

Biothérapies : des médicaments comme les autres ?

Gilles Paintaud¹, Dominique Tonelli², Eric Postaire³ et les participants de la table ronde n° 5 de Giens XXII*

1 Université François Rabelais Tours, EA 3853, France ; CHRU de Tours, Pharmacologie, Tours, France

2 BMS, Rueil Malmaison, France

3 Ministère de l'Éducation Nationale, de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur, France ; Inserm, Paris, France

Mots clés :

biothérapies ;
biomédicaments ;
anticorps monoclonaux ;
thérapie cellulaire ;
thérapie génique

Résumé – Le terme de « biothérapies » comprend les biomédicaments, macromolécules créées grâce aux biotechnologies, et les thérapies cellulaire et génique. Dans le cas des anticorps monoclonaux, le choix de la première dose à administrer à l'Homme est difficile car il n'existe pas toujours de modèle animal pertinent. Au moment de l'autorisation de mise sur le marché, leur mécanisme d'action est insuffisamment connu, ce qui nécessite des suivis de cohortes. La prédisposition génétique et la pharmacocinétique sont des sources de variabilité interindividuelle. Certains effets indésirables sont prévisibles, mais d'autres sont inattendus voire paradoxaux. Les thérapies cellulaire et génique *ex vivo* consistent en la manipulation de cellules prélevées et leur réinjection en situation auto- ou allogénique. Il est difficile de leur appliquer la méthodologie du développement des médicaments. La thérapie génique *in vivo* repose sur l'utilisation de vecteurs ou de macromolécules qui peuvent donc être considérés comme des biomédicaments.

1. Introduction

Le but de la table ronde n° 5 de Giens 2006 était de répondre à la question suivante : les « biothérapies » peuvent-elles être considérées comme des médicaments comme les autres ? Ce terme de « biothérapies » est en fait souvent utilisé à la fois pour les biomédicaments, pour la thérapie cellulaire et pour la thérapie génique.

- Les biomédicaments se différencient des médicaments « classiques », qui sont de petites molécules synthétisées chimiquement ou obtenues par extraction le plus souvent d'espèces végétales. Ce sont des macromolécules complexes, créées grâce aux biotechnologies par manipulation génétique d'organismes vivants.^[1] Par extension cette terminologie est également appliquée à certains produits extractifs (en dehors des végétaux) hautement purifiés (hGH [human Growth Hormone], FSH [Follicule Stimulating Hormone], LH [Luteinizing Hormone], insuline, etc.). Le cas de ces molécules extractives n'a cependant pas été abordé lors de la table ronde. Contrairement aux thérapies biologiques, les biomédicaments sont des molécules inertes.
- La thérapie cellulaire utilisant des cellules souches hématopoïétiques (CSH), des lymphocytes T ou des cellules dendri-

tiques se différencie des médicaments car elle utilise des produits « sur mesure », créés pour un patient donné, et pour lesquels peu d'industriels sont actuellement impliqués. Pour les autres produits de thérapie cellulaires et de thérapie génique *ex vivo*, impliquant des structures industrielles, l'évaluation de la qualité du produit est basée sur la reproductibilité de la méthodologie de fabrication. Comme pour les médicaments, l'Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) a pour mission d'en encadrer la qualité, la reproductibilité, la sécurité et l'efficacité chez l'Homme.

Lors des réunions de préparation de la table ronde, il a été décidé :

- d'une part, de se focaliser sur les anticorps thérapeutiques et les protéines de fusion, qui sont des biomédicaments posant des problèmes spécifiques. En effet, ce type de biomédicaments est sur le marché depuis plusieurs années et de très nombreux anticorps monoclonaux et protéines de fusion sont actuellement en développement. Un premier bilan est donc possible et nécessaire ;
- et d'autre part de discuter la thérapie cellulaire et la thérapie génique afin d'évaluer les difficultés rencontrées ainsi que la

* Pour la liste des participants, voir en fin d'article.

possibilité d'appliquer le même type de développement clinique que pour les médicaments.

2. Anticorps thérapeutiques et protéines de fusion

2.1. Études pré-cliniques

L'exemple du TGN1412 (de la société TeGenero), qui a entraîné des effets indésirables graves chez des sujets sains lors d'une étude de phase I,^[2] a été discuté. L'audit réalisé par l'agence du médicament du Royaume Uni n'a pas mis en évidence de défaut de la procédure pré-clinique.^[3] L'espèce animale jugée la plus pertinente a été le singe cynomolgus car son antigène CD28 est proche sinon identique à celui de l'Homme.^[4] Très peu de singes ont été étudiés (2-3 de chaque sexe), mais il s'agit d'une procédure classique pour ce type d'étude. Un plus grand nombre d'animaux devrait cependant être habituellement étudié car ces singes présentent, comme l'Homme, des polymorphismes génétiques. De plus, la pertinence du modèle animal aurait pu être testée par une étude de biologie cellulaire sur cellules de singe. Enfin, cet anticorps est un super-agoniste, ce qui le différencie de tous les anticorps actuellement sur le marché, conçus pour inhiber leur cible ou induire des effets cytolytiques. La connaissance sur les actions biologiques du TGN1412 était donc peut-être insuffisante.

Les anticorps sont des molécules bivalentes : leur partie variable est responsable d'une fixation sur l'antigène cible mais la partie Fc a également une action par le recrutement des effecteurs de l'immunité. Il n'existe donc pas forcément de modèles animaux pertinents^[5] car :

- il existe une différence phylogénétique entre l'Homme et les singes, notamment avec les cercopithécidés tels que le singe cynomolgus, qui sont fréquemment étudiés. Ces différences doivent inciter à la plus grande prudence ;
- les modèles murins transgéniques ne peuvent pas avoir, en plus de l'antigène cible humain, la forme humaine de tous les effecteurs de l'immunité (fractions du complément, récepteurs présents à la surface des cellules cytotoxiques, etc.).

Il faut donc adapter le mieux possible les études pré-cliniques aux caractéristiques supposées de l'anticorps thérapeutique. Par ailleurs, il faudrait réaliser plus systématiquement des études de toxicologie chronique, compte tenu du fréquent emploi au long cours des anticorps thérapeutiques.

2.2. Phase I

En raison de la pertinence limitée des modèles animaux, le choix de la première dose à administrer à l'Homme est difficile.

Il n'existe pas de recommandations internationales sur ce point bien que celui-ci ait fait l'objet d'une note explicative de la FDA (Food and Drug Administration).^[6] Lors de la table ronde, le document le plus récent était une recommandation de l'Afssaps de septembre 2006 décrivant, chez le volontaire, le choix de la première dose, la méthodologie de progression de dose et le protocole d'administration aux volontaires.^[7] Ce texte rappelle que « La première dose administrée (...) ne doit entraîner aucun effet toxique détectable à court terme ». La première dose peut être calculée à partir de la dose sans effet toxique (No Observed Adverse Effect Level ou NOAEL) ou à partir de la dose sans aucun effet (No Observed Effect Level ou NOEL), mesurée chez l'espèce pertinente en terme de métabolisme ou, pour les biomédicaments, en terme d'activité pharmacologique. La première dose à administrer chez l'Homme est la NOAEL ou la NOEL, corrigée par un facteur allométrique pour passer de l'animal à l'Homme puis divisée par un facteur de sécurité (≥ 10). Dans le cas des biomédicaments, la note de l'Afssaps recommande de se baser sur la NOEL et non la NOAEL.^[7]

Si l'anticorps monoclonal est testé en phase I d'emblée chez le malade, il est nécessaire de sélectionner les patients à partir de l'expression de la cible thérapeutique (par exemple, l'efficacité du trastuzumab nécessite la surexpression du récepteur HER-2). Néanmoins, le terme de « thérapeutiques ciblées » parfois utilisé pour les anticorps monoclonaux thérapeutiques n'a pas de fondement scientifique. Ces biomédicaments peuvent avoir plusieurs types d'effets pharmacodynamiques et différents effets indésirables, ne serait-ce qu'en raison de la présence de l'antigène cible sur différents tissus. Ils ne constituent donc pas une thérapeutique plus ciblée que les médicaments conventionnels. De plus, pour les nouveaux anticorps thérapeutiques ayant une affinité pour une cible connue (un nouvel anti-TNF-alpha [TNF = Tumor Necrosis Factor] ou un nouvel anti-CD20), il ne faut pas raisonner comme pour un « me-too drug » : il faut les considérer comme de nouveaux biomédicaments car leurs effets peuvent être très différents.

Compte tenu des difficultés du choix de la dose, une expertise scientifique complémentaire, notamment immunologique, est nécessaire pour identifier les risques avant l'administration chez l'Homme et aider au choix de la première dose à administrer. Il est par ailleurs souhaitable d'allonger la durée de la phase I afin : (i) d'augmenter progressivement les doses (en commençant parfois par des « microdoses ») ; (ii) d'évaluer une durée d'exposition plus élevée pour chaque palier de dose ; (iii) d'étudier les patients en détail (sur le plan pharmacocinétique bien sûr mais aussi en terme de biomarqueurs) ; (iv) d'étudier les administrations sur le long terme en raison de la longue demi-vie des anticorps thérapeutiques (de 2 à 3 semaines habituellement) et de la future administration chronique de l'anticorps, qui est de plus en plus fréquente.

L'innocuité à court terme n'étant pas prédictive de l'innocuité à long terme.

Dans le cas des biomédicaments anticancéreux, il convient de définir la Dose Biologique Optimale et non, comme pour les cytotoxiques classiques, la Dose Maximale Tolérée.

Depuis la table ronde, les recommandations d'un groupe d'experts sur les essais de phase I ont été mises en ligne par le ministère de la santé du Royaume-Uni.^[8]

2.3. Développement clinique et autorisation de mise sur le marché

Au moment de la délivrance de l'AMM (autorisation de mise sur le marché), la connaissance de l'anticorps thérapeutique est souvent incomplète car le développement a généralement été rapide (notamment pour les pathologies graves), le mécanisme d'action n'est encore que partiellement compris (de par la nouveauté de la cible) et les effets immunologiques (liées en particulier à sa portion Fc) sont peu ou mal connus. Pour cette raison : (i) l'optimisation de son administration (dose et schéma d'administration) et les éventuelles associations médicamenteuses nécessitent des essais complémentaires ; (ii) la ligne thérapeutique peut également changer et par exemple passer, dans le cas du traitement du cancer, de la troisième ligne de traitement à la seconde puis à la première ligne, voire au traitement adjuvant préventif de rechute ; (iii) et il est nécessaire de réanalyser la valeur de la cible. C'est par exemple le cas du cetuximab, qui est indiqué dans le traitement des tumeurs surexprimant EGFR (epidermal growth factor receptor) alors que des études ont montré que cette surexpression pourrait ne pas être nécessaire pour son efficacité.^[9]

2.4. Évaluation par la Commission de la Transparence de la Haute Autorité en Santé (HAS)

Lors de l'évaluation par la Commission de la Transparence et compte tenu du développement souvent rapide du biomédicament, il peut être difficile de justifier la nature du comparateur (souvent absent ou obsolète) et de cerner la taille de la population à traiter. En effet, les données épidémiologiques nécessaires sont fréquemment manquantes et peuvent être difficiles à obtenir, notamment si elles requièrent des études de biologie moléculaire (expression/surexpression d'une cible dans une population de patients) ou s'il s'agit de déterminer, par exemple, le nombre de patients qui ne peut pas être traité par chimiothérapie.

2.5. Phase IV

Pour les raisons listées plus haut et pour d'autres raisons, telles que l'existence d'autres pathologies et donc de thérapeu-

tiques concomitantes ou encore le suivi moins standardisé des patients « hors-essai », il y aura une différence entre la population des essais cliniques et les patients qui seront réellement traités par l'anticorps thérapeutique. Il est donc nécessaire de mettre en place des cohortes de suivi de patients en post-AMM. Ces études posent néanmoins un certain nombre de problèmes : l'objectif du suivi de la cohorte n'est pas toujours décrit de façon suffisamment précise par les autorités de tutelle et il y a une méconnaissance de ce type d'étude par les médecins praticiens qui seront amenés à suivre les patients. Les chercheurs « académiques » rappellent l'intérêt de constituer des collections biologiques de façon systématique afin de réaliser des études pharmacogénétiques et de biomarqueurs permettant d'améliorer la connaissance du biomédicament.

En effet, des études ont montré que l'efficacité du rituximab (anti-CD20),^[10] de l'infliximab (anti-TNF-alpha)^[11] et d'un anticorps monoclonal anti-RhD développé dans la prévention de l'allo-immunisation foetomaternelle,^[12] sont influencés par des polymorphismes des récepteurs Fc, et notamment du FcγRIIIa, c'est-à-dire par la constitution génétique du sujet. Ces facteurs génétiques permettent d'expliquer une partie de la variabilité interindividuelle de réponse aux anticorps thérapeutiques et pourraient donc être utilisés pour une adaptation thérapeutique individuelle. Une autre source de différence de réponse entre les patients est la variabilité pharmacocinétique interindividuelle, observée pour les anticorps monoclonaux et les protéines de fusion, comme pour les médicaments « classiques ».^[13] Une partie de cette variabilité est liée au poids ou peut être expliquée par le développement par le patient d'anticorps anti-anticorps thérapeutique, observé par exemple pour l'infliximab^[14] et le rituximab. Il existe également des interactions médicamenteuses puisque l'association au méthotrexate augmente les concentrations d'infliximab chez les patients traités pour une polyarthrite rhumatoïde.^[15] La plus grande partie de cette variabilité pharmacocinétique reste néanmoins inexpliquée.^[16, 17] Elle est pertinente puisque les patients ayant la meilleure réponse clinique à l'infliximab,^[14, 16] à l'éta nercept,^[18] au rituximab^[19, 20] ou à l'alemtuzumab^[21] sont ceux ayant les concentrations sériques les plus élevées. Les patients traités par ces biomédicaments pourront donc bénéficier d'une adaptation posologique individuelle grâce à un suivi thérapeutique pharmacologique lorsque les relations concentration-effet seront mieux connus.

Les effets indésirables des anticorps thérapeutiques ont été discutés à partir de l'exemple des anti-TNF-alpha. Ceux-ci ont, en effet, deux caractéristiques : ce sont, d'une part des anti-cytokines et, d'autre part, des anticorps thérapeutiques, ayant donc des effets immunologiques liés à leur portion Fc. Certains effets indésirables sont prévisibles, comme la réactivation d'une tuberculose, le développement à long terme de cancers, etc. Mais certains effets

indésirables sont inattendus (infections à germes Gram+, cancers survenant peu après l'initiation du traitement), voire paradoxaux (pathologies démyélinisantes, psoriasis, vascularites, etc.). Une information suffisante des prescripteurs est donc nécessaire et celle réalisée actuellement pourrait être améliorée. En effet :

- dans les RCP (résumés des caractéristiques des produits), les études animales et la pharmacocinétique gagneraient à être détaillées ;
- la formation médicale continue doit être renforcée dans ce domaine ;
- une plus grande rapidité de modification des RCP est utile lorsqu'une nouvelle connaissance pertinente pour la prescription ou le suivi des patients a été acquise sur le biomédicament.

3. Thérapie cellulaire et génique

Ce sujet a été discuté de façon moins approfondie par la table ronde. Ce terme correspond en fait à deux domaines distincts : les thérapies cellulaire et génique *ex vivo* ainsi que la thérapie génique *in vivo*.

3.1. Thérapies cellulaire et génique *ex vivo*

À partir d'un prélèvement, les cellules du patient ou d'un donneur sont manipulées, éventuellement génétiquement modifiées, conditionnées et enfin réinjectées au patient. La modification génique peut-être, par exemple, l'introduction dans les lymphocytes T d'un donneur d'un gène suicide capable de transformer au niveau intracellulaire le ganciclovir en analogue nucléosidique et ainsi de contrôler, par élimination conditionnelle des lymphocytes T allo-réactifs, la maladie du greffon contre l'hôte secondaire à une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques. La thérapie cellulaire, hormis principalement la greffe de CSH, est encore dans une phase de « preuve du concept » et il est difficile de lui appliquer la méthodologie des différentes phases I, II ou III de développement clinique des médicaments. Cependant, les conditions de mise en place et le développement de cette thérapie cellulaire sont désormais précisés par des directives européennes qui considèrent que la plupart des produits, qu'ils soient autologues ou allogéniques, sont des médicaments. Compte-tenu de la spécificité de ces produits, des « guidelines » techniques sont en cours d'élaboration au niveau européen. Ne sont pas inclus dans ce champ, les CSH et certaines préparations cellulaires destinées à un nombre limité de patients, pour lesquels l'encadrement réglementaire reste spécifique à chacun des pays.

3.2. Thérapie génique *in vivo*

Celle-ci consiste en l'administration de vecteurs viraux ou non viraux en vue de modifier génétiquement des cellules. Ce type de thérapie, qui en est encore au stade expérimental, a été peu abordé par la table ronde. Elle repose sur l'utilisation de vecteurs ou de macromolécules de structure parfaitement définie qui peuvent donc être considérés comme des biomédicaments.

4. Conclusion

Les participants de la table ronde recommandent d'éviter le terme « générique » de « biothérapie » afin de pouvoir distinguer clairement : les biomédicaments d'une part et la thérapie cellulaire et la thérapie génique d'autre part. Dans le cas des biomédicaments, la table ronde a essentiellement abordé les anticorps thérapeutiques et les protéines de fusion et c'est donc à leur sujet qu'un certain nombre de recommandations peuvent être proposées. Un recensement des points communs et des différences entre anticorps thérapeutiques et médicaments « classiques » est proposé dans le tableau I.

La conception de la phase I et des autres phases de développement doit être repensée compte tenu du peu d'information apportée par les études pré-cliniques. En pré-clinique, comme lors du développement clinique, une expertise scientifique complémentaire, notamment immunologique, est nécessaire.

Enfin, la première AMM n'est que le début des connaissances sur l'anticorps thérapeutique. Il est en effet nécessaire :

- d'associer des collections biologiques aux suivis de cohortes ;
- de réaliser des études complémentaires afin de mieux connaître la place du médicament dans la thérapeutique et d'optimiser ses modalités de prescription ;
- d'assurer une information des prescripteurs pour un meilleur suivi individuel des patients.

Participants

François Amalric (INCa, Paris), François Bassompierre (DRC de l'AP-HP, Paris), Laurent Becquemont (Pharmacologie, CHU Paris Sud), Guillaume Cartron (Onco-Hématologie, CHU Montpellier), Dominic Cellier (Merck, Paris), Georges Dagher (INSERM, Paris), Thierry Demerens (CNAMTS), Alain Dessein (Parasitologie, CHU Marseille), Danièle Girault (Wyeth, La Défense), Jean-Marc Grognet (CEA Saclay, Gif-sur-Yvette), Vincent Le Gros (Novartis, Rueil-Malmaison), François Lemoine (Immunologie, UPMC et GH Pitié-Salpêtrière, Paris), Laurence

Tableau I. Anticorps thérapeutiques par rapport aux médicaments « classiques ».

	Points communs	Différences
Développement	Ce sont des médicaments	
Voies d'administration		Parentérale
Utilisation clinique	Existence d'interactions médicamenteuses	Immunogénicité
	Existence d'effets indésirables	Immunotoxicité
Pharmacocinétique	Existence d'une variabilité inter-individuelle	Mécanismes d'absorption, de distribution et d'élimination et sources de variabilité
		Absorption lente (SC, IM)
		Demi-vie très longue
Relation concentration - effet	Existence d'une variabilité interindividuelle	Mécanismes d'action
		Sources de variabilité
Études de pharmacologie clinique		Techniques analytiques
		Modèles pharmacocinétiques complexes
		Biomarqueurs

SC : voie sous-cutané, IM : voie intra-musculaire.

Moachon (Pharmacologie, GH Cochin-Port Royal), Marc Pallardy (Faculté de Pharmacie, Chatenay-Malabry), Atul Pathak (Pharmacologie, CHU Toulouse), Marc Peschanski (INSERM/I-STEM, Evry), Lionel Ségard (Quantum Genomics, Massy), Patrick Squiban (Innate Pharma, Marseille), Daniel Vasmant (Cancéropôle Ile-de-France), Luc Vermeesch (UCB Pharma, Bruxelles), Hervé Watier (EA3853 et Immunologie, CHU Tours), Pierrette Zorzi (Afssaps).

Références

1. Clergeot A, Arnoux PY, Lassale C. Biomédicaments en France : état des lieux en 2004. *La Lettre du Pharmacologue* 2005; 19: 74-81
2. Suntharalingam G, Perry MR, Ward S, *et al.* Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N Engl J Med* 2006; 355: 1018-28
3. Final report on TGN1412 clinical trial. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, United Kingdom, 25/05/2006. http://www.mhra.gov.uk/home/idcplg?IdcService=SS_GET_PAGE&useSecondary=true&ssDocName=CON2023822&ssTargetNodeId=389
4. Ohresser M, Olive D, Vanhove B, *et al.* Risk in drug trials. *Lancet* 2006; 368: 2205-6
5. Loisel S, Ohresser M, Pallardy M, *et al.* Relevance, advantages and limitations of animal models used in the development of monoclonal antibodies for cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 62: 34-42
6. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. Juillet 2005. <http://www.fda.gov/CDER/GUIDANCE/5541fn1.htm>
7. Direction de l'évaluation des médicaments et des produits biologiques. Département de l'évaluation des médicaments à statut particulier et des essais cliniques. Essais cliniques de première administration à l'Homme, en dose unique d'un médicament expérimental (nouvelle substance active) :
Choix de la première dose, de la progression de dose et protocole d'administration aux volontaires. Afssaps, 05/09/2006. <http://agmed.sante.gouv.fr/pdf/3/essais-clinique-phase1.pdf>
8. Expert Scientific Group (ESG) on phase one clinical trials. Final report. Department of Health, United Kingdom, december 2006. <http://www.dh.gov.uk/assetRoot/04/14/10/43/04141043.pdf>
9. Chung KY, Shia J, Kemeny NE, *et al.* Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1803-10
10. Cartron G, Dacheux L, Salles G, *et al.* Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood* 2002; 99: 754-8
11. Louis E, El Ghoul Z, Vermeire S, *et al.* Association between polymorphism in IgG Fc receptor IIIa coding gene and biological response to infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 511-9
12. Miescher S, Spycher MO, Amstutz H, *et al.* A single recombinant anti-RhD IgG prevents RhD immunization: association of RhD-positive red blood cell clearance rate with polymorphisms in the FcγRIIA and FcγRIIIA genes. *Blood* 2004; 103: 4028-35
13. Ternant D, Paintaud G. Pharmacokinetics and concentration-effect relationships of therapeutic monoclonal antibodies and fusion proteins. *Expert Opin Biol Ther* 2005; 5: S37-S47
14. Baert F, Noman M, Vermeire S, *et al.* Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003; 348: 601-8
15. Maini RN, Breedveld FC, Kalden JR, *et al.* Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1552-63
16. St Clair EW, Wagner CL, Fasanmade AA, *et al.* The relationship of serum infliximab concentrations to clinical improvement in rheumatoid arthritis: results from ATTRACT, a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1451-9
17. Yim DS, Zhou H, Buckwalter M, *et al.* Population pharmacokinetic analysis and simulation of the time-concentration profile of etanercept in pediatric patients with juvenile rheumatoid arthritis. *J Clin Pharmacol* 2005; 45: 246-56

-
18. Lee H, Kimko HC, Rogge M, *et al.* Population pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of etanercept using logistic regression analysis. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 348-65
 19. Berinstein NL, Grillo-Lopez AJ, White CA, *et al.* Association of serum rituximab (IDEC-C2B8) concentration and anti-tumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1998; 9: 995-1001
 20. Igarashi T, Kobayashi Y, Ogura M, *et al.* Factors affecting toxicity, response and progression-free survival in relapsed patients with indolent B-cell lymphoma and mantle cell lymphoma treated with rituximab: a Japanese phase II study. *Ann Oncol* 2002; 13: 928-43
 21. Hale G, Rebello P, Brettman LR, *et al.* Blood concentrations of alemtuzumab and antiglobulin responses in patients with chronic lymphocytic leukemia following intravenous or subcutaneous routes of administration. *Blood* 2004; 104: 948-55

Correspondance et offprints : *Gilles Paintaud*, Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie et EA3853, CHRU de Tours, 2 boulevard Tonnellé, 37044 Tours Cedex 9, France.
E-mail : paintaud@med.univ-tours.fr