

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2017

THESE N°: 133

**BIOTECHNOLOGIES ET MEDECINE PERSONNALISEE :
EXEMPLE DE LA THERAPIE GENIQUE**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mr. Mohamed YASSINE

Né le 16 Mars 1992 à Ksar El Kebir

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : Médecine personnalisée – Biotechnologie – Pharmacogénomique –
Thérapie génique.

JURY

Mme. N. EL HAFIDI

Professeur de Pédiatrie

PRESIDENTE

Mr. A. IBRAHIMI

Professeur de Biotechnologie

RAPPORTEUR

Mr. R. EL JAUDI

Professeur de Toxicologie

Mme. A. HASSANI

Professeur de Pédiatrie

Juges



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – ***Clinique Royale***
Anesthésie -Réanimation
pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSAID Younes

Pathologie Chirurgicale

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOU DA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOU DA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah

Médecine Interne – *Doyen de la FMPR*
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – *Doyen de la FMPO*
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – *Dir. du Centre National PV*
Chimie thérapeutique *V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC*

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie



Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques *Doyen de la FMPA*
Gynécologie Obstétrique

Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur HMI Med V**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie



Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOUI ALI*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen de la FMP Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- *Dir. Hop. Av. Marr.*
Anesthésie-Réanimation *Inspecteur du SSM*
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne



Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie *Directeur Hop. Chekikh Zaied*
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBABH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie



Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale

Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHARMAZ Mohamed
 Pr. MOUGHIL Said
 Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
 Pr. TARIB Abdelilah*
 Pr. TIJAMI Fouad
 Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
 Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 Pr. ALLALI Fadoua
 Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. AZIZ Nouredine*
 Pr. BAHIRI Rachid

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie



Pr. BARKAT Amina
 Pr. BENYASS Aatif
 Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 Pr. EL HAMZA OUI Sakina*
 Pr. HAJJI Leila
 Pr. HESSISSEN Leila
 Pr. JIDAL Mohamed*
 Pr. LAAROUSSI Mohamed
 Pr. LYAGOUBI Mohammed
 Pr. NIAMANE Radouane*
 Pr. RAGALA Abdelhak
 Pr. SBIHI Souad
 Pr. ZERAIDI Najia

Pédiatrie
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie (mise en disponibilité)
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 Pr. AKJOUJ Said*
 Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 Pr. BENCHEIKH Razika
 Pr. BIYI Abdelhamid*
 Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 Pr. DOGHMI Nawal
 Pr. FELLAT Ibtissam
 Pr. FAROUDY Mamoun
 Pr. HARMOUCHE Hicham
 Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
 Pr. JROUNDI Laila
 Pr. KARMOUNI Tariq
 Pr. KILI Amina
 Pr. KISRA Hassan
 Pr. KISRA Mounir
 Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 Pr. MANSOURI Hamid*
 Pr. OUANASS Abderrazzak
 Pr. SAFI Soumaya*
 Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 Pr. SOUALHI Mouna
 Pr. TELLAL Saida*
 Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
 Radiologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
 Pr. ACHACHI Leila

Réanimation médicale
 Pneumo phtisiologie



Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhousain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologique
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie **Directeur Hôpital My Ismail**
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-phtisiologie



Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie

Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
0.
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique



Pr. EL JOUDI Rachid*
 Pr. EL KABABRI Maria
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alae
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Toxicologie
 Pédiatrie
 Anatomie Pathologie
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

***Enseignants Militaires**



MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOUFIANE
DOBLALI TAOUFIK
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISSE KARIM

***Enseignants Militaires**

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génécologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.



AOUT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

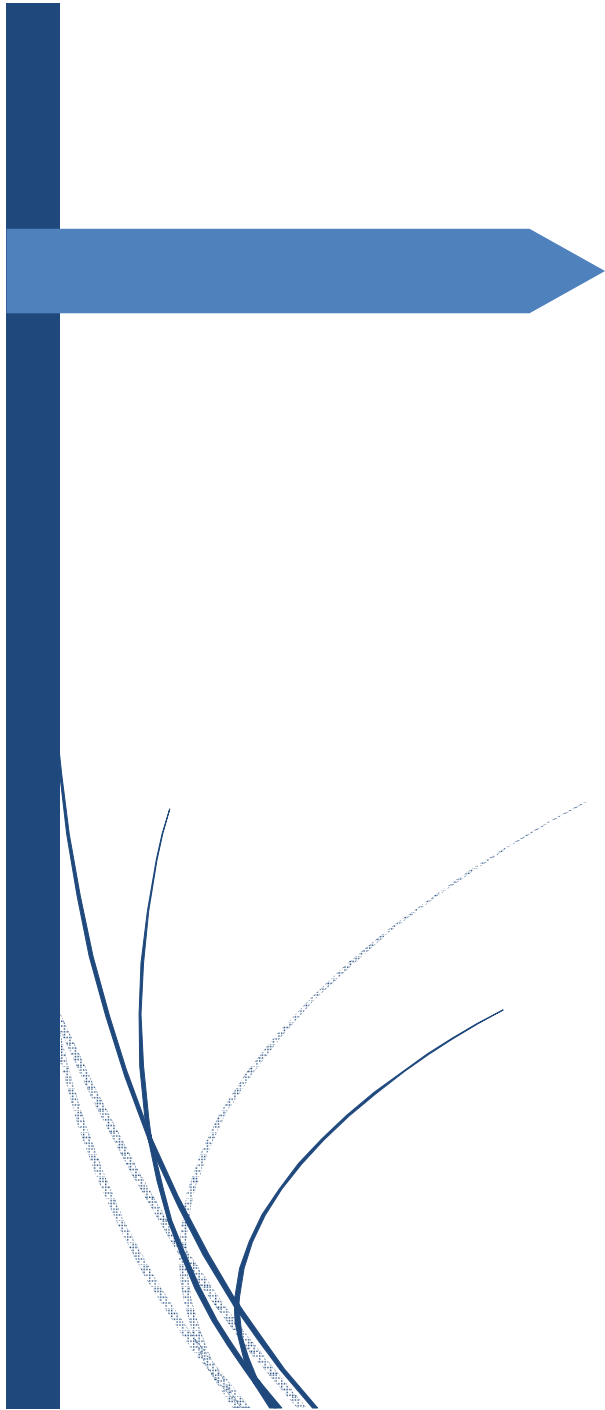
2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*





Dédicaces

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE :

FOUZIA BOUACHCHA

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.

A une personne qui m'a tout donné sans compter.

*Aucun hommage ne saurait transmettre à ta juste valeur ;
l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi.*

Sans toi, je ne suis rien, mais grâce à toi je deviens médecin.

*Je te dédie à mon tour cette thèse qui concrétise ton rêve
le plus cher et qui n'est que le fruit de tes conseils
et de tes encouragements.*

*Tu n'a pas cessé de me soutenir et de m'encourager, ton amour,
ta générosité exemplaire et ta présence constante
ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*Tes prières ont été pour moi un grand soutien tout
au long de mes études.*

*J'espère que tu trouveras dans ce modeste travail un témoignage
de ma gratitude, ma profonde affection et mon profond respect.*

*Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie,
santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum
de ce que je te dois.*

Je t'aime maman...

A MON CHER PERE :

ABBAS YASSINE

*A celui qui m'a aidé à découvrir le savoir
le trésor inépuisable.*

*Merci d'avoir été toujours là pour moi, un grand soutien tout
au long de mes études.*

*Tu as été et tu seras toujours un exemple à suivre
pour tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme.*

*Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect,
ma considération, ma reconnaissance et mon amour éternel.*

*En ce jour ta fille espère réaliser l'un de tes plus grands rêves
etcouronner tes années de sacrifice et d'espoir.*

Que ce travail puisse être le résultat de tes efforts et de tes sacrifices.

*Que Dieu tout puissant te garde et te procure santé,
bonheur et longue vie.*

A MES TRÈS CHÈRES SŒURS:

DOUNIA ET KHOULOU

En témoignage de toute l'affection et des profonds sentiments fraternels que je vous porte et de l'attachement qui nous unit.

Je vous souhaite du bonheur et du succès dans toute votre vie.

Je vous aime beaucoup.

A TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE,

PETITS ET GRANDS

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection la plus sincère.

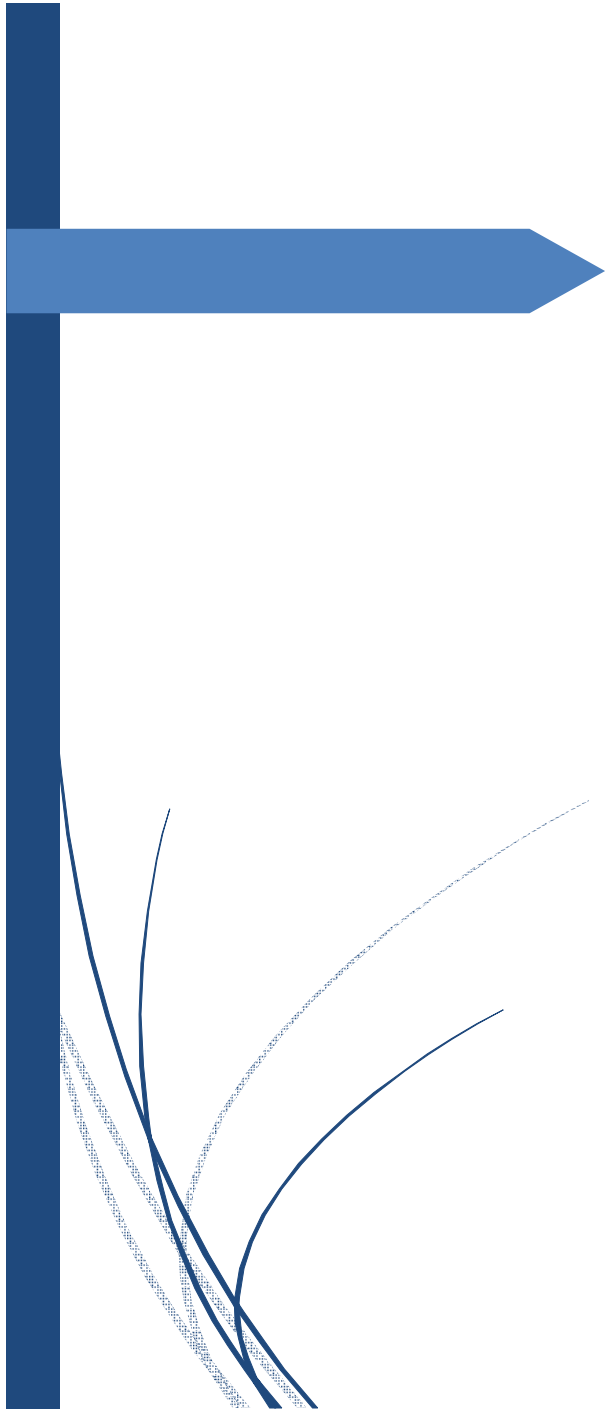
A TOUS MES AMIS ET COLLÈGUES.

Pour tous les moments qu'on a passé ensemble qui me seront inoubliables

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon admiration et de mon respect.

ET A TOUT CEUX QUI ONT PARTICIPÉ

A L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL.



Remerciements

A notre maître et présidente de thèse :

Professeur N.EL HAFIDI

*Nous vous remercions pour le grand honneur
que vous nous faites en acceptant de présider cette thèse.*

*Votre compétence ainsi que vos qualités humaines
et professionnelles exemplaires ont toujours
suscité notre admiration.*

*Qu'il nous soit permis, chère maître, de vous exprimer notre
sincère reconnaissance, notre profond respect
et notre plus grande estime.*

A notre maître et Rapporteur de thèse :

Professeur A. IBRAHIMI

*Vous avez bien voulu me confier ce travail riche
d'intérêt et me guider à chaque étape de sa réalisation.*

*Vous m'avez toujours réservé le meilleur accueil,
malgré vos obligations professionnelles.*

*Vos encouragements inlassables, votre amabilité,
votre gentillesse méritent toute admiration.*

*Je saisis cette occasion pour vous exprimer ma profonde
gratitude tout en vous témoignant mon respect.*

A notre maître et juge de thèse :

Professeur A.HASSANI

*Permettez nous de vous remercier pour avoir
si gentiment accepté de faire partie de nos juges.*

*En dehors de vos connaissances claires et précises,
dont nous avons bénéficié, vos remarquables qualités
humaines et professionnelles méritent toute admiration
et tout respect.*

*Veillez trouver ici le témoignage respectueux
de notre reconnaissance et admiration.*

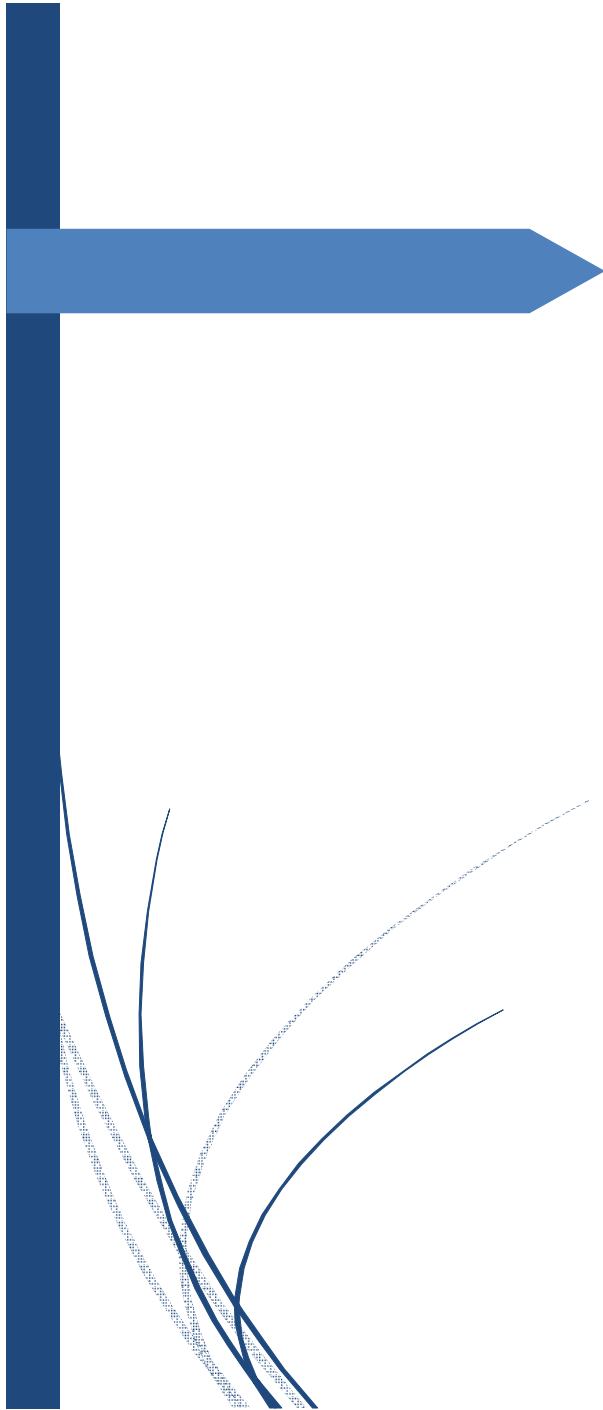
À notre maître et juge de thèse :

Professeur M.EL JAOUDI

*Nous sommes très heureux de l'honneur que vous nous
faites en acceptant de juger notre travail.*

*Votre présence est pour nous, l'occasion de vous exprimer
notre admiration de votre grande compétence professionnelle
et de votre généreuse sympathie.*

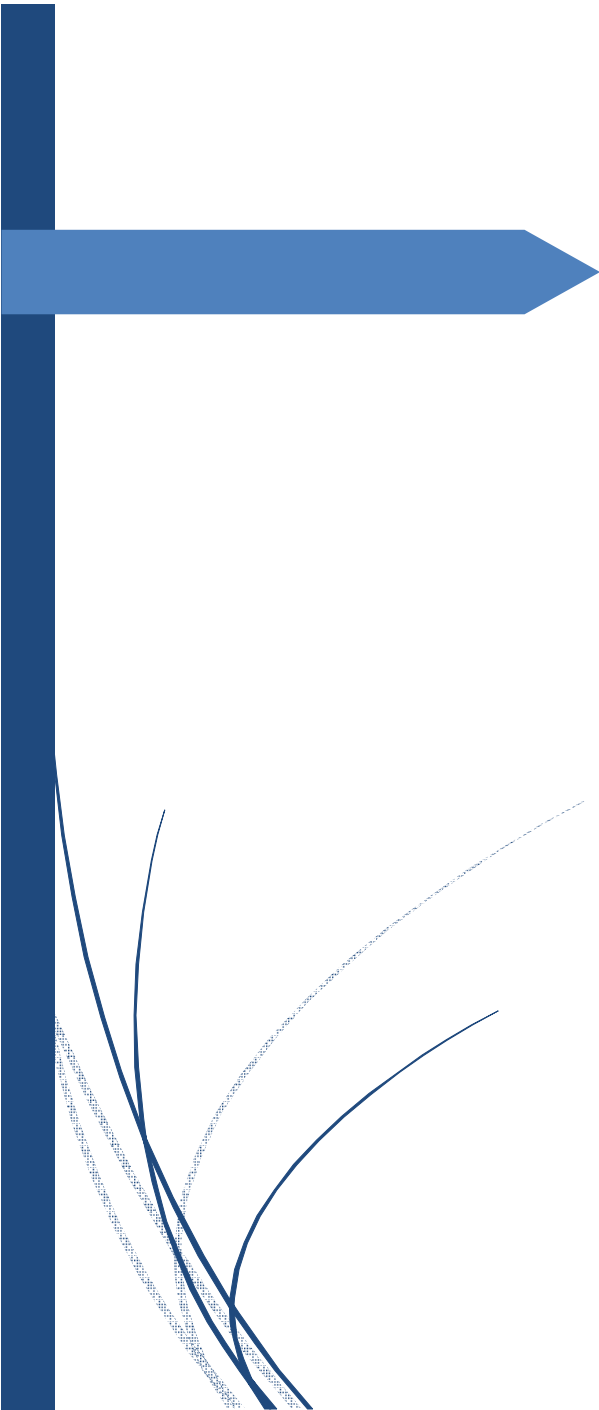
Soyez assurée de notre reconnaissance et notre profond respect.



Liste des Abréviations

- ADA - SCID: Adenosine Deaminase - Severe Combined Immune Deficiency (syndrome d'immunodéficience combiné sévère lié à l'adénosine désaminase).
- ADN : Acide désoxyribonucléique.
- AMM : Autorisation de Mise sur le Marché.
- ARN : Acide ribonucléique.
- AVK : Anti-vitamine K.
- AZA : Azathioprine.
- BCR-ABL: Breakpoint Cluster Region – Abelson.
- C: Cytosine.
- CCR5 : C-C Chemokine Récepteur de type 5.
- CGH : Comparative genomic hybridation.
- CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique.
- CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats ou « courtes répétitions palindromiques regroupées et régulièrement espacées »
- CYP450 : Cytochrome P 450.
- EGF : Epidermal Growth Factor.
- EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor.
- EMA : Agence Européenne du Médicament.
- Env : Ensemble de gènes donnant les protéines de l'enveloppe d'un virus.
- FDA: Food and Drug Administration.
- G: Guanine.
- G6PD : Glucose 6-Phosphate Déshydrogénase.
- Gag : Ensemble de gènes donnant les protéines de la capsid d'un virus.
- GWAS: Genome Wide Association Studies.
- HAS : Haute Autorité de Santé.
- HbA1c: Hémoglobine glyquée.
- HER2: Human Epidermal growth factor Receptor 2.
- HGP : Human Genome Project.

- HLA-B : Human Leucocyte Antigen type B.
- INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.
- KRAS : Kirsten Rat Sarcoma viral oncogene homologue.
- LTR : long terminal repeat.
- MP : médecine personnalisée.
- NGS : Next Generation Sequencing.
- NIH: National Institute of Health.
- OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
- ONT : Oxford Nanopore Technology.
- PCR : Polymerase Chain Reaction.
- PhRMA: Pharmaceutical Research and Manufacturers of America.
- Psi : Site d'encapsidation.
- R&D : Recherche et Développement.
- RMN : La résonance magnétique nucléaire.
- SCID - X: Severe Combined Immune Deficiency linked to chromosome X (syndrome d'immunodéficience combiné sévère lié au chromosome X).
- SNP : Single Nucleotide Polymorphism ou Polymorphisme simple de nucléotide.
- Sp : Site Promoteur.
- T: Thymine.
- TPMT: Thiopurine Méthyl Transferase.
- UGT1A1: UDP-Glycosyltransferase 1 polypeptide A1.
- VIH : Virus d'immunodéficience humaine.
- VKORC1 : Vitamin K epoxide Reductase complex subunit 1.
- VPN : Valeur Prédictive Négative.
- VPP : Valeur Prédictive Positive.



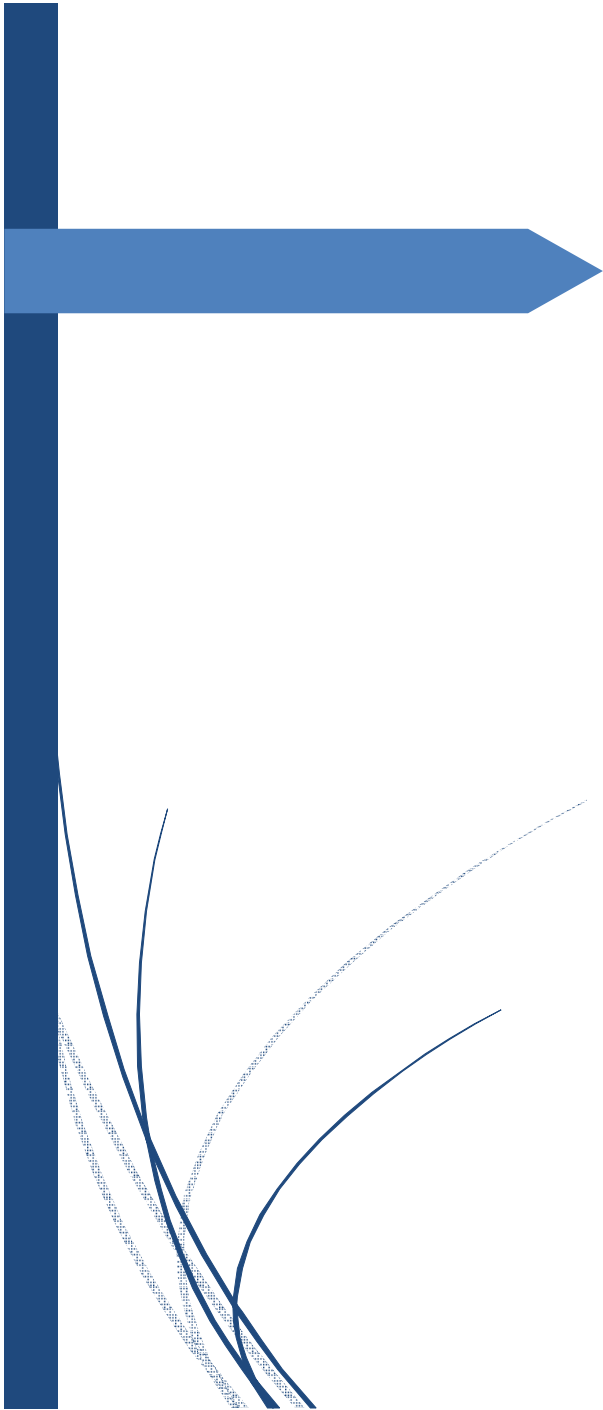
Sommaire

INTRODUCTION	1
1. PRESENTATION DE LA MEDECINE PERSONNALISEE	5
1.1. Définition et concept	5
1.2. Points de vue des experts :.....	9
1.3. Intérêts	12
1.4. Evolution de l'ampleur de la médecine personnalisée	14
2. DEFINITION ET EVOLUTION DES BIOMARQUEURS, DE LA PROTEOMIQUE, DE LA METABONOMIQUE, DE LA PHARMACOGENOMIQUE ET DE LA PHARMACOGENETIQUE ...	17
2.1. Définitions	17
2.1.1. Biomarqueur	17
2.1.2. Biomarqueur génomique	19
2.1.3. Pharmacogénomique	20
2.1.4. Pharmacogénétique	20
2.1.5. Protéomique	22
2.1.6. Métabolomique	22
2.1.7. Métabonomique	23
2.1.8. Surrogate endpoint ou Critère de substitution.....	23
2.2. Intérêt des biomarqueurs et des polymorphismes	24
2.3 Domaines de prédilections de la pharmacogénomique et de la pharmacogénétique	27
2.3.1. Maladies infectieuses	27
2.3.2. Domaine cardiovasculaire	28
2.3.3. Neuropsychiatrie	29
2.3.4. Oncologie.....	29

3. DES PROGRES SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES CONSIDERABLES A L'ORIGINE DE L'AVENEMENT DE LA MEDECINE PERSONNALISEE.....	32
3.1. L'évolution des techniques de séquençage du génome :	34
3.1.1. L'ampleur des évolutions :	35
3.1.1.1. Des méthodes de séquençage de plus en plus rapides :	35
3.1.1.2. Des effets à court terme sur les connaissances et à plus long terme sur les thérapeutiques :	40
3.1.2. La baisse drastique des coûts : élément majeur de cette révolution ...	41
3.2. L'extension de l'usage des puces à ADN et la nano-médecine :	43
3.2.1 L'usage des puces à ADN :	43
3.2.2. L'impact du développement de la nano-médecine sur la détection, le traitement et le suivi des patients :	46
3.3. Le perfectionnement des autres instruments :	47
3.3.1. La spectrométrie de masse.....	47
3.3.2. La résonance magnétique nucléaire (RMN).....	48
4. LES BIOTECHNOLOGIES ET LA THERAPIE GENIQUE.....	50
4.1 Historique des biotechnologies, des thérapies géniques et leur avènement.....	50
4.1.1 Historique des biotechnologies.....	50
4.1.1.1 Les proto-biotechnologies	50
4.1.1.2 La période intermédiaire.....	51
4.1.1.3 Les biotechnologies modernes.....	53
4.1.2 Historique des thérapies géniques.....	54
4.2 Définitions	58
4.2.1 Les thérapies géniques.....	58

4.2.1.1 Définition du terme « thérapie génique ».....	58
4.2.1.2 Les thérapies géniques somatiques	59
4.2.1.3 Les thérapies géniques germinales.....	59
4.2.2 Etude du génome : définition, déroulement et apports	60
4.2.3 Les biotechnologies.....	61
4.3 Principe et utilisation des biotechnologies dans les thérapies géniques	62
4.3.1 Principe	62
4.3.1.1 La théorie	62
4.3.1.2 La réalisation.....	62
4.3.1.3 Différents types de procédés d'introduction d'un gène	63
4.3.2 Les biotechnologies utilisées en thérapie génique : les vecteurs de transfert de gènes	65
4.3.2.1 Les différents types de vecteurs.....	65
4.3.2.2. Structure d'un vecteur viral et conception d'une particule virale recombinante.....	67
4.3.2.3 Caractéristiques des différents vecteurs viraux	71
4.3.2.4 Effets indésirables	74
4.3.2.5 Perspectives d'amélioration.....	78
a. Les nanoparticules magnétiques	78
b. Les systèmes transposon/transposase : Sleeping Beauty.....	81
c. Les aptamères.....	82
d. Le système CRISPR / Cas9	85

5. LES ENJEUX ECONOMIQUES	88
5.1. Evolution actuelle du secteur Pharmaceutique.....	88
5.2. Les coûts de la recherche et du développement dans l'avenir	89
5.3. Modifications de la recherche et du développement liées à la médecine personnalisée.....	92
5.4. L'autorisation de mise sur le marché facilitée par les biomarqueurs ..	101
5.5. La renaissance de médicaments grâce aux biomarqueurs	101
6. QUESTIONS ETHIQUES	103
6.1 Biobanques.....	103
6.2 Brevetabilité du vivant	105
6.3 Confidentialité et respect de la vie privée	107
6.4 Education des professionnels de santé et du public.....	107
6.5 Questions relatives au remboursement et aux assurances	108
6.6 Tests génétiques et discrimination à l'embauche	109
CONCLUSION	111
ANNEXES	114
RESUMES	118
BIBLIOGRAPHIE ET WEBOGRAPHIE	122



Introduction

Actuellement La prise en charge thérapeutique des patients est en pleine transformation. Après l'ère des traitements standards, nous entrons désormais dans l'ère de la médecine personnalisée. Car il est maintenant évident que chaque individu est unique et que chaque pathologie a des particularités spécifiques dont il faut tenir compte.

L'objectif de la médecine personnalisée est donc de prendre en compte les spécificités moléculaires et biologiques du patient et de sa maladie, afin de proposer un traitement médicamenteux adapté à chaque patient dans le but d'augmenter son efficacité tout en réduisant ces effets indésirables.

Les concepts sur lesquels repose la médecine personnalisée ne sont pas si récents. Le médecin canadien, Sir William Osler (1849-1919), déclarait que « la variabilité est une des lois de la vie, et comme deux visages ne sont jamais les mêmes, deux corps ne sont pas pareil et deux individus ne réagissent pas de la même manière à la même condition anormale que nous appelons maladie ».

Grâce aux progrès scientifiques et technologiques qui ont permis de réduire drastiquement les couts et les temps d'analyse du séquençage et du génotypage de l'ADN ; la recherche médicale a pu d'ores et déjà améliorer la prévention, la détection et le traitement de nombreuses pathologies avec une efficacité accrue et moins des effets indésirables.

La thérapie génique qui correspond à la chirurgie des gènes défectueux pour réparer les anomalies génétiques représente l'un des exemples le plus flagrant de cette nouvelle médecine.

Cependant, Malgré les espoirs qu'elle suscite, la médecine personnalisée soulève de nombreuses questions éthiques et économiques. Comment interpréter et utiliser les données génétiques recueillies ? Comment financer ces nouveaux traitements hors de prix ? Comment en garantir l'accès à tous ? Autant de défis qui restent à relever avant qu'elle n'entre de plain-pied dans la pratique clinique.



*Chapitre I :
Présentation de la médecine
personnalisée*

1. PRESENTATION DE LA MEDECINE PERSONNALISEE

1.1. Définition et concept

La personnalisation de la médecine est un des enjeux des prochaines années afin qu'à chaque patient corresponde une prise en charge individualisée. Elle est le témoin d'un changement complet de paradigme entre une attitude commune pour tous (le *blockbuster, one fits for all*) à une attitude adaptée aux profils de patients (*the right drug for the right person*) (figure 1) [1].

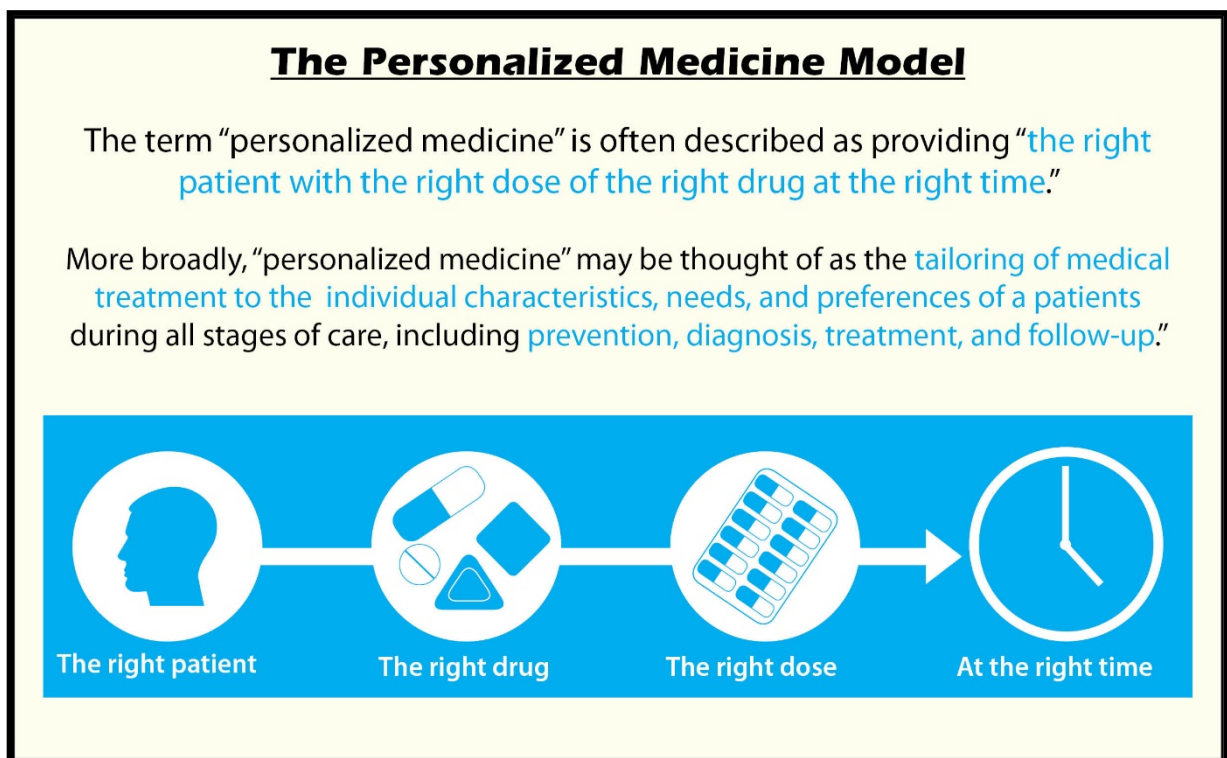


Figure 1 : définition de la médecine personnalisée selon EMA et FDA [1] [2].

Le National Institute of Health américain (NIH) a défini La médecine personnalisée comme « une pratique émergente de la médecine qui utilise le profil génétique des individus pour guider les décisions concernant la prévention, le diagnostic et le traitement des maladies » [3].

La « médecine personnalisée » part des caractéristiques génotypiques de chacun pour identifier des risques, éclairer le pronostic en renforçant l'aide à la décision du médecin, sélectionner le traitement médical adéquat tout en rendant le patient plus acteur de sa santé.

Ceci ne signifie par littéralement la création de médicaments ou dispositifs médicaux qui sont uniques à un patient mais plutôt l'habilité à classer les individus en sous-populations qui diffèrent dans leur sensibilité à une maladie particulière ou dans leur réponse à un traitement spécifique. Les interventions préventives ou thérapeutiques peuvent alors se concentrer sur ceux chez qui elles seront bénéfiques, limitant les dépenses et les effets indésirables chez les autres [4].

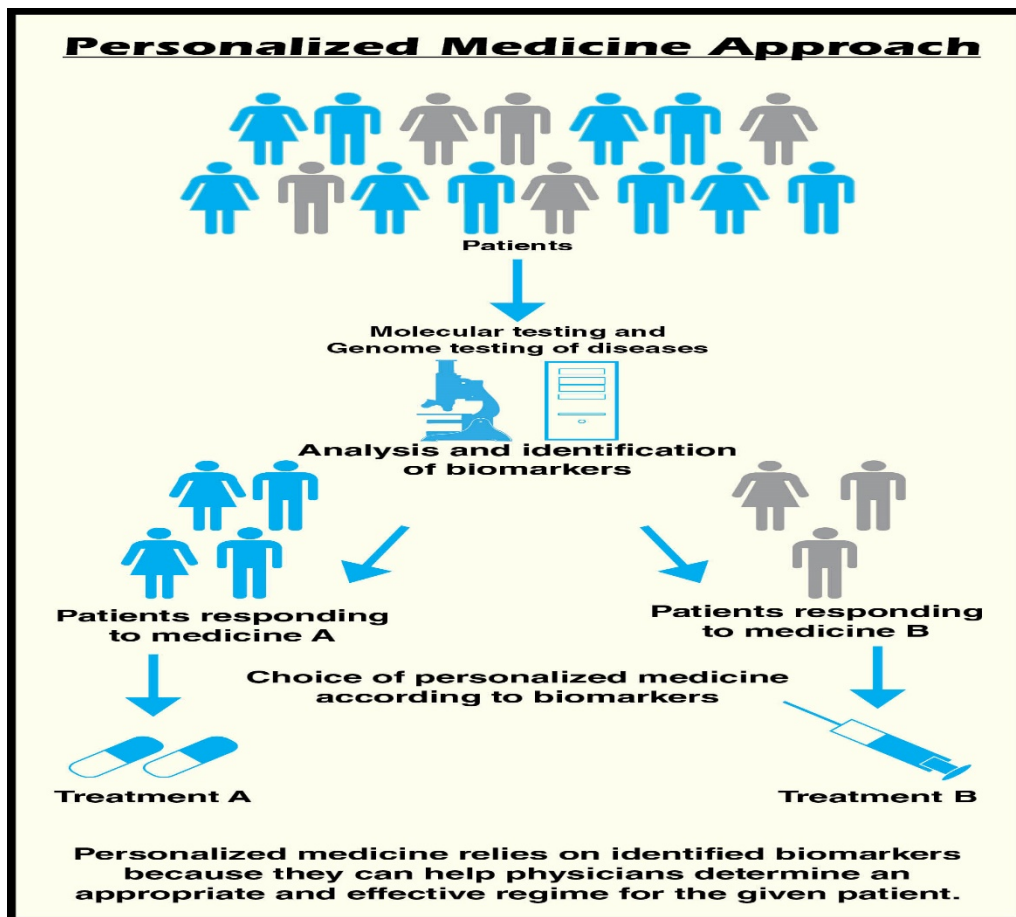


Figure 2 : Approche de la médecine personnalisée [2].

En plus, La médecine personnalisée a pour triple objectif [5] :

- **D'affiner le diagnostic** en identifiant des marqueurs de diagnostic précoce et en permettant de définir des sous populations de patients dont l'évolution naturelle et le pronostic sont différents,

- **De rationaliser la prise en charge thérapeutique** en passant d'une conception de masse où les traitements sont appliqués indistinctement à l'ensemble des malades à une conception individualisée où le traitement est défini patient par patient afin d'en optimiser le rapport bénéfice/risque,

•**D'engager le patient dans une démarche préventive**, en augmentant son adhésion et son observance tout en adaptant les programmes de prévention au profil du patient.

Le développement d'une stratégie de médecine personnalisée peut se faire en deux temps :

i. L'identification des facteurs d'individualisation qui repose sur des études fondamentales et des études de cohortes qui permettent de mettre en évidence une association entre un facteur et une variabilité diagnostique ou thérapeutique au sein d'une population ;

ii. La démonstration que l'identification d'un facteur d'individualisation à l'échelon populationnel ou individuel permet de prédire une partie de cette variabilité et d'adopter une stratégie personnalisée préventive, diagnostique ou thérapeutique.

Il apparait cependant que la première étape reste celle d'une médecine stratifiée, permettant d'identifier des sous-groupes susceptibles de répondre de manière similaire par exemple à un traitement. L'étape ultime est celle d'une médecine individualisée capable pour un malade donné, en tenant compte de plusieurs paramètres, d'adapter la stratégie diagnostique, thérapeutique ou préventive.

La personnalisation peut être sous-tendue par différents descripteurs qu'ils soient liés au terrain (âge, genre, comorbidité, profil comportemental, mode de vie, profil socioéconomique), biologiques (biologie classique, génomique, protéomique), lésionnels (imagerie, anatomie pathologique), thérapeutiques (associations médicamenteuses, sédentarité, habitudes alimentaires), ou environnementaux (lieu de vie, stress, pollution...).

1.2. Points de vue des experts :

Selon le Pr Axel Kahn, « la médecine personnalisée est celle qui permet de prévoir une susceptibilité particulière à certaines maladies ou à l'action de certains agents pathogènes, à partir de déterminants individuels de santé, génétiques ou autres. Mieux vaut parler de médecine de prévision » [6].

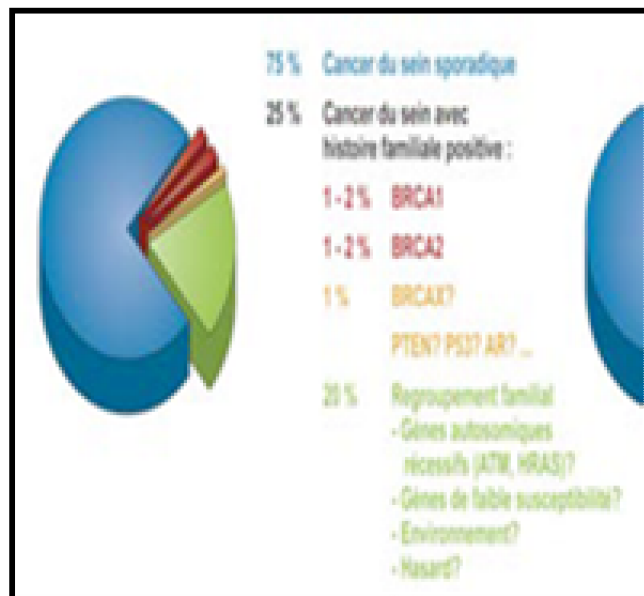


Figure 3 : Médecine de prévision : effet Angelina Jolie [6].

Pour le Pr Bertrand Jordan, la médecine personnalisée, c'est « le bon traitement pour le bon patient au bon moment grâce aux avancées dans la connaissance du génome, de la génétique et des corrélations entre le génome et la physiologie » (voir figure 1) [7].

M. Didier Tabuteau explique : « le concept de médecine personnalisée me semble englober d'une part, la pharmacogénétique et le ciblage des traitements, et d'autre part, le suivi et l'analyse de tests génétiques, de marqueurs biologiques sur l'état de santé de la personne, ou pour identifier des probabilités de développer des pathologies, voire pour détecter de futures maladies très en amont des signes cliniques. C'est une médecine qui se basera sur une analyse des caractéristiques biologiques et génétiques de la personne » [8].

Le Pr Agnès Buzyn précise « dans le cas du cancer, on dénomme médecine personnalisée le fait de génotyper la tumeur et de cibler les traitements sur ce génotypage » [9].

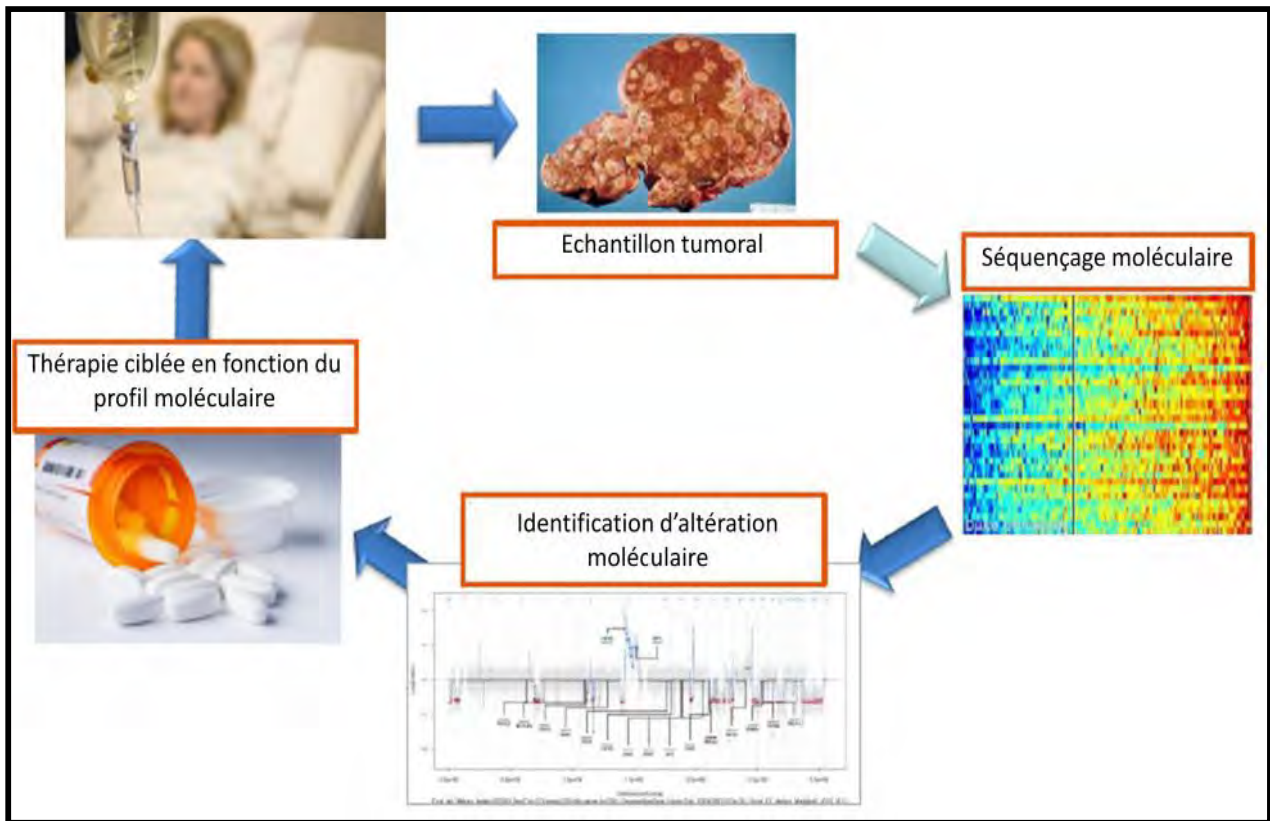


Figure 4 : Principe de la médecine de précision [9].

Pour Mme Simone Bateman, le concept est flou, car il n'y a de consensus ni sur une définition, ni sur le champ que le terme recouvre, ni sur le point d'entrée qu'il convient de privilégier pour comprendre son développement. Toutefois elle relève que quelques idées reviennent avec insistance : « il s'agit d'une médecine faite sur mesure, en anglais, customised ou tailored, par analogie avec les tailleurs, l'habillement ; des technologies rendent possibles cette nouvelle vision d'une médecine sur mesure » [10].

Quant au rapport de la Commission « Innovation 2030 », qui intègre la médecine personnalisée dans l'ambition n° 5, il évoque le concept de médecine individualisée partant du constat que la manière de se soigner en 2025 sera très différente de celle que nous connaissons actuellement. « Ainsi, il est d'ores et déjà acquis que la médecine saura personnaliser son diagnostic en fonction des caractéristiques propres de chaque individu et notamment de son génome. L'individu et ses caractéristiques propres seront, plus que jamais, au cœur de la médecine de demain avec une forte diminution des risques associés aux soins » [11].

1.3. Intérêts

L'augmentation du coût de production des médicaments récents (principalement des anticancéreux), la diminution des mises sur le marché de nouveaux médicaments et la recherche constante d'une réduction des effets secondaires sévères, qui sont de plus en plus présents et coûteux, ont poussé les industriels et les instances réglementaires, tout comme les gouvernements, à soutenir les principes de la médecine personnalisée.

En effet, en 2015, sur 1232 entités chimiques approuvées comme médicaments aux Etats Unis, 16 % sont associées avec des effets secondaires suffisamment sévères pour qu'une mention soit ajoutée sur l'emballage du produit [12]. Une autre étude a démontré que 1,8 million de personnes ont été hospitalisées pour des effets indésirables (excluant les échecs thérapeutiques, les empoisonnements volontaires ou non et les toxicomanies) en 2005 aux Etats Unis, avec plus de 100 000 morts. Ces effets indésirables provoquent un coût pour les hôpitaux pouvant aller de 1,58 à 4 milliards de dollars par an et sont classée entre la 4ème et la 6ème cause de décès aux Etats Unis [13].

De plus, de nombreux traitements montrent une efficacité limitée. L'illustration ci-dessous représente le pourcentage de personnes ne répondant pas aux traitements pour différentes classes thérapeutiques traitant des maladies chroniques [14].

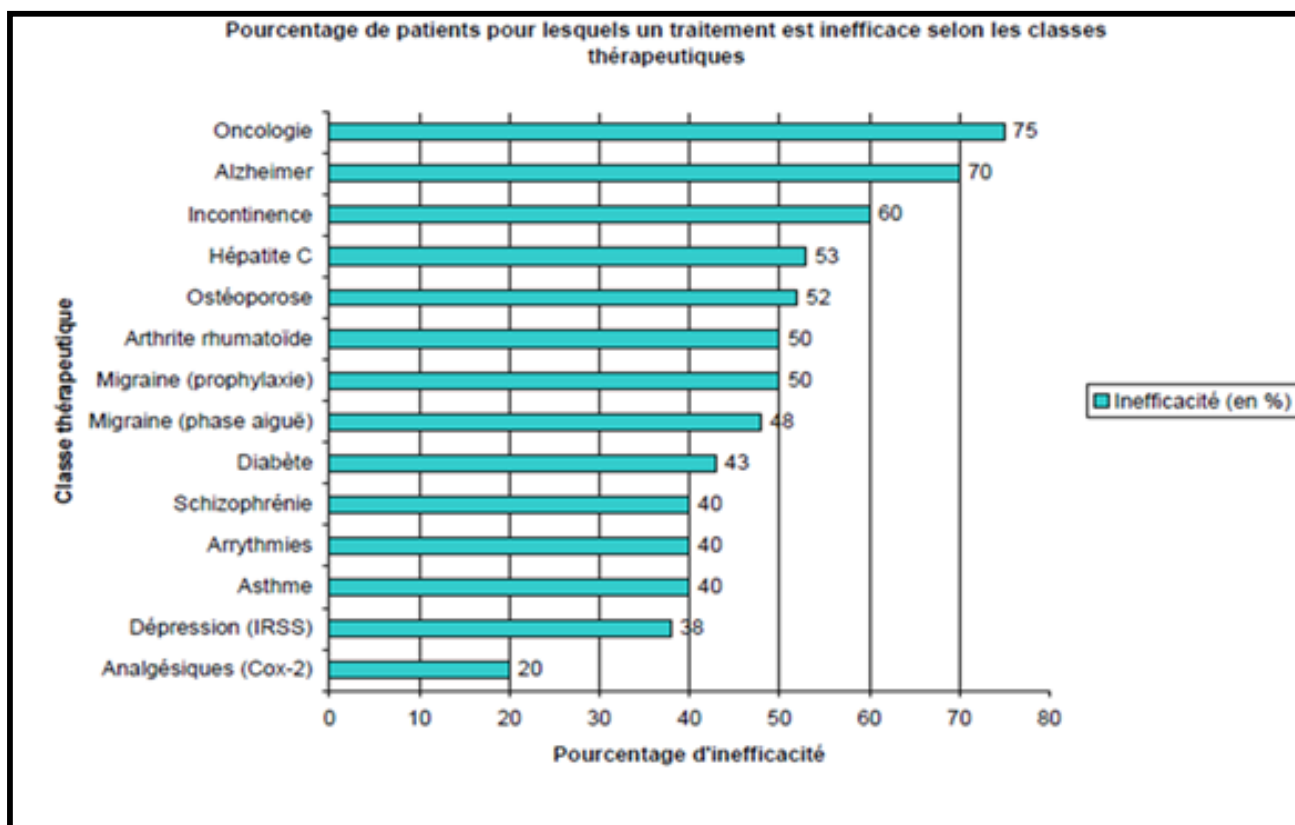


Figure 5 : Taux de non réponse aux traitements selon différentes classes thérapeutiques [14].

Sur la figure 5, il est facilement identifiable que les traitements les plus anciens comme les analgésiques sont efficaces pour une grande majorité de la population alors que pour les anticancéreux ou les médicaments traitant la maladie d'Alzheimer, le pourcentage de patients chez qui la thérapie médicamenteuse est inefficace reste très élevé (70 et 75 % d'inefficacité).

1.4. Evolution de l'ampleur de la médecine personnalisée

La médecine personnalisée est un sujet qui semble passionner le monde scientifique. En effet, les publications sur ce sujet ont fortement augmenté (voir figure 6) entre 1999 (1) et 2008 (180), grâce au développement de la médecine moléculaire, aux méthodes de diagnostic moléculaire et aux besoins médicaux réels [15].

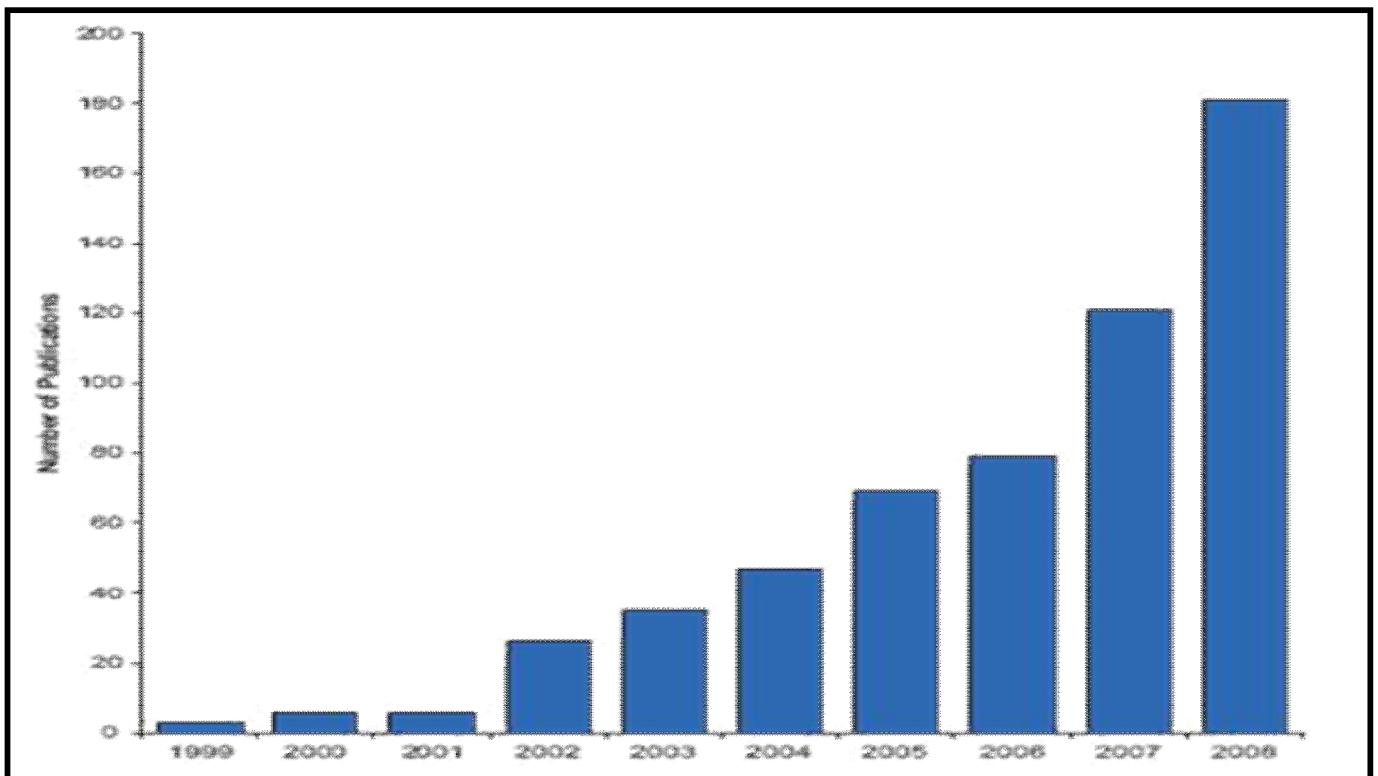



Figure 6 : Nombre d'articles par an entre 1999 et 2008 qui incluent le terme "médecine personnalisée", basé sur une recherche PubMed en Mars 2009 [15].

D'ailleurs, même si, dans la plupart des cas, les publications se concentrent en réalité sur la médecine stratifiée, le terme « médecine personnalisée » semble plus fédérateur car plus attractif pour les professionnels de santé et les patients.

La création du « Personalized Medicine Coalition » par des industriels pharmaceutiques, des membres du gouvernement américain et des universitaires, le « Genomics and Personalized Medicine Act », introduit en 2006 par Barack Obama (sénateur à l'époque) tout comme les commissions ministérielles sur la médecine personnalisée partout en Europe, démontrent l'intérêt grandissant des acteurs de la santé (praticiens, chercheurs, industriels, gouvernementaux) pour ce sujet.



Chapitre II :

*Définition et évolution des
biomarqueurs, de la protéomique,
de la métabolomique, de la pharmaco
génomique et de la pharmacogénétique*

2. DEFINITION ET EVOLUTION DES BIOMARQUEURS, DE LA PROTEOMIQUE, DE LA METABONOMIQUE, DE LA PHARMACOGENOMIQUE ET DE LA PHARMACOGENETIQUE

2.1. Définitions

2.1.1. Biomarqueur

La médecine personnalisée se doit de reposer sur des marqueurs spécifiques des patients et qui permettront une adaptation idéale du traitement à chaque patient.

On utilise alors le terme de **biomarqueurs**, définis par le National Institute of Health, en 1998, comme « une caractéristique mesurée objectivement (c'est à dire avec une précision et une reproductibilité suffisantes) et évaluée comme indicateur de processus physiologique ou pathologique ou de l'action des médicaments ». Elle introduit deux notions importantes :

- Un biomarqueur doit être mesuré avec fiabilité et précision ;
- Le caractère potentiellement indirect du biomarqueur qui est porté par un ou plusieurs paramètres biologiques (caractéristiques génétiques, protéines, métabolites...) qui permettent de caractériser un état physiologique, un état pathologique, l'évolution d'une maladie ou la réponse à un traitement.

Cependant, le concept de biomarqueurs n'est pas nouveau : la glycémie, dosée dès 1848, est un biomarqueur reconnu tant pour caractériser le diabète que pour évaluer l'efficacité des molécules antidiabétiques. Le dosage des biomarqueurs peut correspondre à des procédures extrêmement simples comme celui de la glycémie ou du cholestérol ou à des procédures plus récentes et complexes comme l'identification d'une mutation spécifique du génome [16].

Les biomarqueurs peuvent donc être des paramètres biologiques anatomiques, physiologiques, biochimiques ou moléculaires. Ils sont alors détectés dans un tissu ou un fluide biologique (tel que le sang, le fluide cérébro-spinal ou l'urine) et la présence ou l'absence ou la surexpression ou sous-expression seront les critères observés. D'un point de vue biochimique, les différents types de biomarqueurs les plus couramment utilisés sont :

- Les protéines : utilisables tout le long du processus de découverte et de développement d'un médicament et dont l'histoire en tant que biomarqueur est la plus ancienne ;
- Les profils d'expression d'ARN : la technique du Gene array (dosage de gènes) dont ils sont issus est utilisée dans la phase de découverte du médicament et durant les essais cliniques,
- Les SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) ou polymorphisme simple de nucléotide (mutation ponctuelle) dans l'ADN : ils peuvent avoir une valeur diagnostique ou prédictive d'une maladie (mais jamais d'efficacité). La nécessité de recourir à de larges populations de patients, lors de la réalisation de certains essais cliniques, a retardé leur utilisation mais celle-ci devrait s'amplifier prochainement,

- Les petites molécules : c'est la catégorie la moins utilisée, mais son utilisation devrait augmenter avec le succès de l'application des métabolomiques.

Suite à la démonstration récente de l'importance de la génétique sur l'action des médicaments (que ce soit en termes d'efficacité, de métabolisation...), l'industrie biotechnologique a mis au point de nombreux tests pour des biomarqueurs génomiques et c'est sur ces biomarqueurs que repose la médecine personnalisée.

2.1.2. Biomarqueur génomique

Propriété de l'ADN ou de l'ARN révélatrice d'un processus biologique normal ou pathologique et/ou d'une réponse à une thérapeutique ou à une autre intervention [17], un biomarqueur génomique peut, par exemple, être la mesure :

- De l'expression d'un gène,
- De la fonction d'un gène,
- De la régulation d'un gène.

Un biomarqueur génomique peut consister en une ou plusieurs caractéristiques d'ADN et/ou d'ARN telles un polymorphisme simple de nucléotide (SNP), la variabilité des répétitions de séquences courtes, des haplotypes, des modifications de l'ADN (ex : méthylations), des délétions ou des insertions de nucléotides, des variations du nombre de copies ou des réarrangements cytogénétiques (ex : translocations, duplications, délétions ou inversions).

Les caractéristiques d'ARN incluent (cette liste est non exhaustive) les séquences d'ARN, les niveaux d'expression de l'ARN, la transformation de l'ARN (épissage et traduction) et les niveaux de micro ARN.

Les biomarqueurs sont ainsi associés à différents domaines de recherches (voir annexe 1) s'appuyant sur les protéines et le génome.

2.1.3. Pharmacogénomique

La pharmacogénomique est l'étude des mécanismes génétiques des variations individuelles de la réponse aux xénobiotiques et, plus particulièrement, aux médicaments. Ces connaissances sont appliquées et applicables à l'adaptation de certains traitements à chaque patient [18].

2.1.4. Pharmacogénétique

La pharmacogénétique est un sous ensemble de la pharmacogénomique et elle est définie comme l'étude des variations de la séquence d'ADN par rapport à la réponse aux médicaments.

La différence entre la pharmacogénétique et la pharmacogénomique est explicitée par Franck Sérusclat dans son rapport au Sénat. Il indique que « la pharmacogénomique s'adresse au gène lui-même et non plus seulement à son expression. Elle englobe la pharmacogénétique et la renouvelle en identifiant les variations du génome responsables des modifications des réponses de l'organisme. Ainsi, lorsque les liens entre les mutations d'un ou plusieurs gènes et leurs traductions au niveau d'une enzyme ou d'un récepteur, ainsi que les conséquences cliniques de celles-ci, sont établis, l'analyse du génome, désormais rapide et sûre, permet d'éviter le recours à des dosages et à des tests biologiques souvent longs, délicats, parfois imprécis et toujours indirects [19]. »

Les tests sur des biomarqueurs pharmacogénétiques permettent d'identifier les polymorphismes génétiques. En effet, même si 99,9 % du génome humain sont identiques d'un individu à l'autre, les 0.1 % restant (représentant tout de même 3 millions de nucléotides) sont à la base de variations de la séquence d'ADN. Ces polymorphismes sont de plusieurs types :

- Single Nucleotide Polymorphism ou SNP,
- Insertions ou délétions de bases,
- Délétions d'ADN répétitif.

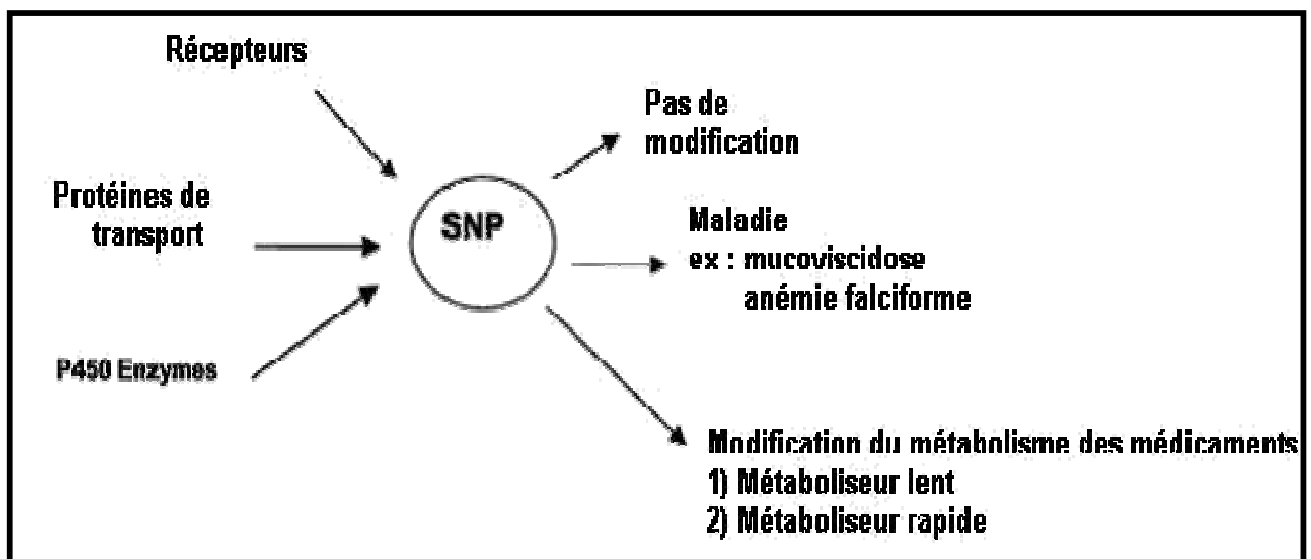


Figure 7 : Le polymorphisme des nucléotides simples peut se trouver au niveau des récepteurs, des transporteurs protéiques et des enzymes du métabolisme des médicaments [19].

Les SNP sont des mutations ponctuelles isolées qui peuvent apparaître au niveau des récepteurs, des protéines de transport des médicaments ou des enzymes du métabolisme des médicaments. Leur fréquence dans la population est supérieure à 1 %. Cette variation stable de la séquence d'ADN génomique est retrouvée environ toutes les 100 à 300 bases du génome et elle affecte moins de 10 % de la population. Beaucoup n'ont pas d'implications fonctionnelles mais celles se trouvant dans des régions codantes ou régulatrices de gènes peuvent induire des conséquences sur le métabolisme (métabolisation lente ou rapide) ou entraîner des maladies (exemple : anémie hémolytique) [19].

Depuis quelques années, le nombre de SNP identifiés a augmenté de façon exponentielle et une base de données (dbSNP database) a été créée en collaboration entre différents organismes. En 2010, cette base de données contenait environ 20 millions de SNP humains validés.

2.1.5. Protéomique

L'étude du protéome (c'est-à-dire l'ensemble des protéines) désigne l'identification, la caractérisation et la quantification de toutes les protéines impliquées dans une voie particulière, un organite, une cellule, un tissu, un organe ou un organisme [18].

2.1.6. Métabolomique

La métabolomique est l'analyse globale des métabolites, c'est-à-dire les petites molécules générées dans le processus du métabolisme [18].

2.1.7. Métabonomique

C'est une nouvelle science 'omique' qui étudie les réponses métaboliques à un médicament, à des changements environnementaux ou à une maladie. C'est une extension de la génomique (qui s'intéresse à l'ADN) et de la protéomique (qui s'intéresse aux protéines). Plus techniquement parlant, la Métabolomique est la mesure quantitative de la réponse métabolique multiparamétrique d'organismes vivants à des stimuli patho-physiologiques ou à des modifications génétiques [18].

2.1.8. Surrogate endpoint ou Critère de substitution

Un biomarqueur peut être considéré comme un critère de substitution, c'est-à-dire qu'il pourra se substituer à un critère clinique. Un critère de substitution est défini par une mesure de laboratoire ou d'un signe physique utilisé lors des essais thérapeutiques comme substitut pour identifier un critère clinique jugé sérieux. La différence entre un biomarqueur et un critère de substitution est surtout qu'un biomarqueur est un candidat au titre de critère de substitution alors que le second est déjà utilisé pour mesurer les effets d'un traitement [18], [20].

2.2. Intérêt des biomarqueurs et des polymorphismes

Il existe différentes finalités ou stades d'intervention possibles des biomarqueurs dans le domaine biomédical (voir annexe 2 et figure 8) :

- Le diagnostic : le biomarqueur permet d'identifier la présence d'une maladie et de définir la population cible et les répondeurs à la thérapeutique.
- Le pronostic : le biomarqueur permet de déterminer l'évolution prévisible de la maladie.
- Le mécanisme : le biomarqueur rend compte de l'effet observé en aval du médicament.
- La maladie : le biomarqueur traduit la conséquence clinique ou la mesure de la maladie.
- L'efficacité (biomarqueur d'efficacité) : le biomarqueur reflète alors le résultat bénéfique du traitement.
- La toxicité (biomarqueur de toxicité) : le biomarqueur rend compte de l'effet toxicologique du médicament sur les systèmes *in vitro* et *in vivo*.
- Le stade : le biomarqueur permet de faire la distinction entre les différents stades de la maladie.
- Lors des essais cliniques, les biomarqueurs permettent une élimination fiable et précoce des mauvais candidats au développement de molécules thérapeutiques et un choix de la dose de médicament pour les essais pivot de phase III, une diminution du risque de non démonstration d'effet ou d'effets secondaires trop importants [18], [21].

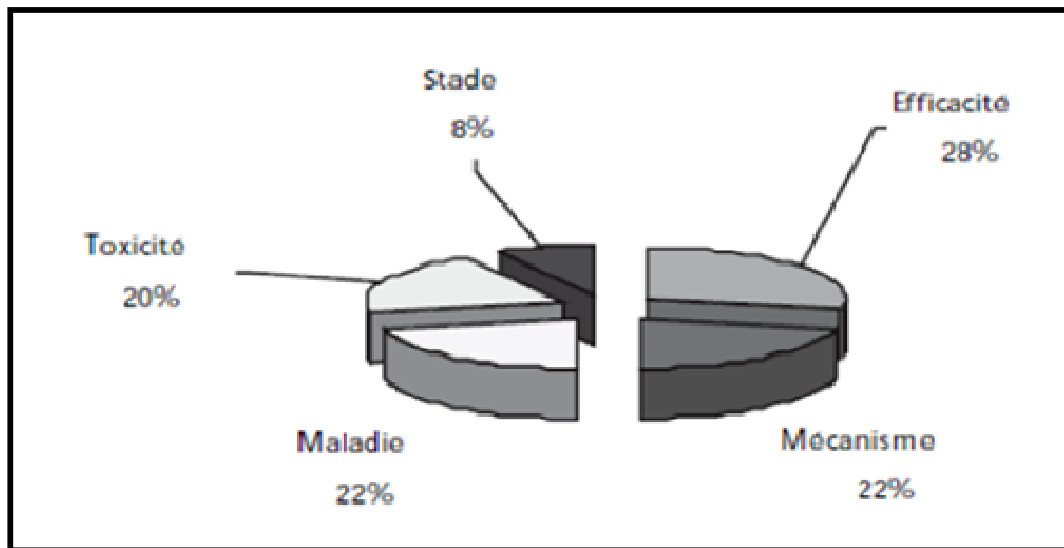


Figure 8 : Domaines d'intervention courants des biomarqueurs [22].

L'étude des polymorphismes de nucléotides peut permettre d'évaluer deux aspects :

- **La prévention des risques**

Lors du diagnostic, ils permettront de dépister les patients à risque pour un médicament car ayant une modification du métabolisme pouvant induire des surdosages, permettant ainsi de diminuer les effets secondaires.

Par exemple, la recherche de l'allèle HLA-B*1502 permet d'éviter le traitement des porteurs de cet allèle par Tégrétol®, antiépileptique qui induit chez ces personnes un risque de développer un syndrome de Stevens et Johnson.

- **L'augmentation du bénéfice**

L'évaluation de la métabolisation et la recherche de cibles thérapeutiques permettent d'augmenter les bénéfices des traitements pour les patients, d'éviter de chercher des traitements à tâtons, ce qui est une perte de temps, de bénéfice et financière. L'exemple le plus concret est l'évaluation de la protéine HER-2/Neu avant un traitement du cancer du sein par l'Herceptin® (trastuzumab) développé par les laboratoires Genentech. En effet, les patientes cancéreuses ne présentant pas de surexpression de cette protéine ne répondront pas à ce traitement alors que son utilisation en combinaison à une chimiothérapie chez les patientes ciblées permet une réduction du risque de 52 % comparé à une chimiothérapie seule [24].

2.3 Domaines de prédilections de la pharmacogénomique et de la pharmacogénétique

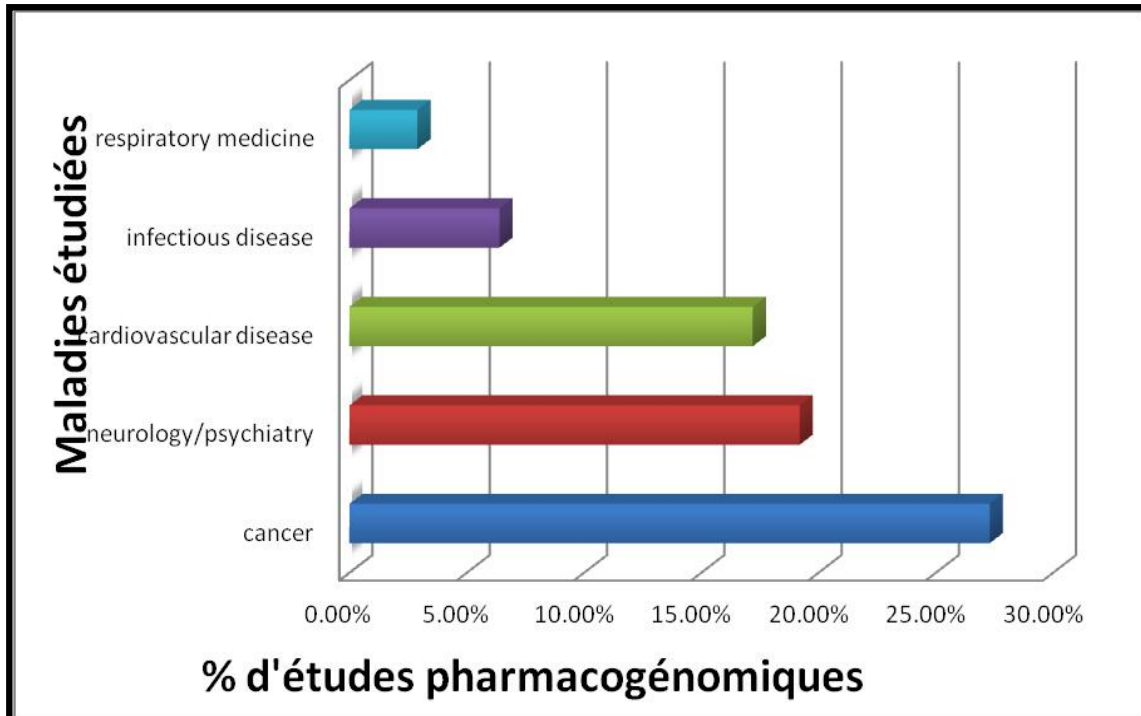


Figure 9 : Domaines d'intérêt principaux des études pharmacogénomiques (d'après [25]).

2.3.1. Maladies infectieuses

L'efficacité du traitement du VIH par Selzentry® en combinaison avec d'autres antiviraux est fonction de la présence ou non des récepteurs CCR5 à la surface du virus. Un test de tropisme permet de déterminer la présence de ce récepteur. Toujours dans le cas du VIH, la détection de l'allèle HLA-B*5701+C4A*6 permet de limiter les réactions d'hypersensibilités avec fièvre, éruption cutanée et troubles digestifs dus à l'abacavir (Ziagen®, inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH-1) [26]. Le test génétique permet d'obtenir une

information majeure sachant que 4 % des malades traités ont présenté une hypersensibilité sévère et que l'arrêt du traitement fait régresser les symptômes mais que la ré-introduction de la thérapie peut être fatale [27]. Les patients porteurs de l'allèle HLA-B*5701 ont 11,4 fois plus de risques que les autres de développer ce type de réaction. Le niveau de preuve de ce génotypage est très fort, avec une valeur prédictive positive (VPP) de 100 % et une valeur prédictive négative (VPN) de 98 %.

2.3.2. Domaine cardiovasculaire

Deux gènes impliqués dans le domaine de la thrombose et du maniement des anticoagulants oraux (anti-vitamines K ou AVK) tels que la warfarine sont actuellement pertinents : le gène codant CYP2C9 qui métabolise les anti-vitamine K (les métaboliseurs lents et intermédiaires représentent 0,7 et 14 % de la population occidentale) et le gène codant l'époxyde vitamine K réductase (VKORC1) qui recycle la vitamine K oxydée. La réalisation des tests pharmacogénétiques permet de prédire le risque hémorragique et d'optimiser la dose à l'état d'équilibre chez des patients devant recevoir des AVK. Des études ont montré la pertinence clinique importante de ces tests en évaluant et en confirmant que ces deux gènes expliquent près de 50 % de la variabilité interindividuelle de réponse aux AVK [28] [30]. Le niveau de preuve est considéré comme « fort » puisque la VPP est de 80 % et la VPN de 58 %.

2.3.3. Neuropsychiatrie

Le test génétique visant à identifier les différents variants du CYP2D6, métabolisant les antidépresseurs tricycliques et les neuroleptiques est l'un des plus anciens [30] [31]. Sa réalisation avant traitement permet de prédire des dyskinésies tardives et des hypotensions. Son niveau de preuve reste incertain avec une VPP de l'ordre de 61 % et une VPN de 51 % lui conférant une valeur de pertinence clinique faible. Le typage de l'allèle HLA-B*1502 permet, quant à lui, de prévenir le risque de syndrome de Stevens Johnson avant le début d'un traitement par la carbamazépine chez les patients épileptiques ou bipolaires.

2.3.4. Oncologie

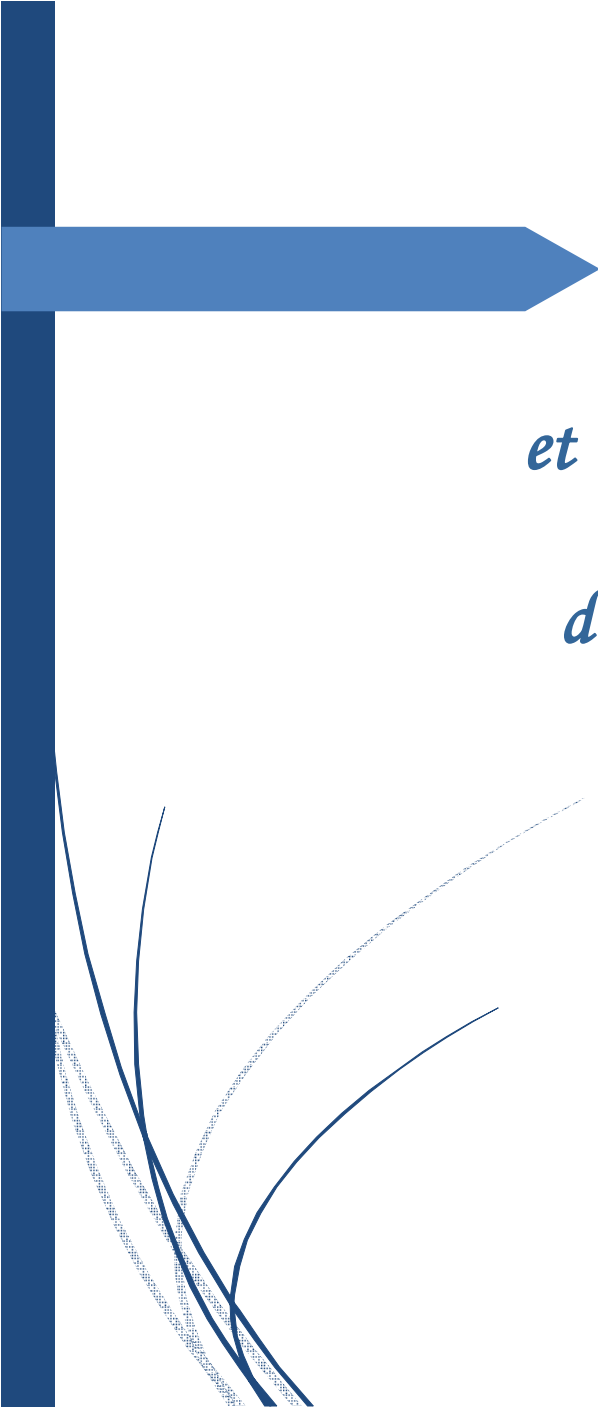
Dans ce domaine, les gènes étudiés sont très nombreux. Le premier et le plus ancien test est celui du génotypage de la thiopurine-méthyl-transférase (TPMT) dont l'activité est impliquée dans l'élimination de l'azathioprine, de la thioguanine et de la 6-mercaptopurine utilisées dans les leucémies, la maladie de Crohn et d'autres maladies auto immunes. La réalisation du génotypage permet de prédire des neutropénies sévères voire mortelles [32]. Il existe de rares métaboliseurs lents (0,3 % de la population) et environ 10 % de métaboliseurs intermédiaires.

Chez les métaboliseurs lents, on privilégiera un autre traitement ou une diminution d'environ 90 % de la posologie ainsi qu'une surveillance hématologique intensive [33]. Ce test possède un niveau de preuve fort avec une VPP de 78 % et une VPN de 56 %. Sa pertinence clinique est jugée importante et actuellement bien connue des médecins.

Un autre test plus récent est celui du génotypage de l'UGT1A1 (recherche du variant UGT1A1*28). Cette enzyme est responsable du métabolisme de l'irinotecan, anticancéreux prescrit fréquemment. Chez les patients déficients en UGT1A1, il y a accumulation et surdosage de l'un des métabolites actifs et toxiques de l'irinotecan avec un risque de 50 % de développer une leucopénie sévère [33]. Ce génotypage a un niveau de preuve jugé incertain » avec une VPP de 50 % et une VPN de 95 %. Sa pertinence clinique est jugée probable ».

Du point de vue de l'évaluation des cibles des médicaments, d'autres tests se révèlent prometteurs :

- Le test pour le récepteur de la protéine HER-2/neu, prédictif de l'efficacité du traitement du cancer du sein par l'Herceptin (trastuzumab),
- L'identification du récepteur à l'EGF, pour les traitements du cancer du côlon par cetuximab, gefitinib ou panitumab, dont la présence est corrélée à l'efficacité du traitement,
- Le gène BCR-ABL ou la présence du chromosome de Philadelphie sont liés à l'efficacité du traitement des leucémies par Glivec (Imatinib), dasatinib et nusulfan [35]



Chapitre III :
Des progrès scientifiques
et technologiques considérables
à l'origine de l'avènement
de la médecine personnalisée

3. DES PROGRES SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES CONSIDERABLES A L'ORIGINE DE L'AVENEMENT DE LA MEDECINE PERSONNALISEE

Les progrès des méthodes, des outils et des connaissances, couvrent un vaste champ, les avancées très rapides des technologies ayant accru les possibilités de mieux comprendre les processus pathologiques. L'analyse biologique dans le domaine expérimental et dans ses applications médicales est passée récemment d'une approche ponctuelle limitée à la détermination d'un petit nombre de paramètres, à une approche globale c'est-à-dire à la prise en compte simultanée de l'ensemble du génome ou de ses différents niveaux d'expression.

Ces avancées techniques ont permis l'apparition d'« omiques » : « à la génomique, éventuellement limitée à "l'exomique", c'est à dire à la seule étude des séquences codantes et des séquences immédiatement environnantes, sont venues s'ajouter la "transcriptomique" (analyse des ARN messagers ou transcriptome), la "protéomique" (analyse des protéines), la "métabolomique" (analyse des métabolites du métabolisme intermédiaire) » (figure 10) [36].

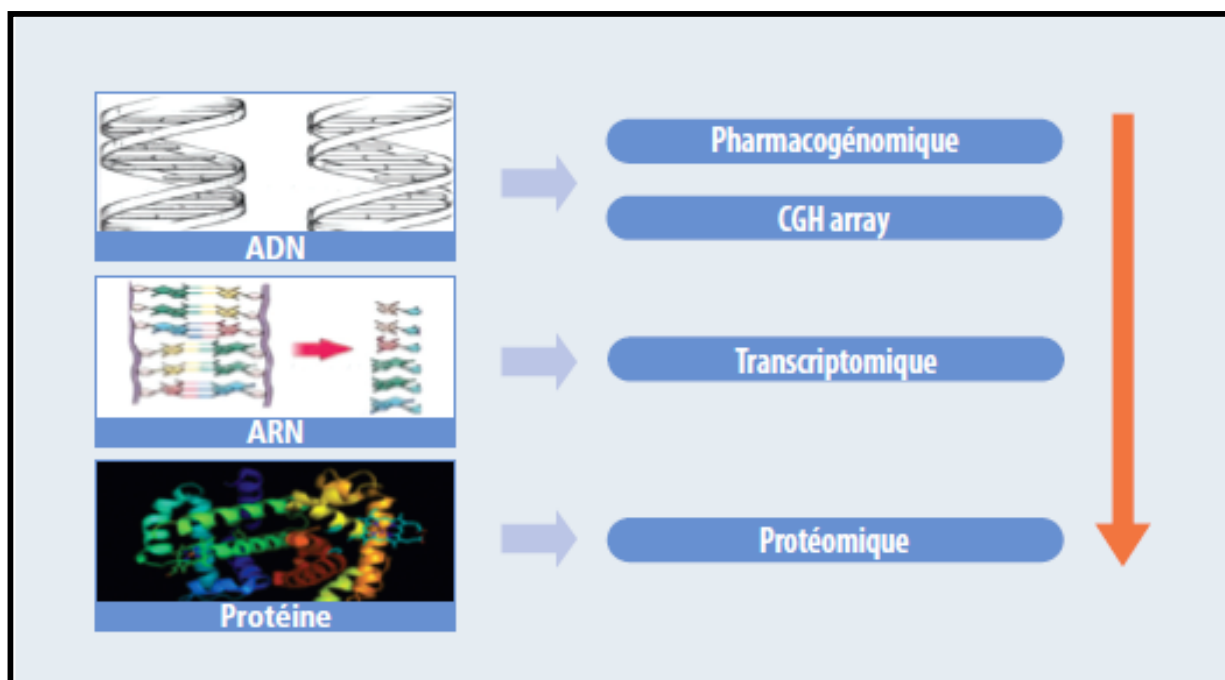


Figure 10 : Les outils " omics " [37].

Cette évolution résulte d'une augmentation considérable et rapide des performances technologiques qui, relayée par la puissance de calcul de l'informatique permet aujourd'hui des analyses globales très rapides, qualifiées de « haut débit ». Le séquençage de l'ADN, les puces à ADN, la spectrométrie de masse, la résonance magnétique nucléaire, sont autant de nouveaux outils qui conjugués à la rapidité des avancées en numérisation, en bio-informatique, en nanotechnologies permettent de réaliser des analyses biologiques de plus en plus détaillées sur des surfaces de plus en plus réduites, d'enregistrer, de conserver, de transférer, de croiser, de grandes quantités de données biomédicales et de cibler, avec une extrême précision les thérapies.

3.1. L'évolution des techniques de séquençage du génome :

L'ADN est une molécule, présente dans toutes les cellules vivantes, elle contient l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement d'un organisme. Transmis lors de la reproduction, il est le support de l'information génétique et de l'hérédité. La réplication de l'ADN, notamment lorsqu'une cellule se divise, implique un brin d'ADN à copier et une protéine spécifique, l'ADN polymérase. Cette protéine « lit » le brin modèle et met un A en face d'un T, etc. Le séquençage de l'ADN, consiste à déterminer l'ordre de la succession linéaire des bases A, C, G et T d'un fragment d'ADN donné (figure 11).

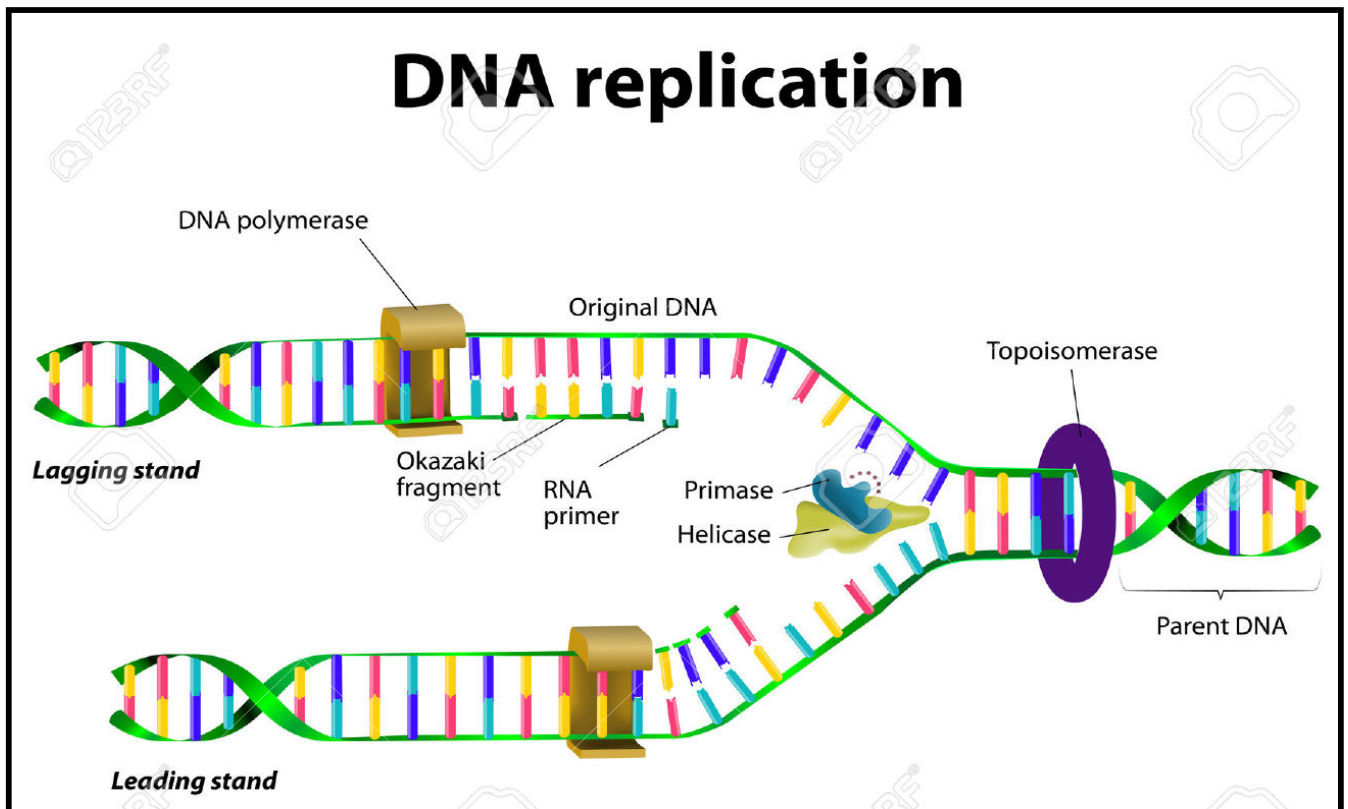


Figure 11 : Réplication de l'ADN [38].

Le séquençage d'ADN humain représente 3 milliards d'éléments groupés en 46 chromosomes, et sur ces 3 milliards d'éléments, on comptabilisera environ 10 % de différences entre les génomes de deux individus. Ces différences sont à l'origine de notre apparence, notre phénotype extérieur, mais aussi de nos maladies, de nos réponses aux médicaments et de nombreux autres phénomènes. Il existe deux outils majeurs pour observer l'ADN : **le génotypage et le séquençage**. Le génotypage vise à déterminer la nature d'une variation génétique à une position spécifique dans le génome, pour un individu. Il consiste à observer des endroits précis du génome et permet de connaître les variations génétiques d'une partie ou d'un génome entier. Le séquençage détermine l'ordre d'enchaînement des nucléotides pour un fragment d'ADN donné.

3.1.1. L'ampleur des évolutions :

La première version du génome entier fut rendue publique en 2001. En 2006, une nouvelle technique de séquençage plus rapide a permis une utilisation pour la recherche et offert des possibilités d'application. À partir de 2006 jusqu'à nos jours des techniques sont apparues pour séquencer de plus en plus vite, et on assiste actuellement à une diversification des méthodes de séquençage qui influe sur les pratiques [38].

3.1.1.1. Des méthodes de séquençage de plus en plus rapides :

C'est Frederick Sanger, deux fois lauréat du prix Nobel de chimie (1958 et 1980) qui a mis au point la première méthode de séquençage de l'ADN : la méthode Sanger, encore très employée dans le monde. Cette méthode, basée sur l'interruption de la synthèse enzymatique d'un brin d'ADN complémentaire, comporte plusieurs limites. La plus importante est son faible rendement, car les étapes de préparation de l'échantillon d'ADN et d'amplification sont lentes et coûteuses, et la taille des séquences lisibles (inférieur à 1 000 nucléotides) est limitée.

Quelque temps après la publication du premier génome humain, des machines de nouvelle génération de séquençage à haut-débit (ou sous l'acronyme « Next Génération Sequencing » NGS), bien plus rapides, ont été proposées par deux sociétés Solexa (depuis rachetée par Illumina) et 454 Life Science appartenant à Roche, marquant la première révolution du domaine [38]. Elles utilisent un séquençage massif parallèle permettant de réduire les coûts et d'augmenter la rapidité des analyses.

La compagnie 454 Life Science, a mis au point la plateforme 454, qui s'appuie sur la technique de pyroséquençage (figure 12), technique de séquençage par synthèse qui repose sur la détection de la libération de pyrophosphate lors de l'incorporation de nucléotides [39]. La société Solexa (Illumina) a opté pour une stratégie plus proche de la méthode de Sanger. La molécule d'ADN à séquencer est mise en présence des quatre types de nucléotides, chacun associés à un fluorophore différent. Le nucléotide nécessaire à l'élongation du brin complémentaire est alors inséré, mais une modification de sa structure empêche l'élongation de se poursuivre. Un signal lumineux spécifique du nucléotide présent est alors émis.

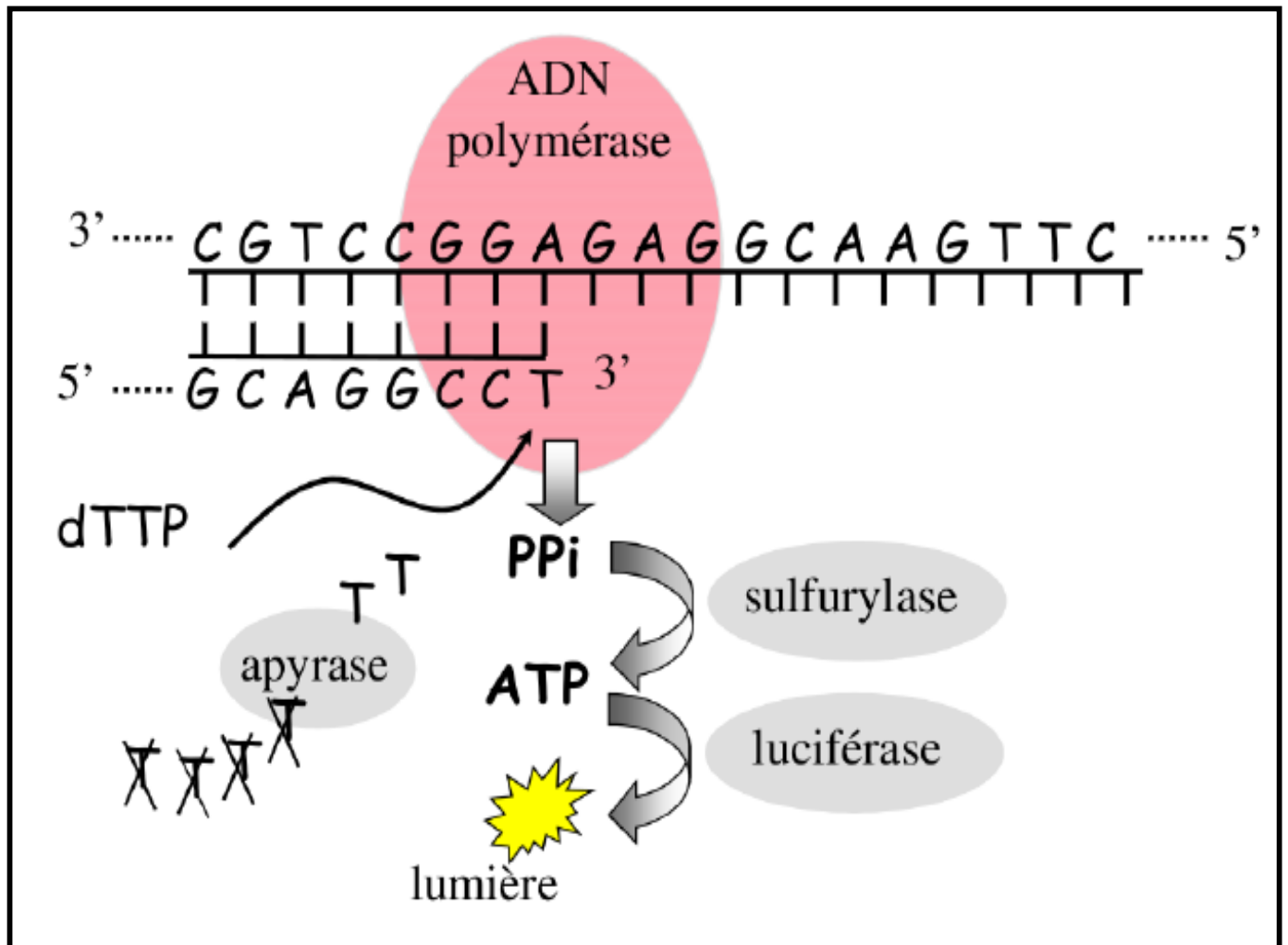


Figure 12 : Technique de pyroséquenceage [40].

Une évolution bien plus impressionnante est à l'oeuvre, la société Oxford Nanopore Technology (ONT) a présenté en 2012 un nouveau dispositif de séquençage : le Minion. La technologie de ce dispositif s'appuie sur des nanopores (un pore d'un diamètre compris entre 1 et 100 nm), ce qui comporte deux avantages : la préparation des échantillons est très simple et rapide et il sera possible de lire des dizaines de milliers de bases en une seule fois. Cependant, le taux d'erreur (4 %) reste pour l'instant trop élevé pour la plupart des applications envisagées, dont le diagnostic médical [41].

Le Minion est une grosse clé USB jetable capable de lire directement l'ADN (jusqu'à 1Gb de données) à partir d'un échantillon de sang (figure 13) ; il a été testé sur des génomes simples (virus, bactéries) et a démontré son efficacité en décodant leur ADN en quelques secondes. Ce procédé, utilisé par la firme britannique, fait appel à une technique de séquençage dans laquelle les chaînes ADN traversent des micropores (2 000 dans le Minion) au niveau desquels chaque nucléotide est identifié (figure 14).



Figure 13 : Minion sequencing [41].

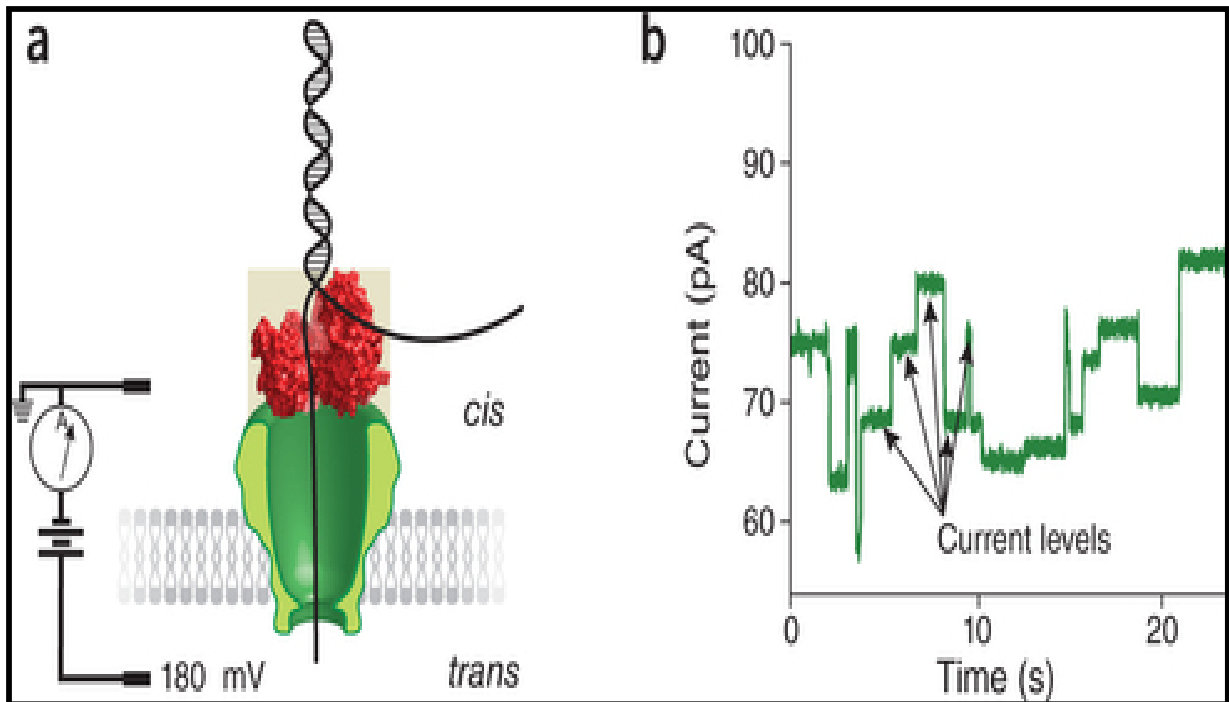


Figure 14 : Principe de nanopore sequencing [42].

3.1.1.2. Des effets à court terme sur les connaissances et à plus long terme sur les thérapeutiques :

Selon l'expression du Dr Laurent Alexandre « on assiste actuellement à un véritable tsunami technologique dans ce domaine. Cela ne veut pas dire que l'on va découvrir un univers génomique déterministe, cela signifie simplement que personne n'avait prévu ce qui nous arrive. En 1990, on avait un consensus mondial dans la communauté des généticiens sur le fait qu'on ne saurait jamais séquencer intégralement les 3 milliards de paires de bases » [43].

En outre, l'on a aussi découvert que l'idée répandue depuis les années soixante-dix que 98,5 % de l'ADN ne servait à rien était erronée. Cette partie contient en réalité de nombreuses zones régulatrices très importantes qui influencent entre autres le câblage neuronal, la neuro-embryogénèse et l'immunité.

Les progrès dus au séquençage du génome humain au cours de ces dix dernières années, et à la technologie de séquençage à très haut débit ou NGS (Next Generation Sequencing) ont multiplié les capacités d'analyse par un facteur de 50 000. « On est passé presque brutalement d'un séquençage besogneux de quelques gènes pour un patient dans le cadre d'une maladie donnée, à la capacité de séquencer un très grand nombre de gènes pour un grand nombre de personnes. Cela permet d'effectuer des tests et des lectures ciblés, voire même la lecture du génome entier, ou au moins les séquences qui codent pour ces gènes » [44]. On observe un renforcement du lien entre développement du séquençage à haut débit et extension de la médecine personnalisée. Néanmoins, « il faut que toute la chaîne soit impliquée, depuis l'imagerie, les paramètres biologiques, jusqu'aux traitements », selon le Pr Florent Soubrier [45].

3.1.2. La baisse drastique des coûts : élément majeur de cette révolution

Le 26 juin 2000, M. Bill Clinton et M. Tony Blair annoncèrent que le consortium international public de séquençage Human Genome Project (HGP) et son concurrent privé lancé par M. Craig Venter, Celera Genomics Corp, avaient tous deux décrypté une première version de génomes humains ; cependant il faudra attendre avril 2003, avant que le premier génome humain soit déclaré entièrement séquencé. Au total, HGP aura coûté, sur quinze ans, environ 2,7 milliards de dollars (2 milliards d'euros). Dix ans plus tard, le séquençage des 3 milliards de paires de bases qui constituent le patrimoine héréditaire humain tend à coûter 3 millions de fois moins cher, soit entre 1 000 et 3 000 dollars et s'effectue en quelques heures seulement. La courbe qui décrit l'évolution du prix du génome décroît bien plus vite que celle suivie par la loi de Moore, laquelle prédit le doublement tous les dix-huit mois de la puissance de calcul informatique (figure 15).

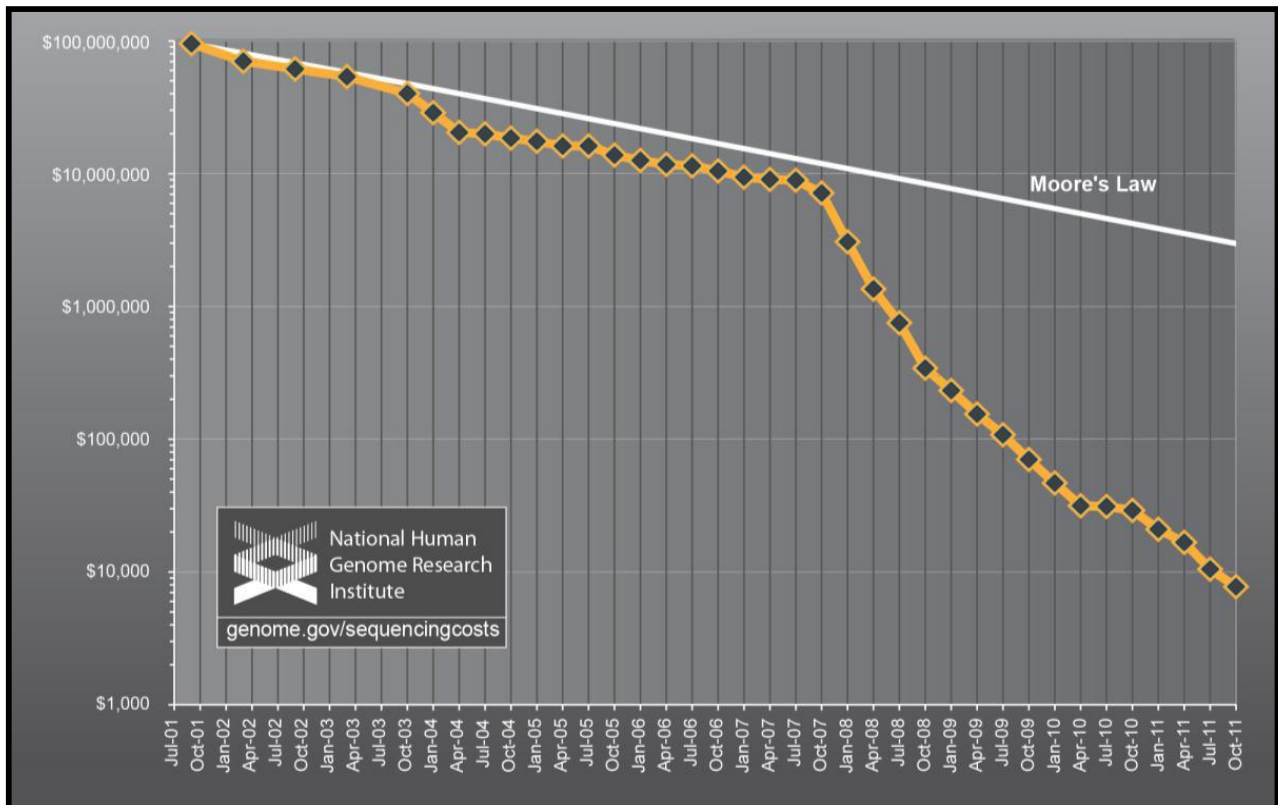


Figure 15 : Diminution du coût du séquençage par génome de l'ADN de 2001 à octobre 2011 [46].

3.2. L'extension de l'usage des puces à ADN et la nanomédecine :

Les nouvelles technologies permettent des études sur le génome entier qu'il s'agisse des puces à ADN ou des méthodes de séquençage haut débit, elles ciblent en plus des gènes, des régions non codantes qui sont pour certaines, impliquées dans la pathogenèse et représentent un apport non négligeable pour comprendre les maladies pour lesquelles la cause génétique n'est pas identifiée.

Le recours à des matériaux nouveaux et aux possibilités offertes par les nanotechnologies accroissent les capacités de ciblage et de suivi des patients.

3.2.1 L'usage des puces à ADN :

Pour identifier les facteurs génétiques responsables de prédispositions (ou de protection) vis-à-vis des maladies communes, on utilise des puces constituées de fragments d'ADN (oligonucléotides) correspondant à des séquences données, déposées sur un support solide selon une disposition ordonnée (array). Le fonctionnement de ces puces repose sur une hybridation par des séquences complémentaires marquées par un fluorochrome (voir figure 16). Les modèles sont basés sur des études effectuées à grande échelle (plusieurs milliers de malades et de témoins) par des études GWAS (Genome Wide Associations Studies) qui recherchent des déséquilibres de liaison entre le trait pathologique et des SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) localisés dans une même région du génome.

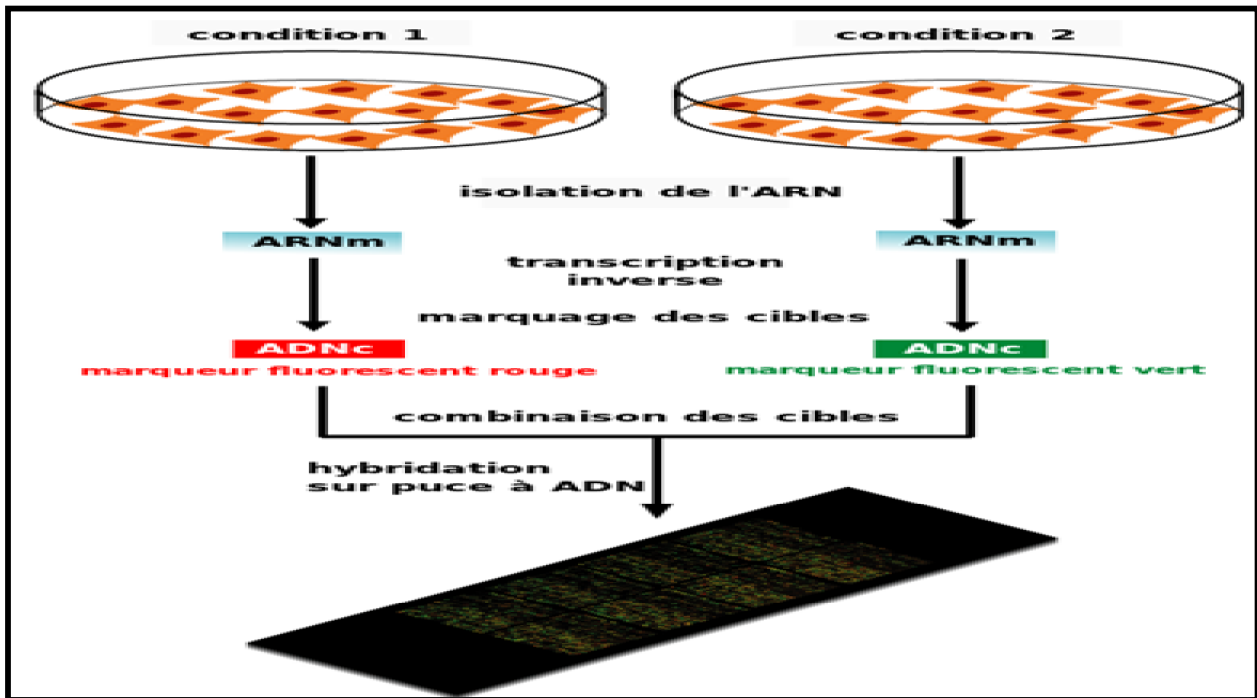


Figure 16 : Principe d'utilisation de la puce à ADN [47].

L'évolution technique récente des puces ADN a été considérable. La miniaturisation par la technique des puces à ADN permet de mesurer et de visualiser très rapidement les différences d'expression entre les gènes et ce à l'échelle d'un génome complet. L'utilisation des puces à ADN comme outil de diagnostic présente l'avantage de faire appel à de nombreux marqueurs : plusieurs milliers de gènes peuvent être ciblés simultanément pour fournir une signature du type cellulaire étudié. Les puces à ADN permettent donc de comparer l'expression des gènes de deux types cellulaires différents, d'étudier les gènes exprimés sur un grand nombre de patients pour observer l'effet d'un médicament sur l'expression des gènes, et de comparer tissus sains contre tissus malades, traités contre non-traités, etc [47].

L'utilisation des biopuces permet en une seule expérience, qui dure environ deux jours, d'obtenir une estimation sur l'expression de plus de 30 000 gènes. Les puces à ADN de dernière génération ont la capacité de contenir et d'analyser environ 50 000 polymorphismes. La gestion de la masse d'informations obtenues repose sur des outils informatiques puissants permettant de collecter, traiter et archiver les signaux. Ces techniques sont en évolution constante vers l'amélioration de la sensibilité, l'augmentation de la capacité et de la rapidité, et la diminution des coûts.



Figure 17 : Un exemple de puce à micro array la puce AmpliChip de Roche [48].

On peut désormais mesurer la sensibilité individuelle aux médicaments par une analyse sur le patient soit par séquençage, soit grâce à des puces à ADN, qui coûtent quelques centaines d'euros et permettent de savoir si le patient concerné réagira comme la majorité ou présentera des réactions particulières. Certaines puces à ADN sont conçues pour analyser des mutations dans certains gènes qui interviennent le plus fréquemment dans la résistance ou l'hypersensibilité à tels ou tels médicaments [49].

Ces puces sont développées en production industrielle et le passage du laboratoire à l'industrie s'est accompagné d'une amélioration de la qualité. Aux États-Unis, certaines sont accréditées uniquement pour la recherche, mais parfois utilisées par des laboratoires cliniques comme outils cliniques. La Food and Drug Administration (FDA) s'y est intéressée et l'accréditation est nécessaire.

3.2.2. L'impact du développement de la nano-médecine sur la détection, le traitement et le suivi des patients :

Les nanomatériaux sont à l'échelle nanométrique, 1 000 fois plus petits qu'une cellule ; ils ont des propriétés physiques, chimiques et biologiques particulières. Les nano-dispositifs, les nano assemblages moléculaires, se trouvent donc à la même échelle de taille que les biomolécules, c'est-à-dire toutes les molécules intervenant dans des processus pathologiques. Ces dispositifs sont plus sophistiqués que les puces ADN. Ils permettent d'effectuer du séquençage à haut débit.

Les nanotechnologies innovent au niveau du diagnostic personnalisé grâce à des microsystèmes pouvant être multi-paramétrés, plus rapides, capables de traiter un plus grand nombre d'échantillons ou de travailler sur des échantillons

de bien plus petite taille. Ceux-ci sont accessibles dans les laboratoires centraux, comme au lit du patient, au cabinet du médecin traitant ou dans d'autres configurations.

L'utilisation de nano-vecteurs dans les thérapies ciblées permet le transport de petites molécules médicamenteuses, après une administration veineuse, nasale ou orale, et conduisent ainsi le traitement thérapeutique au bon endroit dans l'individu et de limiter des effets secondaires délétères. Le troisième domaine d'utilisation est celui du suivi thérapeutique, où des capteurs peuvent être portés sur la personne, voire implantés dans la personne, sachant qu'à l'échelle nanométrique ou micrométrique et nanométrique, on arrive à les réduire pour mesurer des biomarqueurs ou la variation de paramètres physiques ou physico-chimiques. Les nano assemblages ont la même taille que les particules biologiques.

3.3.Le perfectionnement des autres instruments :

3.3.1. La spectrométrie de masse

Le principe de la spectrométrie de masse repose sur l'éventuelle fragmentation de la ou des grosses molécules (protéines) à analyser en ions qui sont ensuite séparés en fonction de leurs masses et de leurs charges. La technique ne pouvant analyser que des molécules ionisées et en phase gazeuse, son champ d'application ne concernait à l'origine que de petites molécules (sucres, acides aminés, stéroïdes, ...). Cependant, il a été ensuite considérablement élargi par la mise au point de techniques permettant de vaporiser et d'ioniser les protéines ; encore plus récemment des développements technologiques ont étendu la méthode à des échantillons solides ou à des coupes de tissus [50].

La puissance des logiciels informatiques couplés à ces spectromètres permet d'établir la composition en acides aminés et même leur séquence. Les principales applications de la spectrométrie de masse portent sur la « protéomique », la « métabolomique », et l'analyse des structures complexes. C'est un moyen très utile d'analyse fine du protéome.

3.3.2. La résonance magnétique nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) étudie des propriétés magnétiques des noyaux atomiques ; constitués de protons, neutrons entourés d'électrons, ils possèdent un moment dipolaire magnétique et un moment cinétique, responsables du phénomène de « spin ». Le moment magnétique de l'atome dépend du nombre de protons et de neutrons ; si ces deux nombres sont pairs ce moment est nul, ce qui explique que les atomes ou leurs isotopes étudiés par RMN correspondent à des chiffres impairs dans la classification de Mendeleïev.

D'après le rapport de l'Académie nationale de médecine sur les applications médicales de ces techniques, la RMN se prête en biologie à différents types d'applications, telles que l'identification et la quantification de composés, l'analyse du mécanisme de réactions chimiques ou enzymatiques ou celle de liquides biologiques, ainsi que les mesures de distances interatomiques et la reconstitution de structures 3D ou le criblage de molécules pharmacologiques. La sensibilité de la méthode peut cependant être améliorée par l'utilisation d'une sonde cryogénique, par l'étude de deux atomes différents ou par la transformation chimique préalable des molécules à analyser, ce qui est potentiellement utilisable soit pour le diagnostic de maladies héréditaires du métabolisme, soit dans une approche globale dite « métabolomique ».



*Chapitre IV :
Les biotechnologies
et
la thérapie génique*

4. LES BIOTECHNOLOGIES ET LA THERAPIE GENIQUE

4.1 Historique des biotechnologies, des thérapies géniques et leur avènement

4.1.1 Historique des biotechnologies

Le terme de biotechnologie apparaît pour la première fois en 1913. Evoqué par EREKY, il désignait ainsi l'utilisation de la matière vivante pour la production de biens et de services. Pourtant, si ce terme est apparu au début du XXème siècle, la pratique est extrêmement ancienne, depuis que l'homme a commencé à fabriquer du fromage, du pain, et des boissons alcoolisées, c'est-à-dire depuis l'Antiquité. Sans le savoir, il procédait déjà à l'utilisation de biotechnologies puisque ces produits résultent de la fermentation par des micro-organismes, mais l'utilisation qui en était faite était purement magique dans leur esprit et non scientifique [51].

Nous allons donc voir la chronologie générale des événements jusqu'à nos jours.

4.1.1.1 Les proto-biotechnologies

Le terme désigne les biotechnologies qui furent développées depuis l'Antiquité jusqu'au XVIIIème siècle, c'est-à-dire l'utilisation de biotechnologies de manière empirique, sans aucune connaissance théorique [51].

- **Antiquité** : fabrication de pain, de bière, de fromage et de vin.
- **Moyen Age** : distillation de l'alcool issu de la fermentation en Occident.
- **XVIème siècle** : formations de corporations d'artisans spécialisés dans la fabrication de la bière.

- **XVII^{ème} siècle** : culture des champignons de couche en France (= champignon de Paris « *Agaricus bisporus* ») grâce à des déchets organiques (fumier).
- **XVIII^{ème} siècle** : développement de la chimie, on connaît alors la fermentation alcoolique et on réalise industriellement la production de sucre grâce à la betterave.

4.1.1.2 La période intermédiaire

C'est le développement des connaissances théoriques [51].

- **XIX^{ème} siècle** :

On développe des lignées pures de céréales, on voit apparaître les études qualitatives et quantitatives de GAY-LUSSAC en complément des travaux de LAVOISIER sur la fermentation alcoolique, on découvre la nature biologique des fermentations grâce à CAGNIARD-LATOURE (France) et SCHWANN et KUTZING (Allemagne).

Il faut ajouter à cela les travaux de PASTEUR (figure 18) qui donnent naissance à la microbiologie. Il identifie également durant cette période les agents de la fermentation alcoolique et acétique, et remarque qu'en chauffant le vin à une certaine température, on empêche la fermentation acétique du vin qui du coup ne se transforme pas en vinaigre.

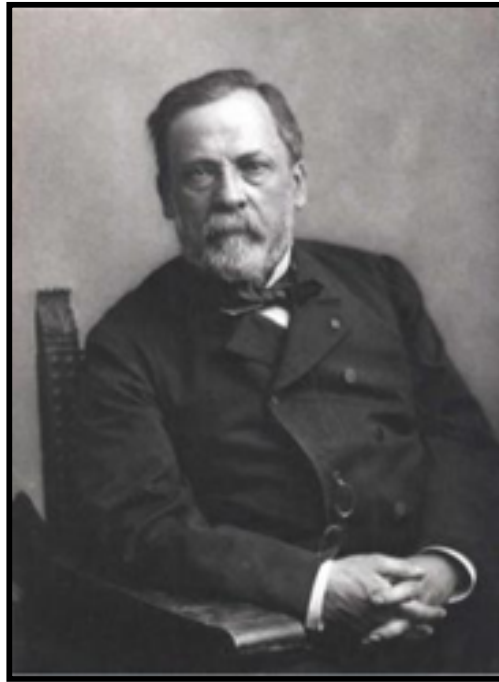


Figure 18 : Louis PASTEUR : père de la microbiologie [52].

Grâce à ses découvertes, une nouvelle discipline a été développée : la microbiologie.

- En 1887, PETRI donne son nom à une boîte contenant un milieu de culture pour les bactéries.
- En 1894, le premier enzyme industriel est produit : la takadiastase (amylase extraite d'une levure).
- En 1897, Büchner extrait la zymase des levures qui donnera suite à de nombreux travaux.

CE SONT DONC DES DECOUVERTES MAJEURES PERMETTANT LA MAITRISE DE L'UTILISATION DES BIOTECHNOLOGIES.

▪ **Début du XXème siècle :**

On évoque la notion d'enzymes (zymase) et de coenzymes, mais aussi de vitamines, de gènes, d'ADN. BANTING et BEST (Canada) découvrent l'insuline en 1921 et l'on parvient à peine quelques années après à la produire et à l'extraire.

En 1913, le terme de biotechnologie apparaît enfin.

4.1.1.3 Les biotechnologies modernes

Aux alentours de la seconde Guerre Mondiale, on arrive dans la période d'applications des connaissances et on en accumule de toutes parts (en biologie cellulaire, moléculaire, et on invente de nombreuses techniques d'exploitations, ...). La production industrielle sous contrôle se développe et l'on arrive ainsi à notre époque au règne du « génie génétique » [51].

▪ **XXème siècle :**

Découverte et production industrielle de la pénicilline pendant la seconde Guerre Mondiale (figure 19).

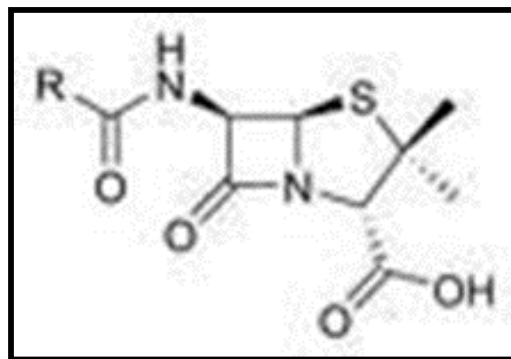


Figure 19 : Formule générale d'une pénicilline [53].

De 1972 à 1974, Paul BERG réalise la première molécule D'ADN recombinant.

En 1979, on parvient à produire l'insuline et l'hormone de croissance (GH) par des micro-organismes génétiquement modifiés, puis vient le tour de l'interféron en 1980.

En 1981 apparaît la première souris transgénique.

En 1983 apparaît la première plante transgénique (tabac) et on invente la PCR (Polymerase Chain Reaction) qui permet de reproduire un grand nombre de fois une molécule d'ADN.

On arrive ainsi progressivement dans les années de développement des OGM (organismes génétiquement modifiés) et du clonage reproductif (brebis DOLLY en 1997).

▪ **De nos jours... :**

Le séquençage du génome Humain est terminé et on se trouve en plein essor du développement expérimental des thérapies géniques [51].

4.1.2 Historique des thérapies génique

Les thérapies géniques à proprement parler sont récentes, elles arrivent grâce au développement du génie génétique. Mais si l'on en est arrivé jusqu'ici dans les années 2000, c'est parce que depuis le début du XXème siècle, les scientifiques ne cessent d'aller de découvertes en découvertes. Plusieurs découvertes majeures ont permis d'avancer et de développer ce domaine.

- Tout commence avec Mendel (père fondateur de la génétique) en 1865 et la mise en évidence de l'hérédité grâce à des petits pois (« *Pisum sativum* ») [51].
- En 1909, le terme de gène est inventé par le danois Wilhelm JOHANNSEN, on distingue alors le génotype et le phénotype [51].
- En 1935, on parvient à obtenir de l'ADN pur [51].
- Arrive alors la découverte de la structure de la double hélice d'ADN établit par WATSON et CRICK dans laquelle les deux brins sont antiparallèles.
- En 1970, l'usage précis des enzymes de restrictions est maîtrisé et on rêve alors de modifier la structure de l'ADN. Et c'est donc ainsi qu'en 1973, on réalise le premier transfert de gène sur une bactérie très commune : *Escherichia coli* [2].

- Mais c'est en 1980 que l'on assiste à une première tentative de thérapie génique sur l'homme. Le Docteur CLINE, de l'Université de Californie à Los Angeles, tente ce premier essai pour soigner deux cas de thalassémie Béta-Zéro. Il s'agit d'une anémie d'origine génétique où la chaîne Béta de l'hémoglobine n'est pas synthétisée. Il émet l'hypothèse qu'en introduisant le gène fonctionnel codant pour la chaîne Béta, les problèmes seront alors résolus. Cependant, il réalisa cette expérience sans l'accord du comité d'éthique médicale et sans prévenir les patients et son protocole qui ne semblait guère tenir compte de la protection de ces derniers, fut vivement critiqué, sans compter que l'expérience fut un échec. Il fut donc banni de la communauté scientifique et interdit d'expériences [2] [54].

Ce premier échec stoppa momentanément la progression dans ce domaine et pendant longtemps on se posa de nombreuses questions sur l'éthique des thérapies géniques.

-Cependant, en 1990, un premier succès arrive enfin dans le cas du traitement par thérapie génique d'un ADA-SCID qui est une maladie où le gène de l'ADA (enzyme) est déficitaire, ce qui provoque une immunodéficience [51]. Le nombre d'essais cliniques de thérapies géniques va alors augmenter considérablement (figure 20).

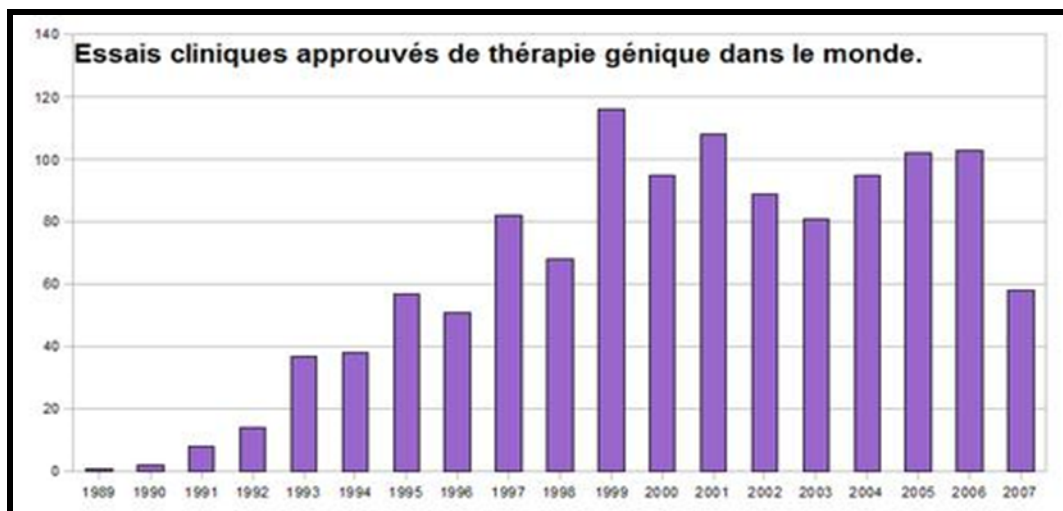


Figure 20 : Nombre d'essais cliniques approuvés en fonction des années [55].

- En 2000, un autre type de déficience immunitaire, le SCID X, se voit traité par thérapie génique. L'opération est un succès mais deux ans plus tard, deux enfants bulles qui furent traités par ce type de thérapie à l'hôpital Necker-Enfants Malades de Paris, développèrent une leucémie. Ceci eut pour effet de stopper les recherches, mais un récent cas de succès réel en Grande Bretagne risque de relancer les travaux [52].

- Aujourd'hui, il existe une multitude d'essais en cours pour toutes sortes de maladies dont les alternatives thérapeutiques sont rares ou inexistantes (Parkinson, thalassémies, cancers, ...), avec une grosse majorité d'essais pour les cancers (tableau I). Il semble que ce soit l'objectif thérapeutique des prochaines décennies.

Tableau I : Projets de thérapies géniques (environ 300) déposées en 2000 auprès des autorités américaines ou européennes [56].

Pathologies	Proportion
Cancer	72%
Maladies monogéniques	16%
Maladies infectieuses	8%
Maladies cardiovasculaires	2.6%
Arthrite rhumatoïde	0.6%
Autres	0.8%
Transfert IN VIVO	48%
Transfert EX VIVO	52%

4.2 Définitions

4.2.1 Les thérapies géniques

Il convient d'insister sur le déterminant « les ». En effet, il existe plusieurs types de thérapies géniques : les thérapies géniques somatiques et germinales. De plus, selon la maladie étudiée, on aura des différences en ce qui concerne les techniques utilisées et les finalités. Ainsi donc, on assiste bien à un pluralisme de ce genre de thérapie.

Cela dit, on pourrait parler de « la » thérapie génique dans un terme générique au sens où elles se rejoignent sur un grand principe de base : faire entrer un gène dans le patrimoine génétique d'une cellule [57].

4.2.1.1 Définition du terme « thérapie génique »

La thérapie génique est une nouvelle approche de traitement ou de prévention des maladies qui utilise le gène comme médicament. En apportant un gène « normal », on permet ainsi à la machinerie cellulaire de reproduire une protéine « thérapeutique » en quantité suffisante (figure 21). On utilise le terme de « normal » car il s'agit d'introduire le gène qu'aurait dû avoir la personne pour fonctionner de manière saine et viable. Quant au terme de « thérapeutique », il est utilisé car on restaure bien une fonction physiologique [60].

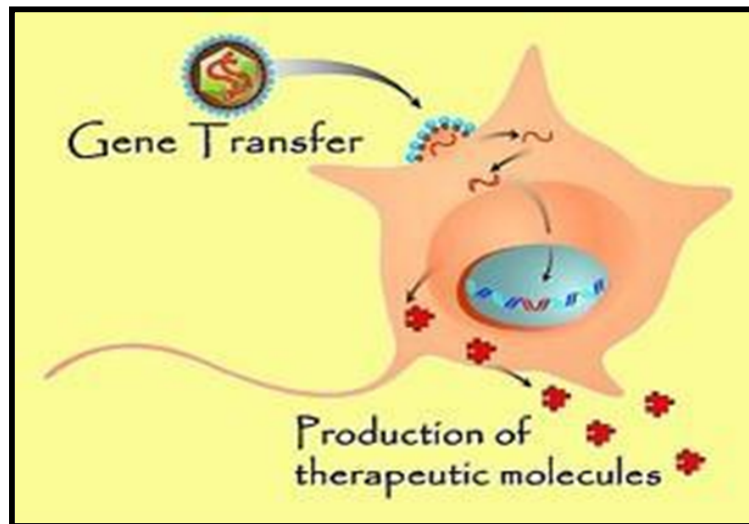


Figure 21 : Transfert d'un gène médicament [61].

C'est une science expérimentale pour le moment.

4.2.1.2 Les thérapies géniques somatiques

Ce sont les thérapies les plus courantes qui s'intéressent aux gènes des cellules dites somatiques, c'est-à-dire les cellules non reproductrices. Celle-ci ne pose pas de problèmes éthiques dans la mesure où le patrimoine génétique ne sera pas transmis à la descendance et que l'individu concerné est d'accord pour prendre le traitement. D'ailleurs, vu le caractère expérimental de la chose, ce sont principalement des volontaires [57].

4.2.1.3 Les thérapies géniques germinales

Elles concernent les expériences sur des cellules reproductrices (spermatozoïdes et ovules) ou encore sur des embryons. Cette dernière est interdite par la loi. Effectivement, le génome sera transmis irrémédiablement à la descendance et cela pose des problèmes d'éthiques notamment par crainte de dérives Eugéniques. De plus, les incertitudes scientifiques concernant les conséquences sur les individus descendants qui viennent s'ajouter, ces thérapies semblent condamnées à ne jamais être développées [57] [62].

4.2.2 Etude du génome : définition, déroulement et apports

Le génome constitue l'ensemble des gènes dans une espèce donnée, en l'occurrence ici chez l'homme.

Si l'on a vu dans le principe qu'il faut remplacer un gène anormal (ou absent), il faut encore savoir lequel remplacer et avoir à disposition le gène fonctionnel à insérer. Cela passe par une connaissance du génome de l'être humain.

A l'heure actuelle, on sait que l'ADN regroupe 3.2 milliards de paires de bases. Il contiendrait près de 40 000 gènes. La connaissance du génome « normal » a été permise par des méthodes de séquençages diverses mais la technique actuelle de référence est la méthode de Sanger basée sur l'utilisation de didésoxynucléotides. Nous n'entrerons pas dans le détail de cette méthode car ce n'est pas le but de notre travail, toutefois, il est nécessaire de savoir que grâce à cette technique on connaît parfaitement la séquence de l'ADN Humain à ce jour (voir annexe 3). La connaissance du code génétique, la bioinformatique et les diverses avancées en biologie moléculaire ont permis de savoir quelle est la séquence exacte de l'ADN de l'homme. Ceci est le résultat d'une coopération scientifique internationale bien entendu vu l'ampleur du travail [63].

Si certes la connaissance du génome « normal » est une chose, il faut cependant également connaître le génome pathologique. Les généticiens ont donc pendant longtemps utilisé la technique traditionnelle qui consistait à s'intéresser à un gène simple en particulier, aux effets potentiels importants, puis recherchaient de grandes familles porteuses de maladies rares et graves (ex : mucoviscidose). Par les études dites de « linkage », ils ont pu établir des liens entre un phénotype anormal et le gène en question sur lequel ils observaient une

mutation. Mais cette technique n'a permis l'identification d'allèles mutés que pour des maladies monogéniques. Ils se sont donc ensuite lancés sur la technique des gènes candidats en se basant sur des hypothèses physiopathologiques. Par exemple, dans le diabète, on sait que le glucose n'est pas assimilé, on va donc soupçonner le gène codant pour l'insuline. Et il ne reste qu'à vérifier la présence d'une mutation sur ce gène.

Mais aujourd'hui, on réalise des génotypages à haut débit grâce à diverses méthodes de biologie moléculaire, on parle de GWAS (genome wide association studies). L'intérêt de ces manœuvres est de retrouver les variantes ou allèles (c'est-à-dire les versions d'un gène) susceptibles d'être incriminés dans une maladie donnée [63].

4.2.3 Les biotechnologies

Si l'on décompose le mot, on relève deux « racines » : tout d'abord, « bio », puis « technologie ».

En réalité, c'est la contraction de deux mots :

- « bio » pour biologie, c'est-à-dire l'étude du vivant.
- « technologie », c'est-à-dire l'étude d'une technique.

Les biotechnologies réunissent donc deux sciences : celle du vivant, et celle de l'ingénierie. La finalité d'une biotechnologie est tout simplement de donner naissance à des êtres vivants modifiés ou non (plantes, champignons, bactéries...) afin de produire un bien, des molécules d'intérêts (protéines, enzymes, hormones...) ou des vecteurs (par exemple pour les thérapies géniques dont nous verrons plus tard le déroulement de la conception) [65].

4.3 Principe et utilisation des biotechnologies dans les thérapies géniques

4.3.1 Principe

4.3.1.1 La théorie

Comme vu précédemment dans la définition, il suffit d'isoler un gène d'intérêt qui soit fonctionnel et de l'introduire dans le génome des cellules d'un tissu donné pour suppléer à la fonction du gène muté responsable de la maladie ou du moins en partie responsable. Ainsi, une fois à l'intérieur du génome des cellules cibles, le gène sera transcrit en ARN messager, qui sera lui-même traduit pour donner une protéine thérapeutique qui modifiera le phénotype pathologique, on retrouvera alors un phénotype sain [66].

4.3.1.2 La réalisation

- a. Diagnostic d'une maladie
- b. Connaissance de la physiopathologie
- c. Incrimination d'un ou plusieurs gènes mutés
- d. Identification d'un gène muté particulier (celui ayant un rôle majeur dans la maladie) que l'on souhaite remplacer afin de modifier le phénotype et de restaurer une fonction physiologique
- e. Isolement du gène fonctionnel correspondant
- f. Réalisation d'un vecteur contenant le gène fonctionnel que l'on souhaite introduire
- g. Mise en contact du vecteur avec les cellules cibles
- h. Si tout se déroule comme voulu, le gène fonctionnel fait alors partie intégrante du génome et le patient devrait guérir.

4.3.1.3 Différents types de procédés d'introduction d'un gène

- **Le mode EX VIVO (figure 22) :**

On extrait les cellules cibles du patient puis on les met en contact avec les vecteurs dans un milieu adapté en dehors donc de l'organisme. On réinjecte ensuite les cellules modifiées à l'intérieur de l'individu. Ceci représente la majorité des cas [67].

- **Le mode IN VIVO (figure 22) :**

On injecte directement les vecteurs au sein de l'individu dans son sang mais ceci nécessite une parfaite connaissance et une parfaite maîtrise des vecteurs concernés. C'est la moins utilisée à l'heure actuelle [60].

- **Le mode IN SITU :**

Le mode est dit IN SITU lorsque l'on injecte les vecteurs directement dans le tissu cible (exemple : trachée et bronches dans le cas de la Mucoviscidose) [60].

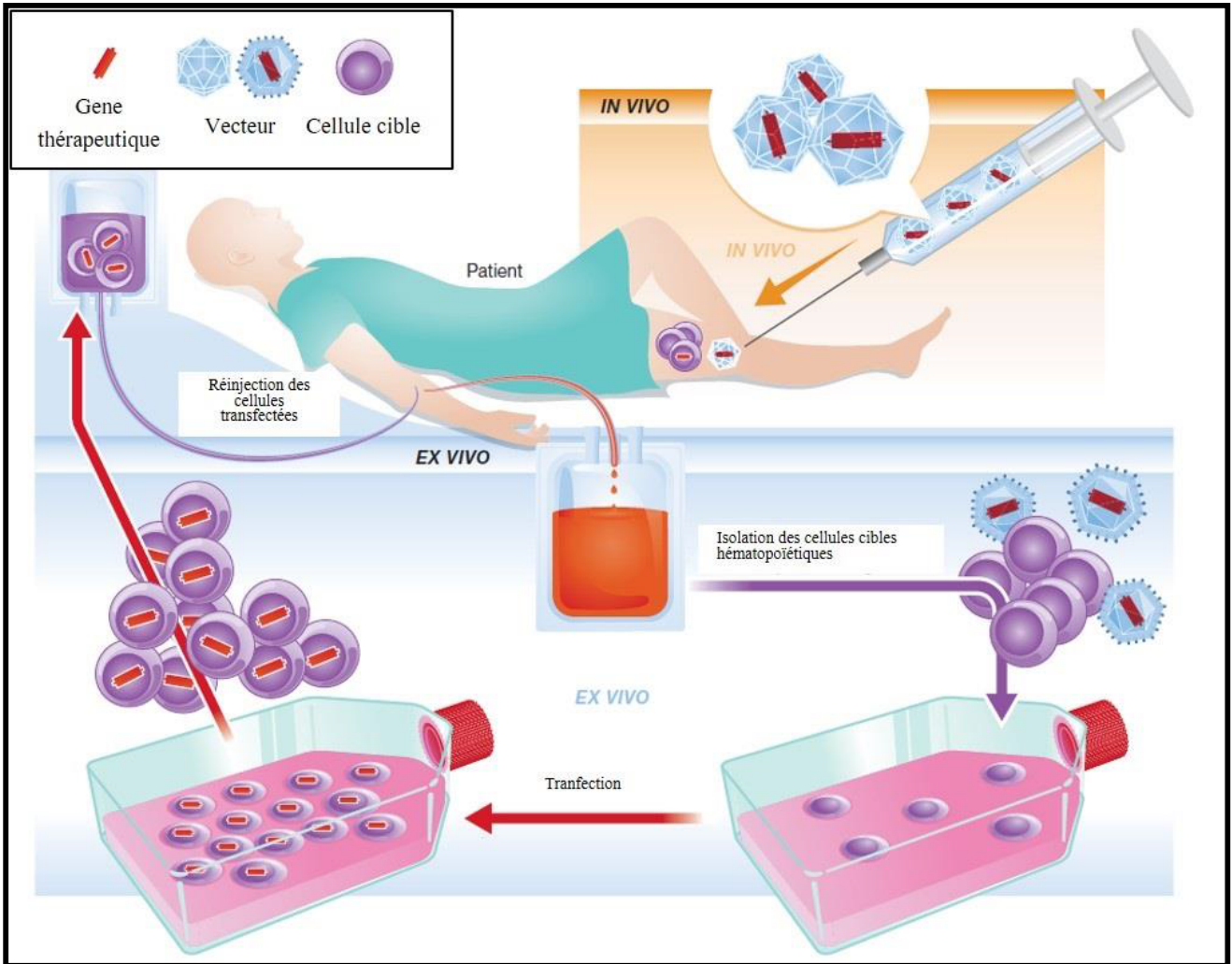


Figure 22 : Concept de thérapie génique *in vivo* et *ex vivo* [67].

4.3.2 Les biotechnologies utilisées en thérapie génique : les vecteurs de transfert de gènes

Un vecteur doit réunir plusieurs conditions pour pouvoir être utilisé.

Tout d'abord, il doit être capable de contenir le transgène (gène thérapeutique que l'on cherche à introduire). Ensuite il doit pouvoir le protéger des agressions de l'environnement (enzymes, pH, ...). Enfin, il doit pouvoir pénétrer dans le plus grand nombre de cellules cibles possibles et leur transférer correctement et de manière durable le transgène (transmission aux cellules descendantes) sans altérer le génome. Les risques doivent être moindres par rapport au bénéfice attendu [68].

4.3.2.1 Les différents types de vecteurs

- **Les vecteurs viraux** : ces derniers sont à l'heure actuelle les plus utilisés. En effet, le principal avantage de ces vecteurs réside dans leur capacité à s'intégrer à l'intérieur d'une cellule. Les processus de pénétration naturels sont pour le moment les plus efficaces. Leur principal inconvénient réside dans le fait qu'on ne peut y insérer de trop grosses séquences d'ADN et que l'on a du mal à les produire en grande quantité. Qui plus est, leur production est coûteuse. On utilise majoritairement des virus recombinants défectifs [66].

On se sert principalement de trois types de virus :

a) Les rétrovirus (virus à ARN, enveloppés figure 23)

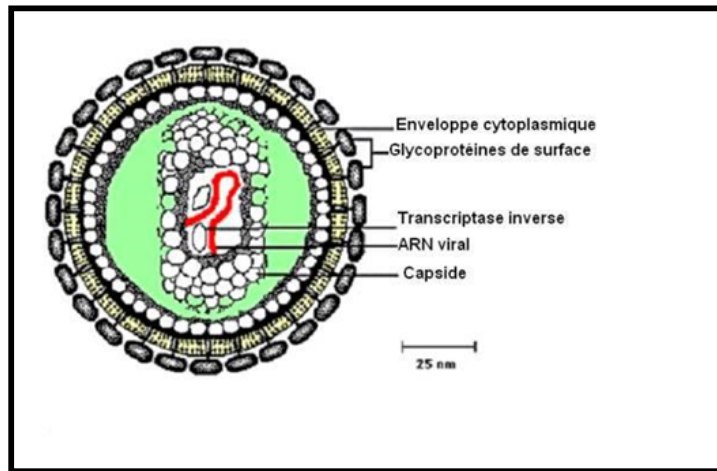


Figure 23 : Structure d'un rétrovirus [69].

b) Les adénovirus (virus à ADN, nus figure 24)

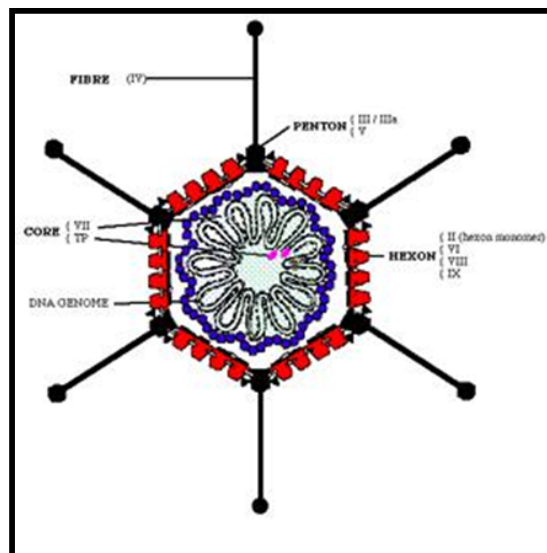


Figure 24 : Structure d'un adénovirus [70].

- c) Les parvovirus (encore appelés les Adeno-Associated Virus ou AAV) (virus à ADN, nus).

- **Les vecteurs non viraux** : ce sont des molécules d'ADN complexées avec des macromolécules protéiques polycationiques ou lipidiques. Le couplage réalisé sert à cibler des récepteurs membranaires spécifiques (asialoglycoprotéines, transferrine,) pour l'internalisation. Ceci permet de les adresser vers des types cellulaires particuliers. On utilise aussi des plasmides (morceaux d'ADN nus circulaires qui se répliquent de manière autonome).

S'ils paraissent présenter plus d'avantages que les vecteurs viraux, leur utilisation est rare car l'efficacité est très limitée. On est capables de les fabriquer en grandes quantités à moindre coût, ils permettent de transporter de grosses séquences d'ADN, ils diminuent le risque de propagation de matériel génétique et provoquent moins de réactions inflammatoires. En dépit de tout cela les vecteurs non viraux pâtissent d'un manque d'efficacité par rapport aux vecteurs viraux [66].

4.3.2.2. Structure d'un vecteur viral et conception d'une particule virale recombinante

❖ Structure :

On va utiliser dans la plupart des cas, un virus recombinant défectif, c'est-à-dire un virus (encore appelé provirus) auquel on a enlevé les séquences codant pour les protéines virales de l'enveloppe et de la capsid (séquences : gag(capsid) pol (polymérase permettant la transcription inverse du génome viral) env (enveloppe)) ou encore de facteurs de virulence. A la place de ces séquences, on y insère le transgène avec les séquences nécessaires à son expression.

On retrouve simplement comme génome viral de base les séquences permettant sa réplication (site promoteur sp), le signal d'encapsidation (psi), les séquences permettant son incorporation dans le génome de la cellule cible et les LTR (Long terminal repeat) (figure 25) [66] [71].

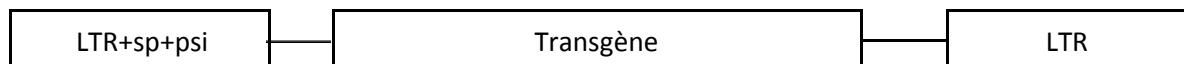


Figure 25 : Structure d'un vecteur viral [66].

❖ Conception :

La conception est très complexe. En effet il ne suffit pas d'avoir d'un côté des virus et de l'autre le gène thérapeutique puis de les mettre ensemble. Le vecteur résultant doit de plus être inoffensif pour l'homme.

Elle se déroule en plusieurs étapes faisant intervenir d'autres systèmes [72] [73].

a) Isolement de la séquence contenant le gène thérapeutique à partir de cellules en culture que l'on met dans un morceau d'ADN db circulaire procuré par des bactéries : le plasmide également appelé « cassette d'expression ». Il contient déjà le génome viral que l'on garde. L'isolement du gène se réalise grâce à des enzymes spécifiques appelées enzymes de restrictions (= endonucléases = méganucléases figure 26) et sa réinsertion dans le plasmide est permise grâce à des ligases. Ces enzymes agissent en des points précis et bien déterminés.

On sélectionne le gène d'intérêt dans une cellule en culture (figure 26) :

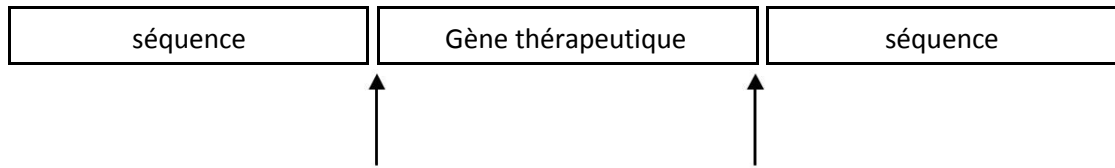


Figure 26 : Découpage par des endonucléases spécifiques [72].

Dans un plasmide on découpe une séquence à remplacer comme pour le gène thérapeutique et on insert le transgène à la place (figure 27) :

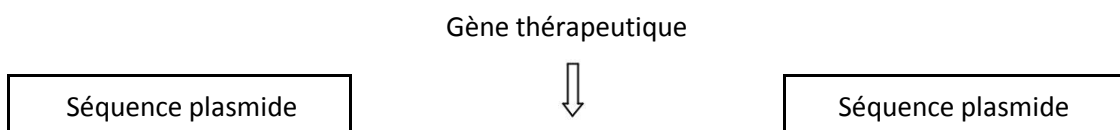


Figure 27 : Collage par une ligase spécifique [73].

- b) Isolement de gènes viraux pour les incorporer dans d'autres plasmides (gènes codant pour les protéines de structures du virus (capside, enveloppe))
- c) Lyse des bactéries afin de récupérer les plasmides et sélection des plasmides transformés.

- d) Mise en contact des plasmides transformés avec des cellules dites d'« encapsidation » ou encore dites « transcomplémentantes ». Ces cellules vont se comporter comme des « usines », elles utiliseront leur machinerie cellulaire pour permettre la transcription des gènes puis leur traduction.

Les séquences contenant le transgène s'intégreront au sein d'une capsid (adénovirus et rétrovirus) et d'une capsid avec une enveloppe (pour ce qui est des rétrovirus).

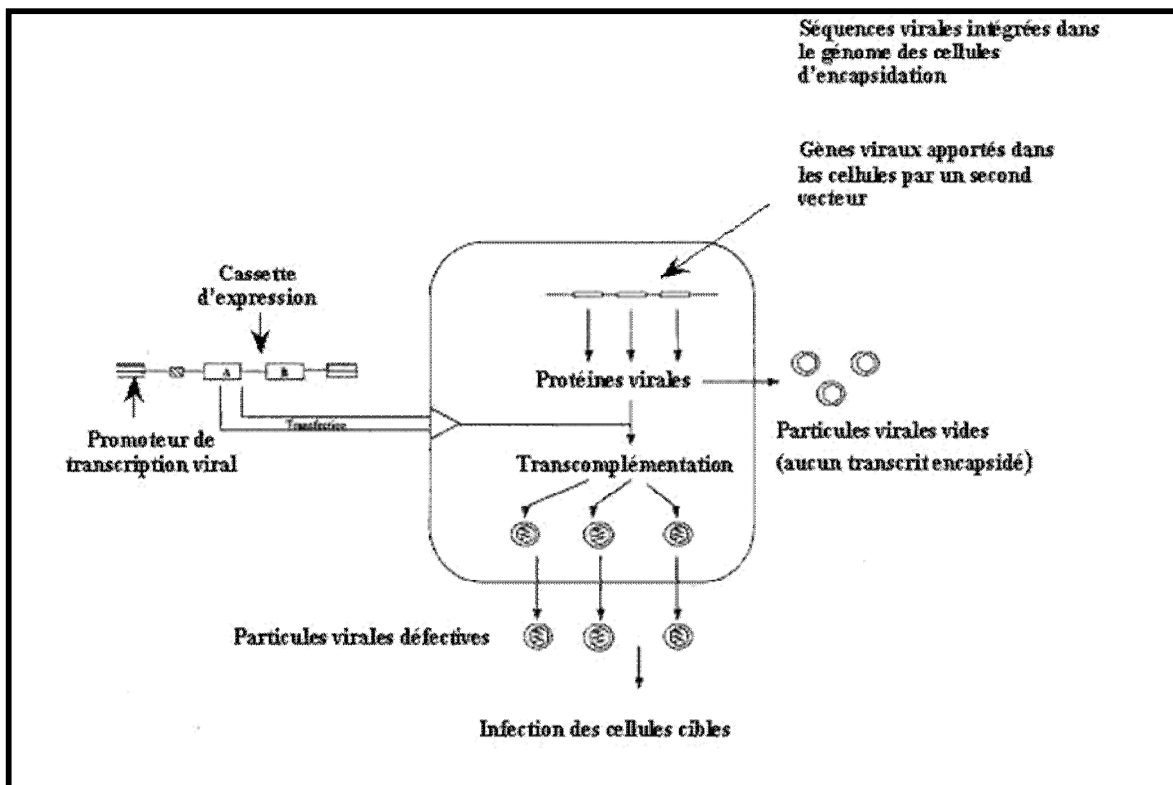


Figure 28 : Principe de production d'un vecteur viral [74].

- e) Pour effectuer la production des vecteurs viraux, il faut mettre dans un milieu spécifique les cellules transcomplémentantes et les plasmides (figure 28). On utilise pour cela des bioréacteurs.

Un bioréacteur a pour fonction de fournir un environnement contrôlé pour une croissance et une production optimale de microorganismes ou de cellules. Il sert à contenir, stériliser, aérer et à agiter un milieu. Il permet également de contrôler les paramètres physico-chimiques. Grâce à des capteurs in Situ, on peut connaître et mesurer la température, la pression, la vitesse d'agitation, le débit des gaz, le pH, le dioxygène dissous, le dioxyde de carbone dissous, etc... [75].

- f) La dernière étape consiste à filtrer, purifier et stériliser le bouillon obtenu pour ne récupérer que les vecteurs viraux. Ces derniers seront donc opérationnels et prêts à être injectés dans les cellules d'un malade.

4.3.2.3 Caractéristiques des différents vecteurs viraux

Les vecteurs viraux ne sont pas identiques, ne serait-ce que par leur structure virale (ADN, ARN, enveloppés ou non, antigènes...), mais ils diffèrent surtout par leurs capacités diverses (taille du gène incorporé, capacité d'intégration, types cellulaires visés, ...) Voici un tableau récapitulatif (tableau 3) montrant leurs inconvénients et leurs avantages. Il n'y a pas de vecteurs viraux parfaits, leurs différences expliquent leur utilisation selon les cas.

Tableau II : Caractéristiques des différents vecteurs viraux [66]

CARACTERISTIQUES	Adénovirus	AAV (Parvovirus)	Rétrovirus
Tropisme naturel	Large Cellules en prolifération et cellules quiescentes	Restreint Cellules en prolifération et Cellules quiescentes	Restreint Cellules en prolifération (tous) ou quiescentes (spumavirus et lentivirus uniquement)
Persistance du vecteur dans les Cellules	non	Oui (forme intégrée)	Oui (forme intégrée)
Taille limite de l'insert	7.5 à 30 kb	<5 kb	8 kb
Immunogénicité conférée par les vecteurs aux cellules infectées	forte	Faible à nulle	Faible
Facilité de production et de conservation du Vecteur	+++	+/-	+ à +++
Champs d'application	Pathologies tumoraux	Pathologies chroniques	Pathologies chroniques
Prévalence des anticorps naturels dans la population Humaine	Approx. 50%	Approx. 30%	0% hors situation pathologique
Persistance du vecteur en milieu	Forte (administration)	Forte (administration)	Moyenne à Faible

Extérieur (possibilité de traitement par voie locale)	possible par voie respiratoire)	possible par voie orale)	(infection ex vivo ou injection systémique)
Titre après Concentration (cfu/mL)	10^9 à 10^{11}	10^6 à 10^8	10^6 à 10^8
Absence de virus compétent pour la Réplication	oui	Oui	Oui
Intégration dans le Génome	non	Oui	Oui
Transferts de gènes Viraux	oui	Non	Non
Risques de mobilisation chez l'Homme par du virus sauvage	oui	Oui	Non

4.3.2.4 Effets indésirables

Comme dans tout traitement, on ne parvient pas à réaliser un transfert parfait. En d'autres termes, il existe des effets indésirables plus ou moins graves. Pourtant, si l'on a développé les thérapies géniques, c'est dans le but de les réduire et de parvenir à soigner des maladies jusque-là orphelines sans traitement, ou des pathologies à l'issue fatale. Cependant, la chose n'est pas aisée.

Si on se base sur la théorie, on devrait s'attendre à ne rien observer de nuisible. Effectivement, si un gène est déficient, on le remplace par le variant fonctionnel et les fonctions physiologiques habituelles devraient se mettre en place. Malheureusement, de la théorie à la mise en pratique, deux phénomènes interviennent. Premièrement, on utilise un vecteur pour amener le gène sur son site et le transférer. Est-il inoffensif ? Et deuxièmement, le transfert est-il correctement réalisé par ce vecteur ? On va donc observer deux types d'effets indésirables : ceux liés au vecteur, et ceux liés à l'implantation du gène et de son expression.

- **Les effets indésirables liés au vecteur (tableau II) :**

Un vecteur va pénétrer dans l'organisme, quel que soit le mode d'introduction du gène (in vivo, ex vivo, in situ). Or, un vecteur dérive d'un virus, c'est donc un corps étranger au sein d'un individu. Même si l'on enlève les parties dangereuses du génome (parties répliquatives et virulence), il y a toujours un potentiel antigénique présent. Autrement dit, il confère un éventuel pouvoir immunogène aux cellules cibles car celles-ci sont infectées. A noter que le mode ex vivo limite le risque de réaction inflammatoire, car on a un type de

cellule bien précis qui se trouve être porteuse, donc on a moins de charge virale nécessaire au traitement alors que dans le mode in vivo, la spécificité est moins facile à obtenir.

L'immunogénicité est variable selon les virus, les plus fortement immunogènes d'entre eux sont les adénovirus, il arrive même parfois qu'ils soient associés à des traitements immunosuppresseurs pour une meilleure tolérance [76].

- On peut avoir des effets indésirables de types inflammatoires avec éventuellement développement de maladies auto-immunes par mimétisme moléculaire (une structure du vecteur déclenche une réaction immunitaire et cette même structure ressemble à une autre de l'organisme, les anticorps se dirigent donc contre les deux).
- On craint également d'éventuelles recombinaisons avec des virus sauvages.
- **Les effets indésirables liés à l'implantation du transgène (figure 29) :**

Lorsque le vecteur transfère le gène, ceci est réalisé de manière aléatoire en théorie. Autrement dit, le transgène s'insère n'importe où sur le chromosome et peut donc modifier l'expression d'un gène actif, voire activer la synthèse d'un gène « endormi » à proximité de son insert. On parle d'insertion génotoxique. Mais la probabilité qu'il s'insère au sein d'un gène actif est négligeable ($1 \cdot 10^{-5}$, soit sur 10^6 cellules traitées, une à dix d'entre elles voit un gène actif perturbé). Théoriquement, on ne devrait rien observer [77].

Nous allons voir cependant au travers de l'exemple vu précédemment concernant le SCID-X à l'hôpital Necker (Paris) que deux enfants sur dix ont développés une leucémie après traitement par une thérapie génique.

Le traitement se réalisait en mode ex vivo, il consistait à introduire le gène fonctionnel codant pour un récepteur de l'interleukine 2 dans des précurseurs de lymphocytes. Le transgène considéré a été principalement inséré auprès d'un proto-oncogène qui a activé LMO2, un gène impliqué comme facteur de transcription dans l'hématogénèse et qui aurait donc favorisé une prolifération incontrôlée des cellules sanguines chez deux enfants.

Cette malheureuse expérience a donc montré qu'il existe des zones privilégiées d'inserts. Cependant, un troisième enfant a principalement reçu le transgène près de LMO2 et n'a pas développé de leucémie. Ceci tend à montrer qu'il existe d'autres facteurs impliqués [77].

On retrouvera souvent des leucémies ou des lymphomes comme dans cette malheureuse expérience.

- **Les problèmes d'expression du transgène (figure 29) :**

L'expression du transgène n'est malheureusement pas stable. Effectivement, les séquences en charges de l'expression sont souvent reconnues par la cellule comme des parties étrangères et sont donc inactivées. Le transgène ne peut donc plus s'exprimer. Ou comme vu précédemment, les propriétés immunogènes des vecteurs vont provoquer la destruction des cellules modifiées [76]. Il faudra donc procéder à des traitements réguliers en cas de tels phénomènes.

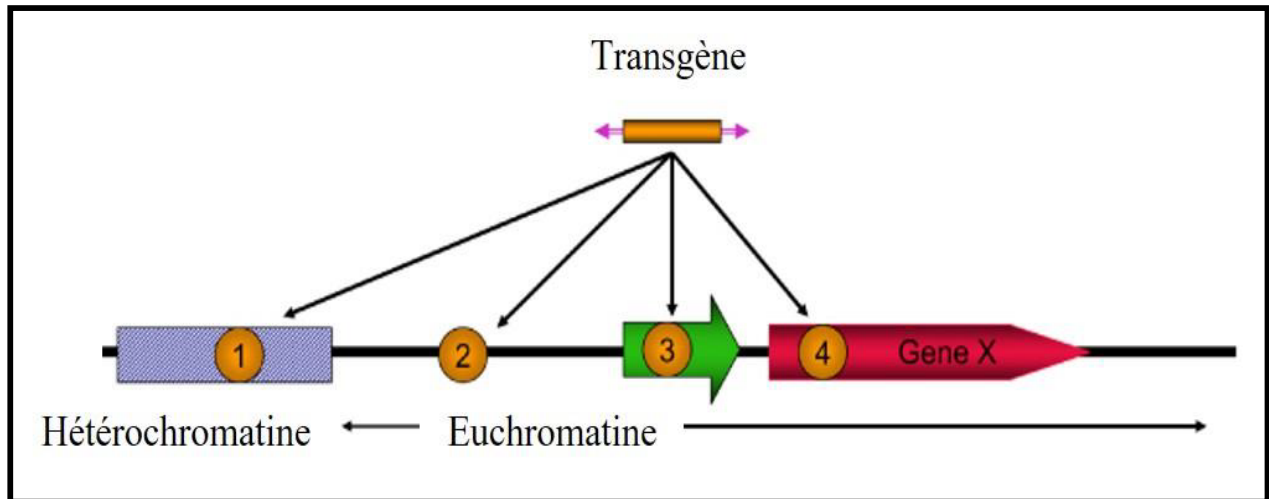


Figure 29 : Conséquences de l'intégration d'un transgène au sein d'un génome hôte [78] :

1. L'intégration au sein de l'hétérochromatine ne permet généralement pas l'expression du transgène et n'a aucune conséquence sur le génome de l'hôte.

2. L'intégration au sein de l'euchromatine, entre les gènes est la situation idéale. Le transgène peut s'exprimer sans modification de l'expression du génome de l'hôte.

3. L'intégration au sein d'une région régulatrice de la transcription peut avoir plusieurs conséquences. Le transgène s'exprime dans la majorité des cas mais son expression peut être modifiée par les éléments régulateurs environnants. En parallèle, les éléments régulateurs présents dans la cassette génique peuvent modifier l'expression des gènes environnants voire empêcher l'expression d'un gène actif.

4. L'intégration au sein d'une région transcrite d'un gène (ici, gène X) permet l'expression du transgène mais peut bloquer l'expression du gène X ou provoquer la production d'une protéine mutée à partir de ce gène.

Les situations 3 et 4 sont les plus dangereuses car elles peuvent conduire à de graves mutations et à l'apparition de cellules tumorales. Il est donc crucial de pouvoir contrôler les sites d'insertion des transgènes par l'étude et la sélection des vecteurs.

4.3.2.5 Perspectives d'amélioration

En parallèle de l'amélioration de la structure des vecteurs (viraux et non viraux), la recherche s'intéresse aussi à des méthodes permettant d'augmenter le taux de transfection et la stabilité de l'expression du transgène tout en diminuant la toxicité en faisant appel à différents systèmes. Voici quelques exemples de méthodes prometteuses. Il est à noter que ces molécules peuvent aussi être utilisées seules comme vecteur.

a. Les nanoparticules magnétiques

Il est possible d'attacher un vecteur (viral ou non) à une nanoparticule magnétique telle que la magnétite (Fe_3O_4) ou maghémite (Fe_2O_3) (sous forme de cristal de 5 à 20 nm). Il est alors possible de guider le vecteur (et l'ADN qu'il transporte) injecté par voie intraveineuse ou intrapéritonéale par un aimant positionné au niveau du site ciblé et qui crée un champ magnétique localisé [79].

Zheng et al ont montré qu'il était possible de créer un vecteur stable à partir de PEI et d'oxyde de Fer magnétique et que ce vecteur pénétrait les cellules par voie d'endocytose (Figure 30).

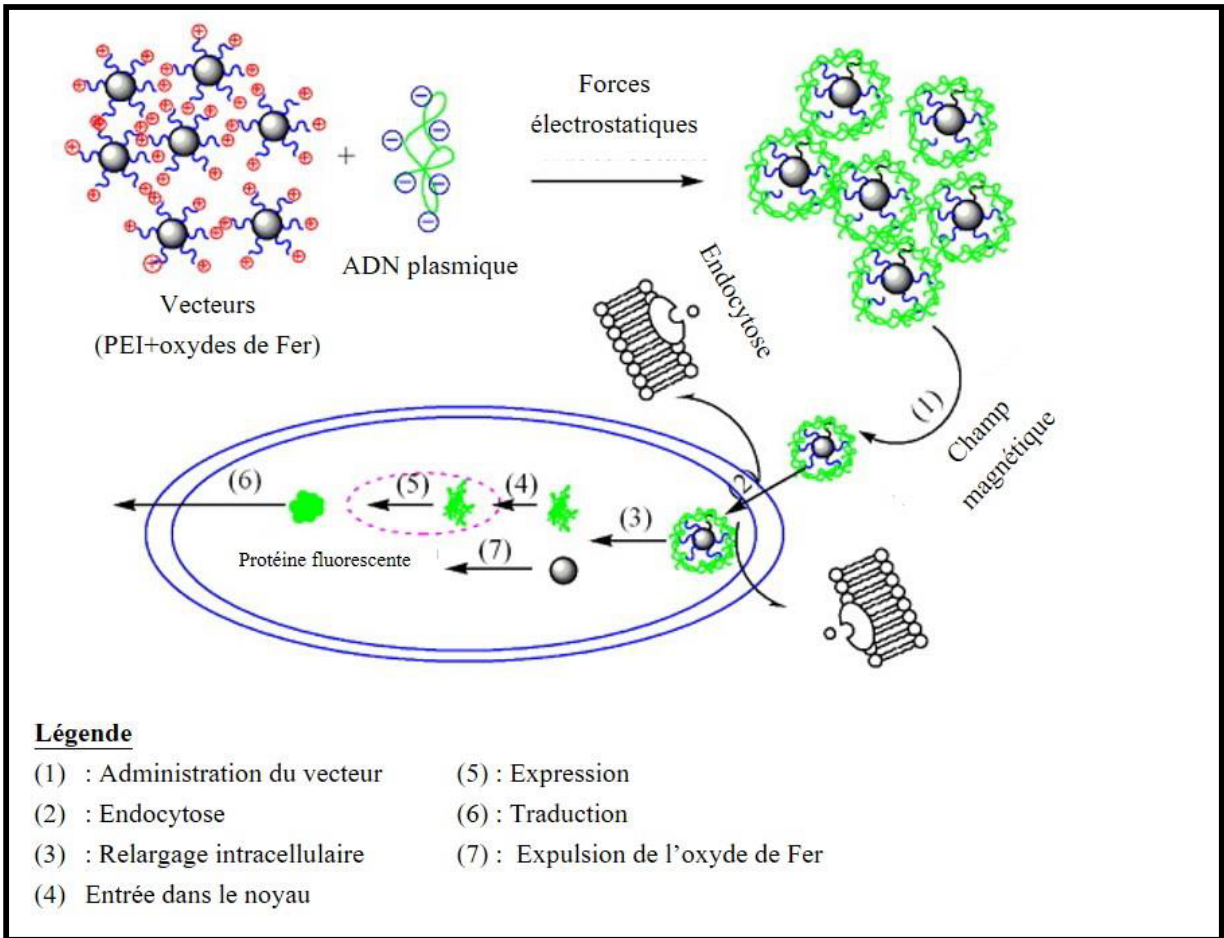


Figure 30 : Schématisation du fonctionnement d'un vecteur magnétique codant pour l'expression d'une protéine fluorescente [80].

Wang et son équipe ont prouvé que leur vecteur magnétique, fabriqué à partir de PEI, chitosane et de nanoparticules d'oxyde de Fer incluses dans des micelles, était non toxique pour les cellules transfectées, biocompatible et sûr en utilisation *in vivo* [81].

Mannell et al ont démontré que l'utilisation de nanoparticules magnétiques en association avec la technique de sonoporation permettait de guider les microbulles vers le tissu cible et d'augmenter ainsi le taux de réussite de cette technique [82].

L'utilisation d'un champ magnétique a aussi pour effet d'augmenter le taux de transfection par agrégation en un court laps de temps de très nombreux vecteurs autour des cellules cibles ce qui augmente la probabilité qu'un vecteur pénètre la cellule. Les mécanismes de pénétration ne semblent pas modifiés par le champ magnétique. L'utilisation d'un champ pulsé par rapport à un champ statique augmenterait encore plus le taux de transfection. L'étude de l'utilisation d'un champ magnétique alternatif doit encore être approfondie [83].

Cette méthode, qui en est à ses débuts, serait une solution parfaite pour le ciblage des tissus à traiter lors d'utilisation de vecteurs non viraux ainsi que pour réduire la quantité de vecteurs nécessaires à une transfection efficace (de fortes doses de vecteurs provoquant le plus souvent une toxicité ou une réponse immunitaire) [79].

b. Les systèmes transposon/transposase : Sleeping Beauty

Le système Sleeping Beauty est l'association d'un transposon (séquence d'ADN mobile) avec une transposase, enzyme qui catalyse l'excision et la réintégration du transposon. Ce système a été découvert chez la souris. La Figure 31 montre le fonctionnement du système transposon/transposase.

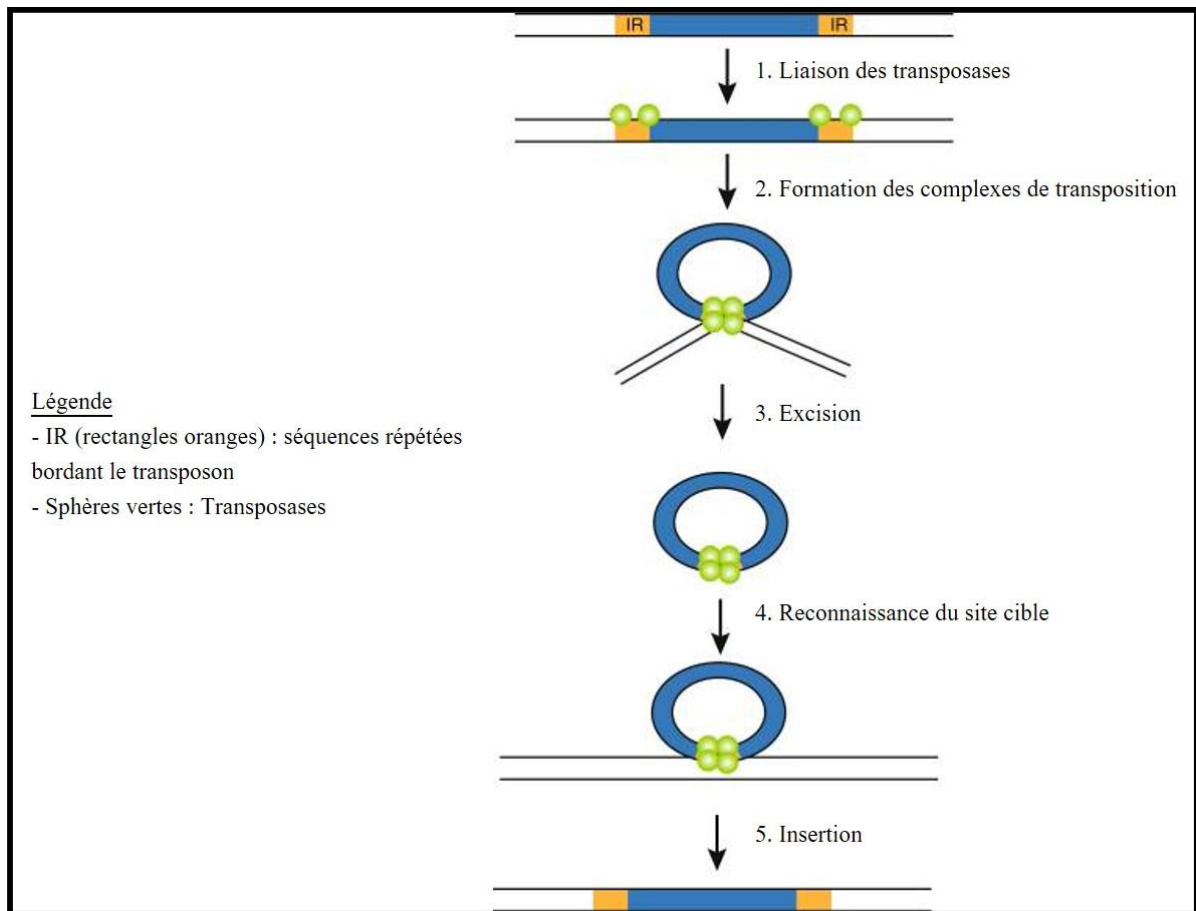


Figure 31: Schématisation du fonctionnement d'un système transposon/transposase [84].

Associé à une séquence d'ADN sous la forme d'un plasmide, le système Sleeping Beauty est capable d'intégrer la séquence génétique d'intérêt dans le génome de la cellule transfectée [85]. Afin de parfaire ce système, de nouvelles transposases plus efficaces ont été développées. Le système amélioré s'appelle Sleeping Beauty hyperactif [86].

D'autres systèmes transposons/transposase (Tol2, PiggyBac) sont connus, mais semblent moins efficaces que le système Sleeping Beauty [87].

L'avantage de ce système, par rapport aux vecteurs viraux et aux autres systèmes transposon/transposase est que son intégration semble être dirigée vers des lieux sûrs (« safeharbor »), loin des gènes transcrits et que son promoteur/enhancer est peu actif ce qui empêche la surexpression de gènes environnants.

c. Les aptamères

Les aptamères sont des séquences d'acides nucléiques, simple brin, de petite taille capables de se lier spécifiquement à des protéines ou à d'autres cibles cellulaires. Leurs séquences sont conçues à partir de banques de séquences et sélectionnées par différentes méthodes de sélection comme SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment) ou plus récemment AptaBid. Ils ont l'avantage de ne pas déclencher de réponse immunitaire, mais ont une demi-vie courte due à l'action des nucléases. Il est possible de les modifier (modification des nucléotides en fin de séquence afin qu'ils ne soient pas reconnus par les endonucléases, utilisation de nucléotides modifiés dans la séquence comme les 2'-O pyrimidines modifiées) afin d'allonger leur demi-vie.

Les aptamères peuvent être utilisés comme vecteurs en thérapie génique grâce à leur grande spécificité et leur capacité à se lier à des protéines membranaires permettant leur internalisation. Cependant, ils ne peuvent transporter que des séquences nucléiques de petite taille (comme les siARN).

Les aptamères peuvent aussi être utilisés pour renforcer ou créer une spécificité de tissu : positionnés en surface d'un vecteur, ils peuvent agir comme le feraient des anticorps en ciblant une protéine de surface vis-à-vis de laquelle ils présentent une affinité.

Leur dernière utilisation consiste à les employer en tant qu'outil de thérapie génique car ils peuvent, en se liant, inhiber les fonctions de certaines protéines, telles que les facteurs angiogéniques [88].

Kotula et son équipe ont démontré in vitro que l'utilisation de chimères comprenant un aptamère et une protéine nucléolaire appelée la nucléoline, permettait une livraison efficace de la séquence nucléique d'intérêt directement dans le noyau cellulaire – KOTULA et [89].

Le tableau III : compare les vecteurs utilisés en thérapie génique et présentés dans cette thèse

Tableau III : Comparaison des vecteurs en thérapie génique

Nature du vecteur	Avantages	Inconvénients	Utilisation actuelle
Viral	Taux de transfection élevé	Pathogénéité résiduelle	
	Capacité de transport (jusqu'à 38kb)	Immunogénéité	
	Large tropisme	Immunogénéité forte	
	Capacité d'infection des cellules quiescentes	Expression à court terme dans les cellules en division (2 à 4 semaines)	Essais cliniques
Adénovirus	Très étudié et donc bien connu		
AAV	Tropisme varié et spécifique selon les sérotypes	Capacité de transport réduite (4,8kb)	
	Capacité d'infection des cellules quiescentes	Nécessite une forte concentration en vecteur pour un effet thérapeutique	Essais cliniques
	Expression à long terme	Immunogénéité	
Rétrovirus simples	Stabilité de l'expression du transgène par insertion dans le génome hôte	Infection des cellules en division seules	
	Expression stable du transgène par insertion dans le génome hôte	Insertion mutagène, peu contrôlée	Surtout chez les modèles animaux
Lentivirus	Meilleur contrôle du site d'insertion	Immunogénéité	
	Coûts de production limités		Essais cliniques
	Facilité de production	Cytotoxicité	
Non viral	Spécificité à déterminer lors de la construction du vecteur	Faible taux de transfection	
Vecteurs chimiques	Facilité de production		
	Peu immunogène		Etudes pré-cliniques
	Capacité de transport (chromosome entier)		
	Transfection plus efficace		
	Plus faible cytotoxicité	Cytotoxicité	Etudes pré-cliniques
	Biodégradabilité à différentes vitesses	Faible taux de transfection	En développement
Nanotubes de carbones	Mélange des avantages des vecteurs non viraux précédents	Peu d'études concernant la cytotoxicité	En développement
ADN nu	Pas de réaction immunitaire	Fragile, sensible aux endonucléases	
	Facilité de production	Expression transitoire	Essais cliniques
	Nécessite des méthodes physiques afin d'augmenter son taux de transfection (potentiellement identique à celui d'un vecteur viral)		
Modification des vecteurs	Cibage des cellules par champs électromagnétiques	Uniquement pour des cellules cibles concentrées au même endroit	En développement
	Contrôle du site d'insertion		Etudes pré-cliniques
	Spécificité de tissu	Transport de molécules de petite taille uniquement	En développement

d. Le système CRISPR / Cas9

Les **CRISPR** sont des séquences d'ADN non codantes. Elles appartiennent au système de défense immunitaire des bactéries et des archées. Lors d'une infection par un virus ou un bactériophage, il y a insertion d'une séquence d'ADN étrangère au génome de la bactérie ou de l'archée ce qui active les CRISPR. Le système CRISPR fonctionne en trois phases [90] :

- Premièrement, il faut qu'il y ait insertion de l'ADN étranger au sein de la séquence des CRISPR.
- Cette insertion déclenche la transcription des CRISPR en ARN (appelés crARN) par des protéines associées aux CRISPR ou Cas.
- D'autres protéines Cas prennent en charge les crARN et forment un complexe capable de dégrader l'ADN étranger.

La figure 32 montre le fonctionnement schématique du système CRISPR.

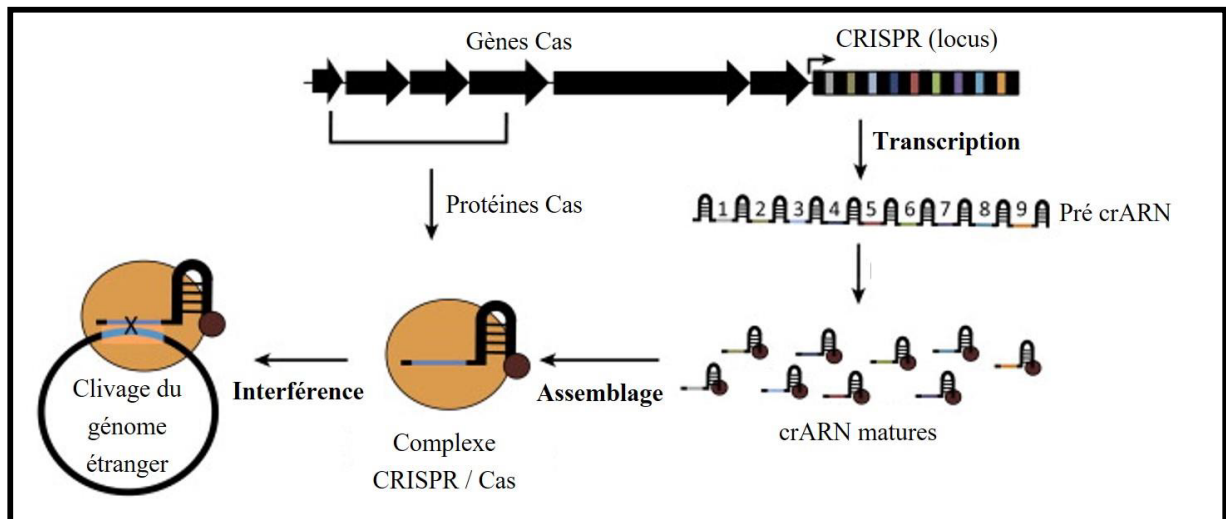


Figure 32 : Fonctionnement schématique du système CRISPR [91].

Les caractéristiques les plus spécifiques de ce mécanisme sont **la spécificité** très grande (il cible très précisément une séquence d'ADN), **la modularité** (L'ARN et la protéine sont distincts : on peut facilement produire l'ARN target sans devoir changer l'enzyme ; et on peut modifier l'enzyme sans perdre la spécificité de l'ARN), enfin la possibilité de le combiner avec les mécanismes de réparation pour non seulement couper mais **remplacer une séquence par une autre** [92].

Par ailleurs, le système CRISPR/Cas9 présente de nombreux « **avantages** » par rapport aux autres systèmes de coupure du génome :

Le premier avantage concret que représente cette technique pour les techniciens de laboratoire est de pouvoir être déclinée plus facilement que les méganucléases, Talen ou autres nucléases à doigt de zinc. Car avec CRISPR/Cas9, il « suffit » aux techniciens de changer la seule séquence guide pour que cet outil soit utilisé pour différents lieux de coupure. Dans le cas des nucléases à doigt de zinc par exemple, il est nécessaire de reconfigurer l'ensemble de l'outil pour le faire changer de cible. Par ailleurs, le complexe CRISPR/Cas9 coupe l'ADN plus précisément que les protéines Talen dont le niveau de précision était pourtant - et est toujours - un des arguments « de vente » [93].



Chapitre V :

Les enjeux économiques

5. LES ENJEUX ECONOMIQUES

5.1. Evolution actuelle du secteur Pharmaceutique

Le coût de la recherche et du développement était, dans les années 1963-1975, d'environ 175 millions de dollars puis de 868 millions de dollars en 2006 par molécule mise sur le marché [94]. Il exclut les coûts du marketing et de la commercialisation qui, s'ils sont inclus, font monter l'addition à 1,7 milliard de dollars.

La figure 33 représente l'augmentation des dépenses liées à la recherche et au développement depuis une vingtaine d'années qui ne tend pas à s'apaiser.

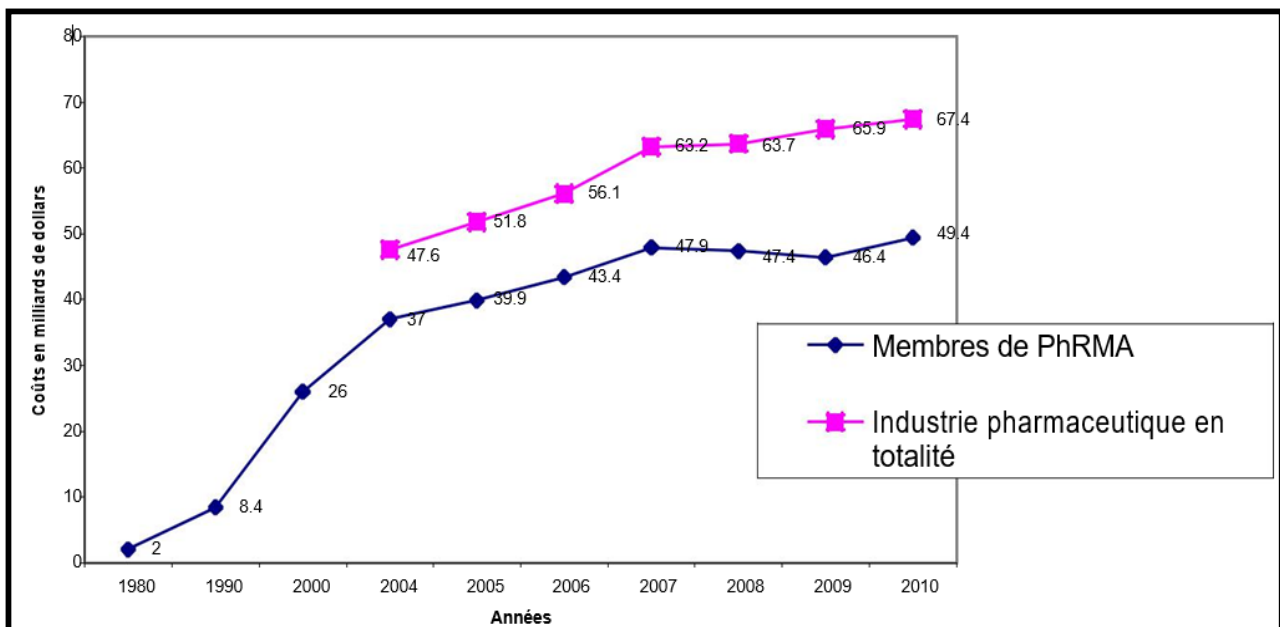


Figure 33 : Evolution du coût de la recherche et du développement pharmaceutique, des années 1980 à 2010 pour les membres de PhRMA et l'industrie pharmaceutique en totalité [95].

Il s'agit, bien sûr, d'une moyenne, le coût pouvant être beaucoup moins important pour une molécule issue d'une modification d'une molécule déjà commercialisée, ou lorsque la concurrence est faible, nécessitant moins de patients pour les essais cliniques (le nombre de patients inclus dans les essais cliniques a considérablement augmenté durant les dernières 35 décennies, entraînant une augmentation du coût du développement). En effet, les essais cliniques et surtout la phase III (de grande ampleur et nécessitant de nombreux patients à travers le monde) sont les plus coûteux lors du développement d'un médicament.

5.2. Les coûts de la recherche et du développement dans l'avenir

Depuis 2005, le marché pharmaceutique mondial a amorcé un ralentissement confirmé en 2009 avec une croissance d'à peine 3,5 %. Ce ralentissement résulte principalement de la fin des brevets de nombreux blockbusters, de la concurrence précoce des génériques et du faible taux de nouvelles entités chimiques lancées sur le marché alors que le coût de la recherche et du développement ne fait qu'augmenter [96].

Cependant, d'importants changements ont eu lieu aux Etats-Unis, surtout depuis l'élection de Barack Obama à la présidence et ses projets de réforme du système de santé grâce auxquels les prix des médicaments seront de plus en plus encadrés. Actuellement, si les prix sont libres, les rabais accordés aux Health Maintenance Organizations doivent être appliqués à l'Etat, réduisant ainsi la marge des sociétés pharmaceutiques. En Allemagne, les laboratoires ne peuvent plus fixer librement leurs prix. D'autre part, le NIH contribue pour une part importante à la recherche fondamentale pharmaceutique aux Etats-Unis. Après une croissance très rapide, à partir de 1998, de son budget alloué à la recherche,

ce dernier tend à plafonner : les demandes pour 2008 sont de 29,23 milliards \$ contre 28,9 milliards en 2007.

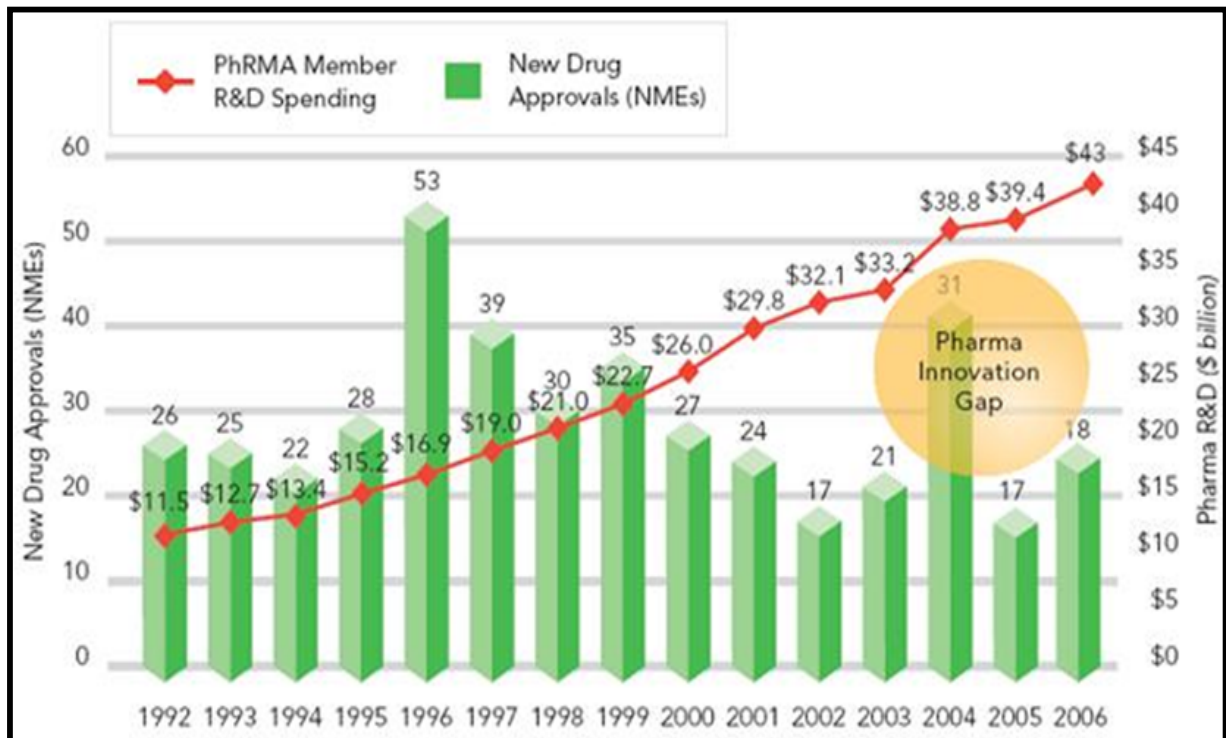


Figure 34 : La lacune innovative : depuis une vingtaine d’années, les coûts de la R&D augmentent alors que les médicaments approuvés par la FDA tendent à diminuer, créant ainsi une lacune [97].

Sur la figure 34, il est facilement observable que, malgré l’augmentation quasi constante des coûts de la recherche et du développement pour les entreprises pharmaceutiques du groupe PhRMA, le nombre de nouveaux médicaments approuvés par la Food and Drug Administration tend plutôt à diminuer depuis 10 ans.

Ainsi, de moins en moins de médicaments sont mis sur le marché. On estime qu’entre 2000 et 2003, seulement 8 % des produits en développement ont

été approuvés [98]. Le nombre total de médicaments approuvés a été réduit de 50 % depuis 1999. Exemple, en oncologie, seulement 5 % des médicaments sont passés de la première utilisation chez l'homme à l'autorisation de mise sur le marché [99].

De plus, le marché pharmaceutique a perdu la puissance de ses blockbusters depuis la mise en place des génériques. L'arrivée de la molécule générique entraîne une baisse des prix de l'ordre de 40-50 % en France, 45 % au Royaume-Uni et 70 % aux Etats-Unis dans les deux à cinq ans qui suivent son arrivée dans le domaine public. On s'attend ainsi à un ralentissement durable de la croissance du marché pharmaceutique jusqu'en 2011-2012 [100].

Selon une étude de l'agence de notation Fitch Ratings publiée fin 2010, des médicaments représentant 39,5 % du chiffre d'affaires 2009 de BMS devraient perdre leurs brevets entre 2010 et 2012. Une proportion qui est de 33,5 % pour Eli Lilly, 33,4 % pour Amgen et 32,3 % pour Pfizer.

Derrière ces quatre groupes, les laboratoires suivants présentent une proportion de ventes exposée à ce risque nettement moindre : 14,1 % pour Merck, 12,5 % pour GlaxoSmithKline (GSK), 11,1 % pour AstraZeneca et 9,8 % pour Sanofi-Aventis.

5.3. Modifications de la recherche et du développement liées à la médecine personnalisée

La médecine personnalisée peut modifier la durée et le coût du développement, les revenus et la durée de vie du produit et les ventes et l'adoption par le marché. Les coûts de développement peuvent être diminués car la stratification de la population peut réduire le nombre de personnes requises pour les essais cliniques, diminuer le nombre d'essais et améliorer l'innocuité des essais cliniques. Ainsi, les critères d'inclusion et d'exclusion peuvent être mieux définis par des techniques de pharmacogénomique. Par exemple l'imatinib (Glivec®) a été approuvé par la FDA en 3 mois avec un temps de développement, entre la 1^{ère} dose chez l'homme et l'approbation par la FDA, inférieur à 4 ans.



Figure 35 : La durée des essais cliniques basés sur la pharmacogénomique pourrait être diminuée significativement grâce à une pré-sélection des patients en fonction de leur réponse à une thérapie [101], [102].

La figure 35 compare le temps de développement clinique traditionnel des médicaments, soit 10 à 12 ans, à une estimation du temps que prendrait le développement d'un médicament basé sur des tests pharmacogénomiques utilisant uniquement des patients répondant au traitement.

Ainsi, les entreprises doivent développer de nouveaux critères lors de la sélection des patients pendant les phases II et III des essais cliniques. Pour cela, l'étude doit être envisagée de telle sorte que les patients sélectionnés pour la phase II aient un maximum de réponses et un minimum d'effets indésirables.

L'organisation des essais cliniques devrait alors être repensée en utilisant par exemple ces deux modèles proposés par la FDA

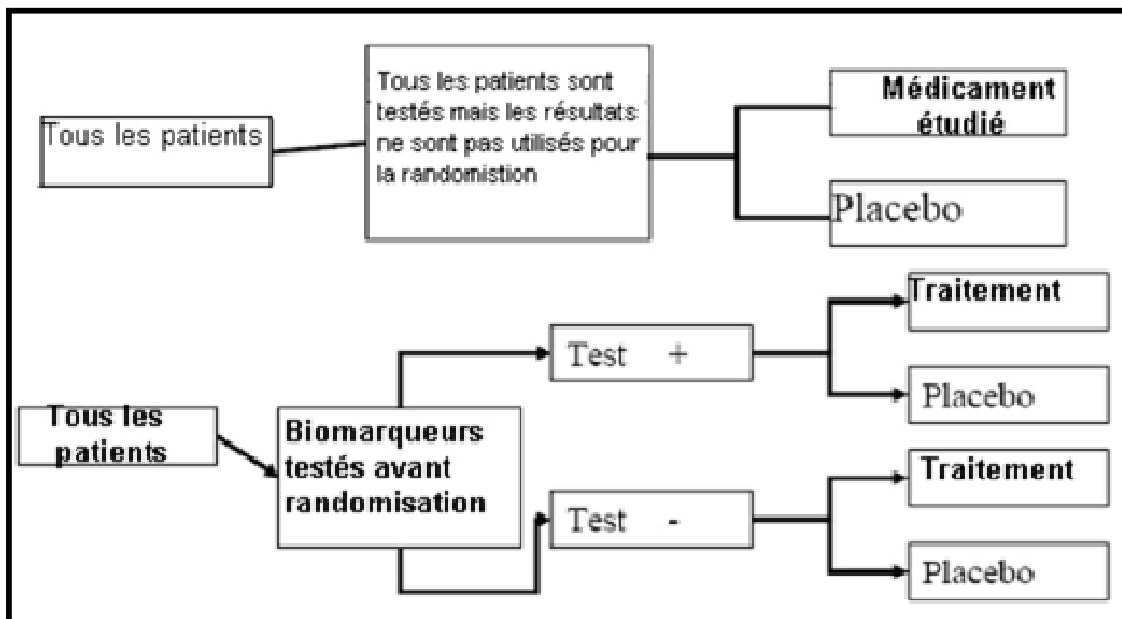


Figure 36 : Arbre décisionnel de la mise en place du traitement lors des essais cliniques en phase I et II (en haut) et pour la phase III (en bas) en fonction des tests pharmacogénomiques ou pharmacogénétiques [103].

Sur la figure 36, dans le cas représenté en haut (qui serait principalement utile pour les phases I et II), tous les patients sont testés mais les résultats des tests n'influent pas sur le traitement reçu, les données concernant le polymorphisme génétique par exemple seront ensuite comparées aux effets secondaires ou aux variations de la réponse au médicament, facilitant ainsi le choix des patients pour les études de phase III.

Cependant, le coût du développement peut aussi être augmenté par la nécessité de développer un biomarqueur clinique qui soit validé et approuvé en tant que diagnostic. De plus, en augmentant le taux d'exclusion des nombreux patients qui ne permettent pas la validation du biomarqueur et conduisant ainsi à l'augmentation des sites d'investigation en compensation, les coûts des essais cliniques et le temps requis pourraient augmenter. Ces études seront alors limitées aux polymorphismes répandus. Il serait beaucoup trop difficile d'accumuler suffisamment de sujets présentant des variantes génétiques rares.

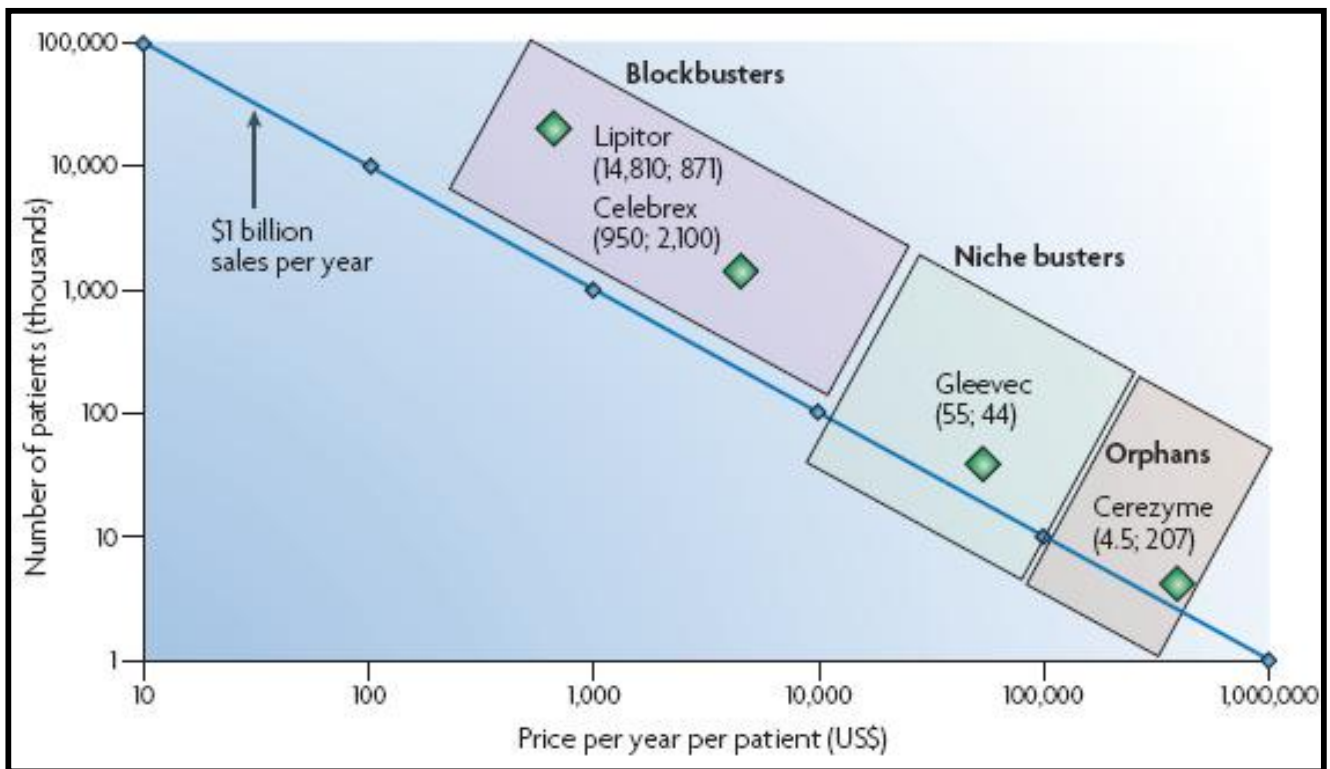


Figure 37 : Différents types de traitements à haut revenus (les chiffres entre parenthèse correspondent au nombre de patients en centaines et au prix par an et par patient en dollars) [104].

La figure 37 montre que la différence entre les blockbusters et les autres médicaments. Les blockbusters classiques, tels que l'atorvastatin (Lipitor®), sont prescrits chez une large population de patients. La médecine personnalisée, qui a pu démontrer sa supériorité pour des populations plus faibles, peut également entraîner des bénéfices importants grâce à son coût élevé et à son taux d'adoption. A l'autre extrémité, on retrouve les médicaments orphelins, qui représentent souvent la seule alternative pour une petite population souffrant de la maladie en question, et qui peuvent donc demander un prix élevé s'ils sont efficaces et la maladie est suffisamment sévère.

La médecine personnalisée diminue également, pour les laboratoires, le potentiel de patients pour un médicament, induisant ainsi de plus faibles revenus. Cependant, en pratique, les recettes des laboratoires pourraient augmenter car la médecine personnalisée déclenche une adoption plus rapide et plus importante, ceci grâce aux performances cliniques supérieures et aux chiffres d'affaires provenant des biomarqueurs. De plus, une efficacité ou innocuité améliorée par rapport au traitement standard permettent plus facilement de donner à ces traitements un prix fort, exemple : le bevacizumab (Avastin®) est facturé à environ 100 000 \$ par an, soit le double des traitements standard pour le cancer colorectal.

L'imatinib a généré un bénéfice d'environ 2,5 milliards de dollars, à un prix d'environ 43000 \$ par patient et par an ou par cycle de traitement, soit environ 55 000 patients traités par Glivec®, comparés à 500 000 patients traités par le tamoxifène qui génère 630 millions de dollars de recettes.

Avec ces nombreux paramètres, l'effet net sur les recettes sera donc différent selon le médicament.

La combinaison d'un test diagnostique avec une thérapie peut permettre d'atteindre des populations sous-diagnostiquées et des populations « sous-traitées ». L'utilisation d'un diagnostic pour le suivi d'un traitement peut encourager l'observance et engranger des bénéfices sur le long terme [104].

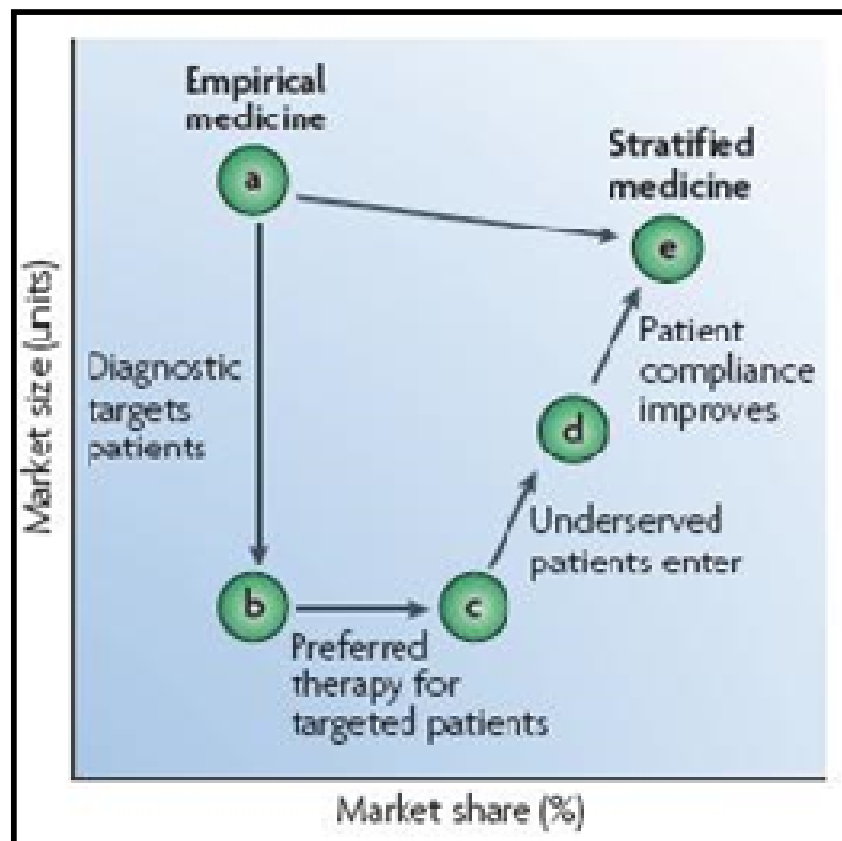


Figure 38 : Effets potentiels de la médecine personnalisée sur la valeur économique des thérapies [104].

La figure 38 démontre que l'utilisation d'un diagnostic réduit la taille de la population traitée et donc le marché potentiel (market size), mais une efficacité et innocuité rehaussées augmentent les parts de marchés (market share) car ce traitement est préféré aux autres. Une expansion du marché se produit en touchant des patients n'ayant pas un large accès aux traitements. Et au final, l'augmentation de l'observance grâce au suivi diagnostic et à l'amélioration de la tolérance peut également augmenter la taille du marché.

Tableau IV : Futur potentiel du développement des médicaments (d'après [104])

Paramètres	De nos jours	Tendance actuelle	Futur proche	Futur éloigné
Durée des brevets (années)	20	20	20	20
Durée de développement (années)	10	14	5	10
Coûts de développement (milliards de \$)	1	2	0.25	0.5
Durée de vie des ventes (années)	10	6	15	10
Ventes annuelles moyennes (milliards de \$)	0.5	2	0.25	0.33
Marge brute	80 %	50 %	80 %	65 %
Profit brut (milliards de \$)	4	6	2.4	2.15
Retour sur investissement (milliards de \$/an)	4	3	9.6	4.3

Le tableau IV présente des prévisions relatives à l'évolution du temps et du coût de développement, à l'impact sur les ventes, aux parts de marché et aux marges que pourrait induire l'implication des entreprises pharmaceutiques dans la médecine personnalisée. Le temps de développement serait d'abord diminué avant de revenir à la durée actuelle. Les coûts de développement seraient diminués de moitié à long terme. Les ventes annuelles, quant à elles, diminueraient tout comme les marges et les revenus sur la durée de vie du produit mais, finalement les retours sur investissement seraient un peu plus importants qu'actuellement. A moins long terme, ces revenus seraient même très importants.

Au final, les entreprises pourraient bénéficier de la mise en place d'une politique de recherche sur les biomarqueurs et d'investissement dans la médecine personnalisée. Cependant, cette route risque d'être longue, hasardeuse et coûteuse sur les premières années.

Toutefois, le coût du séquençage génétique a diminué de 100 millions de dollars à moins de 10000 dollars en 10 ans, ceci grâce à l'automatisation des méthodes, à l'avancée des techniques et surtout à l'aide de plans tels que le « \$1,000 genome grant », créé par le National Human Genome Research Institute (NHGRI), fondé par le National Institute of Health (NIH). Il a accordé 32 millions de dollars pour aider au développement de technologies permettant d'améliorer le séquençage, en terme de qualité et de rapidité, de l'ADN tout en réduisant le coût de cette opération. Ceci va permettre d'étendre l'utilisation de la génomique dans les recherches biomédicales et la santé.

Sur la figure 15, la diminution du coût du séquençage du génome humain a surtout pris de l'ampleur depuis janvier 2008, période à partir de laquelle la courbe se sépare nettement de la droite représentant la loi de Moore's (qui décrit une tendance longue dans l'histoire informatique impliquant la multiplication par deux de la puissance des processeurs tous les 2 ans).

Dans ce climat où le coût du séquençage n'est plus un obstacle, où les agences réglementaires telles que la FDA approuvent plus facilement des produits issus des biotechnologies que des médicaments classiques et où la recherche et le développement pharmaceutique subissent un fort ralentissement, la croissance des produits biotechnologiques est fortement compréhensible (voir figure 39).

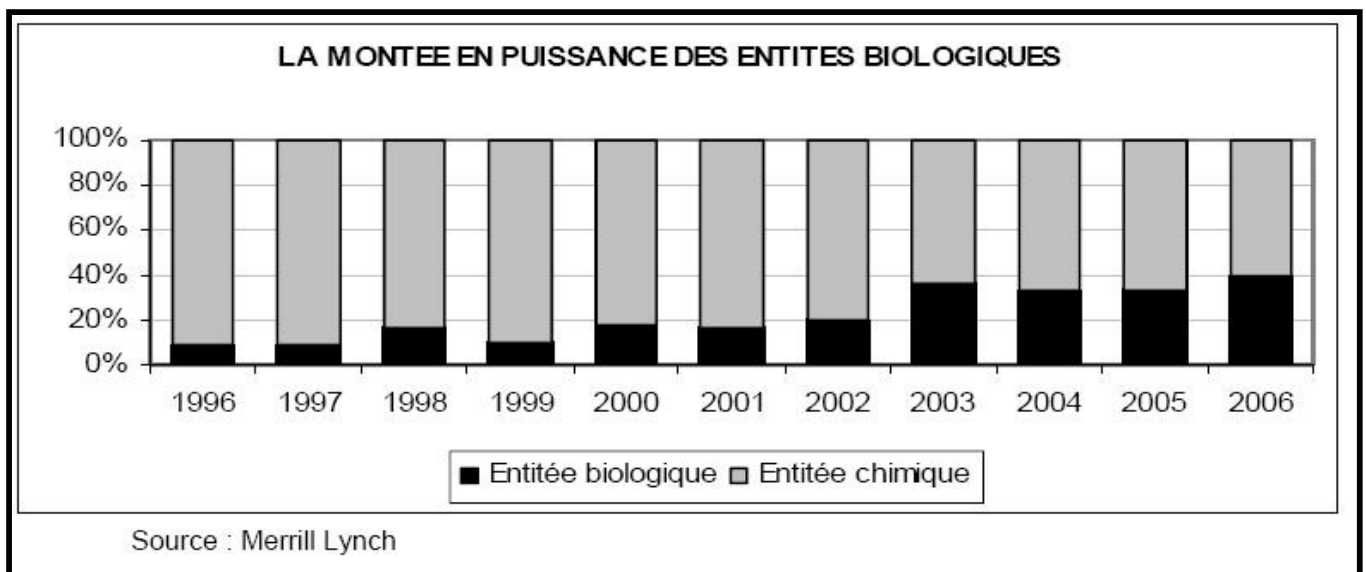


Figure 39 : Montée en puissance des entités biotechnologiques en développement. La part des produits biotechnologiques représentait en 2006, 40 % des produits en développement alors qu'elle n'était que de 9 % dans les années 1995 [105].

5.4. L'autorisation de mise sur le marché facilitée par les biomarqueurs

Le Panitumumab (Vectibix®), anticorps monoclonal spécifique du récepteur à l'EGF, produit par Amgen, est prescrit pour le traitement des cancers colo-rectaux métastatiques exprimant l'EGFR. Avant que le biomarqueur associé (KRAS) ne soit découvert, les instances réglementaires européennes étaient réticentes à l'idée d'approuver ce médicament, déclarant que les bénéfices étaient insuffisants en comparaison des risques. La découverte d'un marqueur permettant d'identifier les patients répondeurs a facilité l'approbation européenne et le lancement de ce médicament (en combinaison avec un test) [106].

5.5. La renaissance de médicaments grâce aux biomarqueurs

L'utilisation de biomarqueurs pharmacogénomiques pourrait également permettre de « ressusciter » des médicaments qui se sont montrés insuffisamment efficaces lors de leur développement ou ayant provoqué trop d'effets indésirables (une fois sur le marché ou pendant le développement). Des analyses rétrospectives des données des études cliniques pourraient permettre d'identifier les répondants et un génotypage ultérieur de ces sujets pourrait permettre d'identifier un biomarqueur aidant à prédire la réponse au médicament. Si le médicament a été retiré du marché à cause d'effets indésirables, les données pharmacogénomiques pourraient procurer les preuves nécessaires permettant sa réintroduction. Le Lotronex® (alosetron, GlaxoSmithKline) en est un exemple. Peu après avoir reçu l'approbation de la FDA, ce médicament a été retiré du marché suite à des effets indésirables dont des complications intestinales sévères. En 2004, la FDA a autorisé son retour sur le marché selon certaines conditions, dont des analyses pour déterminer si les variants du cytochrome P450 sont responsables de la métabolisation de l'alosetron [52].



Chapitre VI :
Questions éthiques

6. QUESTIONS ETHIQUES

La médecine personnalisée repose sur des bases génétiques. Ainsi, à partir du moment où le patient subit des tests génétiques (pharmacogénomiques, pharmacogénétiques), les nombreuses questions éthiques relatives à la génétique sont soulevées.

6.1 Biobanques

La mise en place de biobanques est primordiale pour le stockage des échantillons biologiques et des informations génétiques.

Les conditions de conservation doivent permettre une détérioration minimale des prélèvements et une protection des données. Les bases de données sont séparées des bases d'échantillons et des réseaux hautement sécurisés permettent de faire le lien entre un échantillon et les données correspondantes.

Une des questions principales qui se pose par rapport à ces biobanques est celle de la propriété des données. Les approches sont différentes selon les pays :

- En Islande, avec par exemple la base de données de CODE, l'Etat a un « droit de garde » sur les échantillons biologiques et les donneurs gardent leur droit de propriété,
- Tonga et l'Estonie rendent le gouvernement propriétaire mais des lois permettent une forte protection des droits des donneurs.

Afin de garantir le respect des conditions de conservation des échantillons ainsi que la protection des données relatives aux patients, l'OCDE et le German National Ethic Council ont publié des lignes directrices sur les biobanques et sur les bases de données de recherche en génétique humaine [107], [117].

Dans ces textes, ainsi que dans les inquiétudes publiques, de nombreuses questions sont soulevées.

- Beaucoup de biobanques sont faites de telle sorte que les échantillons et les informations soient conservés pour de nombreuses années. Ceci pose la question du degré de spécificité requis lors du consentement du donneur. Par exemple, une recherche ultérieure peut-elle être réalisée sans demander de nouveau le consentement du donneur ou faut-il à chaque fois le rechercher pour obtenir son consentement ?
- De nombreuses collections d'échantillons humains ultérieurement établies pour des diagnostics médicaux ou pour la découverte de thérapies ont acquis une valeur importante pour la recherche liée au développement de nouvelles techniques d'analyses génétiques. Dans la majorité des cas, les donateurs n'auront pas autorisé l'utilisation de leurs échantillons pour de telles recherches. D'ailleurs, si la personne est décédée, comment obtenir dans ce cas son consentement ?
- Pour une utilisation optimale des biobanques, il serait approprié de lier les données et les informations provenant de plusieurs sources. Avec les nouvelles techniques informatiques et Internet, les données des biobanques peuvent être échangées et mises en commun, faisant passer la quantité devant la qualité à laquelle le donneur avait consenti au départ.

- L'anonymisation des échantillons est-elle encore réalisable ? sachant que si un échantillon démontre qu'un patient est porteur d'un variant indiquant qu'il présente, par exemple, un risque supérieur d'effet indésirable, comment le retrouver si cet échantillon a été anonymisé ? Et s'il n'y a pas d'anonymisation, l'aveugle, permettant de diminuer les biais lors des études cliniques, serait alors impossible.
- Le niveau de sécurisation informatique doit être très important et la charge de données risque de dépasser les capacités actuelles des réseaux informatiques. La bioinformatique doit donc encore évoluer avant que ces questions ne soient totalement résolues.

6.2 Brevetabilité du vivant

Selon la déclaration de l'UNESCO du 11 novembre 1997, le génome humain est un patrimoine de l'humanité et il ne peut faire l'objet de commercialisation.

De plus, la convention sur le brevet européen déclare que « *ne sont considérées comme des inventions [...] les découvertes ainsi que les théories scientifiques* ». Ni l'ADN, ni le génome humain ne sont alors brevetables car il s'agit de découvertes.

La directive 98/44/CE du Parlement Européen et du Conseil du 6 juillet 1998, relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques (voir annexe 3), prévoit, quant à elle, dans l'article 5 paragraphe 1, « *Le corps humain, aux différents stades de sa constitution et de son développement, ainsi que la simple découverte de ses éléments, y compris la séquence partielle d'un gène, ne peuvent constituer des inventions brevetables.* »

Cependant, selon cette même directive, dans le paragraphe 2 de l'article 3, « *Un élément isolé du corps humain ou autrement produit par un procédé technique, y compris la séquence partielle d'un gène, peut constituer une invention brevetable, même si la structure de cet élément est identique à celle d'un élément naturel.* » [108]

Myriad Genetic n'a pourtant pas hésité à poser plusieurs brevets, de 1997 à 2001, sur les gènes BRCA1 et BRCA2 impliqués dans des formes familiales du cancer du sein et de l'ovaire, ainsi que sur un test de dépistage facturé 3 000 \$. Ces brevets garantissent au laboratoire un monopole de 20 ans (suivant la date de dépôt du brevet). Ils procurent des droits exclusifs sur toute information ayant trait à ces gènes ou en découlant de même que sur toute méthode mise au point pour le diagnostic et le traitement des cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Cependant, de nombreux détracteurs se sont opposés à ces brevets et au test de dépistage associé. En effet, l'Institut Curie affirme que le test échoue à déceler entre 10 et 20 % de toutes les mutations prévues et qu'un test plus global serait plus efficace. Cet institut, conjointement à l'assistance publique des hôpitaux de Paris (AP-HP) et à l'institut Gustave Roussy, a donc entrepris une procédure d'opposition auprès de l'Office Européen des brevets qui a révoqué ces brevets en 2004 avant de les rétablir, mais uniquement pour certaines mutations des gènes BRCA (et non pas les gènes) [109].

Selon une étude de K. Jensen et F. Murray en 2005, 20 % du génome humain apparaît d'ores et déjà dans des brevets, poussant les laboratoires à diminuer leurs recherches sur des tests génétiques [110].

6.3 Confidentialité et respect de la vie privée

Ces problèmes sont posés par l'utilisation de données génétiques. Les résultats d'un test pharmacogénétique ou pharmacogénomique fournissent non seulement des informations sur la réaction d'un individu à un médicament donné mais également des informations secondaires sur le pronostic d'une maladie ou sur la possibilité que les enfants d'un patient soient atteints de la même maladie ou répondent de la même façon à un traitement [111].

De plus, des facteurs de prédisposition à d'autres maladies peuvent aussi être découverts. Il est donc important de bien gérer cette information secondaire et d'élaborer une stratégie de divulgation des résultats afin d'éviter de créer un tort psychosocial à un patient [112].

La question se pose aussi de savoir si un patient refusant de passer le test peut accéder tout de même au traitement, sachant que ce traitement peut ne pas être efficace ou qu'il puisse y avoir un risque d'effets indésirables graves.

6.4 Education des professionnels de santé et du public

Afin de bénéficier au mieux des avantages que pourrait apporter la médecine personnalisée, il faut que l'étendue des connaissances liée à ce domaine et à la génétique arrive jusqu'au bout de la chaîne, c'est-à-dire au patient lui-même. Il est indispensable que les patients comprennent les enjeux, la portée et l'origine de la médecine personnalisée et des tests génétiques associés. Dans ce but, il faut que les personnels de santé soient eux-mêmes éduqués sur ces questions afin qu'ils puissent répondre avec exactitude aux inquiétudes de leurs patients et qu'ils puissent les conseiller.

Malheureusement, l'éducation des professionnels de santé en termes de connaissances génétiques est totalement inégale selon les pays. Des universités comme Duke en Caroline du Nord ou Harvard dans le Massachusetts ont cependant créés des cursus spéciaux sur la médecine personnalisée.

Une amélioration des connaissances en génétique au cours de la formation initiale et de la formation continue des professionnels de santé paraît donc indispensable pour la mise en place de la médecine personnalisée.

6.5 Questions relatives au remboursement et aux assurances

Les tests sur les biomarqueurs pharmacogénétiques et pharmacogénomiques posent des questions sur les problèmes relatifs à la prise en charge des tests et des traitements et à l'accès aux assurances (principalement à l'assurance vie).

En effet, un patient présentant un variant génétique le poussant à choisir un traitement plus coûteux pourrait, dans certains pays, se voir refuser le remboursement du traitement par son assurance santé. Un patient présentant un risque de développer telle ou telle maladie, déterminée par un séquençage génétique ou ayant un polymorphisme génétique tel que les traitements sur le marché pour une certaine maladie seraient inefficaces, pourrait-il contracter une assurance vie ?

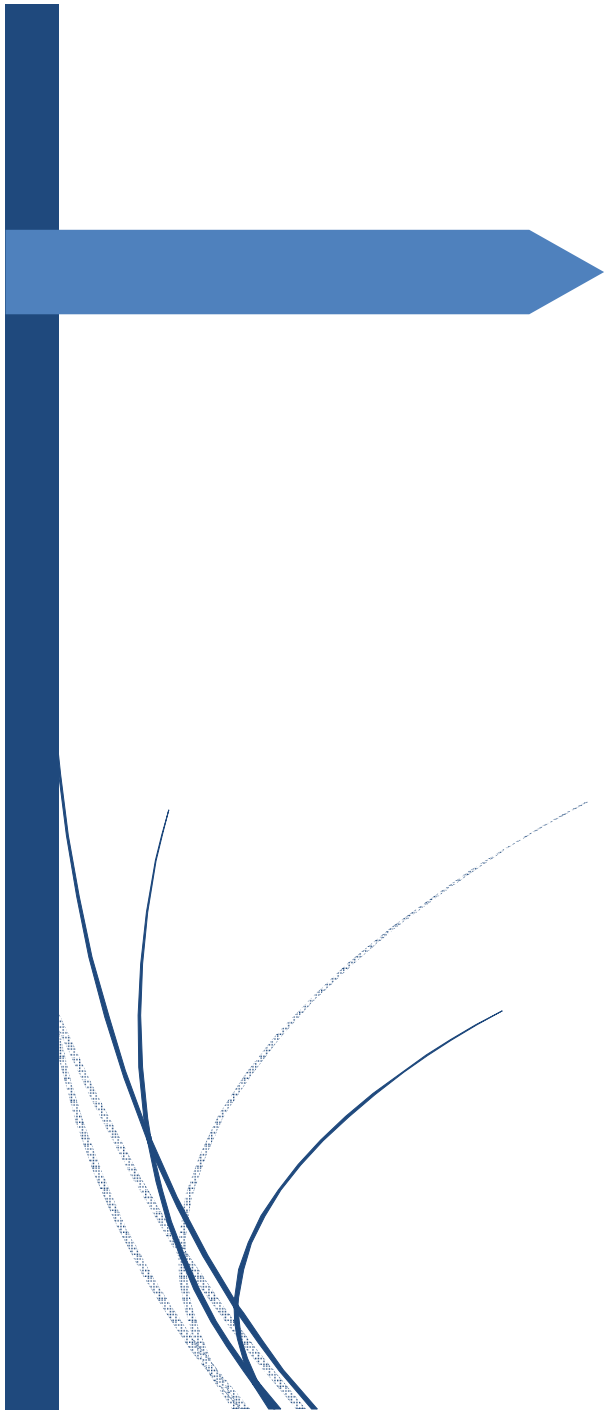
En France, si une personne contracte une assurance-vie, elle ne peut taire son histoire familiale. Cependant, la loi du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé interdit expressément l'utilisation des résultats de l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne dans le cadre de l'établissement d'un contrat d'assurance de décès ou d'invalidité.

Ainsi, « *nul ne peut faire l'objet de discrimination en raison de ses caractéristiques génétiques* » (Code Civil, article 16-13 [113]). Selon le code français des assurances, la réticence ou la fausse déclaration intentionnelle de l'assuré est sanctionnée par la nullité du contrat. Par exception, les compagnies d'assurance « *ne doivent pas tenir compte des résultats de l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne demandant à bénéficier de cette garantie, même si ceux-ci leur sont transmis par la personne concernée ou avec son accord* ». En outre, les assureurs, selon Code de la Santé Publique, Article L.1141-1 [114], « *ne peuvent poser aucune question relative aux tests génétiques et à leurs résultats, ni demander à une personne de se soumettre à des tests génétiques avant que ne soit conclu le contrat et pendant toute la durée de celui-ci* » [115].

6.6 Tests génétiques et discrimination à l'embauche

En France, le code du travail (article L. 122.45) statue que « *aucune personne ne peut être écartée d'une procédure de recrutement [...] sanctionnée, licenciée ou faire l'objet d'une mesure discriminatoire, directe ou indirecte [...] en raison de son origine, de son sexe, de ses mœurs, de son orientation sexuelle, de son âge, de sa situation familiale, de ses caractéristiques génétiques, de son appartenance ou de sa non appartenance, vraie ou supposée, à une ethnie, une nation ou une race, de ses opinions [...], de son apparence physique, de son patronyme ou en raison de son état de santé ou de son handicap* » [116].

Aux Etats-Unis, le Genetic Information Non Discrimination Act, voté par le Congrès Américain en 2008, interdit aux chefs d'entreprise d'exiger de leurs salariés des tests génétiques ou de prendre en compte le profil génétique d'un employé pour une embauche, un licenciement ou une promotion. De même, la loi condamne désormais toute discrimination, de la part des compagnies d'assurance, basée sur la génétique de leurs clients.



Conclusion

Après des débuts relativement lents, la médecine personnalisée, ou de façon plus réaliste la médecine stratifiée, semble arriver incessamment à notre portée. De plus en plus d'exemples de réussites sont actuellement mis en évidence. C'est en oncologie que les progrès sont les plus rapides et que les investissements sont les plus importants.

Un autre penchant de la médecine personnalisée, lié au diagnostic prédictif et à la prévention, semble également prendre de l'ampleur et le public paraît de plus en plus ouvert et intéressé par ces outils de diagnostic prédictifs.

Malgré des objectifs portés sur l'augmentation des bénéfices pour les patients et sur une réduction maximale des effets indésirables, de nombreuses réticences ont jusqu'à maintenant freiné le développement des recherches et de l'instauration de cette pratique. Ces réticences sont majoritairement dues au fait que cette nouvelle vision de la médecine pose beaucoup de questions éthiques, réglementaires et légales mais aussi au fait qu'en période de crise financière, les industries pharmaceutiques sont assez frileuses et n'osent pas s'engager seules dans un domaine qui pourrait être très risqué pour elles.

Ainsi, de nombreux efforts restent encore à apporter, même si certains aspects, tels que les méthodes de découverte de biomarqueurs en amont et l'utilisation de la pharmacogénétique et pharmacogénomique, sont dorénavant considérés comme acquis et maîtrisés.

La figure 40 montre quels sont les efforts à apporter par chaque acteur de la médecine personnalisée pour que cette dernière soit totalement implantée.

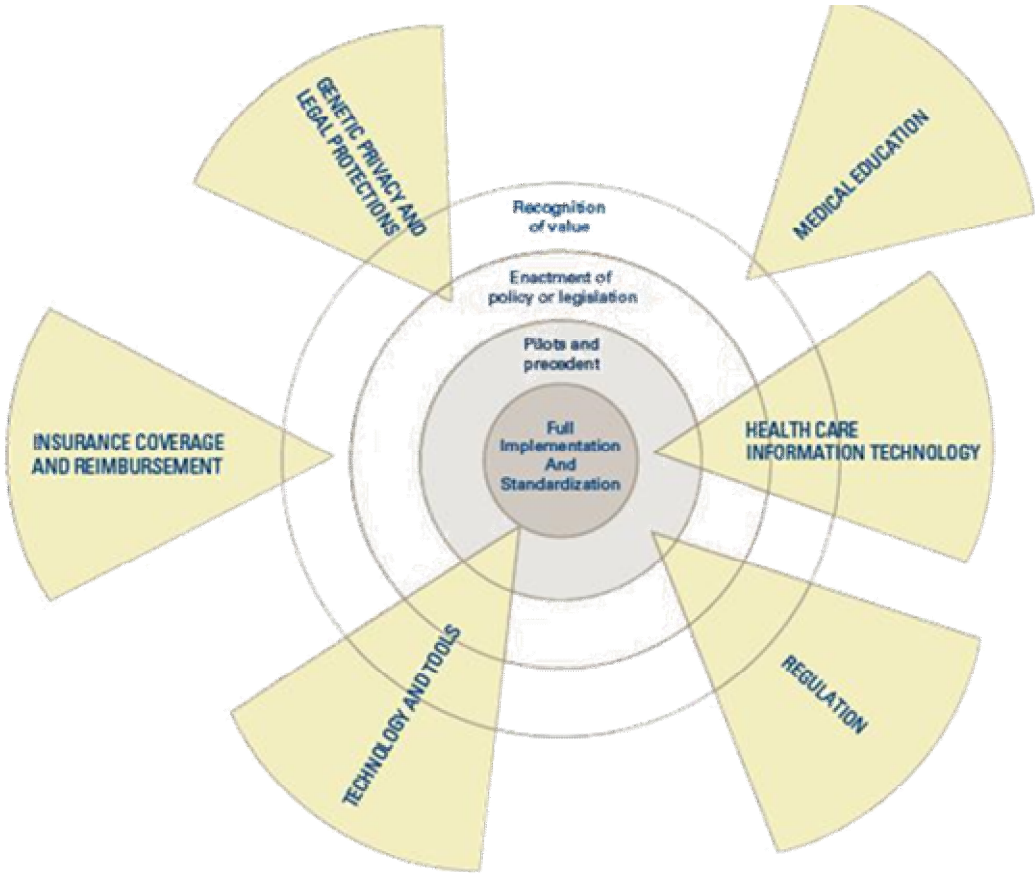
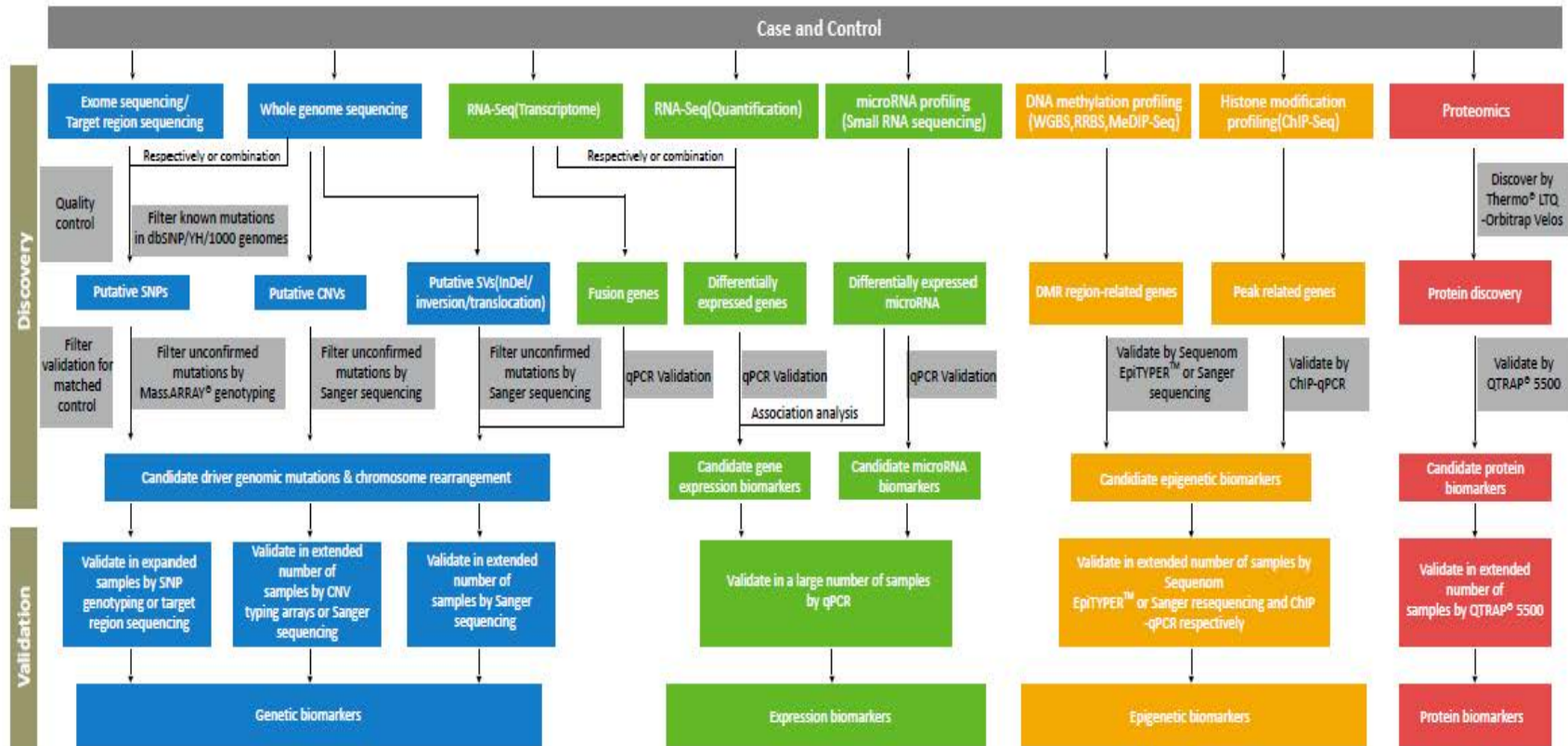


Figure 40 : Etat actuel de l'implémentation de la médecine personnalisée dans les différents secteurs qu'elle concerne [118].

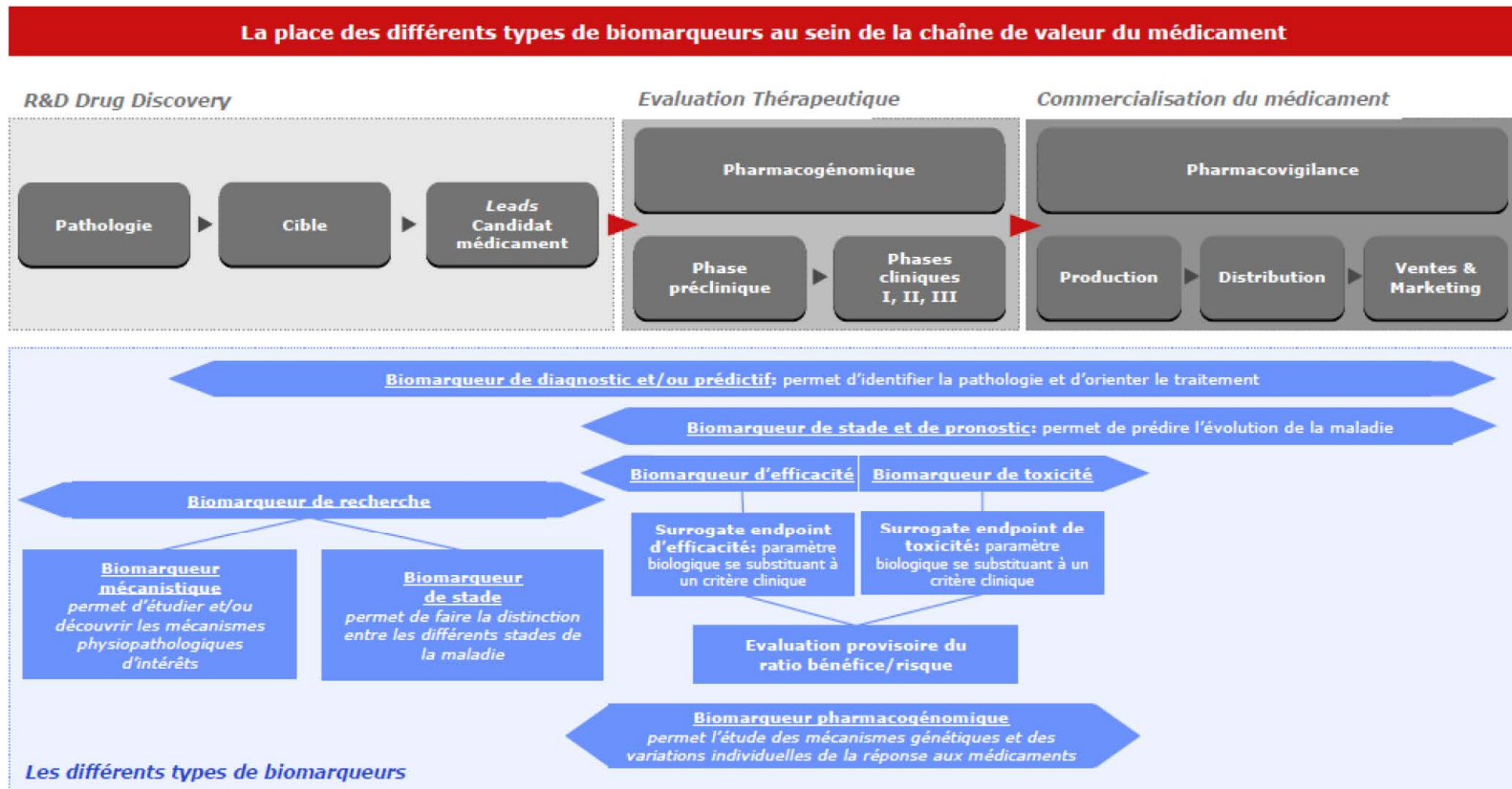


Annexes

Annexe 1 : Aperçu des approches multiples appliquées à la découverte des biomarqueurs [119].



Annexe 2 : Place des différents types de biomarqueurs au sein de la chaîne de valeur du médicament [120].



**Annexe 3 : DIRECTIVE 98/44/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL
du 6 juillet 1998 relative à la protection juridique des inventions
biotechnologiques [121].**

L 213/18

FR

Journal officiel des Communautés européennes

30.7.98

ONT ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article 4

CHAPITRE I

Brevetabilité

Article premier

1. Les États membres protègent les inventions biotechnologiques au moyen de leur droit national des brevets. Ils adaptent leur droit national des brevets, si nécessaire, pour tenir compte des dispositions de la présente directive.

2. La présente directive n'affecte pas les obligations découlant, pour les États membres, des conventions internationales, et notamment de l'accord ADPIC et de la convention sur la diversité biologique.

Article 2

1. Aux fins de la présente directive, on entend par:

- a) «matière biologique»: une matière contenant des informations génétiques et qui est autoreproductible ou reproductible dans un système biologique;
- b) «procédé microbiologique»: tout procédé utilisant une matière microbiologique, comportant une intervention sur une matière microbiologique ou produisant une matière microbiologique.

2. Un procédé d'obtention de végétaux ou d'animaux est essentiellement biologique s'il consiste intégralement en des phénomènes naturels tels que le croisement ou la sélection.

3. La notion de variété végétale est définie à l'article 5 du règlement (CE) n° 2100/94.

Article 3

1. Aux fins de la présente directive, sont brevetables les inventions nouvelles, impliquant une activité inventive et susceptibles d'application industrielle, même lorsqu'elles portent sur un produit composé de matière biologique ou en contenant, ou sur un procédé permettant de produire, de traiter ou d'utiliser de la matière biologique.

2. Une matière biologique isolée de son environnement naturel ou produite à l'aide d'un procédé technique peut être l'objet d'une invention, même lorsqu'elle préexistait à l'état naturel.

1. Ne sont pas brevetables:

- a) les variétés végétales et les races animales;
- b) les procédés essentiellement biologiques pour l'obtention de végétaux ou d'animaux.

2. Les inventions portant sur des végétaux ou des animaux sont brevetables si la faisabilité technique de l'invention n'est pas limitée à une variété végétale ou à une race animale déterminée.

3. Le paragraphe 1, point b), n'affecte pas la brevetabilité d'inventions ayant pour objet un procédé microbiologique, ou d'autres procédés techniques, ou un produit obtenu par ces procédés.

Article 5

1. Le corps humain, aux différents stades de sa constitution et de son développement, ainsi que la simple découverte d'un de ses éléments, y compris la séquence ou la séquence partielle d'un gène, ne peuvent constituer des inventions brevetables.

2. Un élément isolé du corps humain ou autrement produit par un procédé technique, y compris la séquence ou la séquence partielle d'un gène, peut constituer une invention brevetable, même si la structure de cet élément est identique à celle d'un élément naturel.

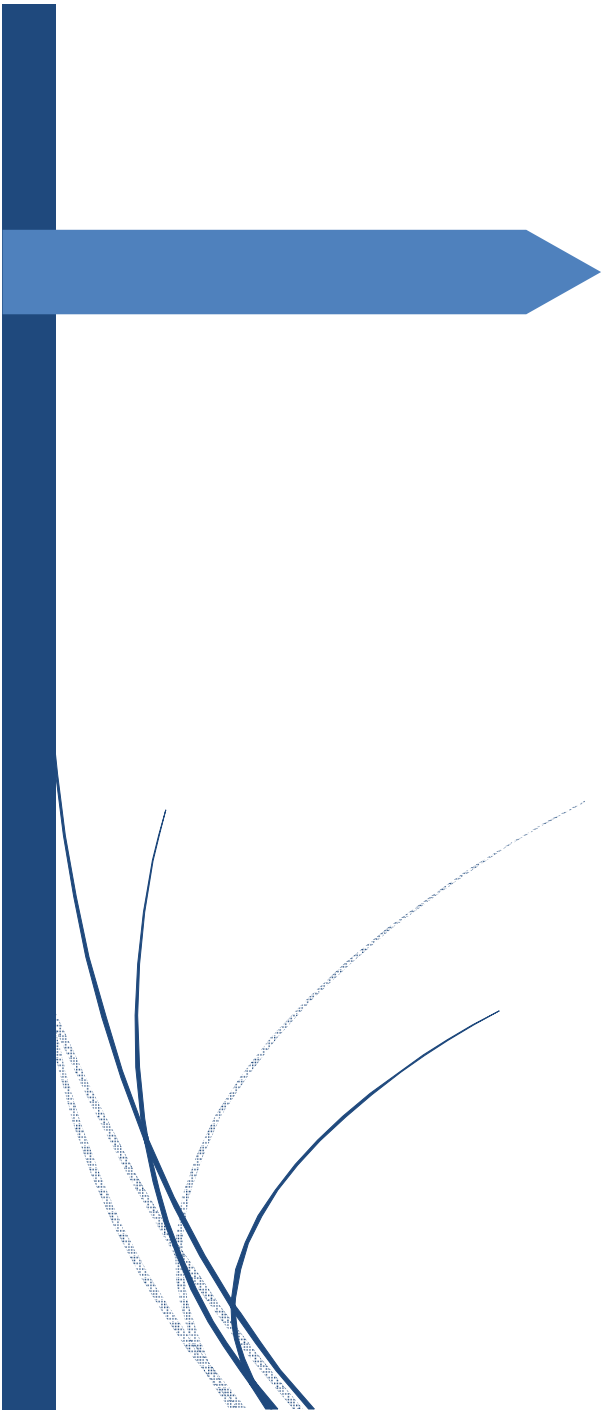
3. L'application industrielle d'une séquence ou d'une séquence partielle d'un gène doit être concrètement exposée dans la demande de brevet.

Article 6

1. Les inventions dont l'exploitation commerciale serait contraire à l'ordre public ou aux bonnes mœurs sont exclues de la brevetabilité, l'exploitation ne pouvant être considérée comme telle du seul fait qu'elle est interdite par une disposition légale ou réglementaire.

2. Au titre du paragraphe 1 ne sont notamment pas brevetables:

- a) les procédés de clonage des êtres humains;
- b) les procédés de modification de l'identité génétique germinale de l'être humain;
- c) les utilisations d'embryons humains à des fins industrielles ou commerciales;



Résumés

RESUME

Titre : Biotechnologies et médecine personnalisée : exemple de la thérapie génique

Auteur : YASSINE Mohamed

Mots clés : Médecine personnalisée – Biotechnologie – Pharmacogénomique – Thérapie génique

Le concept de la médecine personnalisée vise à adapter les traitements médicamenteux à chaque patient dans le but d'augmenter leur efficacité tout en réduisant leurs effets indésirables. Cette approche présente de grands avantages notamment en oncologie et dont la mise en application ne date que d'une dizaine d'années.

En effet et grâce aux avancées biotechnologiques dans le domaine biomédical et pharmaceutique, plusieurs innovations thérapeutiques ont été mises en place dont la thérapie génique que nous avons pris comme exemple dans notre travail de thèse. Cette approche est définie comme l'introduction délibérée de matériel génétique dans les cellules humaines dans le but de pallier le manque d'une protéine en apportant le gène responsable de sa synthèse ou de corriger une mutation.

Ce travail bibliographique a pour but de présenter la médecine personnalisée, son évolution au cours des dernières années, les biotechnologies utilisées en thérapie génique et les perspectives de ce type de traitement. Ce rapport traitera aussi des questions éthiques et des enjeux économiques de la médecine personnalisée.

ABSTRACT

Title: Biotechnology and Personalized Medicine: Gene Therapy as an example

Author: Yassine Mohamed

Key words: Personalized medicine - Biotechnology - Pharmacogenomics - Gene therapy

The concept of personalized medicine aims to adapt drug treatments to each patient in order to increase their effectiveness while reducing their undesirable effects. This concept, which dates back several years but of recent application, presents great advantages and sacred profits especially in oncology.

Indeed, and thanks to advances in biotechnology in the biomedical and pharmaceutical fields, several therapeutic innovations have been put in place including the gene therapy that we have taken as an example in our thesis work. The latter has been well described in our work and is defined as the deliberate introduction of genetic material into human somatic cells to compensate for the lack of a protein by bringing the gene responsible for its synthesis or correcting a mutation.

The aim of our bibliographic work is to present personalized medicine, its evolution in recent years, the biotechnologies used in gene therapy, and the therapeutic perspectives of this type of treatment. Along with this it addresses the ethical and economic aspects to meet the challenges of this new medical approach.

المخلص

العنوان:التكنولوجيا الحيوية والطب المشخصن (الشخصي) : العلاج الجيني كمثال

المؤلف: ياسين محمد

الكلمات الأساسية: الطب المشخصن (الشخصي) – التكنولوجيا الحيوية – الدواء الجينومي – العلاج الجيني

يهدف مفهوم الطب المشخصن (الشخصي) الأخذ بعين الاعتبار، النوعية الجزيئية والبيولوجية للمريض ومرضه، من أجل اقتراح علاج مناسب لكل مريض على حدى، وذلك بهدف زيادة فعاليته وتقليل آثاره الجانبية، لأن كل شخص فريد بخصائصه النوعية. وقد ظهر هذا المفهوم قبل سنوات عديدة، لكن تطبيقه حديث، بحيث يقدم مصالح ومنافع في ميادين شتى خاصة في علاج الأورام (الأنكولوجيا).

و تعيش هذه الابتكارات العلاجية طفرة نوعية بفضل تقدم التكنولوجيا الحيوية في مجال الطب البيولوجي والدوائي، ويمثل العلاج الجيني الاختراع الذي يقدم أكثر المنافع في هذا المجال. تطرقنا في عملنا هذا بشكل عميق للمعالجة الجينية التي تعرف بإدخال متعمد للجينات داخل الخلية، بهدف تعويض نقص بروتين عن طريق تعديل الجين المسؤول عن تخليقها أو عن طريق تصحيح طفرة.

ويتوخى عملنا، تقديم الطب المشخصن وتطوره في السنوات الأخيرة، والتكنولوجيا الحيوية المستعملة في المعالجة الجينية، والأمل المنشود فيها لعلاج مختلف الاعتلالات. كما تطرقنا أيضا الى مناقشة الجوانب الأخلاقية والاقتصادية، لمواجهة تحدي هذه المقاربة الطبية الجديدة.



*Bibliographie
et
webographie*

- [1] EMA, Personalised medicine towards the market and patients: the approval process. European Medicines Agency's perspective *MAI 2011*. Disponible en ligne sur : < http://ec.europa.eu/research/health/pdf/event06/13052011/marisa-papaluca-amati_en.pdf > (Consulté le 20 mars 2017)
- [2] FDA. Personalized medicine. FDA's unique role and responsibilities in personalized medicine. October 2013. Disponible en ligne sur : < <https://www.fda.gov/scienceresearch/specialtopics/personalizedmedicine/default.htm> > (Consulté le 20 mars 2017)
- [3] GONCALVES A, M.J., EISINGER F, BERTUCCI F, Médecine personnalisée et cancer du sein : médecine anticipatoire, évaluation pronostique et ciblage thérapeutique. *Bull Cancer* n°12, 2013. 100: p. 1295-1310.
- [4] President's Council of Advisors on Science and Technology (PCAST) « Priorities for Personalized Medicine » Septembre 2008. Disponible en ligne sur : < http://www.whitehouse.gov/files/documents/ostp/PCAST/pcast_report_v2.pdf> (Consulté le 16 mars 2017)
- [5] JT, J., New Era of personalized medicine: a 10 years anniversary. *Oncologist*, 2009. 14: p. 557-558. *Physicians' Desk Reference*, 54th Edition, Thompson Corporation, Toronto, 2000
- [6] Pr Axel KAHN, médecin généticien, ancien président de l'Université Paris-Descartes, membre de l'Académie des sciences et du Conseil scientifique de l'OPECST. Rapport de sénat de la république française, janvier 2014, page 17.
- [7] Biologiste moléculaire, fondateur de la Génopole de Marseille ; audition des rapporteurs du 12 février 2013. Rapport de sénat de la république française, janvier 2014 page 17.
- [8] M. Didier TABUTEAU, conseiller d'État, responsable de la chaire santé de l'Institut d'études politiques (IEP). Rapport de sénat de la république française, janvier 2014 page 18.
- [9] Pr Agnès BUZYN, hématologue, présidente de l'Institut National du Cancer (INca). Rapport de sénat de la république française, janvier 2014, page 18.

- [10] Sociologue, directrice de recherche au CNRS, Centre de recherche médecine, sciences, santé, santé mentale, société (CERMES3) – CNRS UMR8211/Université Paris Descartes/EHESS/Inserm U988.
- [11] Rapport de la Commission « Innovation 2030 » ambition numéro 5. Disponible en ligne http://www.genome2035.gov/files/documents/ostp/PCAST/pcast_report_v2.pdf (Consulté le 02 mars 2017).
- [12] Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. *Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients*. Journal of the American Medicam Association, 2014, 279 : 1200-1205
- [13] Spear B, Heath-Chiozzi M, Huff J. *Clinical applications of pharmacogenetics*. Trends in Molecular Medicine, 2005, vol.7, 5 : 201-204
- [14] Jørgensen JT. *New Era of personalized medicine: a 10 years anniversary*. Oncologist, 2009, 14 : 557-558
- [15] Afssaps : *Cahier d'acteur : Les biomarqueurs, les produits de santé et l'Afssaps*. 2011. Disponible en ligne sur : <[http://www.afssaps.fr/Activites/Biomarqueurs/Biomarqueurs-et-produits-de-sante/\(offset\)/0](http://www.afssaps.fr/Activites/Biomarqueurs/Biomarqueurs-et-produits-de-sante/(offset)/0)> (Consulté le 24 janvier 2017)
- [16] Afssaps : *Cahier d'acteur : Les biomarqueurs, les produits de santé et l'Afssaps*. 2011. Disponible en ligne sur : <[http://www.afssaps.fr/Activites/Biomarqueurs/Biomarqueurs-et-produits-de-sante/\(offset\)/0](http://www.afssaps.fr/Activites/Biomarqueurs/Biomarqueurs-et-produits-de-sante/(offset)/0)> (Consulté le 24 janvier 2017)
- [17] ICH E15 « definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomic, pharmacogenetic,genomic data and sample coding categories” step 4 approuvée le 1er novembre 2016
- [18] Eurasanté. *Les biomarqueurs dans le développement du médicament*. Etude 2005.Disponible en ligne sur : http://www.eurasante.com/fileadmin/web/pdfpublications/Les-biomarqueurs-dans-le-developpement-du-medicament_Eurasan.pdf (Consulté le 25/01/2017)

- [19] Sérusclat F. *Génomique et informatique : l'impact sur les thérapies et sur l'industrie pharmaceutique*. Rapport 20 (1999-2000) - Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Disponible en ligne sur : < <http://www.senat.fr/rap/o99-020/o99-020.html>> (Consulté le 31/01/2017)
- [20] Wieczorek SJ, Tsongali GJ. Pharmacogenomics: will it change the field of medicine? *Clinica Chimica Acta*, 2001, vol.308, 1-2: 1-8
- [21] Katz Russel. Biomarkers and surrogate markers : an FDA perspective. 2004. *NeuroRX*, vol 1, 189-195;
- [22] Gueyffier F, Dib M, Boissel JP. Biomarqueurs – Utilisation au cours du développement et pour l'enregistrement des médicaments, *Rencontres Nationales de Pharmacologie Clinique*, N°16, 2001, vol 56 : 355-361
- [23] “Biomarkers for drug discovery and development”, IBC’s 3rd International Conference, les 6-7 décembre 2005, Amsterdam, Pays-Bas; “Biomarkers Europe 2005 : Capitalising on developments in oncology and CNS”, Marcusevans Life sciences series, 23-24 Juin 2005, Londres, Angleterre ; “Biomarkers 2005 : Identifying, validating and applying improved and predictive biomarkers of pharmaceutical efficacy & safety”, Euroforum - International conferences, courses and seminars, 11- 12 avril 2005, Munich, Allemagne; ...
- [24] Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B et al, Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in her2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 2005, 353 : 1659-1672
- [25] Holmes MV, Shah T, Vickery C, Smeeth L, Hingorani AD, et al. Fulfilling the promise of personalized Medicine ? Systematic review and Field synopsis of pharmacogenetic studies. *PloS*
- [26] Hetherington S, Hugues AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL et al. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet*, 2002, 359 : 1121-1122

- [27] Symonds W, Cutrell A, Edwards M, Steel H, Spreen B et al. Risk factor analysis of hypersensitivity reactions to abacavir. *Clinical Therapeutics*, 2002, 24 : 565-573
- [28] Bodin L, Verstuyft C, Tregouet DA, Robert A, Dubert L, et al. Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood* 2005, 106 : 135-140
- [29] Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS et al. *Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose*. *New England Journal of Medicine* 2005, 352 : 2285-2293
- [30] Eichelbaum M, Kroemer HK, Fromm MF. Impact of P450 genetic polymorphism on the first-pass extraction of cardiovascular and neuroactive drugs. *Advanced Drug Delivery Review*, 1997, 27 : 171-199
- [31] Vandel P, Haffen E, Vandel S, Bonin B, Nezelof S et al. *Drug extrapyramidal side effects. CYP2D6 genotypes and phenotypes*. *European Journal of Clinical Pharmacology* 1999, 55 : 659-665
- [32] Pui CH, Relling MV, Evans WE. Role of pharmacogenomics and pharmacodynamics in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2002, 15 : 741-756
- [33] Andersson T, Flockhart DA, Goldstein DB, Huang SM, Kroetz DL et al. *Drug-metabolizing enzymes: evidence for clinical utility of pharmacogenomic tests*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2005, 78 : 559-581
- [34] INSERM, *Tests génétiques : questions scientifiques, médicales et sociétales*, 2006, disponible en ligne sur :
<http://www.inserm.fr/content/download/7151/55238/file/_tests+g%C3%A9n%C3%A9tiques.pdf> (Consulté le 25/01/2017)
- [35] Analyse Bionest Partners, Pharma 2005, Université Paris V, CNRS

- [36] BGI PGx. Biomarker discovery solutions. 2011. Disponible en ligne sur : < <http://archive.genomeconference.org/File/drug/biomarker-discovery-solution-of-BGI.pdf> > (Consulté le 20/03/2017)
- [37] Étude Leem – Bionest « *Le biomarqueur comme outil de diagnostic compagnon de produits thérapeutiques* ». Disponible en ligne sur <<http://www.ariis.fr/2011/02/11/etat-des-lieux-des-biomarqueurs-etude-2010>> (Consulté le 25/03/2017)
- [38] Professeur de biochimie ; rapport « Techniques d'analyse du génome et de son expression : applications médicales » (Académie nationale de médecine). Disponible en ligne sur : < <http://www.senat.fr/notice-rapport/2013/r13-306-notice.html>> (Consulté le 09/03/2017)
- [39] The future treatment in breast cancer patient: the personalized medicine M. Campone* figure 6: les outils omics. Disponible sur: < <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1109653>> (Consulté le 019/03/2017) .
- [40] D'après Patrick Winkler, chef du laboratoire de séquençage du Génoscope (Institut de génomique du CEA) ; Intervention lors de la réunion conjointe Académie des sciences-Académie nationale de médecine le 12 novembre 2013 « génome personnel ».
- [41] Séquençage de l'ADN : les dernières (r)évolutions. <http://www.bulletins-electroniques.com/actualites/69283.htm>. (Consulté le 09/03/2017).
- [42] EVOLUTION DES METHODES DE GENOTYPAGE, Published in JULY 2011. Matthieu Falque. Disponible en ligne sur : < https://www.researchgate.net/figure/230690734_fig4_Figure-4-Principe-du-pyrosequencing> (Consulté le 23/03/2017).
- [43] Deamer, David; Akeson, Mark; Branton, Daniel (2016-05-01). "Three decades of nanopore sequencing". *Nature Biotechnology*. 34 (5): 518–524. doi:10.1038/nbt.3423. ISSN 1087-0156.

- [44] Benner, S. et al. Sequence-specific detection of individual DNA polymerase complexes in real time using a nanopore. *Nat. Nanotechnol.* 2, 718–724 (2007).
- [45] Dr Laurent Alexandre Président de DNAVision, audition publique du 27 mars 2013. Disponible en ligne sur : < <http://www.senat.fr/notice-rapport/2013/r13-306-notice.html>> (Consulté le 09/03/2017)
- [46] Pr Dominique Stoppa-Lyonnet Chef du service de génétique de l'Institut Curie, professeur de génétique médicale à l'Université Paris-Descartes, audition des rapporteurs du 5 février 2013. Disponible en ligne sur : < <http://www.senat.fr/notice-rapport/2013/r13-306-notice.html>> (Consulté le 09/03/2017)
- [47] Pr Florent Soubrier Responsable du département de génétique du groupe hospitalier de La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Audition publique du 27 mars 2013. Disponible en ligne sur : < <http://www.senat.fr/notice-rapport/2013/r13-306-notice.html>> (Consulté le 09/03/2017)
- [48] Food and Drug Administration. Drug Diagnostic Co-Development Concept Paper.FDA, 2005. Disponible en ligne sur < [http://www.fda.gov/downloads/Drugs/n ScienceResearch /ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm116689.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/n%20ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm116689.pdf) > (Consulté le 09/03/2017)
- [49] « Introduction aux Puces à ADN » [archive], sur transcriptome.ens.fr, 2005
- [50] Roche. Caractéristiques techniques de la puce AmpliChip CYP 450. Disponible en Ligne sur : < <http://molecular.roche.com/assays/Pages/AmpliChipCYP450Test.aspx> > (Consulté le 09/03/2017)
- [51] Pr Bertrand Jordan Biologiste moléculaire, fondateur de la Génopole de Marseille - Audition des rapporteurs du 12 février 2013. Disponible en ligne sur : < <http://www.senat.fr/notice-rapport/2013/r13-306-notice.html>> (Consulté le 09/03/2017)

- [52] Gas Chromatography and mass spectrometry : a practical guide, Kitson, Larsen & McEwen, academic press, 1996
- [53] <http://www.crdp-strasbourg.fr>, « Les biotechnologies » p7-20 (2. Le développement des biotechnologies : quelques repères historiques), consulté le 10 février 2017.
- [54] <http://fr.academic.ru>, consulté le 10 février 2017.
- [55] <http://commons.wikimedia.org>, consulté le 10 février 2017.
- [56] GILGENKRANTZ S, « MEDECINE/SCIENCES » 2007 ; 23 : 221-2 à propos du livre « Thérapie génique : espoir ou illusion ? », JORDAN B, consulté le 25 février 2017.
- [57] <http://www.mon-genome.com>, consulté le 26 février 2017.
- [58] MAMMETTE A, « Virologie médicale », collection Azay, presses universitaires de lyon 2002, tableau p235, consulté le 2 mars 2017.
- [59] <http://www.genethique.org>, « Thérapie génique », consulté le 8 janvier 201è.
- [60] <http://www.ethique.inserm.fr>, SERGENT J-A, « Thérapie génique : historique et législation », 2004, consulté le 8 janvier 2017.
- [61] <http://www.techno-science.net>
- [62] <http://www.genethique.org>, « La thérapie génique qu'est-ce que c'est ? Comment ça marche ? », consulté le 12 janvier 2017.
- [63] <http://www.er.uqam.cam>, consulté le 12 janvier 2017.
- [64] <http://www.reflexiences.com>, NICOLLE J, « Les deux grandes formes de thérapie génique : germinale et somatique », consulté le 12 janvier 2017.
- [65] SWYNGHEDAUF B, SILVESTRE J-S, « Biologie et génétique moléculaires : aide-mémoire », Paris, Dunod, DL 2008, troisième édition, p105 et p120, consulté le 13 janvier 2017.
- [66] <http://www.fondation-alzheimer.org>, « GWAS », consulté le 28 janvier 2017.

- [67] <http://www.techno-science.net>, « Biotechnologie », consulté le 2 février 2017.
- [68] FEINGOLD J, FELLOUS M, SOLIGNAC M, « Principes de génétique humaine », Paris, Hermann, 1998, consulté le 2 mars 2017.
- [69] NICOLLE J, <http://www.reflexiences.com>, « Les modes de traitements », consulté le 5 mars 2017.
- [70] <http://www.universalis.fr>, « Ce que doit être un vecteur », consulté le 5 mars 2011.
- [71] <http://www.chups.jussieu.fr>, consulté le 6 mars 2017.
- [72] <http://www.public-health.uiowa.edu>, consulté le 6 mars 2017.
- [73] ETIENNE J, CLAUSER E, HOUSSET E, ROINGEARD E, « Biochimie génétique, Biologie moléculaire », Masson, neuvième édition, consulté le 10 mars 2017.
- [74] <http://www.afm-telethon.fr>, « Cinq étapes pour fabriquer un vecteur », consulté le 2 mars 2017.
- [75] <http://www.afm-téléthon.fr>, DUPUY-MAURY F, GRIFFITH G, « Le point sur la construction d'un vecteur viral contenant un gène thérapeutique », consulté le 16 mars 2017.
- [76] <http://www.unilim.fr>, consulté le 16 mars 2017.
- [77] Docteur COULON J, définition extraite du cours d'UV13 intitulé Bioréacteurs et fermentation », consulté le 17 mars 2017.
- [78] <http://agora.qc.ca>, « Thérapie génique », consulté le 30 mars 2017.
- [79] Docteur NAMY O, <http://www.futura-sciences.com>, « Thérapie génique : les raisons d'un échec », consulté le 2 avril 2017.
- [80] HACKETT C.S., GEURTS A.M., HACKETT P.B. (2007) Predicting preferential DNA vector insertion sites: implications for functional genomics and gene therapy, *Genome Biology*, 8, (supplément I), 1-17

- [81] LI C., LI L., KEATES A.C. (2012) Targetting cancer gene therapy with magnetic nanoparticles, *Oncotarget*, 3, (4), 365-370
- [82] ZHENG et al. (2012) Preparation and characterization of magnetic gene vectors for targeting gene delivery, *Applied Surface Science*, 259, 201-207
- [83] WANG C. et al. (2012) Dual-purpose magnetic micelles for MRI and gene delivery, *Journal of Controlled Release*, 163, 82-92
- [84] MANNELL H. et al. (2012) Site directed vascular gene delivery in vivo by ultrasonic destruction of magnetic nanoparticle coated microbubbles, *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology and Medecine*, 8, 1309-1318
- [85] PLANK C., ZELPHATI O., MYKHAYLYK O. (2011) Magnetically enhanced nucleic acid delivery. Ten years of magnetofection—Progress and prospects, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 1300-1331
- [86] SKIPPER A.A., ANDERSEN P.R., SHARMA N., MIKKELSEN J.G. (2013) DNA transposon-based gene vehicles - scenes from a evolutionary drive, *Journal of Biomedical Science*, 20, 92-113
- [87] JUNG S. et al. (2013) Sleeping Beauty transposon system harboring HRAS, c-Myc and shp53 induces sarcomatoid carcinomas in mouse skin, *Oncology Reports*, 29, 1293-1298
- [88] FIELD A-C. et al. (2013) Comparison of lentiviral dans Sleeping Beauty mediated ab T cell receptor gene transfer, *Plos One*, 8, (6), 1-9
- [89] PESSACH I. M., NOTARANGELO L. D. (2011) Gene therapy for primary immunodeficiencies : looking ahead, towards gene correction, *Journal of allergy and clinical immunology*, 127, (6), 1344-1350
- [90] NI X., CASTANARES M., MUKHERJEE A., LUPOLD S.E. (2011) Nucleic acid aptamers: clinical applications and promising new horizons, *Current Medicinal Chemistry*, 18, (27), 4206-4214

- [91] KOTULA J. W. et al. (2012) Aptamer-mediated delivery of splice-switching oligonucleotides to nuclei of cancer cells, *Nucleic Acid Therapeutics*, 22, (3), 187-195
- [92] RICHTER C., CHANG J.T., FINERAN P.C. (2012) Function and regulation of Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) / CRISPR Associated (Cas) systems, *Viruses*, 4, 2291-2311
- [93] BONDY-DENOMY J., DAVIDSON A.R. (2014) To acquire or resist: the complex biological effects of CRISPR-Cas systems, *Cell*, 22, (4), 218-225
- [94] Un système de modification génique très ciblé, CRISPR/Cas9, bouleverse la recherche, Publié le 1 septembre 2016 par François Lombard. Disponible sur le site : (<https://experimental.unige.ch>), consulté le 26 mars 2017.
- [95] Inf°OGM - Veille citoyenne sur les OGM > Actualités > n°131, novembre / décembre 2014 > Crispr / Cas9 : des nouveaux ciseaux à ADN. Vendredi 7 novembre 2014, par Eric MEUNIER.
- [96] Adams CP, Brantner VV. Estimating the cost of new drug development: Is it really 802 million dollars? *Health Affairs*, 2006, Vol 25, No 2 :420-428
- [97] PhRMA. Pharmaceutical Industry 2011 Profile. 2011. Disponible en ligne sur : < http://www.phrma.org/sites/default/files/159/phrma_profile_2011_final.pdf> (Consulté le 30/02/2017).
- [98] Etude Eurostaf. Les stratégies de croissance des groupes pharmaceutiques mondiaux à l'horizon 2015. 2010
- [99] Burrill and Company. The Innovation Gap. Biotech 2008 : A 20/20 vision for 2020. Burrill & Company, 2008, disponible en ligne sur < http://www.baybio.org/pdf/Breakfast_Plenary_2020.pdf > (Consulté le 30/03/2017)

- [100] DiMasi JA, Hansen RW and Grabowski, H.G. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *Journal of Health Economics*, 2003, Vol 22, No 2 : 151-185
- [101] Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates ? *Nature Reviews Drug Discovery* , 2004, 3 : 711-716
- [102] Weinmann N. R&D des compagnies pharmaceutiques : ruptures et mutations. Ministère de l'économie, de l'industrie et de l'emploi, 2008, disponible en ligne sur http://www.industrie.gouv.fr/biblioth/docu/dossiers/sect/etude_pharma.pdf <
- [103] Pricewaterhouse Coopers. Personalized Medicine : the Emerging Pharmacogenomics. PWC, Delaware, 2005. Disponible en ligne depuis < www.pwc.com>
- [104] Quintiles Transnational. Advancing drug development through Pharmacogenomics. Quintiles Transnational Corp., North Carolina, 2004. Disponible en ligne sur < <http://www.quintiles.com/elements/media/white-papers/advancing-drugdevelopment-pharmacogenomics.pdf>> (Consulté le 30/02/2017)
- [105] Food and Drug Administration. Drug Diagnostic Co-Development Concept Paper. FDA, 2005. Disponible en ligne sur < <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm116689.pdf> > (Consulté le 29/02/2017)
- [106] Trusheim MR, Berndt ER, Douglas FL. Stratified medicine : strategic and economic implications of combining drugs and clinical biomarkers. *Nature Review Drug Discovery*, 2007, 6 : 287-293
- [107] Etude Merrill Lynch. No near-term fix for pharma's pipeline gap. 2007
- [108] Cook J, Hunter G, Vernon JA. The Future Costs, Risks and rewards of Drug Development. *Pharmacoeconomics* 2009, 27(5) : 355-363

- [109] German National Ethic Council. Biobanks for research : opinion. National Ethikrat, Berlin, 2004.
- [110] Parlement Européen et Conseil. Directive 98/44/CE relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques. 1998. Disponible en ligne sur : < <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1998:213:0013:0021:FR:PDF> > (Consulté le 31/01/2017)
- [111] Institut Curie. Revirement de situation à l'office européen des brevets. 2008. Disponible en ligne sur : < <http://curie.fr/sites/default/files/decision-OEB-Myriag-Genetics-predisposition-sein.pdf> > (Consulté le 31/01/2017)
- [112] Jensen K, Murray F. Intellectual property landscape of the human genome. Science, 2005, vol 310 : 239-240
- [113] Netzer C et Biller-Andorno N. Pharmacogenetic Testing, Informed Consent and the Problem of Secondary Information. Bioethics, 2004, vol 18, issue 4 : 344-360
- [114] Buchanan A , Robertson JA, Brody B, Kahn J and McPherson E. Pharmacogenetic challenges for the health care system. Health Affairs 2002, 21 : 155-167
- [115] Code Civil. Article 16-13 relatif à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne et de l'identification d'une personne par ses empreintes génétiques. Disponible en ligne sur : http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do;jsessionid=7AFDDA3F75A2504D344BBA6771B08DC1.tpdjo11v_1?idSectionTA=LEGISCTA000006136513&cidTexte=LEGITEXT000006070721&dateTexte=20050630 (Consulté le 31/12/2016)

- [116] Code de la Santé Publique en vigueur au 1er Février 2012. Disponible sur < http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do;jsessionid=76FD397ABD57103B1B473A0A851CCC5F.tpdjo06v_3?cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20110301 > (Consulté le 01/01/2017)
- [117] Code du Travail. Article L 122-45 relatif à la discrimination. Disponible en ligne sur : < <http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20110301> > (Consulté le 31/01/2017)
- [118] Organisation de Coopération et de Développement Economique. Lignes directrices de l'OCDE sur les biobanques et bases de données de recherche en génétique humaine. 2009. Disponible en ligne sur : < <http://www.oecd.org/dataoecd/41/1/44054924.pdf> > (Consulté le 01/03/2017).
- [119] BGI PGx. *Biomarker discovery solutions*. 2011. Disponible en ligne sur : < <http://archive.genomeconference.org/File/drug/biomarker-discovery-solution-of-BGI.pdf> > (Consulté le 20/02/2017).
- [120] Personalized Medicine Coalition. *The Case for Personalized Medicine*. 2011. Disponible en ligne sur : < <http://www.personalizedmedicinecoalition.org/about/about-personalized-medicine/the-case-for-personalized-medicine> > (Consulté le 01/03/2017).
- [121] DIRECTIVE 98/44/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 6 juillet 1998 relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques. Disponible en ligne sur : < http://www.wipo.int/edocs/mdocs/tk/fr/wipo_grtkf_ic_1/wipo_grtkf_ic_1_8-annex1.pdf > (Consulté le 30/03/2017).

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- < بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
 - < وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه .
 - < وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشر في جا علاصحة مريض هدي في الأول .
 - < وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
 - < وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
 - < وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
 - < وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
 - < وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
 - < وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
 - < بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بالله .
- والله على ما أقول شهيد .

جامعة محمد الخامس - الرباط

كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 133

سنة: 2017

التكنولوجيا الحيوية والطب المشخصن (الشخصي): العلاج الجيني كمثال

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

السيد: محمد ياسين

المزود في: 16 مارس 1992 بالقصر الكبير

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: الطب المشخصن (الشخصي) - التكنولوجيا الحيوية -
الدواء الجينومي - العلاج الجيني.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة

السيدة: نعيمة الحافضي

أستاذة في طب الأطفال

مشرف

السيد: عز الدين إبراهيمي

أستاذ في التكنولوجيا الحيوية

أعضاء

السيد: رشيد الجودي

أستاذ في علم السموم

السيدة: أمال حسني

أستاذ في طب الأطفال