT02292186. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT02292186>

80. Alnylam Pharmaceuticals. HELIOS-B: A Phase 3, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Multicenter Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Vutrisiran in Patients With Transthyretin Amyloidosis With Cardiomyopathy (ATTR Amyloidosis With Cardiomyopathy) [Internet]. clinicaltrials.gov; 2022 oct [cité 20 oct 2022]. Report No.: NCT04153149. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04153149>
81. Adams D, Tournev IL, Taylor MS, Coelho T, Planté-Bordeneuve V, Berk JL, et al. Efficacy and safety of vutrisiran for patients with hereditary transthyretin-mediated amyloidosis with polyneuropathy: a randomized clinical trial. *Amyloid*. 23 juill 2022;1-9.
82. HAS. Commission de la transparence. Avis du 14 décembre 2022. Amvuttra 25 mg, solution injectable en seringue préremplie [Internet]. 2022. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-20058_AMVUTTRA_PIC_INS_AvisDef_CT20058.pdf
83. HAS. Commission de la transparence. Décision n°2022.0466/DC/SEM du 8 décembre 2022 du collège de la Haute Autorité de santé portant autorisation d'accès précoce de la spécialité AMVUTTRA.
84. Wang B, Rudnick S, Cengia B, Bonkovsky HL. Acute Hepatic Porphyrrias: Review and Recent Progress: *Hepatology Communications*. *Hepatol Commun*. févr 2019;3(2):193-206.
85. Centre de Référence Maladies Rares Porphyries - Centre français des Porphyries. LES PORPHYRIES : DÉFINITIONS [Internet]. [cité 22 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.porphyrrie.net/les-porphyrries-definitions/>
86. Nordmann Y, Puy H, Da Silva V, Simonin S, Robreau AM, Bonaiti C, et al. Acute intermittent porphyria: prevalence of mutations in the porphobilinogen deaminase gene in blood donors in France. *J Intern Med*. sept 1997;242(3):213-7.
87. Pischik E, Kauppinen R. An update of clinical management of acute intermittent porphyria. *Appl Clin Genet*. sept 2015;201.
88. Simon A, Pompilus F, Querbes W, Wei A, Strzok S, Penz C, et al. Patient Perspective on Acute Intermittent Porphyria with Frequent Attacks: A Disease with Intermittent and Chronic Manifestations. *Patient - Patient-Centered Outcomes Res*. oct 2018;11(5):527-37.
89. Gouya L, Ventura P, Balwani M, Bissell DM, Rees DC, Stölzel U, et al. EXPLORE: A Prospective, Multinational, Natural History Study of Patients with Acute Hepatic Porphyria with Recurrent Attacks. *Hepatology*. mai 2020;71(5):1546-58.
90. EUROPEAN PORPHYRIA NETWORK. EUROPEAN PORPHYRIA NETWORK. 2020 [cité 22 févr 2023]. Treatment of the acute attack. Disponible sur: <https://porphyria.eu/en/content/treatment-acute-attack>
91. HAS. Commission de la transparence. Avis du 24 juin 2020. Givlaari 189 mg/1 mL, solution injectable [Internet]. [cité 21 oct 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-18608_GIVLAARI_PIC_INS_avisDef_CT18608.pdf
92. Dr Marie-France Gagnadoux, Dr Laurence Heidet, Dr Micheline Levy, Dr Pierre Cochat. ORKiD : Filière Orphan Kidney Diseases. [cité 24 févr 2023]. Fiche pathologie :

HYPEROXALURIE PRIMITIVE. Disponible sur:
https://www.filiereorkid.com/hyperoxalurie_primitive/

93. Orpha Net. Hyperoxalurie Primitive [Internet]. 2020 [cité 18 oct 2022]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=FR&Expert=416#:~:text=La%20pr%C3%A9valence%20de%20%27hyperoxalurie,et%20en%20Afrique%20du%20Nord.
94. Groothoff JW, Metry E, Deesker L, Garrelfs S, Acquaviva C, Almardini R, et al. Clinical practice recommendations for primary hyperoxaluria: an expert consensus statement from ERKNet and OxalEurope. *Nat Rev Nephrol.* mars 2023;19(3):194-211.
95. Cochat P, Fargue S, Bacchetta J, Bertholet-Thomas A, Sabot JF, Harambat J. Hyperoxalurie primitive. *Néphrologie Thérapeutique.* juill 2011;7(4):249-59.
96. Centres de Référence des Maladies Rénales rares sous l'égide de la filière ORKiD. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) - Hyperoxalurie [Internet]. 2022 déc [cité 26 févr 2023]. Disponible sur: https://www.filiereorkid.com/wp-content/uploads/2023/01/Texte_PNDS_Hyperoxalurie_20221231.pdf
97. Daudon M, Bader CA, Jungers P. Urinary calculi: review of classification methods and correlations with etiology. *Scanning Microsc.* sept 1993;7(3):1081-104; discussion 1104-1106.
98. Résumé des Caractéristiques Produit - Oxlumo [Internet]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/oxlumo-epar-product-information_fr.pdf
99. Garrelfs SF, Frishberg Y, Hulton SA, Koren MJ, O'Riordan WD, Cochat P, et al. Lumasiran, an RNAi Therapeutic for Primary Hyperoxaluria Type 1. *N Engl J Med.* 1 avr 2021;384(13):1216-26.
100. Lieske J, Groothoff JW, Frishberg Y, Sellier-Leclerc AL, Shasha-Lavsky H, Hulton SA. Efficacy and Safety of Lumasiran in Patients With Primary Hyperoxaluria Type 1: 24-Month Analysis of the ILLUMINATE-A Trial. Poster présenté à; 2022 avr; National Kidney Foundation Spring Clinical Meetings ; Boston, MA.
101. Hulton SA, Groothoff JW, Frishberg Y, Koren MJ, Overcash JS, Sellier-Leclerc AL, et al. Randomized Clinical Trial on the Long-Term Efficacy and Safety of Lumasiran in Patients With Primary Hyperoxaluria Type 1. *Kidney Int Rep.* mars 2022;7(3):494-506.
102. Sas DJ, Magen D, Hayes W, Shasha-Lavsky H, Michael M, Schulte I, et al. Phase 3 trial of lumasiran for primary hyperoxaluria type 1: A new RNAi therapeutic in infants and young children. *Genet Med.* mars 2022;24(3):654-62.
103. Hayes W, Sas DJ, Magen D, Shasha-Lavsky H, Michael M, Sellier-Leclerc AL, et al. Efficacy and safety of lumasiran for infants and young children with primary hyperoxaluria type 1: 12-month analysis of the phase 3 ILLUMINATE-B trial. *Pediatr Nephrol.* avr 2023;38(4):1075-86.

104. Michael M, Groothoff JW, Shasha-Lavsky H, Lieske JC, Frishberg Y, Simkova E, et al. Lumasiran for Advanced Primary Hyperoxaluria Type 1: Phase 3 ILLUMINATE-C Trial. *Am J Kidney Dis.* juill 2022;S0272638622007715.
105. Haute Autorité de Santé. Avis économique - Oxlumo [Internet]. 2021 mai [cité 3 mars 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-10/oxlumo_11052021_avis_economique.pdf
106. HAS. Commission de la transparence. Avis du 21 avril 2021. Oxlumo 94,5 mg/0,5 mL, solution injectable [Internet]. 2021 [cité 18 oct 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-19056_OXLUMO_PIC_INS_AvisDef_CT19056_EPI726.pdf
107. Baum MA. PHYOX2: a pivotal randomized study of nedosiran in primary hyperoxaluria type 1 or 2. *Kidney Int.* 2022;11.
108. Hoppe B, Koch A, Cochat P, Garrelfs SF, Baum MA, Groothoff JW, et al. Safety, pharmacodynamics, and exposure-response modeling results from a first-in-human phase 1 study of nedosiran (PHYOX1) in primary hyperoxaluria. *Kidney Int.* mars 2022;101(3):626-34.
109. Baum MA, Langman C, Cochat P. Supplementary Appendix to PHYOX2: A Pivotal Randomized Study of Nedosiran in Primary Hyperoxaluria Type 1 or 2. 2022.
110. Negrier C, Shima M, Hoffman M. The central role of thrombin in bleeding disorders. *Blood Rev.* nov 2019;38:100582.
111. Orpha Net. Hémophilie [Internet]. 2022 [cité 3 mai 2023]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=448
112. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia.* août 2020;26(S6):1-158.
113. FranceCoag [Internet]. 2023 [cité 19 juill 2023]. Statistiques nationales hémophilie. Disponible sur: https://francecoag.org/SiteWebPublic/public/stats/stats_page.jsp?stat2=on&stat3=on
114. Centre de Référence Hémophilie et autres déficits constitutionnels en protéines de la coagulation. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) - Hémophilie [Internet]. 2019 [cité 3 mai 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2019-10/pnds_hemophilie_argumentaire_10.10.19.pdf
115. HAS. Commission de la transparence. Avis du 11 juillet 2018. Hemlibra 30 mg/ml, solution injectable [Internet]. 2018 [cité 3 mai 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-16921_HEMLIBRA_PIC_Ins_Avis2_CT16921.pdf
116. Pasi KJ, Rangarajan S, Georgiev P, Mant T, Creagh MD, Lissitchkov T, et al. Targeting of Antithrombin in Hemophilia A or B with RNAi Therapy. *N Engl J Med.* 31 août 2017;377(9):819-28.

117. Srivastava A, Rangarajan S, Kavakli K, Klamroth R, Kenet G, Khoo L, et al. Fitusiran prophylaxis in people with severe haemophilia A or haemophilia B without inhibitors (ATLAS-A/B): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Haematol.* mai 2023;10(5):e322-32.
118. Young G, Srivastava A, Kavakli K, Ross C, Sathar J, You CW, et al. Efficacy and safety of fitusiran prophylaxis in people with haemophilia A or haemophilia B with inhibitors (ATLAS-INH): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *The Lancet.* avr 2023;401(10386):1427-37.
119. Kenet G, Nolan B, Matsushita T, Young G, Quan T, Cano V, et al. Fitusiran Prophylaxis Improves Health-Related Quality of Life in People with Hemophilia a or B, with or without Inhibitors: Results of ATLAS-PPX Study. *Blood.* 15 nov 2022;140(Supplement 1):7977-8.
120. Vaduganathan M, Mensah GA, Turco JV, Fuster V, Roth GA. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk. *J Am Coll Cardiol.* déc 2022;80(25):2361-71.
121. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 21 août 2017;38(32):2459-72.
122. Raal FJ, Kallend D, Ray KK, Turner T, Koenig W, Wright RS, et al. Inclisiran for the Treatment of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 16 avr 2020;382(16):1520-30.
123. Farnier M. PCSK9: From discovery to therapeutic applications. *Arch Cardiovasc Dis.* janv 2014;107(1):58-66.
124. Duriez P. Mécanismes d'action des statines et des fibrates. *Therapies.* janv 2003;58(1):5-14.
125. Résumé des Caractéristiques Produit - Praluent.
126. Résumé des Caractéristiques Produit - Repatha.
127. Sabouret P, Farnier M, Puymirat E. Inhibiteurs de PCSK9 : quelle place dans la prise en charge actuelle des dyslipidémies ? *Presse Médicale.* mars 2019;48(3):227-37.
128. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J.* 7 sept 2021;42(34):3227-337.
129. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 1 janv 2020;41(1):111-88.
130. Résumé des Caractéristiques Produit - Leqvio.

131. Ray KK, Wright RS, Kallend D, Koenig W, Leiter LA, Raal FJ, et al. Two Phase 3 Trials of Inclisiran in Patients with Elevated LDL Cholesterol. *N Engl J Med.* 16 avr 2020;382(16):1507-19.
132. Organisation Mondiale de la Santé. Hypertension [Internet]. 2023 [cité 20 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hypertension#:~:text=Principaux%20faits,%C3%A0%20revenu%20faible%20ou%20interm%C3%A9diaire>.
133. Desai AS, Webb DJ, Taubel J, Casey S, Cheng Y, Robbie GJ, et al. Zilebesiran, an RNA Interference Therapeutic Agent for Hypertension. *N Engl J Med.* 20 juill 2023;389(3):228-38.
134. Olié V, Grave C, Gabet A, Chatignoux E, Gautier A, Bonaldi C, et al. Épidémiologie de l'hypertension artérielle en France : prévalence élevée et manque de sensibilisation de la population. *Bull Épidémiologique Hebd.* 16 mai 2023;(8):130-8.
135. Mancia G, Rosei EA, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension.
136. VIDAL. [Vidal.fr](https://www.vidal.fr). 2022 [cité 25 juill 2023]. Les médicaments de l'HTA. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/coeur-circulation-veines/hypertension-arterielle/medicaments.html#:~:text=Cinq%20classes%20d'antihypertenseurs%20sont,antagonistes%20de%20l'angiotensine%20II>.
137. Alnylam Pharmaceuticals. A Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled, Dose-Ranging Multicenter Study to Evaluate the Efficacy and Safety of ALN-AGT01 in Patients With Mild-to-Moderate Hypertension [Internet]. clinicaltrials.gov; 2021 juill [cité 21 juill 2023]. Report No.: NCT04936035. Disponible sur: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04936035>
138. Alnylam Pharmaceuticals. A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Multicenter Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Zilebesiran Used as Add-on Therapy in Patients With Hypertension Not Adequately Controlled by a Standard of Care Antihypertensive Medication [Internet]. clinicaltrials.gov; 2021 nov [cité 21 juill 2023]. Report No.: NCT05103332. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05103332>
139. Brown KM, Nair JK, Janas MM, Anglero-Rodriguez YI, Dang LTH, Peng H, et al. Expanding RNAi therapeutics to extrahepatic tissues with lipophilic conjugates. *Nat Biotechnol.* oct 2022;40(10):1500-8.
140. Oligonucleotide Therapeutics Society. 2022 Paper of the Year Award – Basic Research Category [Internet]. 2022 [cité 5 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.oligotherapeutics.org/2022-paper-of-the-year-award-basic-research-category/>
141. Orpha Net. Hémorragie cérébrale héréditaire avec amylose [Internet]. 2013 [cité 5 juill 2023]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=85458
142. World Alzheimer Report 2015, The Global Impact of Dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends.

143. Alnylam Pharmaceuticals. A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Single Ascending Dose and Open-label Multi-dose Study to Evaluate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intrathecally Administered ALN-APP in Adult Patients With Early-onset Alzheimer's Disease (EOAD) [Internet]. clinicaltrials.gov; 2022 févr [cité 18 juill 2023]. Report No.: NCT05231785. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05231785?term=ALN-APP&rank=1>
144. Cohen S. Interim Phase 1 Part A Results for ALN-APP, the First Investigational RNAi Therapeutic in Development for Alzheimer's Disease [Internet]. 2023 juill 16 [cité 18 juill 2023]; e Alzheimer's Association International Conference (AAIC) in Amsterdam. Disponible sur: https://capella.alnylam.com/wp-content/uploads/2023/07/ALN-APP_AAIC_2023.pdf
145. Alnylam Pharmaceuticals, Regeneron Pharmaceuticals. Positive Interim Phase 1 Clinical Data on ALN-APP, an Investigational RNAi Therapeutic for Alzheimer's Disease and Cerebral Amyloid Angiopathy [Internet]. 2023 [cité 5 juill 2023]. Disponible sur: <https://investors.alnylam.com/press-release?id=27441>
146. Boutary S, Echaniz-Laguna A, Adams D, Loisel-Duwattez J, Schumacher M, Massaad C, et al. Treating PMP22 gene duplication-related Charcot-Marie-Tooth disease: the past, the present and the future. *Transl Res.* janv 2021;227:100-11.
147. AFM Téléthon, éditeur. Maladie de Charcot-Marie-Tooth. Fiche Tech [Internet]. mars 2013 [cité 25 juin 2023]; Disponible sur: https://www.filmemus.fr/fileadmin/documentation/Documentation_medicale/SC_FT_31_CMT_not12025_2013.pdf
148. Centre de Référence coordinateur des Maladies Neuromusculaires rares et de la SLA - CHU La Timone. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) - Neuropathies héréditaires sensitivomotrices de Charcot-Marie-Tooth [Internet]. 2020 mars [cité 25 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-03/pnds-cmt-sa-v2-converti.pdf>
149. Boutary S, Caillaud M, El Madani M, Vallat JM, Loisel-Duwattez J, Rouyer A, et al. Squalenoyl siRNA PMP22 nanoparticles are effective in treating mouse models of Charcot-Marie-Tooth disease type 1 A. *Commun Biol.* 9 mars 2021;4(1):317.
150. Alnylam Pharmaceuticals. A Phase 1, Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled, Single-Ascending Dose Study to Evaluate the Safety, Tolerability, Pharmacokinetics (PK), and Pharmacodynamics (PD) of Subcutaneously Administered ALN-TTRSC04 in Healthy Subjects [Internet]. clinicaltrials.gov; [cité 13 juill 2023]. Report No.: NCT05661916. Disponible sur: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05661916>
151. Cruz-López EO, Ye D, Wu C, Lu HS, Uijl E, Mirabito Colafella KM, et al. Angiotensinogen Suppression: A New Tool to Treat Cardiovascular and Renal Disease. *Hypertension.* oct 2022;79(10):2115-26.
152. Zlatev I, Castoreno A, Brown CR, Qin J, Waldron S, Schlegel MK, et al. Reversal of siRNA-mediated gene silencing in vivo. *Nat Biotechnol.* juill 2018;36(6):509-11.

153. Yusuf S, Joseph P, Rangarajan S, Islam S, Mente A, Hystad P, et al. Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*. mars 2020;395(10226):795-808.
154. Alnylam Pharmaceuticals. Alnylam Announces 2022 Product and Pipeline Goals and Provides Program Updates at R&D Day [Internet]. 2021 [cité 19 juill 2023]. Disponible sur: <https://investors.alnylam.com/press-release?id=26236>
155. Wang X, Musunuru K. Angiopoietin-Like 3. *JACC Basic Transl Sci*. oct 2019;4(6):755-62.
156. Résumé des Caractéristiques Produit - Evkeeza [Internet]. [cité 19 juill 2023]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/evkeeza-epar-product-information_fr.pdf
157. Bouvenot G. Les traitements par ARN interférents et par oligonucléotides antisens actuellement disponibles en France : une mise au point. *Bull Académie Natl Médecine*. avr 2022;206(4):554-8.

Annexe

Tableau 2 : siARN en développement clinique (à la date d'août 2023), liste non exhaustive.

Clinical Trials	Traitement	Pathologie	Administration	Phase	Sponsor principal	Statut	Début de l'étude
NCT05876312	ADX-038	Hémoglobinurie paroxystique nocturne	/	Phase 1	ADARx Pharmaceuticals	Recrutement	03/07/2023
NCT05561530	ALG-125755	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Aligos Therapeutics	Recrutement	07/10/2022
NCT02503683	ALN-AAT	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	09/07/2015
NCT03767829	ALN-AAT02	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 - 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	05/12/2018
NCT05231785	ALN-APP	Maladie d'Alzheimer à début précoce	Injection intrathécale	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Recrutement	04/02/2022
NCT04565717	ALN-HSD	Stéato-hépatite non alcoolique (NASH)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Recrutement	09/10/2020
NCT05761301	ALN-KHK	Surpoids	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 - 2	Alnylam Pharmaceuticals	Recrutement	10/03/2023
NCT01437059	ALN-PCS02	Hypercholestérolémie	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/09/2011
NCT05661916	ALN-TTRSC04	Amylose à transthyréline	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Inscription sur invitation	16/01/2023
NCT05256810	ALN-XDH	Goutte	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 - 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	25/02/2022
NCT02352493	Cemdisiran (ALN-CC5)	Néphropathie à IgA	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 - 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/01/2015
NCT03841448	Cemdisiran (ALN-CC5)	Néphropathie à IgA	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	24/04/2019
NCT02452372	Givosiran (ALN-AS1)	Porphyrie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	06/05/2015
NCT02949830	Givosiran (ALN-AS1)	Porphyrie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 - 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/10/2016
NCT03338816	Givosiran (ALN-AS1)	Porphyrie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ENVISION)	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	16/11/2017

NCT03505853	Givosiran (ALN-AS1)	Porphyrie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	26/04/2018
NCT02314442	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/12/2014
NCT02706886	Lumasiran (ALN-GO1)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 - 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	08/03/2016
NCT03350451	Lumasiran (ALN-GO1)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	04/04/2018
NCT03681184	Lumasiran (ALN-GO1)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ILLUMINATE-A)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	27/11/2018
NCT03905694	Lumasiran (ALN-GO1)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ILLUMINATE-B)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	22/04/2019
NCT04152200	Lumasiran (ALN-GO1)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ILLUMINATE-C)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	21/01/2020
NCT01559077	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/03/2012
NCT01617967	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/05/2012
NCT01961921	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/10/2013
NCT01960348	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 3 (APOLLO)	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/11/2013
NCT02053454	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/01/2014
NCT02510261	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 3	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/07/2015
NCT03862807	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 3 (post OLT)	Alnylam Pharmaceuticals	Terminée	27/03/2019
NCT03997383	Patisiran (ALN-TTR02)	Amylose à transthyrétine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 3 (APOLLO B)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	04/09/2019
NCT01814839	Revusiran (ALN-TTRSC)	Amylose à transthyrétine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/03/2013
NCT01981837	Revusiran (ALN-TTRSC)	Amylose à transthyrétine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/12/2013

NCT02292186	Revusiran (ALN-TTRSC)	Amylose à transthyrétine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/10/2014
NCT02319005	Revusiran (ALN-TTRSC)	Amylose à transthyrétine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ENDEAVOUR)	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/12/2014
NCT02595983	Revusiran (ALN-TTRSC)	Amylose à transthyrétine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/10/2015
NCT02826018	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	24/06/2016
NCT02797847	Vutrisiran (ALN-TTRSC02)	Amylose à transthyrétine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	07/06/2016
NCT03759379	Vutrisiran (ALN-TTRSC02)	Amylose à transthyrétine (HELIOS-A)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (HELIOS-A)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	14/02/2019
NCT04153149	Vutrisiran (ALN-TTRSC02)	Amylose à transthyrétine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (HELIOS B)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	26/11/2019
NCT03934307	Zilebesiran (ALN-AGT01)	Hypertension	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Alnylam Pharmaceuticals	Terminé	01/05/2019
NCT04936035	Zilebesiran (ALN-AGT01)	Hypertension	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (KARDIA 1)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	07/07/2021
NCT05103332	Zilebesiran (ALN-AGT01)	Hypertension	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (KARDIA 2)	Alnylam Pharmaceuticals	En cours de suivi	05/11/2021
NCT04270760	Olpasiran (AMG 890)	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (OCEAN(a)-DOSE)	Amgen	Terminé	28/07/2020
NCT04987320	Olpasiran (AMG 890)	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Amgen	Terminé	28/07/2021
NCT05489614	Olpasiran (AMG 890)	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Amgen	Recrutement	13/09/2022
NCT05481411	Olpasiran (AMG 890)	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Amgen	Terminé	13/09/2022
NCT05581303	Olpasiran (AMG 890)	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (OCEAN(a))	Amgen	Recrutement	14/12/2022
NCT04980482	AB-729	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Arbutus Biopharma	En cours de suivi	29/10/2021
NCT01262235	TKM-080301	Tumeur neuroendocrine	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Arbutus Biopharma	Terminé	01/12/2010
NCT03747224	ARO-ANG3	Dyslipidémie mixte	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Terminé	07/01/2019

NCT04832971	ARO-ANG3	Dyslipidémie mixte	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours de suivi	28/06/2021
NCT05217667	ARO-ANG3	Dyslipidémie mixte	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (GATEWAY)	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours de suivi	22/04/2022
NCT05083364	ARO-C3	Néphropathie à IgA	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Recrutement	02/02/2022
NCT04169711	ARO-HIF2	Carcinome rénal	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Terminé	17/08/2020
NCT04202354	ARO-HSD (GSK4532990)	Stéato-hépatite non alcoolique (NASH)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Terminé	03/03/2020
NCT05537025	ARO-MMP7	Fibrose pulmonaire idiopathique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1-2	Arrowhead Pharmaceuticals	Recrutement	30/01/2023
NCT05292950	ARO-MUC5AC	Asthme / BPCO	Inhalation	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Recrutement	27/06/2022
NCT05276570	ARO-RAGE	Asthme	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Recrutement	29/06/2022
NCT05533294	ARO-RAGE	Asthme	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Recrutement	29/11/2022
NCT05949294	ARO-SOD1	Sclérose latérale amyotrophique	Injection intrathécale	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours d'ouverture	01/10/2023
NCT03945292	Fazirsiran (ARO-AAT)	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours de suivi	07/08/2019
NCT03946449	Fazirsiran (ARO-AAT)	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours de suivi	19/12/2019
NCT03365947	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1-2	Arrowhead Pharmaceuticals	Terminé	27/03/2018
NCT03783377	Plozasiran (ARO-APOC3)	Dyslipidémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Arrowhead Pharmaceuticals	Terminé	08/03/2019
NCT04720534	Plozasiran (ARO-APOC3)	Dyslipidémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours de suivi	31/05/2021
NCT04998201	Plozasiran (ARO-APOC3)	Dyslipidémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours de suivi	28/09/2021
NCT05089084	Plozasiran (ARO-APOC3)	Dyslipidémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (PALISADE)	Arrowhead Pharmaceuticals	En cours de suivi	11/01/2022
NCT05413135	Plozasiran (ARO-APOC3)	Dyslipidémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Arrowhead Pharmaceuticals	Inscription sur invitation	07/07/2022
NCT05027269	AOC 1001	Dystrophie myotonique de type 1	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1-2 (MARINA)	Avidity Biosciences	Terminé	28/10/2021

NCT05479981	AOC 1001	Dystrophie myotonique de type 1	Injection intraveineuse (IV)	Phase 2 (MARINA-OLE)	Avidity Biosciences	En cours de suivi	04/08/2022
NCT05747924	AOC 1020	Dystrophie musculaire	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1-2 (FORTITUDE)	Avidity Biosciences	Recrutement	04/04/2023
NCT04507269	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Brii Biosciences Limited	Terminé	18/08/2020
NCT05970289	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Brii Biosciences Limited	En cours d'ouverture	01/08/2023
NCT03142165	BMS-986263	Fibrose hépatique (hépatite C)	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Bristol-Myers Squibb	Terminé	11/05/2017
NCT03420768	BMS-986263	Fibrose hépatique (hépatite C)	Injection intraveineuse (IV)	Phase 2	Bristol-Myers Squibb	Terminé	14/02/2018
NCT04225936	BMS-986263	Fibrose hépatique (hépatite C)	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Bristol-Myers Squibb	Terminé	16/01/2020
NCT04267393	BMS-986263	NASH	Injection intraveineuse (IV)	Phase 2	Bristol-Myers Squibb	En cours de suivi	17/03/2021
NCT01858935	ND-L02-s0201 (BMS-986263)	Fibrose hépatique (hépatite C)	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Bristol-Myers Squibb	Terminé	01/05/2013
NCT03241264	ND-L02-s0201 (BMS-986263)	Fibrose	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Bristol-Myers Squibb	Terminé	28/08/2016
NCT02227459	ND-L02-s0201 (BMS-986263)	Fibrose hépatique (hépatite C)	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1 (METAVIR F3-4)	Bristol-Myers Squibb	Terminé	01/10/2014
NCT04995536	CpG-STAT3 siRNA	Lymphome non hodgkinien à grandes cellules B	Injection intratumorale	Phase 1	City of Hope Medical Center	Recrutement	01/05/2023
NCT04174118	Belcesiran	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	En cours de suivi	24/10/2019
NCT04764448	Belcesiran	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (ESTRELLA)	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Recrutement	12/02/2021
NCT05021640	DCR-AUD	Alcoolisme	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	21/09/2021
NCT05845398	DCR-AUD	Alcoolisme	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	En cours de suivi	29/01/2023
NCT03772249	DCR-HBVS	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	28/12/2018
NCT02110563	DCR-MYC	Cancers solides, myélome multiple, lymphome	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	01/04/2014

NCT02314052	DCR-MYC	Carcinome hépatocellulaire	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1 - 2	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	27/01/2015
NCT02795325	DCR-PH1	Hyperoxalurie primitive	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	13/05/2016
NCT03392896	Nedosiran (DCR-PHXC)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	06/12/2017
NCT04042402	Nedosiran (DCR-PHXC)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (PHYOX3)	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Inscription sur invitation	09/07/2019
NCT03847909	Nedosiran (DCR-PHXC)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (PHYOX2)	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	28/10/2019
NCT04555486	Nedosiran (DCR-PHXC)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 (PHYOX4)	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Terminé	14/09/2020
NCT04580420	Nedosiran (DCR-PHXC)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (PHYOX7)	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Recrutement	15/04/2021
NCT05001269	Nedosiran (DCR-PHXC)	Hyperoxalurie primitive	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (PHYOX8)	Dicerna Pharmaceuticals (Novo Nordisk)	Recrutement	22/02/2022
NCT04644809	LY3561774	Dyslipidémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Eli Lilly and Company	Terminé	30/11/2020
NCT05256654	LY3561774	Dyslipidémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (PROLONG-ANG3)	Eli Lilly and Company	En cours de suivi	20/07/2022
NCT04914546	LY3819469	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Eli Lilly and Company	Terminé	14/06/2021
NCT05565742	LY3819469	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Eli Lilly and Company	En cours de suivi	20/10/2022
NCT05841277	LY3819469	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Eli Lilly and Company	Recrutement	25/04/2023
NCT05932446	LY3819469	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Eli Lilly and Company	Recrutement	30/06/2023
NCT05583344	ARO-HSD (GSK4532990)	Stéato-hépatite non alcoolique (NASH)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	GlascoSmithKline (GSK)	Recrutement	02/01/2023
NCT05565768	HZN-457	Goutte	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Horizon Therapeutics	En cours de suivi	22/11/2022
NCT03133130	BMT101	Cicatrice hypertrophique	Injection intradermale	Phase 1	Hugel	Terminé	31/07/2017
NCT04012099	BMT101	Cicatrice hypertrophique	Injection intradermale	Phase 2	Hugel	Terminé	21/08/2019

NCT05184127	MIR 19 [®]	COVID-19	Inhalation	Phase 2	Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia	Terminé	27/04/2021
NCT05783206	MIR 19 [®]	COVID-19	Inhalation	Phase 2 - 3	Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia	Terminé	10/02/2022
NCT04844450	ARO-PNPLA3 (JNJ-75220795)	Stéato-hépatite non alcoolique (NASH)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Janssen	Terminé	29/04/2021
NCT05039710	ARO-PNPLA3 (JNJ-75220795)	Stéato-hépatite non alcoolique (NASH)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Janssen	Terminé	08/11/2021
NCT04002752	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Janssen	Terminé	04/07/2019
NCT03982186	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Janssen	Terminé	01/08/2019
NCT04129554	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Janssen	Terminé	06/11/2019
NCT04208386	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Janssen	Terminé	08/01/2020
NCT04439539	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Janssen	En cours de suivi	14/09/2020
NCT04535544	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (REEF-D)	Janssen	En cours de suivi	17/09/2020
NCT04586439	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Janssen	Terminé	24/11/2020
NCT04667104	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (PENGUIN)	Janssen	Terminé	01/02/2021
NCT04585789	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (INSIGHT)	Janssen	En cours de suivi	11/03/2021
NCT04963738	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Janssen	Terminé	22/09/2021
NCT05005507	JNJ-3989 (ARO-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (PENGUIN-2)	Janssen	Terminé	03/11/2021
NCT03538301	ND-L02-s0201 (BMS-986263)	Fibrose pulmonaire	Injection intraveineuse (IV)	Phase 2 (JUNIPER)	Nitto Denko Corporation	Terminé	18/06/2018
NCT03060577	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (ORION-3)	Novartis	Terminé	27/04/2017

NCT03159416	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 (ORION-7)	Novartis	Terminé	22/06/2017
NCT03400800	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-11)	Novartis	Terminé	01/11/2017
NCT03397121	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-9)	Novartis	Terminé	28/11/2017
NCT03399370	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-10)	Novartis	Terminé	21/12/2017
NCT03705234	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-4)	Novartis	Recrutement	30/10/2018
NCT03851705	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-5)	Novartis	Terminé	06/02/2019
NCT03814187	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-8)	Novartis	Terminé	16/04/2019
NCT04652726	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-16)	Novartis	En cours de suivi	27/01/2021
NCT04666298	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (ORION-15)	Novartis	Terminé	29/01/2021
NCT04659863	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-13)	Novartis	En cours de suivi	16/02/2021
NCT04774003	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1 (ORION-14)	Novartis	Terminé	26/02/2021
NCT04765657	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ORION-18)	Novartis	En cours de suivi	01/03/2021
NCT04873934	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-INCEPTION)	Novartis	Recrutement	24/06/2021
NCT04929249	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-INITIATE)	Novartis	En cours de suivi	25/06/2021
NCT04807400	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (SPIRIT)	Novartis	Terminé	07/07/2021
NCT05030428	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-2P)	Novartis	Recrutement	23/11/2021
NCT05192941	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 4 (V-DIFFERENCE)	Novartis	Recrutement	08/04/2022
NCT05360446	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-PLAQUE)	Novartis	Recrutement	08/07/2022

NCT05682378	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-PEDS-OLE)	Novartis	Recrutement	10/02/2023
NCT05739383	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-1 PREVENT)	Novartis	Recrutement	09/03/2023
NCT05763875	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-Mono)	Novartis	Recrutement	15/03/2023
NCT05888103	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (V-Mono China)	Novartis	Recrutement	11/07/2023
NCT03569267	OLX10010	Cicatrice hypertrophique	Injection intradermale	Phase 1	Olix Pharmaceuticals	Terminé	21/05/2018
NCT04877756	OLX10010	Cicatrice hypertrophique	Injection intradermale	Phase 2	Olix Pharmaceuticals	En cours de suivi	21/07/2021
NCT05643118	OLX10212	Dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA)	Injection intravitréenne	Phase 1	Olix Pharmaceuticals	Recrutement	04/01/2023
NCT00725686	PF-04523655	Dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA)	Injection intravitréenne	Phase 1	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/02/2007
NCT00701181	PF-04523655	Rétinopathie diabétique	Injection intravitréenne	Phase 2	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/06/2008
NCT00713518	PF-04523655	Dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA)	Injection intravitréenne	Phase 2 (MONET)	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/11/2009
NCT01445899	PF-04523655	Rétinopathie diabétique	Injection intravitréenne	Phase 2 (MATISSE)	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/02/2012
NCT00683553	QPI-1002	Chirurgie cardiaque	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/05/2008
NCT00802347	QPI-1002	Fonction rénale retardée post-greffe	Injection intraveineuse (IV)	Phase 1 - 2	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/12/2008
NCT02610283	QPI-1002	Lésions rénales aiguës	Injection intraveineuse (IV)	Phase 2	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/12/2015
NCT02610296	QPI-1002	Fonction rénale retardée post-greffe	Injection intraveineuse (IV)	Phase 3 (ReGIFT)	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/03/2016
NCT03510897	QPI-1002	Chirurgie cardiaque	Injection intraveineuse (IV)	Phase 3	Quark Pharmaceuticals	Terminé	29/06/2018
NCT01064505	QPI-1007	Neuropathie optique ischémique	Injection intravitréenne	Phase 1	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/02/2010
NCT01965106	QPI-1007	Glaucome angle fermé	Injection intravitréenne	Phase 2	Quark Pharmaceuticals	Terminé	01/12/2013

NCT02341560	QPI-1007	Neuropathie optique ischémique	Injection intravitréenne	Phase 2-3 (NAION)	Quark Pharmaceuticals	Terminé	24/02/2016
NCT05519475	ALN-HSD	Stéato-hépatite non alcoolique (NASH)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Regeneron Pharmaceuticals	Recrutement	09/02/2023
NCT05648214	ALN-PNP	Stéato-hépatite non alcoolique (NASH)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Regeneron Pharmaceuticals	Recrutement	27/12/2022
NCT04601844	Cemdisiran (ALN-CC5)	Néphropathie à IgA	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Regeneron Pharmaceuticals	Terminé	16/11/2020
NCT02035605	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Sanofi Genzyme	Terminé	20/01/2014
NCT02554773	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1-2	Sanofi Genzyme	Terminé	18/09/2015
NCT03417102	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ATLAS-INH)	Sanofi Genzyme	Terminé	14/02/2018
NCT03417245	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ATLAS-A/B)	Sanofi Genzyme	Terminé	01/03/2018
NCT03549871	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ATLAS-PPX)	Sanofi Genzyme	Terminé	25/07/2018
NCT03754790	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ATLAS-OLE)	Sanofi Genzyme	En cours de suivi	09/01/2019
NCT03974113	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2-3 (ATLAS-PEDS)	Sanofi Genzyme	En cours de suivi	28/01/2020
NCT05662319	Fitusiran (ALN-AT3SC)	Hémophilies	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3 (ATLAS-NEO)	Sanofi Genzyme	Recrutement	01/02/2023
NCT04718844	SLN124	Thalassémie / Syndrome myélodysplasique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Silence Therapeutics	En cours de suivi	14/04/2021
NCT05499013	SLN124	Polyglobulie de Vaquez	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1-2	Silence Therapeutics	Recrutement	26/01/2023
NCT04606602	SLN360 (zerlasiran)	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Silence Therapeutics	En cours de suivi	18/11/2020
NCT05537571	SLN360 (zerlasiran)	Maladie cardiovasculaire avec taux élevé de Lp(a)	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Silence Therapeutics	En cours de suivi	03/01/2023
NCT01188785	siG12D-LODER	Cancer du pancréas	Injection intratumorale	Phase 1	Silenseed	Terminé	01/01/2011
NCT01676259	siG12D-LODER	Cancer du pancréas	Injection intratumorale	Phase 2	Silenseed	Inconnu	07/03/2018

NCT05844293	STP122G	Troubles de la coagulation	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Sirnaomics	Recrutement	16/05/2023
NCT02956317	STP705	Cicatrice hypertrophique	Injection intradermale	Phase 1-2	Sirnaomics	Terminé	01/01/2017
NCT04293679	STP705	Carcinome épidermoïde cutané in situ	Injection intratumorale	Phase 1-2	Sirnaomics	Terminé	21/03/2019
NCT04669808	STP705	Carcinome basocellulaire	Injection intratumorale	Phase 2	Sirnaomics	En cours de suivi	28/12/2020
NCT04676633	STP705	Carcinome épidermoïde cutané in situ	Injection intratumorale	Phase 1	Sirnaomics	En cours de suivi	01/03/2021
NCT04844840	STP705	Cicatrice chéloïde	Injection intradermale	Phase 2	Sirnaomics	En cours de suivi	29/04/2021
NCT04844983	STP705	Carcinome épidermoïde cutané in situ	Injection intratumorale	Phase 2	Sirnaomics	En cours de suivi	18/05/2021
NCT05421013	STP705	Carcinome épidermoïde cutané in situ	Injection intratumorale	Phase 1-2	Sirnaomics	En cours de suivi	01/08/2022
NCT05422378	STP705	Obésité abdominale	Injection abdominale	Phase 1	Sirnaomics	En cours de suivi	01/08/2022
NCT05196373	STP705	Cicatrice hypertrophique	Injection intradermale	Phase 1-2	Sirnaomics	En cours d'ouverture	01/06/2023
NCT01739244	Bamosiran (SYL040012)	Hypertension oculaire / Glaucome à angle ouvert	Gouttes oculaires	Phase 2	Sylentis	Terminé	01/07/2012
NCT02250612	Bamosiran (SYL040012)	Hypertension oculaire / Glaucome à angle ouvert	Gouttes oculaires	Phase 2	Sylentis	Terminé	01/10/2014
NCT04782271	SYL1801	Dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA)	Gouttes oculaires	Phase 1	Sylentis	Terminé	17/03/2021
NCT05637255	SYL1801	Syndrome de l'œil sec	Gouttes oculaires	Phase 2	Sylentis	Recrutement	22/11/2022
NCT01438281	Tivanisiran (SYL1001)	Syndrome de l'œil sec	Gouttes oculaires	Phase 1	Sylentis	Terminé	01/07/2011
NCT01776658	Tivanisiran (SYL1001)	Syndrome de l'œil sec	Gouttes oculaires	Phase 1 - 2	Sylentis	Terminé	01/11/2012
NCT02455999	Tivanisiran (SYL1001)	Syndrome de l'œil sec	Gouttes oculaires	Phase 2	Sylentis	Terminé	01/06/2015
NCT03108664	Tivanisiran (SYL1001)	Syndrome de l'œil sec	Gouttes oculaires	Phase 3 (HELIX)	Sylentis	Terminé	18/05/2017

NCT04819269	Tivanisiran (SYL1001)	Syndrome de l'œil sec	Gouttes oculaires	Phase 3	Sylentis	Recrutement	25/05/2021
NCT05310422	Tivanisiran (SYL1001)	Syndrome de l'œil sec	Gouttes oculaires	Phase 3	Sylentis	En cours de suivi	24/03/2022
NCT05677971	Fazirsiran (ARO-AAT)	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3	Takeda	Recrutement	06/03/2023
NCT05899673	Fazirsiran (ARO-AAT)	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 3	Takeda	En cours d'ouverture	14/07/2023
NCT05891158	Fazirsiran (ARO-AAT)	Déficit en alpha-1 antitrypsine	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Takeda	En cours d'ouverture	25/09/2023
NCT02597127	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (ORION-1)	The Medicines Company (Novartis)	Terminé	01/01/2016
NCT02963311	Inclisiran (ALN-PCSSC)	Hypercholestérolémie	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (ORION-2)	The Medicines Company (Novartis)	Terminé	13/12/2016
NCT03672188	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1-2	Vir Biotechnology	Terminé	14/11/2018
NCT04412863	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2	Vir Biotechnology	En cours de suivi	03/07/2020
NCT04856085	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (MARCH)	Vir Biotechnology	Recrutement	11/07/2021
NCT05461170	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite D chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 2 (SOLSTICE)	Vir Biotechnology	Recrutement	17/09/2022
NCT05484206	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Vir Biotechnology	Recrutement	21/09/2022
NCT05484206	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Vir Biotechnology	Recrutement	21/09/2022
NCT05844228	VIR-2218 (ALN-HBV)	Hépatite B chronique	Injection sous cutanée (SC)	Phase 1	Vir Biotechnology	En cours d'ouverture	01/06/2023

Nom – Prénoms : THIERRY Margot, Charlotte, Catherine

Titre de la thèse : Les ARN interférents : d'une découverte scientifique à une nouvelle classe thérapeutique.

Résumé de la thèse :

En 1998, la découverte du mécanisme physiologique d'ARN interférence chez le nématode, par Andrew Fire et Craig Mello, a constitué une avancée majeure dans la compréhension de la régulation post-transcriptionnelle des gènes. Cependant, l'exploitation de ce phénomène biologique comme option thérapeutique a constitué un réel défi. Vingt ans après, le premier ARN interférent (*siRNA*), patisiran, indiqué dans la prise en charge de l'amylose à transthyrétine, a été commercialisé. Depuis, trois autres traitements – givosiran, lumasiran, vutrisiran – sont disponibles et une soixantaine en cours de développement clinique. Dans quel contexte et par quels moyens les chercheurs ont-ils réussi à exploiter ce mécanisme naturel de diminution spécifique de l'expression protéique pour développer une nouvelle classe thérapeutique ?

MOTS CLES

AMYLOSE A TRANSTHYRETINE - ARN INTERFERENT – GENES – LUMASIRAN – PATISIRAN – SIRNA

JURY :

Présidente du jury : Madame Edith BIGOT-CORBEL, Maître de Conférences des Universités, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes - Praticien Hospitalier de Biochimie Clinique, CHU de Nantes.

Directeur de thèse : Monsieur Yann PEREON, Professeur des Universités, UFR de Médecine de Nantes - Praticien Hospitalier en Neurologie, CHU de Nantes.

Membres du jury : Monsieur Jean-Baptiste CAQUELIN, Directeur Général France, Alnylam Pharmaceuticals, Paris. Madame Françoise NAZIH, Maître de Conférences des Universités en Biochimie Pharmaceutique, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes.