

UNIVERSITE DE LIMOGES

Ecole Doctorale Science-Technologie-Santé ED 258

Faculté de Médecine

Année 2004

N°

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Science Biologie Santé

Présentée et soutenue publiquement par

Franck SAINT-MARCOUX

Le 9 novembre 2004

**Pharmacocinétique et Suivi Thérapeutique
Pharmacologique de la ciclosporine en transplantation
d'organes solides**

Thèse dirigée par Dr. Annick ROUSSEAU et Pr. Pierre MARQUET

Jury :

Rapporteurs

Pr. Eric THERVET, Professeur- Praticien Hospitalier (INSERM Paris)

Dr. Saik URIEN, Directeur de recherche (INSERM Paris)

Examineurs

Dr. Jean DEBORD, Praticien Hospitalier Attaché (CHU Limoges)

Pr. Yannick LE MEUR, Professeur-Praticien Hospitalier (CHU Limoges)

Pr. Pierre MARQUET, Professeur-Praticien Hospitalier (CHU Limoges)

Dr. Annick ROUSSEAU, Maître de Conférences, HC (Université de Limoges)

Membres invités

Pr. Yvon LEBRANCHU, Professeur-Praticien Hospitalier (CHU Tours)

Dr. Nicolas SIMON, Maître de Conférences-Praticien Hospitalier (Marseille)

REMERCIEMENTS

A mes directeurs de thèse :

Monsieur le Professeur Pierre MARQUET et Madame le Docteur Annick ROUSSEAU

Pour vos conseils avisés, votre rigueur et votre disponibilité sans faille qui m'ont permis de mener à bien cette thèse.

Merci surtout pour votre passion communicative, vos talents de pédagogue, vos encouragements et le temps consacré à l'accomplissement de ce travail.

J'espère, à l'avenir, faire bon usage de ce que j'ai pu apprendre à vos côtés.

A mon jury de thèse :

Monsieur le Professeur Eric THERVET et Monsieur le Docteur Saik URIEN

Vous m'avez fait l'honneur de juger ce travail. Vos remarques pertinentes et vos conseils avisés ont grandement participé à l'amélioration de ce manuscrit. Soyez assurés de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur Yannick LE MEUR, Monsieur le Docteur Jean DEBORD, Monsieur le Professeur Yvon LEBRANCHU, et Monsieur le Docteur Nicolas SIMON

Vos connaissances en matière de pharmacocinétique de population et de suivi thérapeutique des immunosuppresseurs ont permis de porter un regard critique sur cette thèse. Très honoré par votre présence au sein de ce jury, je vous remercie pour le grand intérêt que vous avez bien voulu porter à mes travaux de recherche.

Résumé

La ciclosporine (CsA) est l'immunosuppresseur le plus largement utilisé en transplantation d'organes solides, mais son utilisation reste difficile, notamment à cause d'une très forte variabilité inter-individuelle de sa pharmacocinétique (PK) rendant nécessaire l'individualisation des doses sur la base des concentrations sanguines observées (Suivi Thérapeutique Pharmacologique ou STP). Très peu d'études de pharmacocinétique de population (PKpop) de la CsA, permettant d'expliquer l'origine de cette variabilité, ont été publiées. La difficulté à modéliser les profils d'absorption de cette molécule en est la principale cause. Les travaux présentés ici ont étudié successivement, par des approches PK en une ou deux étapes, différentes populations de patients transplantés rénaux, pulmonaires (atteints ou non de mucoviscidose) et cardiaques, adultes et enfants. Développés à l'aide du logiciel NONMEM, des modèles PK à 2 compartiments avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par une loi d'Erlang ont permis de décrire fidèlement les profils d'évolution des concentrations sanguines, d'estimer avec précision les principaux paramètres PK et d'étudier la PKpop de la CsA. Ces modèles se sont révélés plus performants que les modèles classiques avec absorption d'ordre 0 ou 1 rapportés jusqu'alors dans la littérature. Les principales sources de variabilité entre individus ont pu être identifiées : le type d'organe transplanté, le délai écoulé depuis la greffe, la pathologie mucoviscidose et le poids du patient, notamment. La prise en compte de ces covariables explicatives devrait permettre d'améliorer la prise en charge *a priori* des patients. Différents estimateurs Bayésiens permettant d'estimer l'exposition individuelle à la CsA (AUC_{0-12h}) sur la base d'un nombre limité de prélèvements ont également été développés. Ils sont caractérisés par leur facilité d'usage en routine hospitalière et devraient trouver leur place au sein d'études prospectives visant à améliorer le STP et l'adaptation individuelle des doses de CsA.

Mots clés : Ciclosporine – Transplantation – Suivi Thérapeutique Pharmacologique – Pharmacocinétique de population – NONMEM.

Abstract

Cyclosporine (CsA) is the keystone of immunosuppression in transplant recipients, and its Therapeutic Drug Monitoring (TDM) is consensually recommended. However, very few pharmacokinetic (PK) studies were published for CsA and the tools designed for the TDM of this drug are scarce. Even fewer population pharmacokinetic (PKpop) studies have been reported so far, which is mainly due to the lack of PK models that fit the particular absorption profiles of this drug. Our studies, based on a large database from different clinical pharmacokinetic trials, compared different PK models to deal with CsA absorption profiles obtained in renal, lung (with or without Cystic Fibrosis) and heart transplants, whether adults or pediatrics. Using NONMEM program, the pharmacokinetics of CsA were adequately described by models combining an Erlang distribution to describe the absorption phase and a two-compartment model with first-order elimination. These models were more accurate than models with zero-order or first-order absorption, even with a time-lag parameter. This is certainly due to a greater flexibility of the Erlang distribution in modeling flat or delayed PK profiles frequently observed in the populations studied herein. The PKpop studies identified several covariates as sources of variability on CsA PK parameters: type of graft, time elapsed post-transplantation, cystic fibrosis and body weight. Using the developed PKpop models as priors, different Bayesian estimators were set up and validated in independent groups of patients. On the basis of limited sampling strategies, these tools allowed accurate estimations of CsA PKs and exposure indices (AUC_{0-12h}). Moreover, the selected LSS are clinically applicable as they only require a 3h-or 4h-stay in hospital. They could be helpful for conducting prospective studies, such as exposure-controlled studies, for optimizing TDM and individual CsA dosage regimens in transplant patients.

KEY-WORDS: Cyclosporine – Transplantation – Therapeutic Drug Monitoring – Population Pharmacokinetic – NONMEM.

INTRODUCTION	6
PARTIE I : ETAT DE L'ART	9
SOUS-PARTIE 1 : PHARMACOLOGIE DE LA CICLOSPORINE.....	10
1- Généralités.....	10
2-Indications- posologies.....	11
3- Mécanisme d'action	12
4- Pharmacocinétique	14
4-1 Absorption et biodisponibilité.....	14
4-2 Distribution	16
4-3 Métabolisme	17
4-4 Elimination	18
5- Effets indésirables	19
6- Interactions médicamenteuses pharmacocinétiques.....	21
6-1 Influence sur la ciclosporine d'autres médicaments associés	21
6-2 Influence de la ciclosporine sur d'autres médicaments.....	22
7- Efficacité thérapeutique de la ciclosporine en transplantation d'organes solides	24
7-1 Transplantation rénale	24
7-2 Transplantation cardiaque et cardio-pulmonaire.....	29
7-3 Transplantation pancréatique	30
7-3 Transplantation hépatique	30
7-4 Transplantation chez l'enfant	31
8- Notion de Suivi Thérapeutique Pharmacologique (STP) de la ciclosporine.....	32
8-1 Généralités.....	32
8-2 Ciclosporine et Suivi Thérapeutique Pharmacologique	34
9- Méthodes analytiques	45
SOUS-PARTIE 2: MODELISATION ET ETUDES PHARMACOCINETIQUES DE LA CICLOSPORINE	49
1- Notion de modélisation pharmacocinétique	49
2- Notion de pharmacocinétique de population.....	53
2-1 Généralités.....	53
2-2 Principales méthodes utilisées pour la pharmacocinétique de population	55
3- Principales études de modélisation pharmacocinétique et de PKpop de la ciclosporine.....	61
PARTIE II : TRAVAUX PERSONNELS.....	68
SOUS-PARTIE 1 : PHARMACOCINETIQUE DE LA CICLOSPORINE CHEZ LE TRANSPLANTE RENAL : APPROCHE NON-COMPARTIMENTALE ET MODELISATION EN 2 ETAPES	69
1- But de l'étude	69
2- Matériels et méthodes.....	69
2-1 Patients :	69
2-2 Etude pharmacocinétique	73

3- Résultats	81
4- Discussion	96
SOUS-PARTIE 2 : PHARMACOCINETIQUE DE LA CICLOSPORINE CHEZ LE TRANSPLANTE RENAL : MODELISATION EN UNE ETAPE.....	102
1- Buts de l'étude.....	102
2- Matériels et méthodes.....	102
2-1 Patients :	102
2-2 Méthodes de dosage :	103
2-3 Pharmacocinétique de population	105
3- Résultats	117
4- Discussion	140
SOUS-PARTIE 3 : PHARMACOCINETIQUE DE POPULATION DE LA CICLOSPORINE EN TRANSPLANTATION PULMONAIRE.....	146
1- Buts de l'étude.....	146
2- Matériels et méthodes.....	146
2-1 Patients	146
2-2 Méthode de dosage.....	147
2-3 Pharmacocinétique de population	148
3-Résultats	152
4- Discussion	159
SOUS-PARTIE 4 : ANALYSE DE POPULATION EN UNE ETAPE DE LA CICLOSPORINE A PARTIR D'UNE LARGE BASE DE DONNEES.....	164
1-Objectifs de l'étude	164
2- Matériels et méthodes.....	164
2-1 Patients	164
2-2 Pharmacocinétique de population	168
2-2-1 Analyse des données par le logiciel NONMEM.....	168
3- Résultats	175
4- Discussion	186
CONCLUSION– PERSPECTIVES.....	191
BIBLIOGRAPHIE	196
FIGURES	208
TABLEAUX.....	211
GLOSSAIRE.....	214

INTRODUCTION

Permettre la survie d'un être humain grâce au remplacement de l'un de ses organes non fonctionnel par un organe sain, prélevé sur un autre individu, représente un exploit thérapeutique sans comparaison. Cependant, de l'acte chirurgical à la prévention durable du rejet de greffe par le receveur, la réussite d'une transplantation fait face à de nombreux obstacles.

Depuis les premières greffes rénales réalisées à la fin des années 1950, des progrès exceptionnels ont été réalisés dans les deux disciplines principales de la transplantation. Celle de la chirurgie, qui permet désormais l'obtention de greffons de qualité grâce aux techniques de la réanimation moderne, et celle de l'immunologie par le développement des méthodes d'appariement donneur-receveur et les tests d'histocompatibilité.

Malgré tout, le maniement des produits immunosuppresseurs, médicaments ayant pour but la suppression ou l'inhibition de la réaction naturelle de défense de l'organisme qui s'oppose à la tolérance d'un greffon étranger, reste un enjeu majeur, et la recherche d'une immunosuppression la plus efficace contre le rejet et la moins dangereuse pour le patient, un vrai challenge pour le clinicien et le pharmacologue.

Découverte au début des années 1970, la ciclosporine est le médicament immunosuppresseur ayant permis un réel bond en avant en terme de rejets et de taux de survie. Proposant un mécanisme d'action nouveau, l'inhibition de la calcineurine, par rapport aux molécules utilisées jusqu'alors, notamment l'azathioprine et les corticoïdes, la ciclosporine est une molécule incontournable en transplantation rénale, cardiaque, hépatique, pancréatique ou pulmonaire.

Toutefois, l'utilisation de la ciclosporine demeure délicate, notamment à cause d'un nombre important d'interactions médicamenteuses, d'une néphrotoxicité importante, et de risques majeurs de cancers et de lymphomes. Ces problèmes mettent en avant tout l'intérêt du Suivi Thérapeutique Pharmacologique, activité consistant à doser les concentrations sanguines d'un médicament pour ajuster la dose administrée à chaque individu.

En effet, si dans la plupart des cas les propriétés galéniques, pharmacocinétiques et pharmacodynamiques d'un médicament permettent une administration de posologies moyennes applicables en toute sécurité à la majorité des patients, certaines situations nécessitent de fournir au clinicien les outils permettant d'individualiser la stratégie thérapeutique, afin d'optimiser le bénéfice et de réduire le risque. C'est le cas de la ciclosporine, molécule sujette à une forte variabilité inter-individuelle de sa pharmacocinétique et caractérisée par une faible marge thérapeutique entre des effets secondaires graves, consécutifs à une trop forte exposition au médicament, et la survenue d'un rejet aigu témoignant d'une trop faible immunosuppression.

A l'heure actuelle, le suivi thérapeutique de la ciclosporine se base sur l'existence de cibles de concentrations ou zones thérapeutiques à atteindre (par exemple deux heures après la prise ou juste avant une nouvelle administration) qui ont été définies en fonction du type et de l'ancienneté de la greffe, et parfois de la technique analytique employée. Ces outils permettent dans une majorité des cas d'éviter les incidents graves de toxicité, mais restent incomplets. Surtout, de nombreuses zones d'ombre persistent malgré vingt ans d'utilisation, parmi lesquelles l'origine des importantes variabilités inter- et intra-individuelles du devenir dans l'organisme de ce médicament.

La pharmacocinétique de population (PK_{pop}) a pour but de quantifier ces variabilités mais également d'identifier les facteurs ou covariables explicatives qui, influençant la pharmacocinétique, en sont à l'origine. Classiquement ces facteurs peuvent être d'ordre

physiopathologique, génétique, ou pharmacologique. Une meilleure appréhension de leur implication sur les propriétés pharmacocinétiques du médicament peut permettre une prise en charge plus pertinente de chaque patient, et ce, dès l'instauration du traitement.

Le principal pilier sur lequel repose la pharmacocinétique de population est la modélisation pharmacocinétique. Cette dernière a pour objectif de décrire l'évolution des concentrations d'un médicament dans l'organisme en fonction du temps. Elle fait appel à des modèles mathématiques permettant de décrire et de quantifier, au vu des concentrations observées, les phénomènes d'absorption, de distribution, de métabolisme, et d'élimination d'un médicament dans l'organisme. Ces modèles expriment en fait, sous forme mathématique, les principaux paramètres pharmacocinétiques de la molécule.

Caractérisée par une absorption faible mais surtout très variable, la ciclosporine est une molécule dont l'évolution des concentrations en fonction du temps est difficilement « modélisable ». Ainsi, même si différents modèles pharmacocinétiques, aux performances diverses, ont été proposés, aucun n'est accepté aujourd'hui de façon consensuelle. Ces difficultés rencontrées pour la mise au point d'un modèle adapté ont pour principale conséquence une pénurie d'études de pharmacocinétique de population de la ciclosporine permettant de mieux appréhender les covariables à l'origine de la variabilité observée et ainsi d'assurer une prise en charge individuelle plus rationnelle.

La première partie de ce mémoire s'efforce de décrire succinctement les propriétés pharmacologiques et les principaux outils du suivi thérapeutique de la ciclosporine. Suit une revue de la littérature concernant la modélisation pharmacocinétique et la pharmacocinétique de population de cette molécule.

La deuxième partie présentera nos travaux personnels. Sont rapportés les résultats d'une étude réalisée chez des transplantés rénaux en phase précoce ou tardive après la greffe,

et ayant mis en jeu des approches pharmacocinétiques dites « en deux étapes » et « en une étape » à l'aide du logiciel NONMEM ; puis les résultats de travaux de modélisation et de PKpop ayant porté sur différentes populations de transplantés pulmonaires atteints ou non de mucoviscidose seront également présentés et discutés ; enfin, les résultats d'une analyse PKpop ayant étudié simultanément différentes populations de transplantés rénaux, cardiaques et pulmonaires.

Les objectifs de ces travaux étaient multiples :

- développer un ou des modèles pharmacocinétiques permettant de décrire les profils d'évolution des concentrations sanguines de la ciclosporine en fonction du temps observés chez ces patients,
- à partir de ces modèles structuraux, étudier la pharmacocinétique de population visant à estimer la variabilité pharmacocinétique de cette molécule, mais aussi à identifier d'éventuels facteurs à l'origine de cette variabilité afin d'améliorer la prise en charge *a priori* des patients recevant de la ciclosporine.
- si possible, mettre au point des outils permettant d'améliorer le suivi thérapeutique de la ciclosporine en routine, par une meilleure estimation de l'exposition réelle au médicament chez chaque patient, et ainsi fournir une aide à l'adaptation individuelle des posologies.

La troisième partie apporte des commentaires et une discussion générale sur l'ensemble de ces études et de leurs résultats, et leur comparaison aux études antérieures.

PARTIE I : ETAT DE L'ART

SOUS-PARTIE 1 : PHARMACOLOGIE DE LA CICLOSPORINE

En 1972, le Dr J.F. Borel des laboratoires Sandoz à Bâle (Suisse) mettait en évidence les propriétés immunosuppressives de la ciclosporine, substance extraite d'un champignon recueilli sur l'Hardangervidda, un haut-plateau du sud de la Norvège. Les premiers travaux réalisés chez la souris ont démontré un effet modulateur sur l'immunité humorale et une suppression des réactions locales du greffon contre l'hôte et de l'hôte contre le greffon.

En 1984, les laboratoires Sandoz (Novartis aujourd'hui) commercialisaient la ciclosporine sous sa forme Sandimmun®, suivie en 1995 par une nouvelle formulation galénique sous forme de microémulsion, le Neoral®.

1- Généralités

La ciclosporine possède une monographie à la Pharmacopée Européenne (n°994, 1995). Sa dénomination scientifique est Cyclosporine A (CsA, CyA).

La formule brute de la ciclosporine est $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ soit une masse moléculaire de 1202,6 g/mol. Sa formule développée est reportée sur la figure 1.

La spécialité Sandimmun® est disponible sous forme d'une solution buvable à 100 mg/mL, de capsules à 25 mg, 50 mg et 100mg, et d'une solution injectable à 50 mg/mL pour perfusion intraveineuse.

La spécialité Neoral® est disponible sous forme d'une solution buvable à 100 mg/mL et de capsules molles dosées à 10 mg, 25 mg, 50 mg et 100 mg.

Ces spécialités sont inscrites sur la liste I des médicaments et sont soumises à une prescription initiale hospitalière.

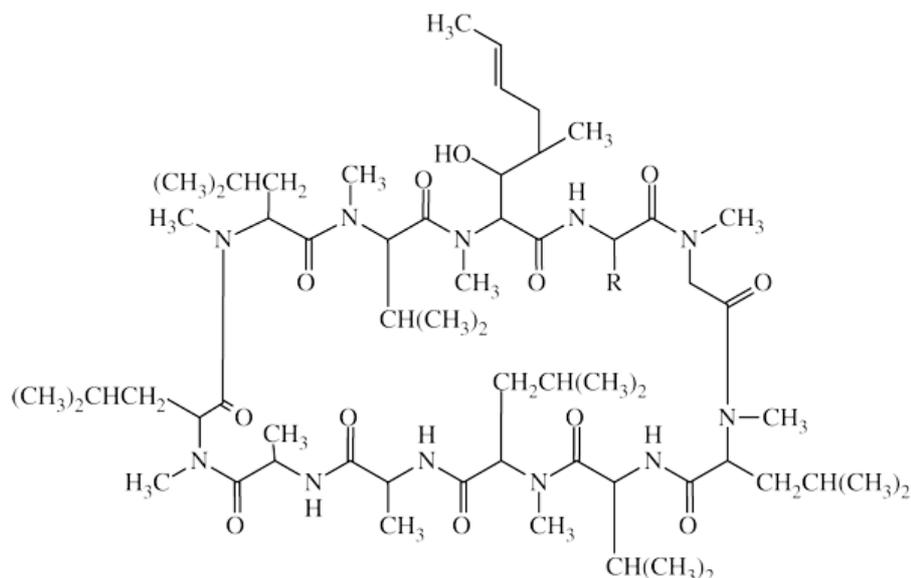


Figure 1 : Formule développée de la ciclosporine A.

2-Indications- posologies

La ciclosporine est indiquée dans les greffes d'organes et de tissus. Elle peut être utilisée dans le cadre d'une transplantation rénale, hépatique, cardiaque, pulmonaire, cardio-pulmonaire, pancréatique. Ces indications englobent aussi bien la prévention du rejet du greffon, y compris dans la phase initiale de transplantation hépatique, que le traitement du rejet chez des patients initialement traités par d'autres protocoles immunosuppresseurs (Dictionnaire Vidal 2004).

La ciclosporine est également indiquée pour les greffes de moelle osseuse en prévention ou en traitement curatif du rejet ainsi que dans différentes pathologies auto-immunes ou inflammatoires, notamment des formes sévères de psoriasis, dermatites atopiques ou polyarthrites rhumatoïdes (Dictionnaire Vidal 2004).

La ciclosporine est généralement administrée en 2 prises quotidiennes. Dans le cadre de la transplantation, les doses initiales sont de l'ordre de 5 à 8 mg/kg/j avec une décroissance rapide vers des doses d'entretien généralement comprise entre 2 et 6 mg/kg/j. Chez l'enfant,

la posologie rapportée au poids corporel n'est pas différente de celle de l'adulte (Dictionnaire Vidal 2004).

Les posologies doivent être adaptées sur la base du dosage régulier des concentrations sanguines de ciclosporine, du rapport efficacité/tolérance et des coprescriptions à risque d'interactions médicamenteuses (Dictionnaire Vidal 2004).

3- Mécanisme d'action

La ciclosporine appartient à la classe pharmacothérapeutique des inhibiteurs de la calcineurine. Le tableau 1 rappelle la classification des immunosuppresseurs selon leur mécanisme d'action.

Elle agit sur les voies précoces d'activation des lymphocytes T, principalement par une inhibition de la synthèse de l'interleukine-2 (IL-2) par les cellules T auxiliaires (Zencke G et al. 1993).

L'IL-2 est produite lors de l'activation des cellules T. Elle a pour principaux effets : une régulation positive de l'expression des récepteurs membranaires à l'IL-2, une stimulation de la sécrétion d'autres cytokines, une expansion clonale des cellules T exprimant les marqueurs CD4 et CD8, et une stimulation des lymphocytes B et des monocytes. Ainsi, en inhibant la synthèse d'IL-2, la ciclosporine bloque la prolifération et la différenciation lymphocytaires impliquées dans la réponse immunitaire.

Sur le plan cellulaire, l'effet inhibiteur de la ciclosporine sur la synthèse d'IL-2 n'est pas totalement élucidé. Toutefois, il a été démontré in vitro que la ciclosporine se lie à un

Tableau 1 : Classification des immunosuppresseurs selon leur mécanisme d'action

Inhibition de la médiation cellulaire

- *Par inhibition de la synthèse des cytokines (IL-2)*
 - . Glucocorticoïdes (Solupred®, Cortancyl®, Solumédrol®)
 - . Inhibiteurs de la calcineurine : Ciclosporine (Neoral®, Sandimmun®)
Tacrolimus (Prograf®)
- *Par inhibition de la transduction du signal (blocage de la m-TOR)*
 - . Rapamycines : sirolimus (Rapamune®)
évérolimus (Certican®)

Inhibition de la synthèse d'ADN

Azathioprine (Imuran®, Imurel®)

- Acide mycophénolique : mycophénolate mofétil (Cellcept®)
mycophénolate sodique (Myfortic®)

Anticorps

- Polyclonaux : sérum antilymphocytaire (Lymphoglobuline®)
 - Monoclonaux : anti-CD3 (Orthoclone OKT3®)
antirécepteurs de l'IL-2 : basiliximab (Simulect®) – dacliximab (Zénapax®)
-

récepteur intra-cytoplasmique, la cyclophiline. Une fois formé, ce complexe se lie à la calcineurine qui est une phosphatase calcium et calmoduline-dépendante. Cette dernière se trouve alors inhibée. De ce fait, la translocation nucléaire de facteurs de transcription, tels que le NFATc, normalement induite par la calcineurine n'est plus assurée ce qui entraîne une inhibition de la transcription des gènes codant pour l'IL-2, mais aussi d'autres cytokines (TNF α , TNF γ , IL-1, ...) (Snyder SH et al. 1995 ; Noble S et al. 1995).

4- Pharmacocinétique

La pharmacocinétique et le métabolisme de la forme Neoral® ont été étudiés dans différentes populations. Les données issues des études de la formulation Sandimmun (Fahr A et al. 1993) sont largement extrapolables au Neoral®. Cependant, les deux formulations diffèrent par leur phase d'absorption.

4-1 Absorption et biodisponibilité

La ciclosporine est absorbée au niveau supérieur de l'intestin grêle (duodénum et jéjunum) Cette absorption est incomplète et fait l'objet d'une grande variabilité intra- et inter-individuelle. La concentration maximale est atteinte entre 1 et 5h pour la plupart des patients alors qu'elle peut atteindre 8h avec Sandimmun® (Ptachcinski RJ et al. 1986).

La biodisponibilité de Sandimmun® varie de 5 à 89% chez le transplanté (Ptachcinski RJ et al. 1986). Après mise sur le marché de la microémulsion Neoral®, une étude a été menée par le département de Pharmacologie des laboratoires Sandoz, chez 48 greffés rénaux stables recevant des doses de Neoral® ou Sandimmun® variant de 200mg à 800mg. Celle-ci a conclu à une biodisponibilité relative de Neoral® variant de 174 à 239%, en fonction de la dose (Mueller EA et al. 1994).

De nombreuses publications ont également rapporté une augmentation de biodisponibilité sous Neoral®, couplée à une diminution de la variabilité inter-individuelle. Notamment, une étude menée chez 31 transplantés rénaux stables (16 patients sous Neoral®

et 15 patients sous Sandimmun®), suivis pendant 3 mois, a trouvé une augmentation moyenne de l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps (AUC) rapportée à la dose (40,6 vs 29,1 ng.h/mL.mg ; $p < 0,05$) et du Cmax rapporté à la dose (1,28 vs 1,0 ng/mL.mg ; $p < 0,001$) pour les patients recevant Neoral® (Pescovitz MD et al. 1998). De plus, 87% des patients sous Neoral® présentaient une valeur de coefficient de variation intraindividuel inférieure à 20% pour l'AUC, au cours des trois premiers suivant la greffe, contre 47% des patients sous Sandimmun® ($p < 0,05$).

La faible absorption de la ciclosporine sous forme Sandimmun® pourrait être due, à la nécessité d'une quantité importante de sels biliaires présents dans le tube digestif (pour former des micelles avec la suspension), et, pour les 2 spécialités, la biodisponibilité incomplète, à un important effet de premier passage hépatique et intestinal par les enzymes du cytochrome P450 3A. On estime que 15 à 30% de la dose de ciclosporine seraient métabolisés par cette voie avant d'atteindre la circulation systémique (Ducharme MP et al. 1998).

D'autre part, la ciclosporine est un substrat et un inhibiteur de la glycoprotéine P (P-gp) qui est une protéine transmembranaire produite par le gène *MDR1* (ou *ABCBI*) (Van Gelder T et al. 2001). Cette protéine est largement distribuée dans l'organisme et notamment au niveau de l'épithélium intestinal (Saeki T et al 1993 ; Anglicheau D et al. 2004). Elle agit comme une pompe transportant ses substrats du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire. Ces propriétés suggèrent que la P-gp puisse influencer l'absorption de la ciclosporine au niveau intestinal, mais également sa distribution dans l'organisme et son élimination.

Une variabilité inter-individuelle au niveau de l'expression ou de l'activité de la P-gp pourrait également expliquer partiellement la très grande variabilité observée en terme de biodisponibilité de la ciclosporine. Cette variabilité d'activité de la P-gp est imputée à certaines mutations ponctuelles intervenant au niveau du gène *MDR1* appelées *Single*

Nucleotide Polymorphisms ou SNP. A l'heure actuelle, l'implication d'un polymorphisme du gène *MDR1* sur l'absorption de la ciclosporine est controversée. Yates et al. ont rapporté une association entre AUC 0-12 de la ciclosporine et un des polymorphismes de du gène *MDR1* (3435C>T) (Yates CR et al. 2003). Cependant cette étude avait porté sur seulement 10 patients. Chowbay et al. ont étudié l'association entre 3 *SNP* du gène *MDR1* (exons 12, 21 et 26) et certains indices d'exposition à la ciclosporine (AUC_{0-4} , AUC_{0-12} , C_{max} et C_0) dans une population de 14 transplantés cardiaques (Chowbay B et al. 2003). Ils n'ont retrouvé aucune relation entre les patients les plus faiblement exposés à la ciclosporine et ces *SNP*. Cette étude est en accord avec des résultats obtenus dans de plus larges cohortes de greffés rénaux (Anglicheau D et al. 2004 ; Von Ahsen N et al. 2001 ; Hesselink DA et al. 2003). Notamment, l'étude collaborative menée par Anglicheau a étudié les 4 *SNP* associés à l'expression ou la fonction de la P-gp chez 106 transplantés rénaux et n'a retrouvé aucune corrélation entre ceux-ci et les paramètres PK de la ciclosporine.

4-2 Distribution

Aux concentrations habituellement rencontrées, environ 40 à 60% de la ciclosporine se trouvent dans les érythrocytes, 10 à 20% dans les leucocytes et 30-45% dans le plasma, où elle est liée à environ 90% aux protéines plasmatiques, en particulier aux lipoprotéines de haute densité (HDL). La fraction libre représente moins de 10% de la quantité totale présente au niveau plasmatique (Neoral® ; Dossier d'information technique 2000).

Le volume de distribution de la ciclosporine peut atteindre 6 à 18 L/kg (Ptachcinski et al. 1986). Ceci est lié au caractère lipophile de cette molécule, qui mis à part une séquestration dans les hématies, est largement distribuée dans l'espace extravasculaire et notamment dans les territoires lipophiles. De ce fait, les concentrations tissulaires sont supérieures à celles observées au niveau sanguin (facteur 3 à 50) (Humbert H et al. 1990).

4-3 Métabolisme

Le métabolisme de la ciclosporine met essentiellement en jeu les enzymes du cytochrome P450 3A4 situées au niveau hépatique et intestinal (Kronbach T et al. 1988). Les isoformes 3A5, exprimées sous forme fonctionnelle au niveau hépatique chez 10 à 30% des Caucasiens, semblent également participer au métabolisme de la ciclosporine (Lown KS et al. 1994). L'impact du polymorphisme génétique de ces enzymes sur la variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques de la ciclosporine reste controversé. Récemment, Anglicheau et al. n'ont retrouvé aucune corrélation entre le polymorphisme des gènes codant pour les enzymes du CYP450-3A5 et les paramètres pharmacocinétiques de la ciclosporine dans une population de 106 transplantés rénaux stables (Anglicheau D et al. 2004).

Le nombre exact de métabolites de la ciclosporine reste incertain. Certains travaux rapportent plus de 30 composés (Christian U et al. 1993). A ce jour, 12 ont été identifiés (Maurer G et al. 1985), et il ne semble pas exister de voie majeure pour ce métabolisme. Les dérivés monohydroxylés de la ciclosporine (métabolites AM9 et AM1), et à moindre titre la ciclosporine N-déméthylée (AM4N), représentent cependant les métabolites principaux. Les concentrations du métabolite AM1 sont comparables à celles de la molécule mère alors que les concentrations d'AM9 sont inférieures de moitié. La ciclosporine inchangée est le composé majeur au niveau sanguin (Humbert H et al. 1990).

En ce qui concerne l'activité des métabolites, il semble raisonnable de penser que le produit inchangé est le facteur essentiel d'activité, au vu des résultats de tests *in vitro* et *in vivo* chez le rat. Tous les métabolites réunis représenteraient moins de 10% de l'activité immunosuppressive de la molécule mère (Neoral® ; Dossier d'information technique 2000).

4-4 Elimination

La ciclosporine est éliminée essentiellement par voie biliaire, sous forme de métabolites. Seuls 6% de la dose administrée par voie orale sont excrétés dans l'urine, dont 0,1% sous forme inchangée.

L'élimination plasmatique est biphasique avec une première demi-vie ($T_{1/2\lambda 1}$) de 1 à 2h et une demi-vie terminale ($T_{1/2\lambda 2}$) de l'ordre de 8h (5-18h) pour la forme Neoral® et 19h (10-27h) pour la forme Sandimmun®. L'état stable théorique est donc atteint en 1 à 4 jours pour le Neoral® et en 2 à 6 jours pour le Sandimmun®. La clairance sanguine totale est d'environ 36 L.h⁻¹ (Neoral® ; Dossier d'information technique 2000).

En transplantation cardiaque, chez 36 greffés stables, une demi-vie de 5,14h (modèle monocompartimental) et une clairance apparente de 11,5 L.h⁻¹ ont été rapportées pour une administration par voie orale de Neoral® (Parke J et al. 1998). A l'aide d'un modèle à 2 compartiments, Monchaud et al. ont rapporté chez 14 transplantés cardiaques sous Neoral® des valeurs de $T_{1/2\lambda 1}$ de $0,26 \pm 0,44$ h et $0,35 \pm 0,22$ h et de $T_{1/2\lambda 2}$ de $1,90 \pm 1,1$ h et $1,36 \pm 0,27$ h, à 7 jours et 1 an post-greffe respectivement (Monchaud C et al. 2003).

En transplantation rénale, dans une population de 125 greffés stables, des valeurs de 43,3 L et 147 L pour le volume central apparent (V_c/F) et le volume périphérique apparent (V_p/F), ainsi qu'une clairance apparente de 23,7 L.h⁻¹ ont été rapportées (Tokui K et al. 2004). Leger et al. ont étudié une population de 20 transplantés rénaux stables dans laquelle la valeurs obtenues étaient de 77 ± 23 L pour V_c/F , 59 ± 20 L.h⁻¹ pour CL/F et $2,3 \pm 1,3$ h pour $T_{1/2\lambda 2}$ (Leger F et al. 2002). Récemment, Rousseau et al. ont calculé, dans une population de 70 transplantés rénaux stables, des valeurs égales à $75,9 \pm 5,9$ L pour V_c/F , $119 \pm 13,9$ L pour V_p et $26,3$ L.h⁻¹ pour CL/F (Rousseau A et al. 2004)

En transplantation pulmonaire, Rousseau et al. ont rapporté des résultats obtenus chez des patients greffés soit dans le cadre de la mucoviscidose soit pour d'autres indications. Dans

la population de transplantés atteint de la mucoviscidose, les valeurs calculés étaient de $88 \pm 40L$ pour Vc/F et $50 \pm 20L.h^{-1}$ pour CL/F. Chez les patients non atteint de cette maladie, les valeurs étaient de $74 \pm 44L$ pour Vc/F et $50 \pm 14L.h^{-1}$ pour CL/F (Rousseau A et al . 2003).

En transplantation hépatique, Charpiat et al. ont rapporté une valeur moyenne de $2,17L/kg$ pour Vc/F après une administration par voie I.V. chez 25 transplantés hépatiques, au cours de la première semaine suivant le greffe (Charpiat B et al. 2000).

5- Effets indésirables

Une étude internationale de surveillance à long terme de la ciclosporine chez le transplanté rénal ayant permis la collection de 4584 observations au sein de 56 centres hospitaliers, France incluse (Cockburn I et al. 1988). Cette étude a duré 7 ans. Les principaux effets indésirables rapportés par cette étude étaient, par ordre de fréquence décroissante : dysfonction rénale 57%, hypertension artérielle 53%, hypertrichose 36%, dysfonction hépatique 27%, infections 25%, tremblements 23%, hyperplasie gingivale 22%.

D'autres effets indésirables sont fréquemment rencontrés lors d'un traitement par ciclosporine :

- des effets neurologiques : paresthésies, tremblements des extrémités, et des troubles convulsifs dose-dépendants,
- des effets hépatiques : élévation dose-dépendante de la bilirubine plasmatique, des sels biliaires, des transaminases et des gamma-glutamyltransférases,
- des hyperlipidémies avec augmentation du cholestérol total et des LDL.

Le principal effet secondaire de la ciclosporine est donc sa très forte néphrotoxicité. Elle se caractérise par des insuffisances rénales de 2 types :

- Une dysfonction rénale aiguë, réversible, dose-dépendante qui semble liée à une modification fonctionnelle hémodynamique intra-rénale, caractérisée par une vasoconstriction à prédominance préglomérulaire, avec diminution du débit sanguin local. (Barros EJ et al. 1987 ; English J et al. 1987)

- Un syndrome de néphrotoxicité chronique. Celui doit être objectivé par biopsie pour le différencier d'une insuffisance rénale chronique. Elle est à l'origine d'atteintes histologiques à titre de tubulopathies avec vacuolisation et calcification, de fibrose interstitielle et d'arteriopathies, notamment (Mihatsch MJ et al. 1988).

L'hypertension artérielle apparaît en deuxième position par ordre de fréquence. Elle répond généralement bien aux traitements usuels. Son étiologie semble multi-factorielle avec notamment une action vasoconstrictive artérielle directe de la ciclosporine et une augmentation de la concentration en calcium ionisé dans les myocytes de la paroi artérielle.

En dernier lieu, la ciclosporine est associée à un risque de développement des tumeurs malignes. Il est bien connu que les traitements immunosuppresseurs favorisent le développement de cancers et notamment de lymphomes (liés ou non à une infection par le virus d'Epstein Barr). Si la ciclosporine n'est pas mutagène et n'a pas de potentiel carcinogène direct en expérimentation animale, elle augmente sensiblement l'incidence des syndromes lymphoprolifératifs quel que soit le type de transplantation (Ryffel B et al. 1992 ; dossier technique Neoral. 2000). Une étude menée chez 4040 greffés rénaux suivis pendant 7 ans, a rapporté 11 cas de lymphomes et 21 cas de cancers cutanés dans cette population (Penn I et al. 1993). Dans une étude publiée en 2004, et ayant porté sur l'analyse de plus de 200 000 patients transplantés sur une période de 10 ans, il a été montré que le risque de développer un lymphome était 11,8 fois supérieur chez un patient transplanté que dans la population générale (Opelz G et al. 2004). Ces lymphomes semblaient surtout se développer durant la première année suivant la greffe. Le risque le plus élevé apparaissait en transplantation

cardiaque (risque relatif = 239,5). D'autre part, l'étude de Opelz rapportait que le risque d'apparition d'un lymphome n'était pas augmenté par l'utilisation de la ciclosporine (comparativement à l'association azathioprine-corticoïdes). Ces observations ont confirmé les résultats d'une précédente étude menée par une équipe Australienne ayant rapporté une incidence de 10,7% pour les syndromes lymphoprolifératifs et les cancers cutanés dans une population de 619 transplantés cardiaques, phénomène certainement lié aux doses plus élevées d'immunosuppresseurs employées chez ce type de patients (Veness MJ et al. 1999). La fréquence de ces tumeurs semble plus importante outre-Atlantique où l'intensité de l'immunosuppression, et particulier les dose de ciclosporine administrées aux patients sont plus élevées qu'en Europe (Opelz G et al. 1994 et 1995).

6- Interactions médicamenteuses pharmacocinétiques

6-1 Influence sur la ciclosporine d'autres médicaments associés

La biotransformation hépatique de la ciclosporine représente une cible privilégiée des principales interactions observées.

Deux phénomènes sont concrètement impliqués :

- L'induction du système d'oxydation microsomial hépatique qui accroît l'élimination hépatobiliaire de la ciclosporine et entraîne ainsi une diminution des concentrations sanguines,

- ou l'inhibition du cytochrome P450 par certains médicaments, entraînant une diminution de l'élimination de l'immunosuppresseur et donc une augmentation des concentrations sanguines (majoration des effets immunosuppresseurs et indésirables).

Des variations des concentrations sanguines de ciclosporine sont également liées à la modification de son absorption intestinale ou de sa fixation protéique.

Une liste des principales interactions médicamenteuses confirmées et figurant dans les résumés des caractéristiques du produit est présentée dans le tableau 2.

6-2 Influence de la ciclosporine sur d'autres médicaments

Le dossier technique de Neoral® ainsi que le dictionnaire Vidal répertorient un nombre très importants d'interactions. D'après Marquet et al. (Marquet P et al. 2004) ainsi que Campana et al. (Campana C et al. 1996), on pourra retenir que la ciclosporine :

- Inhibe le métabolisme des corticoïdes (prednisolone).
- Majore l'hypercholestérolémie due au sirolimus
- Diminue les concentrations plasmatiques d'acide mycophénolique (MPA)
- Augmente les taux sanguins de digoxine .
- Majore les risques de gingivopathies induites par la nifédipine
- Majore les effets indésirables neuromusculaires de la colchicine
- Augmente la toxicité du méthotrexate par une diminution de sa clairance.

Tableau 2 : Les interactions médicamenteuses établies de type pharmacocinétique de la ciclosporine (d'après Dictionnaire Vidal. 2004 et Marquet P et al. 2004).

Médicaments qui augmentent les concentrations sanguines de ciclosporine	Médicaments qui diminuent les concentrations sanguines de ciclosporine
- Macrolides et apparentés <i>Erythromycine (AD)</i> <i>Josacyne (PE)</i> <i>Pristinamycine (PE)</i> <i>Roxythromycine (PE)</i> <i>Clarithromycine (PE)</i>	- Inducteurs enzymatiques : <i>Rifampicine (PE)</i> <i>Rifabutine (PE)</i> <i>Phénobarbital (PE)</i> <i>Phénytoïne (PE)</i> <i>Primidone (PE)</i> <i>Carbamazépine (PE)</i>
- Imidazolés <i>Kétoconazole (PE)</i> <i>Itraconazole (PE)</i> <i>Fluconazole (PE)</i>	- Orlistat (AD)
- Inhibiteurs calciques <i>Nicardipine (PE)</i> <i>Diltiazem (PE)</i> <i>Vérapamil (PE)</i>	- Clindamycine (PE)
- Corticoïdes par voie IV : <i>Prednisolone (PE)</i> <i>Autres corticoïdes (PE)</i>	- Octréotide, lantréotide (PE)
- Contraceptifs oraux (APC)	- Antirétroviraux non nucléosidiques <i>Efavirenz (PE)</i> <i>Névirapine (PE)</i>
- Antiprotéases <i>Indinavir (PE)</i> <i>Nelfinavir (PE)</i> <i>Indinavir (PE)</i> <i>Saquinavir (PE)</i> <i>Amprénavir (PE)</i> <i>Lopinavir (PE)</i>	
- Amiodarone (PE)	
- Méthotrexate (PE)	
- Cimétidine (APC)	
- Synergistine (pristinamycine) (PE)	
- Sirolimus (PE)	
- Pamplemousse	

APC : association à prendre en compte ; PE : précaution d'emploi ; AD : association déconseillée ; CI : contre-indication

7- Efficacité thérapeutique de la ciclosporine en transplantation d'organes solides

L'apparition de la ciclosporine au début des années 1980 a considérablement amélioré le devenir clinique des patients bénéficiant d'une greffe d'organe. Les premières études menées chez des transplantés rénaux ont rapporté des taux de survie des greffons à un an de l'ordre de 80%, ce qui constituait un véritable bond en avant par rapport aux résultats obtenus jusqu'alors avec l'azathioprine et les corticoïdes (White DJ et al. 1982). Ces résultats ont été confirmés en greffe hépatique (Starzl TE et al. 1982) puis en greffe cardiaque (Oyer PE et al. 1982) avec des taux de survie des greffons augmentés en moyenne de 70 à 80% à 2 ans pour des associations ciclosporine-corticoïdes faibles doses.

7-1 Transplantation rénale

Des études visant à juger de l'efficacité et de la tolérance ont été réalisées dans deux contextes cliniques différents : chez des patients en période post-greffe précoce (*de novo*), recevant Sandimmun® ou Neoral®, et chez des patients à l'état stable traités par Sandimmun® puis par Neoral®. Les principales études ayant étudié l'efficacité et la tolérance de la forme Neoral® sont reportées dans le tableau 3.

7-1-1 Transplantés de novo

L'étude internationale OLM 103 (Niese D et al. 1995), était une étude randomisée en double aveugle comportant deux bras : 41 patients traités par Sandimmun® et 45 par Neoral®. Les patients recevaient tous des corticoïdes et de l'azathioprine. Ils ont été suivis pendant 12 mois. A un an, l'incidence des rejets aigus était significativement plus faible dans le bras Neoral® que dans le bras Sandimmun® (42,2% versus 56,1% ; $p < 0,01$). De même la créatininémie après transplantation semblait diminuer plus rapidement après transplantation sous Neoral® et rester inférieure à celle sous Sandimmun® pendant toute l'année (n.s.). Aucune différence n'était observée en terme d'apparition d'effets indésirables.

Pescovitz et Barone ont rapporté les résultats d'une étude randomisée en double aveugle multicentrique menée par le *Neoral Study Group* (Barone G et al. 1996 ; Pescovitz MD et al. 1997). Celle-ci a inclus 101 patients (51 recevant Neoral® et 50 recevant Sandimmun®). L'analyse ayant porté sur 12 semaines de suivi rapporte des taux de survie des greffons et des patients, une incidence des rejets aigus (25% sous Neoral® et 22% sous Sandimmun®) et une incidence des effets indésirables similaires dans les deux bras de patients (Barone et al. 1996). Cette étude a été poursuivie pendant 2 ans afin de juger de la tolérance à long terme sur 54 des 101 patients (Pescovitz MD et al. 1997). Là encore, l'incidence des effets secondaires restait similaire dans les deux groupes (96% des patients avec au moins un épisode d'effet indésirable sous Neoral® et sous Sandimmun®). Au terme de ces deux années, la baisse de posologie moyenne quotidienne était de 17% sous Neoral® par rapport à Sandimmun® (3,8 vs 4,6 mg/kg/j ; $p < 0,05$).

L'étude multicentrique Canadienne menée par PA. Keown, également randomisée et en double aveugle a inclus 167 patients (81 recevaient Sandimmun® et 86 Neoral®) suivis pendant 3 mois après la greffe (Keown PA et al. 1996 ; Keown PA et al. 1998). L'incidence des rejets aigus a été plus faible dans le bras Neoral® (44,2 vs 60,5%, $p = 0,04$), et la période sans rejet plus longue : taux de patients sans rejet à 3 mois = 55% pour Neoral® et 39% pour Sandimmun® ($p < 0,05$). Les créatininémies étaient légèrement plus faibles pour les patients sous Neoral® pendant les quatre premières semaines, mais à trois mois, il ne persistait aucune différence entre les deux traitements. L'incidence des effets indésirables était similaire, tandis qu'à 3 mois, la dose moyenne dans le groupe Neoral® était inférieure de 8% par rapport à celle du groupe Sandimmun® (n.s.).

L'étude comparative de Pollard et al. a été conduite en ouvert et a recruté 293 patients (Pollard SG et al. 1999). A 12 mois, aucune différence significative en terme de survie du greffon et du patient n'a été observée entre les deux bras. Pour le bras Neoral®, des incidence

Tableau 3 : Principales études ayant étudié l'efficacité et la tolérance de la ciclosporine sous forme Neoral® en transplantation rénale.

<i>Auteurs</i>	<i>méthodologie</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Durée</i>	<i>Principaux résultats</i>
<i>Transplantés rénaux de novo : comparaison Neoral® - Sandimmun®</i>				
Niese et al. (1995)	Multicentrique, randomisée, double aveugle	86	12 mois	Incidence des rejets aigus diminuée sous Neoral®
Barone et al. (1996) – Pescovitz et al. (1997)	Multicentrique, randomisée, double aveugle	101	12 semaines, puis 2 ans	Survie des greffons et des patients et incidence des rejets aigus et des effets indésirables identiques pour les 2 formulations à 12 semaines, incidence des effets indésirables identique à 2ans
Keown et al. (1996 et 1998)	Randomisée, double aveugle, prospective	167	3 mois	Incidence des rejets aigus diminuée sous Neoral®
Pollard (1999)	Multicentrique, randomisée, ouverte	293	12 mois	Incidence des rejets aigus diminuée sous Neoral®
<i>Transplantés rénaux stables : conversion de Sandimmun® à Neoral®</i>				
Frei et al. (1998)	Randomisée, double aveugle, groupes parallèles	466	12 mois	Incidence des effets indésirables comparable. Créatininémies comparables
Cole (1998)	Multicentrique, randomisée, groupes parallèles	1097	18 mois	Incidences des effets indésirables à 1 mois et de la néphrotoxicité à 18 mois supérieures sous Neoral®. Créatininémies, rejets aigus, rejets chroniques comparables à 18 mois
Hourmant et al. (1997)	Ouverte, bras unique	167	3 mois	Incidence des rejets aigus = 1,2%. Incidence des effets indésirables = 20%

plus faibles des rejets aigus (34,3 vs 46,9%, $p=0,04$) et des épisodes multiples de rejets aigus (8,7 vs 15,3% ; n.s.) ont été rapportées. Les auteurs proposaient d'expliquer cette réduction du nombre de rejets aigus par une obtention plus rapide de concentrations résiduelles efficaces (48h plus tôt).

En conclusion, la plupart de ces études comparatives ont montré une efficacité de la forme Neoral® supérieure à celle de Sandimmun® à partir du troisième mois, notamment en terme d'incidence de rejet aigu mais également de survie des greffons et des patients. Cette efficacité thérapeutique ne semblait pas se faire au détriment d'une augmentation des effets indésirables majeures de la ciclosporine.

7-1-2 Transplantés rénaux stables

L'efficacité et la tolérance de Neoral® a également été étudiée chez des patients transplantés stables, c'est-à-dire à distance de la greffe. L'objectif principal des études était d'étudier la tolérance de Neoral® et la survenue des épisodes de rejets après conversion Sandimmun®-Neoral®.

L'étude OLM 102 (Frei UA et al. 1998), randomisée en double-aveugle a recruté 466 patients transplantés depuis au moins 6 mois et traités par Sandimmun®. Parmi ces patients, 373 ont été convertis à Neoral® dose pour dose. Au cours de l'étude, qui a duré un an, les doses ont été adaptées afin de maintenir les patients dans une fourchette de concentration résiduelle prédéfinie. L'incidence des rejets observés au cours de cette étude était très faible (3 patients, tous dans le groupe Neoral®). L'incidence et la sévérité des effets indésirables cliniques étaient comparables dans les deux groupes (sauf pour l'hypertrichose : 12,9% dans le bras Neoral® contre 8,6% dans le bras Sandimmun®) et les créatininémies moyennes ne différaient pas au terme de l'étude. Les posologies moyennes de Neoral étaient plus faibles à la 12^e semaine (de 3% ; n.s.), ainsi qu'au 12^e mois (de 5,9% ; n.s.).

L'étude multicentrique rapportée par le groupe d'étude canadien a inclus 955 transplantés rénaux stables suivis sur une période de 18 mois (Cole E et al. 1998). Soit ces patients continuaient à recevoir Sandimmun®, soit étaient convertis dose pour dose à Neoral®. Les mêmes règles d'ajustement des posologies que dans l'étude précédente étaient appliquées. Pendant le premier mois de suivi, l'incidence des effets indésirables imputables à la ciclosporine était significativement plus élevée chez les patients ayant été convertis à Neoral®, mais cette différence n'était plus observée après 18 mois. Au terme de l'étude, aucune différence en terme de créatininémie ou de clairance de la créatinine n'a été retrouvée. De plus, aucune différence quant à l'incidence des rejets aigus (5% vs 5%) ou des rejets chroniques (8% vs 11% ; n .s.) n'a été retrouvée entre les deux bras de patients. Toutefois, les cas de néphrotoxicité imputable à la ciclosporine était plus fréquents chez les patients recevant Neoral® (12% vs 7%, $p < 0,01$).

Une étude multicentrique française a suivi pendant 3 mois un seul bras de 167 patients transplantés en moyenne depuis 3 ans (6 mois à 25 ans), tous convertis à Neoral® (Hourmant L et al. 1997). Seuls deux épisodes de rejet aigu ont été rapportés (1,2%) entre le premier et le troisième mois après conversion. Des effets indésirables imputables à la ciclosporine de sévérité légère à modérée (céphalées, troubles digestifs, augmentation réversibles de la créatininémie) ont été observés chez 20% des patients.

En conclusion, il semble que la conversion de Sandimmun® à Neoral s'accompagne d'une augmentation transitoire des effets indésirables. Ceci est certainement la conséquence d'une augmentation notable de la biodisponibilité chez certains patients. Une surveillance accrue des concentrations sanguines de ciclosporine dans les premières semaines suivant la conversion paraît donc indispensable.

7-2 Transplantation cardiaque et cardio-pulmonaire

7-2-1 Transplantés cardiaques de novo

Une étude multicentrique internationale en double aveugle a inclus 380 transplantés cardiaques *de novo* afin de comparer l'efficacité et la tolérance de Neoral® et Sandimmun® (Eisen HJ et al. 1999). Six mois après la transplantation, les taux de survie des patients étaient similaires dans les deux groupes (93,1 vs 92,7%) et aucune re-transplantation n'avait été nécessaire. Cependant, les traitements antirejet par anticorps antilymphocytaire avait été moins souvent nécessaire dans le bras Neoral® (5,9 vs 14,1% ; $p < 0,01$). De plus, aucune différence significative n'a été observée sur les paramètres de tolérance, fonction rénale comprise.

Ces mêmes auteurs ont rapporté les résultats obtenus pour ces mêmes patients après 24 mois de suivi (Eisen HJ et al. 2001). Cette étude rapportait notamment que seulement 3,7% des patients sous Neoral contre 9,4% sous Sandimmun® étaient sortis de l'étude suite à un échec du traitement ($p = 0,04$).

7-2-2 Transplantés cardiaques stables

Plusieurs études ayant inclus entre 70 et 185 patients ont montré que la conversion de Sandimmun® au Neoral® était bien tolérée chez les transplantés cardiaques ou pulmonaires (Dorent R et al. 1997 ; Svendsen U et al. 1996 ; Zaldonis DB et al. 1998 ; Aziz T et al. 1998 ; Pethig et al. 1996). Les travaux de Zaldonis, ayant inclus le plus grand nombre de patients, rapportent une diminution de 35% en moyenne de la dose de ciclosporine dans les trois premiers mois suivant la conversion (307 mg vs 260 mg ; $p < 0,05$). Cette conversion associée à une diminution sensible de la dose ne s'était accompagnée d'aucun rejet aigu dans cette population. Ces auteurs ne discutaient pas de l'incidence des effets indésirables.

7-3 Transplantation pancréatique

La transplantation de pancréas, ou de rein et de pancréas, se caractérise par une difficulté à ajuster les doses de ciclosporine, notamment chez les diabétiques insulino-dépendants. Les études menées dans ce cadre particulier de transplantation ont porté généralement sur un nombre restreint de patients. Les résultats de ces différentes études rapportent toutefois une meilleure efficacité du Neoral® comparativement au Sandimmun®, notamment chez le diabétique dont l'absorption digestive est modifiée du fait d'une neuropathie végétative. L'étude menée par Bartucci et al. a permis d'étudier la fonction rénale après conversion à Neoral® dose pour dose, de 141 patients transplantés rénaux dont 39 avaient reçu simultanément une transplantation pancréatique. Cette étude rapporte une diminution de la posologie de 22,6% en moyenne chez 74% des patients, essentiellement en raison d'une augmentation transitoire de la créatininémie (Bartucci MR et al. 1997).

7-3 Transplantation hépatique

L'absorption médicamenteuse après transplantation hépatique est particulièrement perturbée par les modifications du débit biliaire, de la fonction hépatique et de la motilité intestinale (Rasmussen A et al. 1996). Ceci rend complexe l'utilisation de la ciclosporine dans le cadre d'une transplantation hépatique.

L'étude multicentrique MILTON (28 centres au Etats-Unis et en Europe) est la plus importante réalisée dans ce contexte (Otto MG et al. 1998). Elle a recruté 390 transplantés *de novo* suivis pendant 52 semaines, afin de comparer l'efficacité et la tolérance de Neoral® et Sandimmun®. Le traitement comportait de la ciclosporine par voie intraveineuse (2mg/kg/J) qui était débuté dans les 24 heures suivant la transplantation puis arrêtée dès l'obtention de ciclosporinémies efficaces, simultanément à de la ciclosporine par voie orale (10mg/kg/j) sous la forme Neoral® ou Sandimmun®. Cette étude a montré que la durée de la ciclosporine IV était sensiblement plus courte dans le bras Neoral® (4 jours vs 6,5 jours ; $p < 0,001$), traduisant une obtention plus rapide de taux sanguins efficaces. Dans le groupe Neoral®, le nombre

d'épisodes de rejets à un an était significativement plus faible que dans le groupe Sandimmun® (43,3 vs 53,2% ; $p < 0,05$). En outre, cette étude n'a montré aucune différence en terme de tolérance et de créatininémie entre les deux formulations. Enfin, les doses de Neoral® à 52 semaines étaient significativement plus faibles que celles de Sandimmun® (4,86 mg/kg/j vs 5,42 mg/kg/j ; $p < 0,001$) pour des concentrations résiduelles comparable tout au long de l'étude.

Depuis, plusieurs études ont mis en évidence le bénéfice apporté par la mise en place de la voie orale dès le jour de la transplantation, les concentrations résiduelles « thérapeutiques » (250-350 ng/mL) étant atteintes en 72h pour environ 65% des patients recevant du Neoral® (Mirza DF et al. 1997 ; Hemming AW et al. 1996 ; Tredger JM et al. 1995). Le RCP du Neoral rappelle du reste que le traitement par ciclosporine orale est indiqué dès la phase initiale d'une transplantation hépatique.

7-4 Transplantation chez l'enfant

Plusieurs études ont été menées afin de vérifier si les propriétés de la microémulsion Neoral® étaient transposables sur des populations pédiatriques. Les principales conclusions sont les suivantes :

- Les modifications moyennes des paramètres pharmacocinétiques observées par rapport à Sandimmun® sont comparables aux modifications observées chez l'adulte. Cependant, chez les enfants de moins de 5 ans, l'augmentation de l'exposition au médicament (C_{max} et AUC) est plus importante que chez les enfants plus âgés (Hoppu K et al. 1996 ; Ettenger RE et al. 1996 ; Dunn S et al. 1997)

- Les variations des paramètres pharmacocinétiques sont sensiblement réduites par rapport à Sandimmun® (Kabasakul SC et al. 1997).

- Les données de tolérance à long terme de Neoral® confirment la bonne tolérance du traitement après conversion dose pour dose (Hoyer PF et al. 1996 ; Cooney GF et al. 1997 ; Broyer M et al. 1999).

8- Notion de Suivi Thérapeutique Pharmacologique (STP) de la ciclosporine

8-1 Généralités

La Société Française de Pharmacologie propose de définir le Suivi Thérapeutique Pharmacologique (STP), traduction du terme anglo-saxon « Therapeutic Drug Monitoring » (TDM), comme l'activité qui consiste à doser les concentrations sanguines d'un médicament et à les interpréter, en fonction du terrain, pour ajuster la dose administrée à chaque individu.

Le STP a deux buts essentiels : diminuer le taux d'échec thérapeutique lié à une dose insuffisante, et réduire la fréquence des effets indésirables ou toxiques liés à une dose excessive. Il se propose d'améliorer l'utilisation des médicaments pour lesquels il a été montré, par l'expérience clinique ou par des essais cliniques, que l'ajustement individuel des posologies améliorerait le devenir clinique des patients (Marquet P et al. 2004).

L'IATDMCT (*International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology*) propose de considérer des adaptations de posologies a priori et a posteriori.

Ainsi, le STP *a priori* consiste à déterminer la dose initiale pour un patient donné en se basant sur des relations pharmacodynamique-pharmacocinétique connues, et ayant permis de discriminer des sous-populations nécessitant des dosages différents de par leurs caractéristiques démographiques, cliniques, voire pharmacogénétiques.

Le STP *a posteriori* se base sur la mesure spécifique de la forme active ou toxique du médicament dans un milieu biologique. Il nécessite une interprétation de ce résultat qui tiendra compte des conditions analytiques, des informations cliniques et de la dose

administrée. Cette interprétation se verra facilitée par la définition préalable d'un modèle pharmacocinétique (PK) ou pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) combiné à des techniques de détermination des paramètres PK individuels (Marquet P, IATDMCT « Standard of Laboratory Practice Committee », 2003).

Par rapport au nombre de molécules médicamenteuses commercialisées, un nombre très restreint de médicaments fait l'objet d'un suivi thérapeutique systématique : aminosides et glycopeptides, digitaliques, principaux anti-arythmiques, quelques anti-épileptiques, antidépresseurs, immunosuppresseurs, anticancéreux et antirétroviraux, soit moins d'une soixantaine de molécules (Marquet P et al. 2004).

En effet, pour être éligible au titre du STP un médicament doit, au préalable, répondre à plusieurs critères :

- 1- Une bonne corrélation entre concentration sanguine et effet pharmacologique (thérapeutique ou toxique), meilleure que la relation dose – effet.
- 2- Une importante variabilité inter-individuelle de la relation dose administrée - concentration sanguine.
- 3- Une zone thérapeutique étroite.
- 4- Une réponse pharmacologique difficilement accessible par une mesure directe de l'effet.
- 5- Si possible, une variabilité intra-individuelle faible à court terme.
- 6- Une ou, au mieux, plusieurs méthodes analytiques permettant son dosage dans les milieux biologiques.

8-2 Ciclosporine et Suivi Thérapeutique Pharmacologique

La ciclosporine répond aux critères d'éligibilité au STP. Elle fait ainsi l'objet d'un STP systématique, qui est par ailleurs rendu obligatoire puisque figurant sur le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) de la spécialité Neoral[®].

En effet, la ciclosporine présente une zone thérapeutique étroite entre efficacité et néphrotoxicité, des variabilités interindividuelles importantes au niveau de sa biodisponibilité et de son métabolisme, des relations concentration-effets thérapeutiques et concentration-effets toxiques (néphro- et neurotoxicité concentration-dépendantes) bien démontrées. Ces caractéristiques empêchent l'utilisation de schémas posologiques standards et justifient un suivi individuel régulier des concentrations sanguines.

Plusieurs outils permettent de réaliser le STP de la ciclosporine. Il s'agit de mesures de concentration au cours de l'intervalle compris entre 2 doses, ou de combinaisons de concentrations permettant de calculer des aires sous la courbe des concentrations en fonction du temps (AUC) dites « complète » (AUC_{0-12}) ou « tronquée » (AUC_{0-4}).

8-2-1 Concentration résiduelle – C₀

Au cours des premières années suivant la commercialisation de la ciclosporine (sous sa forme Sandimmun[®]), des études menées sur de grandes cohortes de patients ont mis en avant la nécessité d'un STP chez le patient transplanté.

Le premier indice d'exposition proposé fut la concentration résiduelle (C₀). Cette mesure est classiquement effectuée le matin, douze heures après la prise vespérale de ciclosporine et juste avant la prise matinale.

Au début des années 80, plusieurs études ont montré l'intérêt de C₀ (Kahan BD et al. 1984 ; Kahan BD et al. 1985 ; Rogerson ME et al. 1986). Au cours de ces travaux, il apparaissait que les patients pour qui les valeurs de C₀ étaient faibles (< 200 ng/mL), étaient les plus sujets à un rejet aigu de greffe. A contrario, les patients chez qui les valeurs de C₀

étaient élevées (> 300-400 ng/mL), présentaient des risques accrus de néphrotoxicité liée à la ciclosporine. Ainsi, la communauté des transplantateurs adopta rapidement le concept de suivi thérapeutique sur la base du C0 et des « fourchettes thérapeutiques » furent définies.

Mais rapidement, des études rapportèrent une faible corrélation entre C0 et devenir clinique du patient, mais également une faible corrélation entre C0 et l'exposition au médicament mesurée par l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps (AUC). Par exemple, dès 1989, Gravel et al. montrèrent, dans une population de 71 transplantés rénaux, que les valeurs de C0 n'étaient corrélées ni à la dose administrée au patient, ni à l'exposition au médicament ; il s'agissait toutefois de dosages sériques réalisés à l'aide d'anticorps polyclonaux (Gravel J et al.1989). Les résultats de nombreuses études publiées plus récemment, après la commercialisation de la forme Neoral®, et menées chez des transplantés rénaux, cardiaques, hépatiques, pulmonaires, adultes ou enfants, sont tout à fait convergents. En 1996, un article de revue de la littérature rapportait déjà les résultats de 4 études (soit 242 patients) n'ayant retrouvé aucune corrélation entre C0 et apparition de phénomènes de rejets, et de 9 études (soit 625 patients) mettant en évidence une absence de corrélation entre C0 et néphrotoxicité (Tsunoda SM et al. 1996).

Toutefois, facilement utilisable en routine et fortement ancrée dans les habitudes des cliniciens, la mesure de C0 reste un index largement utilisé pour l'adaptation de posologie de la ciclosporine chez les transplantés, du moins en France.

Les principales cibles visées pour le C0 en fonction du type de greffe ou délai post-transplantation sont reportées dans les tableaux 4 et 5.

8-2-2 Aire sous la courbe (AUC0-12)

Intuitivement, l'AUC0-12 est l'indice permettant d'évaluer le plus globalement l'exposition à la ciclosporine entre deux administrations. En effet, cet indice est le seul à permettre d'évaluer à la fois l'intensité de l'absorption et l'élimination du produit. Il est

considéré comme l'indice d'exposition de référence depuis la conférence de consensus de Lake Louise en 1995, ayant défini les modalités de STP de la ciclosporine (Oellerich M et al. 1995).

Dans une population de 160 transplantés rénaux suivis pendant une année, a été constaté une relation importante entre valeur de Cav (*Average concentration*, soit le rapport entre l'AUC et l'intervalle de temps entre 2 doses) et devenir clinique du patient (Lindholm A et al. 1993) : l'incidence des rejets aigus à 1 an était significativement plus faible chez les patients avec une valeur de Cav supérieure à 550 ng/mL que chez ceux ayant une valeur de Cav inférieure à 400 ng/mL (26% vs 67% ; $p < 0,001$).

Une relation entre AUC et devenir clinique du patient a également été retrouvée dans une population de 95 transplantés rénaux *de novo* (Schroeder TJ et al. 1994). Dans cette étude, les patients qui avaient connu un épisode de rejet au cours de la première année avaient une valeur moyenne d'AUC au cours de l'année égale à 3,0 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ contre 10,0 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ pour les patients indemnes ($p < 0,05$).

Tableau 4 : Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C0) après une transplantation rénale (d'après Marquet P. 2004)

Délai post-greffe (jours)	Zone Cible (µg/L)
1 – 14	200 – 400
15 – 42	150 – 350
43 – 84	125 – 275
85 – 182	100 – 200
183 – 365	100 – 150
> 365	75 – 150

Tableau 5 : Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C0) en fonction du type de greffe (d'après Marquet P. 2004)

Type de greffe	Période précoce (µg/L)	Long terme (µg/L)
Cardiaque	250 – 350	120 – 200
Hépatique	250 – 350	100 – 200
Rénale	150 – 300	75 – 150
Pulmonaire	220 – 320	140 – 220

Senel MF et al. ont étudié rétrospectivement la corrélation entre la valeur de Cav chez 290 transplantés rénaux recevant de la ciclosporine par voie orale (Sandimmun®) et le devenir clinique du patient jusqu'à 6 ans après la greffe (Senel MF et al. 1998). Trois groupes de patients ont été considérés : le premier groupe recevait de la ciclosporine par voie orale en une seule prise (14 mg/kg/j), débutant 6h après la fin de la perfusion de ciclosporine commencé en phase per-opératoire, le deuxième recevait de la ciclosporine en deux prises par jour (7mg/kg par prise) 6h après la fin de la perfusion, et le troisième débutait la ciclosporine par voie orale en même temps que la perfusion (7 mg/kg en deux prises quotidiennes). Les doses de ciclosporine étaient ajustées de façon à obtenir une Cav de 400ng/mL. Un profil pharmacocinétique complet a été réalisé pour chacun des patients dans la première semaine suivant la greffe. Aucune différence des valeurs de C0, Cmax et Cav n'a été observée entre les trois groupes de patients. Jusqu'au 6^e mois, il a été constaté dans la population globale que le taux de survie des greffons était plus élevé chez les patients ayant une valeur de Cav supérieure à 550 ng/mL (i.e 6,6 µg.h/L) à la première semaine que chez ceux ayant une valeur inférieure (92% vs 83% ; p<0,05). De même, l'incidence des rejets aigus à 6 ans était significativement plus faible chez les patients avec une Cav > 550 ng/mL (71% vs 50 ; p = 0,036).

Mahalati et al. ont étudié rétrospectivement la corrélation entre les valeurs d'AUC₀₋₁₂ observées dans les tout premiers jours après le début du traitement par Neoral® chez 156 greffés rénaux *de novo* et le devenir clinique au cours des trois premiers mois (Mahalati K et al. 1999). Ils ont constaté que les patients avec une valeur d'AUC₀₋₁₂ comprise entre 9,15 et 11,5 mg.h/L permettaient d'obtenir l'incidence de rejet aigu la plus faible (13%). D'autre part, les patients n'ayant pas développé de signes de néphrotoxicité avaient une valeur d'AUC₀₋₁₂ plus faible que ceux ayant connu cet effet indésirable (10,02 ± 0,30 mg./L vs 11,75 ± 0,65 mg.h/L ; p = 0,01). Ces auteurs proposaient ainsi d'atteindre dès les premiers jours suivant la greffe une cible d'AUC comprise en 9,5 et 11,5 mg.h/L pour prévenir l'apparition des rejets

aigus et de la néphrotoxicité, chez des patients recevant une triple immunosuppression sans induction par des anticorps.

Une étude canadienne a également montré une relation entre la valeur observée de l'AUC₀₋₁₂ observée à J7 et l'apparition d'un rejet aigu au cours de la deuxième semaine (Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group. 2001). Dans cette étude, il a été constaté chez 29 greffés rénaux *de novo* que les patients ayant connu un épisode de rejet aigu avaient une AUC₀₋₁₂ inférieure à ceux n'en ayant pas eu ($7,98 \pm 1,48$ mg.h/L vs $10,24 \pm 2,76$ mg.h/L ; $p < 0,05$).

L'estimation de l'AUC₀₋₁₂ nécessite, classiquement, de multiplier les prélèvements sanguins au cours des 12 heures suivant la prise matinale du médicament. Cette multiplication des prélèvements entre deux administrations permet en effet de calculer, avec une certaine précision, l'AUC par la méthode dite des trapèzes. Toutefois, cet indice d'exposition n'est que rarement utilisée en routine du fait d'un prix de revient trop élevé et de la contrainte infligée au patient, ainsi qu'aux équipes soignantes.

Afin d'éviter la multiplication des prélèvements, il est possible de rechercher une ou plusieurs concentrations bien corrélées à l'AUC₀₋₁₂ au cours de l'intervalle inter-dose afin de mettre au point une équation de régression multilinéaire (du type $AUC_{0-12} = A + B \cdot \text{Conc au temps}(x) + C \cdot \text{Conc au temps}(y) \dots$) qui permet d'estimer la valeur de l'AUC à l'aide d'un nombre limité d'échantillons sanguins (généralement 2 ou 3). On parle de stratégies d'échantillonnage limité ou « limited sampling strategies » (LSS).

A ce jour, plus d'une trentaine d'articles proposant une LSS permettant de calculer l'AUC à l'aide de 2 ou 3 concentrations ont été publiés et ont fait l'objet d'un article de revue de la littérature (David OJ et al. 2001).

Les modèles bayesiens constituent également une méthode permettant d'estimer l'AUC à partir d'un nombre limité de prélèvements sanguins. Nécessitant le développement au préalable d'un modèle pharmacocinétique, le nombre de travaux publiés à ce jour est limité. Les estimateurs bayesiens et leur utilisation pour le STP de la ciclosporine seront discutés dans une autre partie de ce mémoire ouvrage.

8-2-3 Aire sous la courbe abrégée (AUC₀₋₄) ou « Absorption Phase Profiling »

La notion d'AUC₀₋₄ est apparue plus récemment. Ce nouveau concept, dont le développement a été largement promu par les laboratoires Novartis, se base essentiellement sur des travaux ayant montré que la variabilité de la pharmacocinétique du Neoral® serait, dans sa plus grande part, imputable aux variations observées au cours des quatre premières heures suivant l'administration (Johnston A et al. 2000). Dans cette étude, incluant 65 transplantés rénaux stables ayant fourni 2 profils pharmacocinétiques complets sur une période de 4 semaines, il a été rapporté que le coefficient de variabilité intra-individuelle (CV%) variait de 9 à 22% entre C₀ et C_{2h} (valeurs médianes) et se stabilisait aux alentours de 5% à C_{4h}. D'autre part, une bonne corrélation entre AUC₀₋₄ et AUC₀₋₁₂ ($r^2=0,945$) a été retrouvée dans une large cohorte de transplantés rénaux stables (Keown PA et al. 1996).

Les résultats d'une étude rétrospective menée chez 156 transplantés rénaux *de novo* ont montré que l'AUC₀₋₄ était un meilleur indice d'exposition que C₀ en terme d'incidence de rejet aigu au cours des 3 premiers mois suivant la greffe (Mahalati K et al. 1999). Dans cette étude, les valeurs moyennes d'AUC₀₋₄ (obtenues entre le 2^e et 3^e jour après le début du traitement par voie orale) étaient significativement plus faibles chez les patients ayant développé un rejet aigu au cours des trois mois que chez les patients indemnes ($3,9 \pm 3,0$ vs $4,8 \pm 1,6$ mg.h/L ; $p<0,01$), alors qu'il n'existait aucune différence significative pour les valeurs de C₀ observées dans les 2 groupes (293 ± 21 vs 294 ± 11 µg/L ; $p = 0,95$). Une analyse de régression pas à pas a montré qu'une valeur d'AUC₀₋₄ comprise entre 4,4 et 5,5

mg.h/L au cours de la première semaine permettait d'obtenir l'incidence la plus faible de rejets aigu (7%) au cours des trois premiers mois.

Cette même équipe a ensuite étudié de façon prospective l'efficacité de cette « fourchette thérapeutique » chez 59 transplantés rénaux (Mahalati K et al. 2001). Dans cette deuxième étude, il a été montré à nouveau que le fait d'atteindre une valeur d'AUC₀₋₄ comprise entre 4,4 et 5,5 mg.h/L, dès le septième jour suivant la greffe, permettait de diminuer le nombre d'épisodes de rejet ainsi que la néphrotoxicité au cours des 3 premiers mois. En effet, seulement 3% des patients (1/33) maintenus dans cette fourchette cible dès J3 avait connu un rejet aigu à 3 mois contre 45% des patients (10/22) avec une AUC₀₋₄ inférieure à 4,4 µg.h/L. Aucun patient maintenu dans cette cible n'avait développé des signes de néphrotoxicité.

Cette fourchette thérapeutique comprise entre 4,4 et 5,5 mg.h/L est la seule reconnue à l'heure actuelle pour l'AUC₀₋₄. Elle n'est utilisable que dans les tout premiers jours suivant la greffe, et n'est pas clairement définie au-delà. Toutefois, elle a été définie chez des patients recevant une triple immunosuppression (n'incluant pas une induction par des anticorps). Son efficacité chez des patients recevant une quadrithérapie n'a pas été étudiée.

8-2-4 Concentration 2 heures après la prise – C2

Le concept de « C2 monitoring » est apparu à la fin des années 1990. Il fait l'objet depuis quelques années de nombreuses publications, notamment de la part du Groupe International d'Etude du Neoral, et se positionne comme une alternative à la mesure du C₀, aujourd'hui largement critiqué. Plusieurs études ont montré la supériorité d'un suivi sur la base du C₂ par rapport au C₀ chez le transplanté cardiaque de novo (Cantarovich M et al. 2000 ; Cooney GF et al. 2001 ; Banner NR et al. 2002) ou stable (Cantarovich M et al. 1999), le transplanté hépatique stable (Levy GA et al. 2001), le transplanté rénal stable adulte (Cole E et al. 2003) ou enfant (Dunn S et al. 2001 ; Trompeter R et al. 2003).

Il a été montré que l'inhibition de la libération d'interleukine-2 par les cellules T était maximale 2 heures après la prise de ciclosporine et que 70 à 96 % de l'inhibition de la calcineurine était atteints à ce moment là (Halloran PF et al. 1999 ; Sindhi R et al. 2000). Ces arguments pharmacologiques tendent à faire penser que la mesure du C2 est un bon indice d'effet du médicament.

Plusieurs études ont montré une bonne corrélation entre C2 et AUC₀₋₄. Menées dans des cohortes plus ou moins importantes de transplantés rénaux, cardiaques ou hépatiques, adultes ou enfants, ces études rapportent des coefficients de détermination (r^2) allant de 0,81 à 0,93 entre C2 et AUC 0-4 (tableau 6).

Tableau 6 : Principales études ayant étudié la corrélation entre C2 et AUC₀₋₄.

Type de greffe	Référence	Nombre de patients	Délai post-transplantation	Corrélation entre C2 et AUC ₀₋₄ (r^2)
Rein	Mahalati K (1999)	156	< 3mois	0,81
Cœur	Cantorovich M (1999)	114	> 1an	0,83
Foie	Grant D (1999)	94	< 10 jours	0,93 (corrélation avec AUC ₀₋₆)
	Levy GA (2001)	42	< 3mois	
Rein pédiatrique	Kelles A (2000)	25	Moyenne = 6,4 ans	0,81
Foie pédiatrique	Dunn 2001	9	Moyenne = 14 jours	0,89
		26	> 6 mois	0,93

Le groupe Canadien de Transplantation Rénale a montré que des valeurs de C2 supérieures à 1500 µg/L au cours de la première semaine post-transplantation permettaient d'éviter les phénomènes de rejet (Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group. 2001). Dans cette étude, aucun des 38 greffés *de novo* n'avait développé de rejet aigu à J14 lorsque C2 était supérieur à cette valeur à J7, contre 58% des patients avec une valeur inférieure.

Dans une étude menée afin de définir des fourchettes thérapeutiques de C2 chez le transplanté rénal stable, il a été retrouvé un coefficient de corrélation (r) égal à 0,85 entre C2 et exposition globale à la ciclosporine (AUC₀₋₁₂) et une corrélation plus faible entre C0 et AUC₀₋₁₂ (r=0,55) chez 24 transplantés rénaux stables (Einecke G et al. 2001).

Une étude prospective menée par le Groupe International d'Etude du Neoral a recrutée 176 patients transplantés rénaux *de novo* qui ont été suivis pendant 12 semaines (International Neoral Renal Transplantation Study Group. 2002). Parmi eux, 84 patients recevaient des doses de ciclosporine adaptées en fonction de C0, et 92 en fonction de l'AUC. Chez ces derniers, la valeur de l'AUC était calculée par RML sur la base de 2 ou 3 prélèvements dont C2. Ces valeurs de C2 observées à J3, J7, J14, et J84 ont pu être étudiées rétrospectivement. Au vu des valeurs de C2 rapportées à la dose et au poids (C2 DWC) observées à J3, les 92 patients ont été classés en trois groupes : les absorbeurs lents (C2 DWC < 200 µg/L/mg/kg, soit en moyenne C2 < 1100 µg/L), intermédiaires (C2 DWC 200-350 µg/L/mg/kg) et rapides (C2 DWC > 350 µg/L/mg/kg, soit en moyenne C2 > 1600 µg/L). Une analyse de régression de Cox (régression à risques proportionnels permettant d'étudier la relation entre le temps d'apparition d'un événement et un ensemble de covariables) a montré que la probabilité d'avoir un rejet aigu durant les 3 premiers mois était de 24-40% chez les absorbeurs lents et de 12 à 22% chez les absorbeurs rapides. Au vu de cette analyse, les auteurs concluaient que des valeurs de C2 supérieures à 1600 µg/L, obtenues dès J3, étaient associées à la plus faible probabilité de développer un rejet aigu.

L'étude prospective MO2ART (Monitoring of 2-hour absorption in renal transplantation) a été la première étude prospective concernant le C2 menée chez le transplanté rénal *de novo* (Thervet E et al. 2003). Elle a inclus dans un seul bras 296 patients *de novo* ayant reçu une greffe de rein et chez qui les doses de ciclosporine étaient ajustées afin de maintenir des valeurs de C2 comprise entre 1600 et 2000 µg/L au cours du premier mois. A trois mois, l'incidence des rejets aigus prouvés par biopsie était de 11,5%, et les taux de survie des greffons et des patients de 91,2 et 96,5% respectivement. Il a été constaté que

60,6% des patients avec une reprise rapide de la fonction rénale avaient atteint 1600 µg/L au 5^e jour, pour seulement 19,5% des patients avec un retard de fonction. Vingt quatre patients (8,1%) avaient connu un épisode d'effet secondaire grave, et 26 (8,8%) étaient sortis de l'étude à cause d'un effet indésirable (15 patients) ou suite à un changement d'immunosuppresseur (11 patients). Au vu de cette étude, il semblait donc qu'un suivi systématique par le C2 chez les patients transplantés rénaux dans la période précoce suivant la greffe soit justifié et permette d'obtenir une incidence faible de rejets aigus.

Des cibles de concentration ont été définies pour le C2 (Levy G. 2001). Elles sont fonction de l'indication et du délai post-greffe (tableau 7). Cependant, les valeurs proposées à l'heure actuelle sont adaptés aux schémas thérapeutiques utilisés en Amérique du Nord. Ces cibles uniques semblent aujourd'hui trop élevées, pour les schémas thérapeutiques européens, au moins français, et les valeurs optimales pour les quadrithérapies immunosuppressives couramment utilisées en France restent à définir. Le compte-rendu de la conférence de consensus sur le monitoring par le C2 (*CONCERT : Consensus on Neoral : Expert Review in Transplantation*) suggérait des modifications à venir des cibles de C2, notamment pour les patients recevant de la rapamycine ou de l'évérolimus (Levy GA et al. 2002)

Tableau 7 : Zone thérapeutique de la concentration 2 heures après la prise de ciclosporine (C2) en fonction de l'indication et du délai post-greffe (d'après Levy G. 2001)

Type de greffe	Délai post-greffe	Zone cible (µg/L)
Hépatique	0 – 6 mois	800 – 1200
	6 –12 mois	640 – 960
	> 12 mois	480 – 720
Rénale	1 mois	1360 – 2040
	2 mois	1200 – 1800
	3 mois	1040 – 1560
	4 – 6 mois	880 – 1320
	7- 12 mois	720 – 1080
	> 12 mois	640 – 960

9- Méthodes analytiques

Le suivi des concentrations sanguines de ciclosporine peut être réalisé avec différentes techniques analytiques. On différencie classiquement:

- Les techniques chromatographiques couplées à un détecteur spécifique :
 - o Chromatographie Liquide – Electrospray – Spectrométrie de Masse (LC-ES-MS) (Whitman DA et al. 1993 ; Vidal C et al. 1998)
 - o Chromatographie Liquide – Electrospray – Spectrométrie de Masse en tandem (LC-ES-MS/MS) (Taylor DO et al. 2002)
 - o Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à un détecteur UV (CLHP-UV) : la ciclosporine ne comporte pas de groupements chromophores mais peut être détectée par un détecteur ultraviolet à une faible longueur d'onde (205 nm) (Brozmanova H et al. 2000).

- Les techniques immunologiques (tableau 8):
 - o Immuno-polarisation de fluorescence (FPIA : fluorescence polarization immunoassay technique)
 - o Dosage Immuno-enzymatique (EMIT : enzyme multiplied immunoassay technique ; et CEDIA : Cloned Enzyme donor immunoassay)
 - o ACMIA (affinity-column-mediated immunoassay)
 - o RIA (Radio ImmunoAssay)

D'après une étude internationale réalisée par David W Holt en mai 2004 (Cyclosporin Proficiency Testing Scheme ; <http://www.bioanalytics.co.uk>; accessible juillet 2004) auprès de 637 centres, la répartition entre ces techniques était : FPIA TDx 28%, FPIA AxSYM 20%, EMIT 17%, ACMIA 15%, CEDIA 9%, RIA 6% et HPLC 5%.

La spécificité de ces différentes techniques vis à vis des métabolites, d'autres médicaments ou de substances endogènes est illustrée dans le tableau 9.

D'après une revue de la littérature (Marquet P. 2004), on pourra retenir les informations suivantes (Pfeiffer M. 1998 ; Simpson J et al. 1998 ; Schutz E et al. 1998 ; Kovarik JM et al. 1994 ; Whitman DA et al. 1993 ; Taylor DO et al. 1998 ; Deters M et al. 2003):

- LC-ES-MS et LC-ES-MS/MS : Aucune interférence avec les principaux métabolites de la ciclosporine de par la grande spécificité de la technique de détection.
- FPIA sur automate AxSYM: Réactivité croisée faible avec certain métabolites (AM1 et AM9). Interférences avec certaines substances endogènes (bilirubine, hémoglobine, triglycérides et protéines) pouvant entraîner des erreurs de l'ordre de 10%.
- FPIA sur automate TDx : Réactivité croisée avec les métabolites AM1, AM9 et AM4N.
- EMIT et ACMA : Réactivité croisée avec le métabolite AM9, mais aucune interférence avec les substances endogènes.
- CEDIA : fortes réactivités croisées avec les métabolites AM1, AM9 et AM4N

L'expression des zones thérapeutiques varie en fonction des techniques de dosage (Oellerich M et al. 1995). En effet, la plus faible spécificité des techniques immunologiques est à l'origine d'une surestimation des concentrations. D'après la littérature (Schutz E et al. 1998 ; Simpson J et al. 1998 ; Kovarik JM et al. 1994 ; Oellerich M et al. 1995 ; Proficiency Testing Scheme 2002 : <http://www.bioanalytics.co.uk>), on pourra retenir les notions suivantes :

- La surestimation des concentrations sanguines chez les transplantés rénaux et cardiaques est de l'ordre de 5 à 22% avec les réactifs EMIT, de 22 à 24% avec le réactif CEDIA, et de 16 à 32% avec la méthode FPIA-AxSYM.
- La surestimation des concentrations sanguines chez les transplantés hépatiques est de l'ordre de 8 à 31% avec les coffrets EMIT, de 17 à 43% avec CEDIA, et de 22 à 47% avec FPIA –AxSYM.

Considérant l'HPLC comme méthode de référence de par sa spécificité, on adopte classiquement l'ordre suivant quant à la corrélation des résultats retrouvés par les différentes méthodes : EMIT > FPIA-AxSYM > RIA > CEDIA (Kovarik et al. 1999).

Tableau 8 : Les techniques de dosage immunologiques de la ciclosporine (d'après Marquet P. 2004)

Technique	Réactifs et fournisseurs	Analyseurs
<i>Anticorps monoclonaux</i>		
RIA	Cyclotrac (Incstar)	Compteur
FPIA	Cyclosporine TDx Monoclonal (Abbott)	Abbott TDx
	Cyclosporine AxSYM (Abbott)	Abbott AxSYM
EMIT	EMIT 2000 Cyclosporine Assay (Dade Behring)	Roche COBAS Mira, Roche Integra 700/400, Dade Behring Vitalab Viva, Beckman, Hitachi 911 / 917
ACMIA	Flex reagent cartridge CSA (Dade Behring)	Dimension RXL
CEDIA	CsA Plus (Microgenics)	Hitachi 902 / 911 / 917
<i>Anticorps polyclonaux</i>		
RIA	Cyclotrac (Incstar)	Compteur
FPIA	FPIA polyclonal (Abbott)	Abbott TDx

Tableau 9: Réactivité croisée des méthodes immunologiques vis à vis des métabolites de la ciclosporine (d'après Marquet P. 2004)

	AM1	AM9	AM4N
Incstar – Cyclotrac Monospecific	0,7 %	1,7 %	0,8 %
EMIT Monospecific	0 %	1,5 %	0 %
ACMIA	1,8 %	7 %	6 %
Abbott FPIA Monoclonal (TDx)	8,4 %	16,4 %	3,1 %
Abbott FPIA Monoclonal (AxSYM)	6,9 %	10,8 %	0 %
Microgenics CEDIA Monospecific	5,1 %	11,9 %	15,5 %

SOUS-PARTIE 2: MODELISATION ET ETUDES PHARMACOCINETIQUES DE LA CICLOSPORINE

Après quelques rappels succincts sur les notions de modélisation pharmacocinétique et de pharmacocinétique de population, ce chapitre présente les travaux les plus récemment publiés sur ces deux sujets en ce qui concerne la ciclosporine dans le cadre d'une transplantation.

1- Notion de modélisation pharmacocinétique

La modélisation pharmacocinétique consiste à mettre au point des modèles mathématiques permettant de décrire l'évolution des concentrations d'un médicament dans les fluides biologiques en fonction du temps, de quantifier les principales étapes du devenir du médicament dans l'organisme, et de prévoir les concentrations qui seront observées si la dose administrée varie.

Une des difficultés majeures de la modélisation pharmacocinétique réside dans le choix du modèle mathématique. La qualité principale attendue reste la description optimale des courbes de concentration en fonction du temps observées, mais un modèle doit également être le plus simple possible et conserver une certaine analogie avec les phénomènes physiologiques.

Classiquement, la modélisation pharmacocinétique repose sur une approche compartimentale. Celle-ci considère l'organisme comme découpé en plusieurs compartiments, chacun de ces compartiments représentant un espace virtuel qui correspond à une ou un ensemble de structure(s) anatomique(s) ou tissulaire(s), et dans lequel se distribue de manière homogène le médicament. Le volume de chacun de ces compartiments est appelé volume de distribution. Le modèle mathématique permet de décrire d'éventuels transferts du médicament

entre ces différents compartiments à l'aide d'équations différentielles ou de systèmes d'équations différentielles. Ces équations font intervenir des micro-constantes. Les variables dépendantes considérées sont les quantités de médicament présentes à l'instant t dans chaque compartiment. Lorsque le nombre de compartiments considéré est réduit (classiquement 2, voire 3 compartiments), la résolution analytique des équations différentielles reste encore facilement accessible. Le modèle comporte alors plusieurs paramètres, qui sont des fonctions des micro-constantes de transfert inter-compartimentales, et qui ont une signification physiologique, comme la vitesse d'absorption ou la clairance du médicament, par exemple.

Cette approche compartimentale distingue en son sein deux concepts différents : les modèles déterministes et les modèles stochastiques. L'approche déterministe repose sur l'hypothèse que les molécules médicamenteuses sont réparties de façon homogène au sein d'un compartiment. L'approche stochastique rejette cette hypothèse de répartition homogène des molécules dans un compartiment.

La description des modèles compartimentaux les plus couramment utilisés en pharmacocinétique pourra être consultée au sein de quelques ouvrages spécifiques (Gibaldi 1982 ; Wagner 1993).

A la suite d'une administration par voie orale, l'absorption gastro-intestinale du médicament constitue un phénomène très complexe, influencé notamment par des processus de dissolution, le volume de remplissage gastrique ou la possibilité d'une pluralité des sites d'absorption. Il est cependant possible de modéliser mathématiquement ce passage du médicament au niveau de la circulation systémique. Classiquement, deux modèles d'absorption sont proposés :

- Le modèle décrit par un processus d'ordre 0 (non linéaire), qui considère une vitesse de transfert constante au cours du temps entre le compartiment en amont (dépôt), c'est-à-dire ici la lumière digestive, et le compartiment central.

- Le modèle d'ordre 1 (linéaire), considérant que le médicament franchit la barrière intestinale selon un processus du premier ordre (c'est-à-dire une vitesse de passage proportionnelle à la quantité de médicament présente dans le compartiment en amont).

Il est très courant d'introduire un paramètre supplémentaire appelé « temps de latence » ou « lag-time » permettant de prendre en compte le temps s'écoulant entre la prise médicamenteuse et le début de l'absorption.

A titre d'illustration, un modèle bicompartimental avec une absorption d'ordre 1 peut être représenté comme sur la figure 2 :

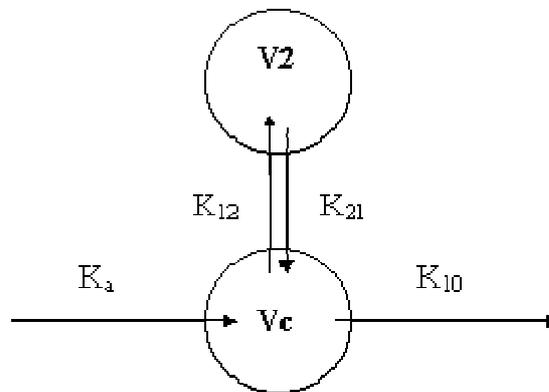


Figure 2 : Schéma d'un modèle à 2 compartiments avec absorption d'ordre 1.

Sur la figure 2, K_{12} et K_{21} sont des constantes du premier ordre, K_a est la constante d'absorption du premier ordre, K_{10} est la constante d'élimination du premier ordre. V_c est le volume du compartiment central. V_2 est le volume du compartiment périphérique.

Avec un tel modèle, la concentration C dans le compartiment central au temps t est donnée par l'équation suivante :

$$C = \{K_a FD / Vc\} \left[\frac{(K_{21} - \lambda_1)e^{-\lambda_1 t}}{(\lambda_2 - \lambda_1)(K_a - \lambda_1)} + \frac{(K_{21} - \lambda_2)e^{-\lambda_2 t}}{(K_a - \lambda_2)(\lambda_1 - \lambda_2)} + \frac{(K_{21} - K_a)e^{-K_a t}}{(\lambda_1 - K_a)(\lambda_2 - K_a)} \right]$$

où D est la dose administrée, F la biodisponibilité et λ_1 et λ_2 les constantes de vitesse.

Cette équation peut être écrite également de la façon suivante :

$$C = B_1 e^{-\lambda_1 t} + B_2 e^{-\lambda_2 t} + B_3 e^{-K_a t}$$

où

$$B_1 = K_a FD (K_{21} - \lambda_1) / (\lambda_2 - \lambda_1) (K_a - \lambda_1) Vc$$

$$B_2 = K_a FD (K_{21} - \lambda_2) / (K_a - \lambda_2) (\lambda_1 - \lambda_2) Vc$$

$$B_3 = K_a FD (K_{21} - K_a) / (\lambda_1 - K_a) (\lambda_2 - K_a) Vc$$

Ainsi, les paramètres du modèle peuvent être calculés de la façon suivante :

$$Vc / F = K_a D / \{B_1 (K_a - \lambda_1) + B_2 (K_a - \lambda_2)\}$$

$$K_{21} = \{B_2 \lambda_1 K_a + B_1 \lambda_2 K_a + B_3 \lambda_1 \lambda_2\} / \{B_2 (K_a - \lambda_2) + B_1 (K_a - \lambda_1)\}$$

$$K_{10} = \lambda_1 \lambda_2 / K_{21}$$

$$K_{12} = \lambda_1 + \lambda_2 - K_{21} - K_{10}$$

Les modèles d'absorption d'ordre 0 ou 1, associés ou non à un « temps de latence », et couplés à un ou deux compartiments d'élimination sont les plus couramment utilisés pour décrire les courbes de concentration en fonction du temps obtenues chez des patients recevant de la ciclosporine (Parke J et al. 1998 ; Parke J et al. 2000 ; Lill J et al. 2000 ; Tokui K et al.

2004 ; Jacobson PA et al. 2003 ; Schädeli F et al. 2002 ; Lee KL et al. 1998 ; Breant V et al. 1996 ; Akhlaghi F et al. 1997).

Au cours de nos travaux, nous avons utilisé ces approches, ainsi que des approches différentes permettant de modéliser la vitesse d'absorption sur la base d'une loi Gamma, ou d'une loi de Erlang. La description des différents modèles développés sur la base de ces lois de distribution sera présentée dans la deuxième partie de ce mémoire.

L'utilisation d'une loi Gamma pour modéliser le processus d'absorption de la ciclosporine a donné lieu à plusieurs publications au sein de l'équipe du service de Pharmacologie du CHU de Limoges (Debord J et al. 2001 ; Léger F et al. 2002 ; Monchaud C et al. 2003 ; Rousseau A et al. 2003).

Le principe d'utiliser la loi de Erlang pour modéliser le processus d'absorption de la ciclosporine a été publiée récemment (Rousseau A et al. 2004).

2- Notion de pharmacocinétique de population

2-1 Généralités

La maîtrise de l'efficacité d'un traitement est souvent rendue difficile par une importante variabilité inter-individuelle de la pharmacocinétique du médicament. La pharmacocinétique de population (PKpop) a pour but de quantifier cette variabilité inter-individuelle et d'identifier les facteurs qui, influençant les paramètres pharmacocinétiques, en sont à l'origine. La connaissance de ces facteurs peut permettre de distinguer des sous-populations, et ainsi de proposer des adaptations de posologie individuelles plus rationnelles.

Selon Sheiner et Beal, trois types de facteurs sont à l'origine de cette variabilité (Beal SL et al. 1992) :

- Des facteurs physiopathologiques ou explicatifs. Ce sont, notamment, des facteurs démographiques (sexe, âge, race, poids...), des facteurs génétiques (phénotype d'une voie

métabolique), des facteurs fonctionnels (maladie concomitante, insuffisance rénale ou hépatique...), des facteurs biologiques ou chronobiologiques. Ces différents facteurs sont appelés covariables et sont à l'origine d'une variation des paramètres pharmacocinétiques entre individus ou, parfois même, chez un même individu au cours du traitement.

- D'autres facteurs sont dits « aléatoires ». Ils représentent la part inexpliquée et/ou imprévisible de la variabilité inter-individuelle.

- Enfin, d'autres facteurs sont à l'origine de la variabilité dite « résiduelle ». Cette dernière comprend en particulier les erreurs de mesure (variabilité due aux méthodes analytiques, à l'imprécision des temps de prélèvements...) et la variabilité intra-individuelle.

La pharmacocinétique de population (PKpop) a pour but, chez un groupe d'individus, de définir les paramètres pharmacocinétiques moyens et leur dispersion (variance), et d'étudier l'influence des covariables sur ces paramètres pharmacocinétiques. En d'autres termes, une étude de pharmacocinétique de population cherche à estimer la variabilité inter-individuelle, voire intra-individuelle, des paramètres pharmacocinétiques et à quantifier les relations qui existent entre l'état physiopathologique d'un individu et ses propres paramètres (Samara E et al. 1997). Elle permet alors de mieux maîtriser la thérapie au plan individuel.

D'autre part, l'approche PKpop ne considère jamais un patient comme isolé mais comme un membre d'une sous-population particulière. Ceci revient à dire que les paramètres PK d'un individu ne sont connus qu'avec incertitude, cette incertitude reflétant la variabilité inter-individuelle estimée de la sous-population en question. (Mallet A. 1990)

Plus globalement, lorsqu'un patient reçoit un traitement, l'incertitude sur la valeur de ses paramètres PK correspond au niveau de variabilité apprécié dans la population générale des patients redevables du traitement, mais celui-ci pourra être situé dans une sous-population particulière, au vu par exemple, de son âge ou de son poids.

Ces analyses trouvent tout leur sens dans l'étude des médicaments immunosuppresseurs utilisés dans le cadre des greffes d'organes solides, notamment la ciclosporine. En effet, la ciclosporine présente un index thérapeutique étroit entre une toxicité importante, notamment au niveau rénal, et l'inefficacité du traitement entraînant la perte du greffon. Elle est, de plus, caractérisée par une très forte variabilité pharmacocinétique traduisant une grande disparité de son absorption et de son métabolisme dans les populations cibles.

Les covariables potentiellement à l'origine de cette variabilité sont nombreuses. On retiendra notamment le type de greffe (foie, cœur, rein, poumon), la pathologie ayant justifié la greffe, les traitements immunosuppresseurs associés, le délai post-greffe, qui sont autant de facteurs dont l'influence sur le devenir du médicament dans l'organisme reste le plus souvent encore à quantifier, et justifient l'intérêt croissant des études PKpop dans le domaine.

2-2 Principales méthodes utilisées pour la pharmacocinétique de population

Toutes les méthodes statistiques utilisées lors d'études PKpop reposent sur un principe commun : le maximum de vraisemblance. On distingue cependant les approches en 1 ou 2 étapes. Parmi les méthodes en une étape, on distingue les méthodes paramétriques et les méthodes non-paramétriques.

2-2-1 Notion de Maximum de vraisemblance :

Il s'agit d'une méthode classique d'estimation des paramètres. Le principe général est le suivant : la meilleure estimation des paramètres est celle rendant maximale la probabilité du résultat observé. Cette probabilité est appelée vraisemblance.

Dans le cadre d'une étude pharmacocinétique où l'on vise à décrire au mieux l'évolution des concentrations au cours du temps, on cherche à calculer la probabilité d'un résultat expérimental (la concentration mesurée) par rapport au résultat donné par le modèle (la valeur des paramètres pharmacocinétiques).

Dans le cas le plus simple consistant à étudier la pharmacocinétique d'un seul individu, on cherche alors à minimiser la fonction suivante:

$$\Phi_1 = \sum_{i=1}^n \frac{(C_{i\text{ obs}} - C_{i\text{ est}})^2}{s_i^2} + \sum_{i=1}^n \ln(s_i^2)$$

où $C_{i\text{ obs}}$ est la concentration observée et $C_{i\text{ est}}$ la concentration estimée par le modèle, et où l'on considère que l'erreur de mesure ($C_{i\text{ obs}} - C_{i\text{ est}}$) est distribuée selon une loi normale de moyenne 0 et d'écart type s_i .

On notera que si les écart types s_i sont connus *a priori* (évaluation *a priori* de l'erreur analytique), la minimisation de la fonction correspond à la méthode des moindres carrés :

$$\Phi_2 = \sum_{i=1}^n \frac{(C_{i\text{ obs}} - C_{i\text{ est}})^2}{s_i^2}$$

2-2-2 Les méthodes en deux étapes

Dans ce type d'analyse, les paramètres pharmacocinétiques sont obtenus, dans un premier temps, en analysant les données de façon indépendante, individu par individu. Cette technique requiert un nombre d'observations important pour chaque sujet afin de définir au mieux les profils pharmacocinétiques.

Cette première étape a pour but d'établir les paramètres optimaux de chaque individu. Elle peut être réalisée grâce à la méthode du maximum de vraisemblance, à une simple méthode des moindres carrés, ou par régression non-linéaire (RNL).

Dans une deuxième étape, est alors constituée une population de référence en estimant, pour la totalité des paramètres individuels décrivant la distribution de la population, la moyenne (caractéristique de la tendance centrale dans la population) et la matrice de variance-covariance représentant la dispersion autour de la moyenne.

En d'autres termes, la réalisation d'une telle matrice permet de représenter la variation globale des paramètres dans la population.

2-2-3 Méthodes en une étape

On distingue classiquement les méthodes paramétriques qui présupposent une distribution normale ou Log-normale des paramètres pharmacocinétiques de la population, et les méthodes non paramétriques qui ne dépendent pas de cette hypothèse.

2-2-3-1 Logiciels utilisant des méthodes paramétriques

Deux logiciels sont classiquement utilisés dans le cadre d'études pharmacocinétiques : NONMEM et P-PHARM.

Lors de nos travaux personnels, nous avons utilisé le logiciel NONMEM. Une description de la méthodologie et de la mise en œuvre d'études avec ce logiciel sera présentée dans la deuxième partie de ce mémoire.

Le logiciel NONMEM (NONlinear Mixed Effect Model) propose trois méthodes paramétriques basées sur le maximum de vraisemblance : les méthodes FO, FOCE et Laplacienne. Au cours de nos travaux, nous avons utilisé les méthodes FO et FOCE qui seront décrites ici brièvement.

- La méthode FO (First order method : méthode du premier ordre) a été la première méthode de population développée (Sheiner LB et al. 1972 et 1977). Elle permet d'obtenir les deux premiers moments μ et C de la distribution des paramètres dans la population ainsi que la variabilité résiduelle.

Si l'on considère $y_{i,j}$ la $j^{\text{ième}}$ observation recueillie chez un individu i , et $y_i(\xi)$ le vecteur d'observations de cet individu i , on a :

$$y_i(\xi) = f_i(\xi, \theta_i) + \varepsilon_i$$

Où ε_i et $f_i(\xi, \theta_i)$ représentent le vecteur d'erreurs aléatoires de l'individu i et le vecteur estimé par le modèle pour un individu i ayant pour paramètres individuels θ_i .

θ_i peut également s'écrire :

$$\theta_i = \mu + \eta_i$$

Où μ est l'espérance mathématique de la loi de distribution des paramètres (on dit que μ est l'effet fixe ou « fixed effect ») et où η_i représente les fluctuations aléatoires pour un individu i de paramètres θ_i (on dit que θ_i est l'effet aléatoire ou « random effect »). L'effet aléatoire est considéré comme ayant une espérance nulle et une matrice de variance-covariance C .

Une estimation des paramètres μ et C est obtenue en minimisant le critère des moindres carrés étendus et en « linéarisant » le modèle autour de $\eta_i = 0$ (c'est à dire autour de μ). On obtient une fonction objective qui est minimisée par un algorithme d'optimisation de type gradient (Sheiner LB et al. 1977).

- La méthode FOCE (First Order Conditional Estimation) semble aujourd'hui consensuelle pour toute analyse de population. Ses performances et sa supériorité par rapport à la méthode FO ont été largement discutées lors du 13^e congrès du PAGE (Population Approach Group in Europe, Thirteenth meeting, 17-18 juin, Uppsala, Suède 2004). Davidian et col. ont rapporté que la linéarisation du modèle autour de la moyenne des paramètres pouvait être à l'origine d'un biais important sur l'estimation de μ et C , surtout lorsque la variabilité inter-individuelle dans la population est importante (Davidian M et al. 1995).

La méthode FOCE propose une linéarisation du premier ordre autour des « estimées courantes » des effets aléatoires η_i et non pas autour de $\eta_i = 0$.

Beal et Sheiner considèrent cette méthode comme supérieure à la méthode FO, et proposent son utilisation lorsque la variabilité interindividuelle est grande et que le nombre de données par individu est important (Beal SL et al. 1992).

Le logiciel NONMEM a été de loin le plus utilisé pour l'étude PKpop de la ciclosporine (Lee KL et al. 1998 ; Kyhl LEB et al. 1998 ; Parke J et al. 1998 et 2000); Lill J et al. 2000 ; Schädeli F et al. 2002 ; Jacobson PA et al. 2003 ; Rousseau A et al.2004 ; Tokui K et al. 2004).

Le logiciel P-PHARM est basé sur une méthode paramétrique fondée sur le maximum de vraisemblance. Ses performances et applications sont largement discutées dans les travaux de Gomeni et Mentré (Gomeni R et al. 1994 ; Mentré F. 1995).

Ce logiciel se propose d'estimer des paramètres grâce à un algorithme Estimation-Maximisation (EM). Ceci consiste en une procédure itérative de maximisation de la vraisemblance en 2 étapes : une étape d'estimation (E) et une étape de maximisation (M).

Brièvement, au cours de l'étape E, les paramètres θ_i de chaque individu i à l'itération $k+1$ sont estimés par méthode Bayésienne, connaissant la valeur des hyperparamètres à l'itération k (moyenne de la loi de distribution des paramètres, matrice de variance-covariance des effets aléatoires). Puis au cours de l'étape M, les hyperparamètres à l'itération $k+1$ sont estimés par maximisation de la vraisemblance après linéarisation du modèle autour de ces estimées.

A notre connaissance, seuls les travaux de Aklaghi et al. menés chez des transplantés cardiaques recevant de la ciclosporine ont utilisé ce logiciel (Aklaghi F et al. 1997).

2-2-3-2 Logiciels utilisant des méthodes non paramétriques

On distingue deux méthodes : NPLM et NPEM.

- La méthode Non Parametric Maximum Likelihood (NPML) est basée sur le maximum de vraisemblance. Elle a été décrite par Mallet (Mallet A. 1986). A la différence des méthodes décrites précédemment, aucune hypothèse n'est faite quant à la distribution des paramètres. C'est pourquoi on parle de méthode non-paramétrique.

Schématiquement, elle considère que la vraisemblance a pour solution une loi discrète composée, pour une population de N individus, de v localisations ($v < N$). Chaque localisation correspond à un vecteur de paramètre θ_s associé à une probabilité δ_s .

La maximisation de la vraisemblance s'effectue grâce à un algorithme similaire à ceux développés pour le critère de D-optimalité.

A notre connaissance, cette approche n'a pas trouvé d'application pour la pharmacocinétique de population de la ciclosporine.

- La méthode Non Parametric Expectation Maximisation (NPEM) est une méthode non paramétrique élaborée par Schumitzki, et qui est fondée sur le maximum de vraisemblance (Schumitzki A. 1991).

Elle est à rapprocher de la méthode NPLM, dont elle diffère cependant par la nature de l'algorithme de maximisation de la vraisemblance mis en œuvre. Il s'agit ici d'un algorithme EM qui se rapproche de celui utilisé par le logiciel P-Pharm.

L'équipe de Breant a utilisé ce logiciel pour l'étude des paramètres PK de la ciclosporine administrée par voie I.V. chez le transplanté hépatique (Breant V et al. 1996).

3- Principales études de modélisation pharmacocinétique et de PKpop de la ciclosporine.

Ce paragraphe présente les principales d'études ayant permis d'obtenir des informations sur la modélisation et/ou la PKpop de la ciclosporine.

Parke et al. ont étudié les paramètres pharmacocinétiques de la ciclosporine dans une population de 36 transplantés cardiaques, greffés depuis au moins 3 mois, et recevant 2 doses quotidiennes par voie orale (Parke J et al. 1998). Sur la base des seules concentrations résiduelles mesurées avant la prise matinale (C_0), ces auteurs ont développé un modèle mono-compartimental avec une constante d'absorption d'ordre 1 à l'aide du logiciel NONMEM. Ce modèle incluait un facteur de biodisponibilité (F). Les valeurs moyennes des paramètres pharmacocinétiques calculés dans cette population était : $1,25 \text{ h}^{-1}$ pour K_a , $77,4 \text{ L}$ pour V_c/F , $5,14 \text{ h}$ pour $T_{1/2}$ et $11,5 \text{ L.h}^{-1}$ pour CL/F . La précision d'estimation de ces paramètres n'était pas rapportée. Lors de la validation de ce modèle à l'aide d'une deuxième population comportant 33 patients, un biais de 8,5% entre C_0 observé et C_0 prédit par le modèle a été calculé. Les auteurs ne discutaient pas l'éventualité d'un autre modèle pharmacocinétique permettant de décrire ces données de concentrations.

Dans une deuxième étude, ces même auteurs se sont intéressés aux paramètres PK de la CsA au cours des trois premières semaines suivant une greffe cardiaque chez 46 transplantés (26 recevaient de la CsA sous forme Neoral® et 20 sous forme Sandimmun®) (Parke J et al. 2000). Chaque patient a fourni pour cette étude une valeur de C_0 ainsi que 2 autres prélèvements aléatoires au cours de l'inter-dose. Le même modèle PK que lors de la première étude a été utilisé. Parmi un large panel de covariables testées, les auteurs ont trouvé une influence significative du délai post-greffe sur le facteur de biodisponibilité, et du poids sur CL/F . Ces 2 covariables ont été introduites dans le modèle. Un biais moyen de 9,36% a été calculé entre concentrations prédites et concentrations estimées par le modèle final. La variabilité résiduelle semblait toutefois élevée, 35,4%. La méthode dite « bootstrap » a été

utilisée pour la validation de ce modèle. Cette technique est classiquement utilisée lorsque les études comportent peu de patients ayant eux-mêmes fournis peu de données de concentrations (Ette EI et al. 1997 ; Urien S et al. 2004). Brièvement, la fonction Bootstrap du logiciel NONMEM permet de créer une multitude de nouvelles bases de données, de taille similaire, établies de façon aléatoires par le logiciel et fournissant de nouvelles valeurs de concentrations à partir des valeurs de paramètres appartenant à la distribution de ceux obtenus avec les patients utilisés lors de la construction du modèle. Ceci a pour principal intérêt de ne pas scinder la population en deux groupes (un pour la construction et un autre pour la validation du modèle) et ainsi de construire un modèle sur la base d'un plus grand nombre de patients. Ceci permet ainsi d'atteindre plus facilement le seuil de significativité pour une covariable. Les auteurs n'ont retrouvé aucune différence significative entre les paramètres calculés à partir de 200 populations fictives de 46 patients et ceux calculés avec les 46 patients de l'étude.

Une équipe japonaise a proposé un modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 1 pour décrire les données de concentration issues de 125 transplantés rénaux stables recevant de la ciclosporine sous forme Neoral® (Tokui K et al. 2004). Des prélèvements sanguins étaient effectués à T0, T1h, T2h, T3h, T4h et T5h. Le modèle développé à l'aide du logiciel NONMEM a permis de calculer les paramètres pharmacocinétiques de population suivants : $K_a = 2,16 \pm 0,12 \text{ h}^{-1}$, $K_{el} = 0,54 \pm 0,03 \text{ h}^{-1}$, $K_{12} = 0,58 \pm 0,06 \text{ h}^{-1}$, $K_{21} = 0,24 \pm 0,02 \text{ h}^{-1}$, $V_c/F = 43,3 \text{ L}$, $V_{ss}/F = 147,1 \text{ L}$ et $CL/F = 23,7 \text{ L.h}^{-1}$ (précision d'estimation non indiquée pour ces trois derniers paramètres. Ce modèle permettait d'obtenir une bonne corrélation entre concentrations observées et concentrations estimées ($r^2 = 0,945$). Ces auteurs n'ont réalisé aucune comparaison avec d'autres modèles pharmacocinétiques susceptibles de décrire les données dont ils disposaient. Bien que des patients semblaient présenter des pics retardés d'absorption ($T_{max} > 2\text{h}$), aucun paramètre de type « lag-time »

n'a été introduit dans ce modèle. L'analyse PKpop a permis d'identifier le poids comme covariable influençant le volume de distribution ($V_c/F = \theta_1 + \theta_2 \cdot \text{poids}$). La variabilité interindividuelle calculée pour K_a était de l'ordre de 152% et semblait mal estimée ($152 \pm 90\%$) laissant suggérer une mauvaise estimation de la phase d'absorption par ce modèle. Enfin, ce modèle n'a pas été validé dans un autre groupe de patients.

Récemment, Rousseau et al. ont développé, à l'aide du logiciel NONMEM, un modèle à 2 compartiments avec une loi d'Erlang pour décrire le processus d'absorption (Rousseau A et al. 2004). Ce modèle a permis d'étudier les paramètres PK de 80 transplantés rénaux stables recevant de la ciclosporine par voie orale. 70 patients ont servi à la construction du modèle, et 10 à la validation du modèle et au développement d'un estimateur Bayésien avec stratégie de prélèvement limité. Ce modèle s'est avéré mieux adapté que les modèles décrivant l'absorption par des processus d'ordre 0, d'ordre 1 ou par une loi de Weibull pour ce type de patients. Notamment, la diminution de la valeur de la fonction objective étaient de 195 points par rapport à l'ordre 1 et 164 points par rapport à l'ordre 0. Dans le groupe de construction (70 patients), des valeurs égales à $75,9 \pm 5,9L$ pour V_c/F , $119 \pm 13,9L$ pour V_p et $26,3 \pm 1,0 L \cdot h^{-1}$ pour CL/F ont été obtenues avec ce modèle. Au cours de cette analyse, aucune covariable n'a été identifiée comme influençant les paramètres PK de la ciclosporine. Un estimateur Bayésien utilisant comme information *a priori* les paramètres obtenus par le modèle et basé sur une LSS incluant C_0 , C_{1h} et C_{3h} a ensuite été testé dans le groupe indépendant de 10 patients. Il permettait une prédiction performante des concentrations ($r^2=0,942$ entre concentrations prédites et observées).

A l'aide du programme MW/Pharm (Mediware, Groningen, Pays-Bas), une équipe néerlandaise a développé un modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 1 et « lag-time » sur la base de concentrations issues de 20 transplantés rénaux et 20 transplantés rein-

pancréas (Cremers SC et al. 2003). Des profils pharmacocinétiques riches (8 prélèvements) ont été utilisés pour le développement de ce modèle. Une modélisation en deux étapes a été réalisée. Seules les valeurs des paramètres moyens obtenus chez les transplantés rénaux étaient présentées : $T_{lag} = 0,57 \pm 0,48$ h , $K_a = 0,74 \pm 0,27$; $V_c = 0,49 \pm 0,14$ L/kg. Un facteur de biodisponibilité arbitrairement fixé à 0,5 était également introduit dans le modèle. Les valeurs des paramètres K_{el} , CL/F et V_{ss}/F n'étaient pas présentées. Les valeurs des résidus entre concentrations observées et concentrations mesurées variaient entre -500 et $+800$ $\mu\text{g/L}$ à T1h et T2h, laissant suggérer une mauvaise estimation de la phase d'absorption chez certains patients. Toutefois, l'estimateur Bayésien développé dans une deuxième approche et basé sur une LSS comportant 3 prélèvements (T0, T2h et T3h) permettait d'estimer avec précision les AUC 0-12 ($r^2 = 0,93$ entre AUC_{LSS} et $AUC_{trapèzes}$). Les auteurs, mentionnant l'existence de modèles permettant de mieux décrire l'absorption, n'avaient toutefois pas testé d'autres approches que l'ordre 1. Cette approche en deux étapes n'a pas permis l'identification de covariables influençant la PK de la ciclosporine chez ce type de patients.

Schädeli et al. ont également développé un modèle bicompartimental avec une absorption d'ordre 1 et un paramètre « lag-time » à l'aide du logiciel NONMEM (Schädeli F et al. 2002). La population étudiée comprenait 69 transplantés rénaux stables recevant de la ciclosporine une fois par jour sous forme Neoral® ou Sandimmun®. Les profils pharmacocinétiques individuels comportaient au maximum 3 concentrations. Parmi les 69 patients, 59 recevant du Neoral® ont servi au développement du modèle dont les valeurs des paramètres étaient : $T_{lag} = 0,3\text{h}$, $V_{ss} = 4,7$ L/kg, $K_a = 1,84$ h^{-1} . Le poids a été identifié comme covariable influençant V_c ($p < 0,01$) et introduit dans le modèle final. Ce modèle a ensuite été validé dans la population de 10 patients restants qui avaient fourni des profils comprenant 10 concentrations au cours de l'inter-dose. Le biais moyen entre les AUC_{0-24}

calculées par la méthode des trapèzes et estimées par le modèle était de 2,8% (0,9 à 4,9%). Au vu du graphique représentant la corrélation entre concentrations observées et concentrations estimées, ce biais semblait non négligeable.

Une étude menée par Charpiat et al. avait pour but de déterminer les paramètres PK de la CsA administrée par voie I.V. dans une population de 25 transplantés hépatiques au cours de la première semaine suivant la chirurgie. Ces auteurs ont utilisé le logiciel NPEM2 pour déterminer les valeurs moyennes et la dispersion des paramètres dans cette population. Dans une deuxième étape, le programme USC*PACK permettant une analyse Bayésienne a été utilisé chez 25 autres patients. Un modèle monocompartimental a été proposé. Les paramètres PK moyens trouvés dans la première population étaient de 2,177L/kg pour Vc et 0,163h⁻¹ pour Kel. La variabilité pour ces 2 paramètres étaient de 92% et 79%. Sur la base des concentrations obtenues lors des 3 premiers jours (information a priori), l'estimateur Bayésien a permis une prédiction des concentrations des jours suivants avec un biais inférieur à 20% chez 76% des patients.

En 2001, J. Debord a développé un modèle pharmacocinétique à 2 compartiments avec une élimination d'ordre 1 et une phase d'absorption décrite par une loi Gamma (Debord J et al. 2001). Cette modélisation de la phase d'absorption de la ciclosporine par une loi Gamma a été utilisée au cours des 3 études présentées ci-dessous :

- Sur la base de données issues de 20 transplantés rénaux stables, Léger et al. ont développé un modèle PK par une méthode en deux étapes. Les profils pharmacocinétiques utilisés comportaient 10 points au cours de l'inter-dose. Les paramètres PK individuels ont été estimés par RNL avec un biais moyen entre AUC₀₋₁₂ observées et calculées de -2,1% (de -

5,8 à + 0,1%). Un estimateur Bayésien basé sur une LSS comportant 3 prélèvements dans les quatre premières heures de l'inter-dose (C0, C1h et C3h) permettait d'estimer avec précision les indices d'exposition à la ciclosporine et notamment l'AUC 0-12 (biais moyen = -0,5% ; de -10,9 à + 5,9%).

- Pour la modélisation en 2 étapes des profils de concentration chez 14 greffés cardiaques recevant de la CsA par voie orale, Monchaud et al. ont développé 2 modèles de population ainsi que 2 estimateurs Bayésiens dédiés spécifiquement à ce type de patients (Monchaud C et al 2003). Les patients inclus dans cette étude avaient fourni un profil PK complet (12 concentrations) à J7, M3 et A1 après transplantation. Les paramètres individuels estimés par RNL ont permis d'obtenir un biais moyen inférieur à 1% entre concentrations observées et concentrations estimées. Les 2 modèles de population et estimateurs Bayésiens (pour la période J7 et pour les deux périodes M3 et A1, respectivement) ont permis d'estimer l'AUC avec un biais de l'ordre de 1 à 3% à l'aide d'une LSS utilisant C0, C1h et C3h. Cette étude a donc également confirmé la pertinence d'une modélisation de l'absorption de la ciclosporine à l'aide d'une loi Gamma, ainsi que l'intérêt des estimateurs Bayésiens pour le STP de la ciclosporine.

- Rousseau et al. ont étudié 22 transplantés pulmonaires, dont 11 atteints de mucoviscidose et ayant fourni chacun 3 profils PK complets sur une période de 5 jours (Rousseau A et al. 2003). Le modèle bicompartimental avec absorption Gamma a également permis de décrire de façon satisfaisante les données de concentrations issues de cette population. Les coefficients de détermination entre concentrations mesurées et estimées était $r^2 = 0,99$ pour les patients atteints de mucoviscidose et $r^2 = 0,93$ pour les patients non-atteints. Deux estimateurs Bayésiens ont été développés : un dédié à la sous-population de transplantés atteints de la mucoviscidose et un autre pour celle des patients exempts de cette pathologie. Pour chacune d'entre elles, la stratégie utilisant le schéma C0-C1h-C3h permettait d'estimer au mieux l'AUC 0-12.

PARTIE II : TRAVAUX PERSONNELS

SOUS-PARTIE 1 : PHARMACOCINETIQUE DE LA CICLOSPORINE CHEZ LE TRANSPLANTE RENAL : APPROCHE NON-COMPARTMENTALE ET MODELISATION EN 2 ETAPES

1- But de l'étude

Basée sur deux populations de patients ayant bénéficié d'une greffe rénale soit depuis moins d'un mois, soit depuis au moins trois mois, et recevant de la ciclosporine, cette analyse se proposait de :

- Réaliser une étude non-compartmentale des principaux indices d'exposition à la ciclosporine observés chez ces patients au cours du premier mois, et de les comparer à ceux obtenus pour des délais post-greffe plus longs.
- Développer, par une méthode en deux étapes, un modèle pharmacocinétique décrivant au mieux les données observées de concentrations en fonction du temps au cours du premier mois.
- Mettre au point un ou plusieurs estimateurs Bayésiens permettant de calculer avec précision ces paramètres d'exposition à l'aide d'un nombre limité de prélèvements sanguins.

2- Matériels et méthodes

2-1 Patients :

Une analyse rétrospective des données de patients inclus dans deux études cliniques, PRIMOCINE et STABLOCINE, a été réalisée

2-1-1 Contexte de l'étude PRIMOCINE

Il s'agissait d'un essai de pharmacologie clinique (phase IV), ouvert, avec bénéfice individuel direct, réalisé en 2002, au sein des CHU de Limoges et Reims. Il avait pour objectif principal d'étudier, pendant le premier mois suivant la greffe, les paramètres pharmacocinétiques de la ciclosporine (NEORAL®) utilisée par voie orale en association avec le mycophénolate mofétil (CELLCEPT®), chez des patients ayant reçu une greffe rénale.

2-1-2 Patients de l'étude PRIMOCINE

- 24 patients ayant bénéficié d'une première greffe rénale ont fourni chacun 3 profils pharmacocinétiques 3 jours, 7 jours et 30 jours après la transplantation. A chacune des visites, des prélèvements ont été réalisés juste avant la dose matinale de ciclosporine (T0), puis à T20min, T40min, T1h, T1,5h, T2h, T3h, T4h, T6h et T9h après la prise. De plus, à J3 et J7, un prélèvement supplémentaire était réalisé à T12h.

Les principales caractéristiques de cette population sont reportées dans le tableau 10.

- La posologie quotidienne totale de ciclosporine était répartie en deux prises égales à 12h d'intervalle, par voie orale, sous forme Neoral®. Cette posologie était adaptée en fonction des valeurs mesurées pour la concentration résiduelle (C0). Les zones cibles pour cette concentration étaient, de J0 à J14 : 150-250 ng/ml ; de J14 à M1 : 150 à 200 ng/ml. La posologie du CELLCEPT®, initialement de 1g matin et soir, pouvait être adaptée au vu de critères cliniques et du rapport efficacité/tolérance.

- Les patients recevaient une polythérapie immunosuppressive associant à la ciclosporine et au mycophénolate des sérums anti-lymphocytaires (globulines anti-lymphocytaires FRESENIUS®, LYMPHOGLOBULINE®, THYMOGLOBULINE®) ou des anticorps monoclonaux (SIMULECT®, ZENAPAX®), ainsi que des corticoïdes (SOLUPRED®).

2-1-3 Contexte de l'étude STABLOCINE

Il s'agissait d'un essai de pharmacologie clinique (phase IV), ouvert, avec bénéfice individuel direct, réalisé en 1999, au sein des CHU de Limoges et Tours. Il avait pour objectif principal

d'étudier les paramètres pharmacocinétiques de la ciclosporine (NEORAL®) utilisée par voie orale en association avec le mycophénolate mofétil (CELLCEPT®), chez des patients ayant reçu une greffe rénale depuis plus de trois mois.

2-1-4 Patients de l'étude STABLOCINE

- 20 patients ayant bénéficié d'une greffe rénale depuis au moins 3 mois ont fourni chacun 1 profil pharmacocinétique. Lors de leur inclusion, des prélèvements ont été réalisés juste avant la dose matinale de ciclosporine (T0), puis à T20min, T40min, T1h, T1,5h, T2h, T3h, T4h, T6h et T9h après la prise.

Les principales caractéristiques de cette population sont reportées dans le tableau 11.

- La posologie quotidienne totale de ciclosporine était répartie en deux prises égales à 12h d'intervalle, par voie orale sous forme NEORAL®. Cette posologie était adaptée en fonction des valeurs mesurées pour la concentration résiduelle (T0). La zone cible pour cette concentration était de 100 à 300 ng/ml. La posologie du CELLCEPT®, initialement de 1g matin et soir, pouvait être adaptée au vu de critères cliniques et du rapport efficacité/tolérance.

- Les patients pouvaient recevoir des corticoïdes (SOLUPRED®) en association à la ciclosporine et au mycophénolate.

2-1-5 Méthodes de dosage pour les patients des études PRIMOCINE et STABLOCINE :

Les concentrations sanguines ont été mesurées par la méthode immuno-enzymatique EMIT (EMIT 2000 Cyclosporine Assay – Dade-Behring) à l'aide d'un automate Cobas Mira (Roche Diagnostics®). Cette technique a une limite de détection de 40µg/L (données fabricant). Pour les concentrations supérieures à 500µg/L, une dilution au quart dans du sang total humain vierge était réalisée. Cette procédure de dilution a été validée en interne en terme d'exactitude et de précision, ainsi que lors de la participation du laboratoire au contrôle de qualité externe international (Cyclosporin Proficiency Testing Scheme – <http://www.bioanalytics.co.uk> ; accessible août 2004). Cette méthode présente un CV inter-laboratoire moyen (erreur analytique) de 10,1% pour les concentrations inférieures à 500µg/L et de 7,9% pour des

concentrations de 2000 μ g/L (Analytical Services International Limited - <http://www.bioanalytics.co.uk> ; accessible août 2004).

Les concentrations sanguines de ciclosporine ont également été mesurées par une méthode FPIA et par une méthode chromatographique couplée à la spectrométrie de masse. Ces données n'ont pas été utilisées pour cette étude.

Tableau 10 : Caractéristiques de la population de transplantés rénaux dans le premier mois suivant la greffe ; étude PRIMOCINE (n=24).

	Moyenne \pm écart type	Extrêmes
Age (années)	34 \pm 12	23 – 66
Poids (kg)	65 \pm 11	42 – 89
Taille (cm)	176 \pm 9	147 – 182
Créatinémie (μ mol/L)	155 \pm 206	65 – 1053
Protéïnémie (g/L)	57,8 \pm 5,9	49 – 71
Bilirubinémie (μ mol/L)	3,6 \pm 3,6	3 – 23
TGO (mU/ml)	17,9 \pm 8,4	9 – 49
TGP (mU/ml)	24,8 \pm 23,3	7 – 124
Hématocrite	31,5 \pm 3,2	25 – 35
Dose prise matinale de Ciclosporine (mg)	225 \pm 60	100 – 400
Dose prise matinale de mycophénolate (mg)	835 \pm 115	250 – 1000

Tableau 11 : Caractéristiques de la population de transplantés rénaux au-delà du troisième mois suivant la greffe ; étude STABLOCINE (n=20).

	Moyenne \pm écart type	Extrêmes
Age (années)	47 \pm 14	21 – 70

Poids (kg)	65 ± 18	50 – 130
Taille (cm)	168 ± 8	155 – 184
Surface corporelle (m²)	1,74 ± 0,23	1,47 – 2,45
Créatinémie (µmol/L)	127 ± 30	65 – 1053
Protéinémie (g/L)	57,8 ± 5,9	49 – 71
Bilirubinémie (µmol/L)	9,9 ± 4,2	3 – 16
TGO (mU/ml)	14,5 ± 4,9	8 – 27
TGP (mU/ml)	12,8 ± 5,8	5 – 25
Hématocrite	37, ± 5,1	30,7 – 50
Dose prise matinale de Ciclosporine (mg)	125 ± 30	75 – 175
Dose prise matinale de mycophénolate (mg)	850 ± 75	500 – 1000
Délai post-greffe (j)	525 ± 305	90 – 1300

2-2 Etude pharmacocinétique

2-2-1 Approche non-compartmentale

Pour chacune des quatre périodes post-greffe étudiées, c'est à dire J3, J7, J30 et >3mois, les principaux indices d'exposition à la ciclosporine ont été étudiés: le taux résiduel observé (C0), la concentration maximale observée au cours de l'inter-dose (Cmax), le temps observé auquel apparaissait Cmax (Tmax), la concentration deux heures après la prise de CsA (C2), l'AUC0-12 et l'AUC0-4 calculées par la méthode des trapèzes.

Dans une deuxième approche, tous ces indices d'exposition (sauf Tmax) ont été pondérés par la dose matinale de CsA administrée au patient (indices D.C.= indice observé / dose administrée au patient).

Le test de Bonnferroni a été utilisé afin de comparer 2 à 2 les indices d'exposition et indices D.C. observés au cours des 3 périodes de l'étude PRIMOCINE.

Les valeurs observées à J30 ont été comparées à celle obtenues dans la population de 20 transplantés rénaux stables de l'étude STABLOCINE par le test de Mann et Whitney. L'hypothèse testée était « peut-on admettre que l'état stable est atteint à J30 ? ».

Une étude de la variabilité inter-individuelle et de la variabilité intra-individuelle a été réalisée pour les indices d'exposition et indices D.C. suivants : C0, C2, AUC0-4 et AUC0-12. Pour chaque indice, la variabilité inter-individuelle a été calculée comme le coefficient de variation (CV %) de la valeur moyenne observée au cours des 3 visites chez chaque patient. La variabilité intra-individuelle a été évaluée comme la moyenne des CV inter-occasion (n=3). Selon la classification proposée par Shah VP et al (Shah VP et al. 1996), les variabilités étaient considérées comme faibles pour des valeurs inférieures à 10%, modérées pour des valeurs comprises entre 10 et 30% et fortes pour des valeurs supérieures à 30%.

La relation entre les concentrations observées aux différents temps de l'inter-dose et l'AUC₀₋₄ ou l'AUC₀₋₁₂, et entre l'AUC₀₋₄ et l'AUC₀₋₁₂, a été étudiée par analyse de corrélation et par régression linéaire.

Toutes ces analyses statistiques ont été effectuées dans le logiciel Statview® version 5.0.1 (Abacus concept, Berkeley, USA).

2-2-2 Modélisation des données

Les travaux de modélisation des données et la mise au point des estimateurs Bayesiens ont été réalisés à l'aide de programmes développés, au sein de l'équipe de recherche DEXO, par le

Dr Jean Debord (WinReg®, CICLO®). Le logiciel WinReg® est accessible sur le site de l'université de Limoges (www.unilim.fr).

Les données ont été modélisées suivant un modèle pharmacocinétique à deux compartiments avec une élimination d'ordre 1 et une absorption décrite par une loi Gamma (Debord J et al. 2001).

La vitesse d'absorption en fonction du temps $v_a(t)$ après une administration orale est ici décrite par l'équation :

$$v_a(t) = FD \cdot f(t)$$

où F est le facteur de biodisponibilité, D la dose administrée,

et où la distribution Gamma, de paramètres a et b , est décrite par :

$$f(t) = \begin{cases} \frac{b^a}{\Gamma(a)} t^{a-1} \exp(-bt) & t \geq 0 \\ 0 & t < 0 \end{cases}$$

avec $\Gamma(a)$ la fonction Gamma définie par:

$$\Gamma(a) = \int_0^{\infty} x^{a-1} \exp(-x) dx$$

On peut remarquer que si $a = 1$, alors on retrouve une distribution exponentielle avec un paramètre b . Ceci implique que, si $a \rightarrow 1$, on obtient un modèle classique avec absorption d'ordre 1, où $b = k_a$, k_a étant la constante d'ordre 1.

La concentration $C(t)$ peut être obtenue par convolution:

$$C(t) = (v_a * I)(t) = \int_0^t v_a(u) I(t-u) du$$

soit :

$$C(t) = FD \frac{b^a}{\Gamma(a)} \int_0^t u^{a-1} \exp(-bu) \left(\sum_{i=1}^n A_i \exp[-\alpha_i(t-u)] \right) du$$

$$C(t) = FD \frac{b^a}{\Gamma(a)} \sum_{i=1}^n \left(A_i \exp(-\alpha_i t) \int_0^t u^{a-1} \exp[-(b-\alpha_i)u] du \right)$$

En utilisant le changement de variable $z = (b - \alpha_i)u$, on obtient :

$$\int_0^t u^{a-1} \exp[-(b - \alpha_i)u] du = \frac{1}{(b - \alpha_i)^a} \int_0^{(b - \alpha_i)t} z^{a-1} \exp(-z) dz$$

soit :

$$C(t) = FDA \sum_{i=1}^n A_i \left(\frac{b}{b - \alpha_i} \right)^a P[a, (b - \alpha_i)t] \exp(-\alpha_i t)$$

Où P représente la loi Gamma incomplète décrite par:

$$P(a, t) = \frac{1}{\Gamma(a)} \int_0^t z^{a-1} \exp(-z) dz$$

La description de l'absorption selon une loi Gamma permet de considérer une vitesse d'absorption nulle au temps $t=0$, puis de décrire des courbes plus étalées lorsque le temps moyen d'absorption augmente.

L'application de cette loi Gamma à un modèle à deux compartiments peut s'écrire de la façon suivante :

$$C(t) = C_0 + FDA \left(\frac{b}{b - \alpha} \right)^a P[a, (b - \alpha)t] \exp(-\alpha t) + FDB \left(\frac{b}{b - \beta} \right)^a P[a, (b - \beta)t] \exp(-\beta t)$$

Les paramètres estimés par ce modèle sont:

- La concentration résiduelle estimée \hat{C}_0 ,
- Le temps moyen d'absorption MAT ($MAT = \frac{a}{b}$),
- L'écart type sur le temps d'absorption SDAT ($SDAT = \sqrt{\frac{a}{b}}$),

- Les coefficients relatifs à la voie intraveineuse A_{IV} et B_{IV} et les constantes λ_1 et λ_2 donnés pour un modèle à 2 compartiments par l'équation $A_{IV} \cdot \exp(-\lambda_1 \cdot t) + B_{IV} \cdot \exp(-\lambda_2 \cdot t)$.

Le facteur de biodisponibilité est fixé à 1. \hat{C}_0 , A_{IV} et B_{IV} sont standardisés à une dose de 100mg.

Pour chacun des 72 profils pharmacocinétiques dont nous disposons, les paramètres individuels ont été obtenus par régression non-linéaire (RNL), en utilisant les 11 ou 12 valeurs de concentrations disponibles.

La RNL consistait ici à exprimer la relation entre les deux variables temps et concentrations sous forme d'une fonction f qui dépend de manière non-linéaire de paramètres B :

$$C_{est} = f(t_k, B)$$

où C_{est} est la concentration estimée au temps t_k .

La régression non-linéaire recherche les valeurs des paramètres B qui rendent minimale la somme des carrés des écarts pondérée :

$$SSr = \sum_{k=1}^n W_k \cdot (C_{obs} - C_{est})^2 = \Phi(B)$$

où n est le nombre d'observations, C_{obs} est la concentration vraie (observée) et W_k le poids associé à cette concentration.

Le poids W_k est considéré comme inversement proportionnel à la variance analytique V_k .

L'écart type sur les concentrations observées ($\sqrt{W_k}$) est exprimé ici à l'aide de la fonction logistique suivante :

$$\sqrt{W_k} = \frac{0,13}{1 + \exp(-3,1 \cdot C_{obs} + 1,4)} - 0,28$$

Cette fonction logistique a été définie pour des valeurs de concentrations comprises entre 0,050 et 2,5 mg/L (Léger F et al. 2002).

Lorsque f est une fonction non linéaire des paramètres B, le minimum ne peut être trouvé que par une méthode itérative : on part avec une estimation initiale des paramètres, que l'on affine à chaque étape jusqu'à ce que les paramètres « ne varient plus ». Ce problème peut en principe être résolu par n'importe lequel des nombreux algorithmes de minimisation disponibles. Nous avons utilisé l'algorithme Nelder-Mead simplex.

Les comparaisons entre les AUC observées (obtenues par la règle des trapèzes) et celles calculées par RNL, ainsi que les comparaisons entre les concentrations mesurées et celles estimées (n=396 dans chacun des 2 groupes) ont été réalisées par une analyse de régression, ainsi que par le calcul du biais moyen et l'erreur quadratique moyenne ou RMSE (Root-Mean-Square-Error).

$$RMSE = \left[\frac{1}{n} \sum_{n=1}^n (\text{estimé} - \text{observé})^2 \right]^{1/2}$$

2-2-3 Estimateurs Bayésiens

A partir des paramètres pharmacocinétiques individuels obtenus par RNL, la moyenne, la médiane, l'écart-type, le coefficient de dispersion à 50% ($DF50 = [Q75 - Q25]/1,32$) et la matrice de corrélation des 8 paramètres du modèle ont été calculés. Si les moyennes des paramètres estimés à J3, J7 et J30 étaient significativement différentes, il était décidé de constituer différentes populations de référence. La même stratégie a été précédemment

proposée par notre équipe pour des patients transplantés cardiaques ayant fourni des profils PK 7 jours, 1 mois et 1 an après la greffe (Monchaud C et al. 2003).

Avec un effectif de 24 patients pour chaque population, il était impossible de créer à la fois un groupe permettant de construire le modèle et un autre servant à la validation de celui-ci. Ainsi, aux fins de validation, la méthode de permutation circulaire a été utilisée. Cette méthode consiste à créer n populations incluant n-1 patients. Les paramètres de chaque patient sont à nouveau estimés avec un modèle développé à l'aide d'une population dont il a été exclu. Un test statistique est alors appliqué afin de comparer les paramètres obtenus entre le modèle à tester et ceux obtenus avec n-1 patients.

Les paramètres pharmacocinétiques ont été obtenus par estimation Bayésienne suivant la fonction objective suivante:

$$\Phi(\theta) = \sum_{i=1,n} [C_i - f(t_i, \theta)]^2 / V_i + (\theta - \mu)^T \Omega^{-1} (\theta - \mu)$$

Où : n est le nombre de points expérimentaux ; C_i est la concentration observée au temps t_i ; $f(t_i, \theta)$ est la concentration estimée au temps t_i ; V_i est la variance de la concentration observée ; θ est le vecteur des paramètres du modèle ; μ est la moyenne du paramètre dans la population ; et Ω est la matrice de variance-covariance des paramètres de la population.

Toutes les combinaisons incluant au maximum 3 points de prélèvements dans les quatre premières heures de l'inter-dose ont été testées. Puis, afin de tester la validité de ces estimateurs Bayésiens dans les conditions d'une activité de routine, la meilleure stratégie d'échantillonnage limité (LSS) comportant 3 points de prélèvement dans les quatre premières heures de l'inter-dose a été recherchée.

La minimisation du critère d'optimisation D a été utilisée comme critère de comparaison des différentes LSS (D'Argenio DZ. 1981). Le critère d'optimisation D consiste en la

comparaison des logarithmes des déterminants des matrices de variance-covariance (det V) de la distribution *a posteriori*, obtenus pour chacune des combinaisons de points testées. Mais, chacune des combinaisons a également été testée pour sa capacité à prédire l'AUC₀₋₁₂. Le biais moyen, la RMSE, les paramètres de la droite de régression et le test de Wilcoxon entre l'AUC₀₋₁₂ calculée par la méthode des trapèzes et celle estimée par estimation Bayésienne avec 3 points ont été utilisés pour cette évaluation. Le nombre de patients dont l'estimation par LSS présentait un biais supérieur à +20% ou inférieur à -20% a également été considéré comme un critère de choix.

2-2-4 Etudes des performances des estimateurs Bayésiens

La précision de prédiction des indices C₀, C₂, AUC₀₋₁₂ et AUC₀₋₄ par les estimateurs Bayésiens a été évaluée en comparant les valeurs calculées aux valeurs expérimentales, par régression linéaire, calcul du biais moyen et de la RMSE, ainsi que par le test de Wilcoxon.

3- Résultats

3-1 Approche non-compartmentale

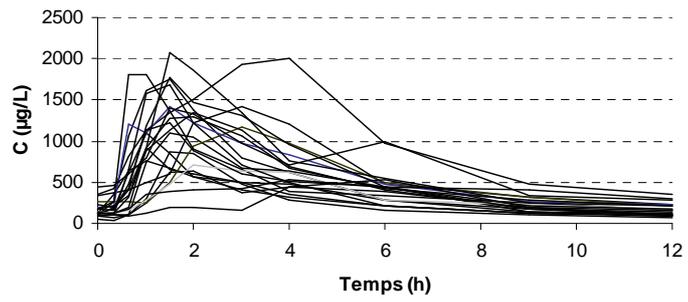
Les courbes décrivant l'évolution des concentrations observées en fonction du temps obtenues au cours des études PRIMOCINE et STABLOCINE sont représentées sur la figure 3.

Les valeurs des principaux indices d'exposition à la ciclosporine observés au cours de l'étude PRIMOCINE et de l'étude STABLOCINE sont reportées dans le tableau 12 :

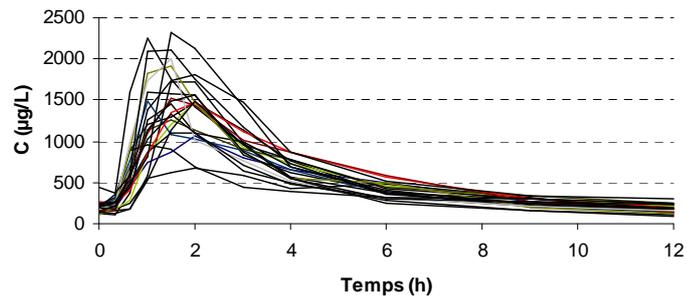
Tableau 12: Principaux indices d'exposition à la ciclosporine observés au cours du premier mois dans une population de 24 transplantés rénaux de novo, et chez 20 patients « stables » greffés depuis plus de 3 mois.

	<i>Délai post-transplantation</i>			
	<i>J3 (n=24)</i>	<i>J7 (n=24)</i>	<i>J30 (n=24)</i>	<i>> 3 mois (n=20)</i>
Dose matinale (mg)	238 ± 54	237 ± 63	192 ± 69	128 ± 30
Taux résiduel C0 (µg/L)	162 ± 78	203 ± 68	199 ± 41	135 ± 41
C0 D.C. (µg/L/mg)	0,69 ± 0,32	0,94 ± 0,47	1,16 ± 0,48	1,14 ± 0,53
C2 (µg/L)	1020 ± 431	1343 ± 368	1108 ± 383	782 ± 194
C2 D.C. (µg/L/mg)	4,20 ± 1,43	5,94 ± 1,46	6,11 ± 2,11	6,47 ± 2,1
Cmax (µg/L)	1248 ± 483	1526 ± 392	1380 ± 544	1156 ± 301
Cmax D.C. (µg/L/mg)	5,18 ± 1,55	6,79 ± 2,10	7,70 ± 3,58	9,68 ± 3,55
Tmax (h)	2,12 ± 1,24	1,60 ± 0,34	1,57 ± 0,33	1,16 ± 0,27
AUC ₀₋₁₂ (µg.h/L)	5640 ± 2170	6380 ± 1030	5490 ± 1260	4225 ± 909
AUC₀₋₁₂ D.C. (µg.h/L/mg)	24 ± 8	27 ± 8	32 ± 11	35 ± 12
AUC ₀₋₄ (µg.h/L)	3067 ± 1270	3750 ± 800	3130 ± 930	2564 ± 584
AUC₀₋₄ D.C. (µg.h/L/mg)	13 ± 4	17 ± 5	18 ± 7	21 ± 7

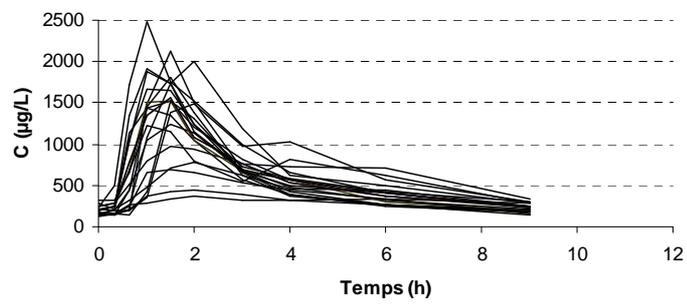
J3



J7



J30



> 3mois

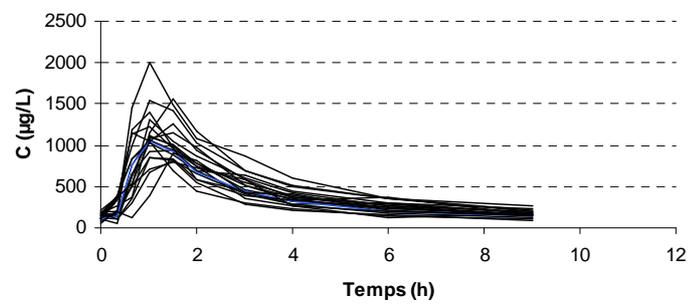


Figure 3 : Profils d'évolution des concentrations de ciclosporine en fonction du temps observés chez des transplantés rénaux, 3 jours, 7 jours et 30 jours après la greffe (n=24), et pour des délais supérieurs à 3 mois (n=20).

- En comparant les valeurs observées au cours du premier mois suivant la greffe, il a été observé que :

- Les valeurs moyennes de C₀, C₂ et AUC₀₋₄ augmentaient significativement entre le troisième et le septième jour ($p < 0,05$). Une tendance similaire ($p < 0,1$) était observée pour les valeurs moyennes d'AUC₀₋₁₂ et C_{max}.
- Les valeurs moyennes de C₀, C₂, AUC₀₋₄, AUC₀₋₁₂ et T_{max} étaient significativement diminuées entre J7 et J30 ($p < 0,05$).
- Les doses administrées aux patients étaient similaires à J3 et J7, mais significativement plus faibles à J30 ($p < 0,01$).

- Dans une seconde approche, les comparaisons effectuées entre les indices D.C. observés au cours du premier mois ont montré :

- Entre J3 et J7, une augmentation significative des valeurs moyennes de C₂ D.C. et d'AUC₀₋₄ D.C. ($p < 0,05$). Une tendance similaire était observée pour les valeurs moyennes de C_{max} D.C. et C₀ D.C. ($p = 0,098$ et $0,085$, respectivement ; n.s).
- Aucune différence significative entre les valeurs observées à J7 et celles observées à J30, mais une tendance concordante à l'augmentation pour tous les indices (sauf T_{max}).
- Une augmentation significative de tous les indices D.C. entre J3 et J30 ($p < 0,05$).

- La comparaison des valeurs des indices d'exposition à la ciclosporine avec celles obtenues dans la population de transplantés greffés depuis plus de 3 mois a montré :

- Une diminution significative de tous les indices d'exposition ($p < 0,05$) et de la dose moyenne administrée ($p < 0,01$) entre J30 et la période « stable », sauf pour Cmax.
 - Aucune différence significative entre les indices D.C. observés à J30 et ceux observés pour des délais supérieurs, sauf pour Cmax D.C. qui augmentait sensiblement ($7,70 \pm 3,58$ vs $9,68 \pm 3,55$; $p = 0,06$ n.s). Toutefois, C2 D.C., AUC₀₋₁₂ D.C. et AUC₀₋₄ D.C. montraient également une tendance à l'augmentation entre J30 et la période « stable ».
- Les résultats de l'analyse des variabilités inter- et intra-individuelles calculées au cours du premier mois post-transplantation sont résumés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Etude des variabilités inter- et intra-individuelles des principaux indices d'exposition à la ciclosporine observés au cours du premier mois suivant la greffe chez 24 transplantés rénaux *de novo*.

	Variabilité inter-individuelle (CV%)			Variabilité intra-individuelle (%)
	J3	J7	J30	
C0	48	21	34	34
C0 / dose	48	50	42	39
C2	43	35	27	34
C2 / dose	34	35	31	36
AUC 0-4	42	21	21	31
AUC 0-4 / dose	34	28	40	32
AUC 0-12	53	36	30	27
AUC 0-12 / dose	35	26	34	27

- Des variabilités inter-individuelles modérées à forte ont été calculées pour tous les indices et indices D.C. Pour les indices C0, C2, AUC₀₋₄ et AUC₀₋₁₂, il a été constaté une diminution de

la variabilité inter-individuelle entre J3 et J30. Il faut rappeler que l'adaptation de posologie était réalisée à partir de la mesure de C0 dans cette étude.

- La figure 4 représente les coefficients de variation des concentrations mesurées, à chacune des 3 visites, à chaque temps de prélèvement.

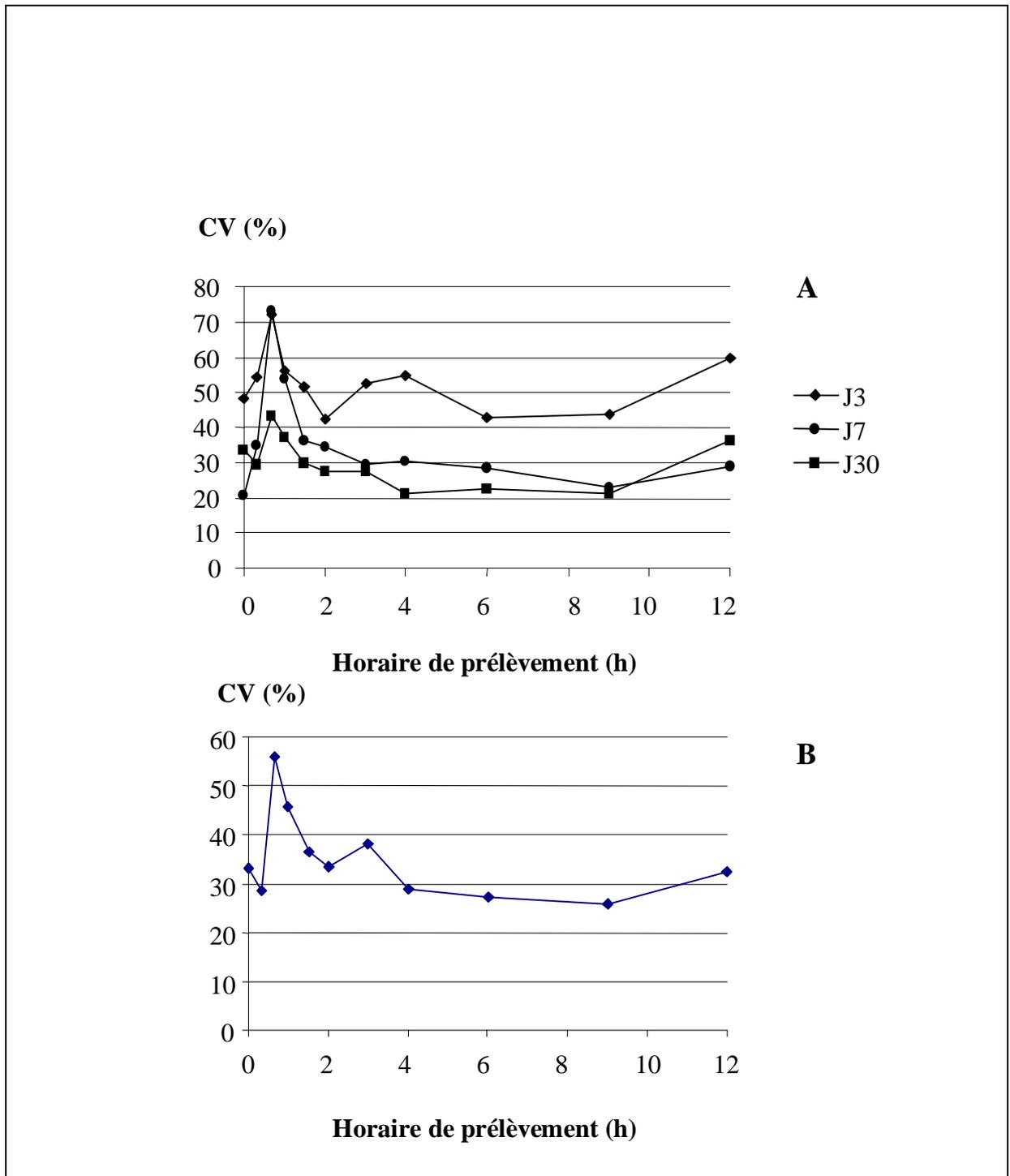


Figure 4 : Variabilité inter-individuelle (A) et intra-individuelle (B) des concentrations observées en fonction des horaires de prélèvements au cours du premier mois chez 24 transplantés rénaux *de novo*.

La diminution de la variabilité inter-individuelle en fonction du délai post-greffe a été confirmée par le calcul des CV moyens des concentrations aux différents temps de prélèvement : 52,5% à J3 ; 35,7% à J7 et 29,9% à J30. La variabilité inter-individuelle était maximale pour les 3 périodes pour les concentrations mesurées à T = 40min (CV = 72%, 73% et 44% à J3, J7 et J30, respectivement).

A J3, tous les horaires de prélèvement renvoyaient à un CV inter-individuel supérieur à 40%.

- La variabilité intra-individuelle la plus faible a été observée pour l'AUC₀₋₁₂ et l'AUC₀₋₁₂ D.C. En ce qui concerne les horaires de prélèvements, la variabilité la plus forte a été observée pour T = 40 min (CV = 56%). Tous les horaires présentaient un CV supérieur à 25%, et la moyenne observée était de 35%.

- Le tableau 14 résume les résultats obtenus lors d'une analyse de régression visant à rechercher quels étaient les temps de prélèvements qui conduisaient aux meilleures corrélations entre concentration et AUC₀₋₄ ou AUC₀₋₁₂.

Tableau 14 : Corrélations entre concentrations et AUC₀₋₄ ou AUC₀₋₁₂ au cours du premier mois chez 24 transplantés rénaux de novo.

	J3 (n=24)		J7 (n=24)		J30 (n=24)	
	Coefficients de détermination (r ²) de l'analyse de régression					
	AUC 0-12	AUC 0-4	AUC 0-12	AUC 0-4	AUC 0-12	AUC 0-4
C0	0,61	0,37	0,17	0,25	0,21	0,28
C 20min	0,34	0,22	0,05	0,01	0,36	0,38
C 40 min	0,18	0,32	0,02	0,03	0,32	0,48
C 1h	0,18	0,47	0,19	0,28	0,31	0,65
C 1,5h	0,33	0,66	0,47	0,76	0,53	0,80
C 2h	0,64	0,83	0,61	0,77	0,69	0,81
C 3h	0,91	0,79	0,61	0,65	0,83	0,66
C 4h	0,83	0,50	0,68	0,401	0,61	0,28
C 6h	0,57		0,24		0,36	
C 9h	0,76		0,17		0,38	
C 12h	0,47		0,09		0,15	

- A J3, les valeurs de C3 et C4 étaient les mieux corrélées à l'AUC0-12 (r²=0,91 et 0,83 respectivement). A J7, aucun horaire de prélèvement n'était correctement corrélé à l'AUC0-12 (au mieux r² = 0,68 pour C4). A J30, la valeur de C3 était la mieux corrélée (r² = 0,83).

- Au cours des trois périodes de suivi, des coefficients de détermination très faibles ont été calculés entre C0 et AUC₀₋₄ (au mieux, la valeur atteignait 0,34 à J3), et entre C0 et AUC₀₋₁₂ (au mieux r²=0,62).

- A J3, J7 et J30, C2 était la concentration la mieux corrélée à l'AUC₀₋₄ (valeurs de r² entre 0,77 et 0,88) parmi les 8 horaires de prélèvement.

- C2 était faiblement corrélé à l'AUC0-12, aux 3 périodes.

- Des coefficients de détermination (r^2) de 0,84, 0,81 et 0,81 ont été calculés entre AUC_{0-4} et AUC_{0-12} au cours des trois périodes, respectivement (figure 5).

- L'AUC 0-4 représentait en moyenne 57% de l'AUC0-12 (n=72 profils).

- Le calcul suivant a été réalisé :

$$\text{Variance } AUC_{0-12} = \text{Variance } AUC_{0-4} + \text{Variance } AUC_{4-12} + 2 \text{ Covariances } AUC_{0-4}/AUC_{4-12}.$$

Pour ce calcul, les valeurs d'AUC obtenues à J3, J7 et J30 ont été utilisées. Il a permis d'estimer qu'en moyenne la variabilité de l'AUC0-4 représentait 38,5% de la variabilité observée pour l'AUC₀₋₁₂.

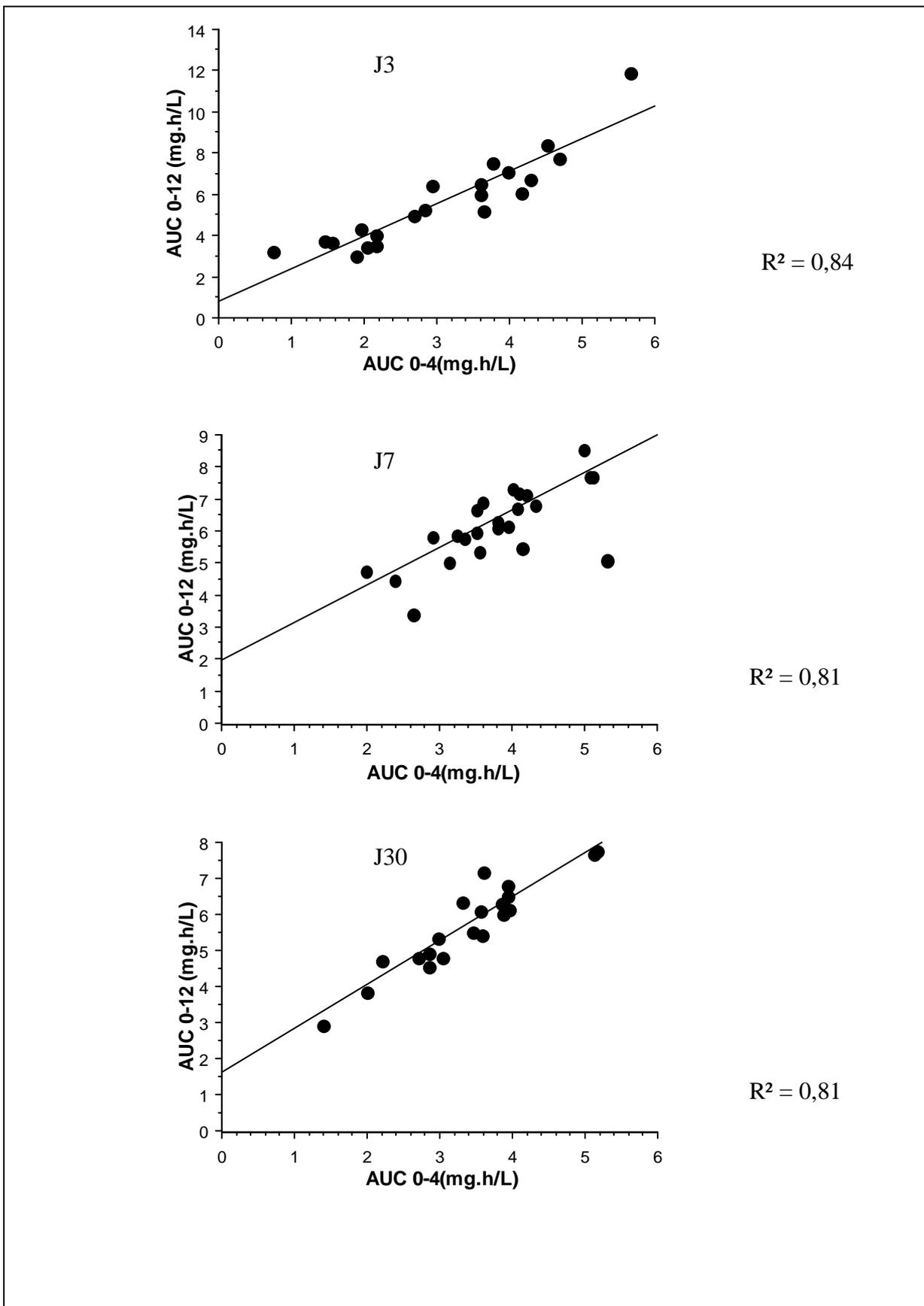


Figure 5 : Etude de corrélation entre AUC 0-4 et AUC 0-12 au cours du premier mois suivant une transplantation rénale (n=24)

3-2 Modélisation

Le modèle à 2 compartiments avec absorption décrite par une loi Gamma et élimination d'ordre un, précédemment mis au point chez des greffés rénaux stables (STABLOCINE) et publié (Debord J et al. 2001), a également permis de décrire de façon satisfaisante les données expérimentales des patients *de novo* (PRIMOCINE). Les biais moyens entre concentrations observées et concentrations estimées par RNL (n=288) étaient de $3,2 \pm 16,6\%$, $2,1 \pm 13,0\%$ et $2,2 \pm 13,9\%$ à J3, J7 et J30 respectivement. Les paramètres pharmacocinétiques (moyenne \pm écart type) calculés à chaque période sont rapportés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Paramètres pharmacocinétiques calculés à l'aide d'un modèle à 2 compartiments avec absorption « Gamma » chez 24 transplantés rénaux *de novo* au cours du premier mois suivant la greffe. (* : $p < 0,05$ entre J3 et J30 ; ** : $p < 0,05$ entre J3 et J7).

Paramètres	Délai post-transplantation					
	J3 (n=24)		J7 (n=24)		J30 (n=24)	
	Moyenne \pm écart type	Médiane \pm DF 50	Moyenne \pm écart type	Médiane \pm DF 50	Moyenne \pm écart type	Médiane \pm DF 50
Ĉ0 (mg/L)	0,13 \pm 0,05	0,11 \pm 0,04	0,17 \pm 0,05	0,16 \pm 0,04	0,16 \pm 0,05 *	0,16 \pm 0,02
MAT (h)	1,39 \pm 0,82	1,18 \pm 0,81	1,09 \pm 0,28	1,05 \pm 0,18	1,07 \pm 0,24 *	1,06 \pm 0,15
SDAT (h)	0,51 \pm 0,33	0,36 \pm 0,25	0,41 \pm 0,13	0,40 \pm 0,05	0,40 \pm 0,16	0,37 \pm 0,12
F.A (L-1)	0,54 \pm 0,46	0,57 \pm 0,43	0,77 \pm 0,69	0,49 \pm 0,75	1,09 \pm 1,41	0,92 \pm 0,63
F.B (L-1)	0,57 \pm 0,17	0,53 \pm 0,28	0,65 \pm 0,23	0,70 \pm 0,15	0,65 \pm 0,30	0,64 \pm 0,21
T1/2₁ (h)	0,26 \pm 0,31	0,14 \pm 0,15	0,26 \pm 0,28	0,14 \pm 0,15	0,32 \pm 0,37	0,17 \pm 0,11
T1/2₂ (h)	1,94 \pm 1,22	1,64 \pm 0,92	1,62 \pm 0,40	1,61 \pm 0,29	2,03 \pm 1,14	1,80 \pm 0,65
Vc/F (L)	122 \pm 80	101 \pm 73	101 \pm 70	70 \pm 64	82 \pm 40 (p=0,06)	78 \pm 28
CL/F (L.h⁻¹)	49 \pm 13	47 \pm 11	39 \pm 11 **	37 \pm 8	37 \pm 14 *	36 \pm 11

Il semble que ces paramètres estimés par RNL suivent une distribution normale. En effet, les médianes étaient proches des moyennes, les valeurs de DF50 étaient voisines de celles des écart-types, et le test de Kolmogorov-Smirnov n'a retrouvé aucune déviation significative à la normalité pour chacun des paramètres.

Les paramètres \hat{C}_0 et CL/F augmentaient significativement entre J3 et J30 ($p < 0,05$). Cette évolution était observée dès J7 pour CL/F ($p < 0,05$). Le paramètre MAT diminuait significativement entre J3 et J30 ($p < 0,05$). Les performances de ce modèle en terme d'estimation des principaux indices d'exposition sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 16 : Performances du modèle à 2 compartiments avec absorption « Gamma » pour l'estimation des principaux paramètres d'exposition à la ciclosporine chez 24 transplantés rénaux au cours du premier mois suivant la greffe.

Délai postgreffe	Indice d'exposition	Biais moyen (%)	Extrêmes	RMSE (%)	Nombre de patients avec biais $> \pm 20\%$
J3 (n=24)	C0	16,4	(-39,0 ; 38,7)	20,0	4
	C2	0,9	(-13,4 ; 14,4)	6,5	0
	AUC 0-4	-1,6	(-11,4 ; 4,1)	3,9	0
	AUC 0-12	-5,4	(-27 ; 12,3)	8,9	1
J7 (n=24)	C0	16,3	(-31,8 ; -4,9)	16,4	5
	C2	1,2	(-12,8 ; 17,1)	8,1	0
	AUC 0-4	-1,5	(-6,3 ; 0,4)	2,8	0
	AUC 0-12	-4,7	(-13,6 ; 0,7)	7,6	0
J30 (n=24)	C0	12,4	(-22,5 ; 18,4)	13,3	2
	C2	1,1	(-9,7 ; 8,7)	6,9	0
	AUC 0-4	-0,2	(-0,4 ; 0,4)	2,3	0
	AUC 0-12	-4,6	(-10,6 ; -0,2)	5,2	0

A titre d'illustration, la figure 6 présente trois profils modélisés.

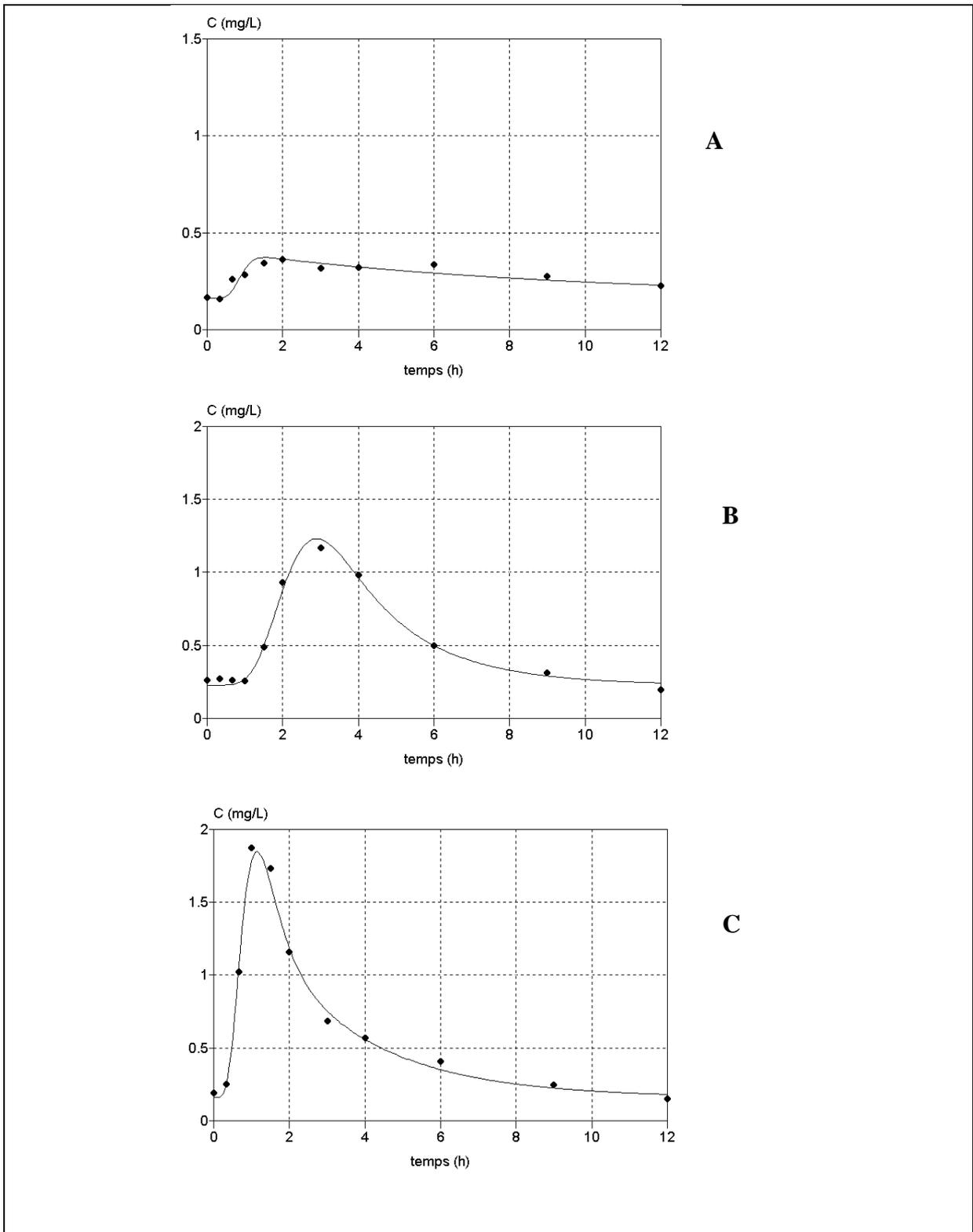


Figure 6 : Modélisation de profils PK à l'aide du modèle bicompartimental avec absorption « Gamma » chez des greffés rénaux au cours du premier mois post-transplantation. A : J3 post-greffe ; B : J7 post-greffe ; C : J30 post-greffe.

3-3 Estimateurs Bayesiens

Les valeurs des paramètres obtenus par RNL ont été utilisés comme information *a priori* pour le développement d'estimateurs Bayesiens.

La minimisation du critère d'optimisation D n'a pas permis d'individualiser, parmi toutes les combinaisons, une stratégie d'échantillonnage limité maximisant la précision d'estimation des paramètres. En effet, des valeurs très voisines ont été obtenues pour de nombreuses LSS. Parmi celles-ci, nous avons alors recherché celle qui permettait d'estimer au mieux l'AUC₀₋₁₂. La figure 7 présente un résumé de cette analyse.

- Pour chacune des trois périodes, la stratégie d'échantillonnage incluant des prélèvements à T0, T1,5h et T4h a été identifiée comme celle permettant l'estimation la plus précise de l'AUC₀₋₁₂ chez les 24 patients. Les coefficients de détermination (r^2) calculés entre AUC estimées par cette LSS et celles obtenues par la méthode des trapèzes étaient respectivement de 0,98, 0,91 et 0,95 à J3, J7 et J30. La pente et l'ordonnée à l'origine de ces droites de corrélation étaient non significativement différentes de 1 et 0, respectivement. Un seul patient (à J30) présentait un biais supérieur à 20% (de 24,6%) pour l'estimation de l'AUC₀₋₁₂ par cette stratégie. Cette stratégie a été retenue pour les estimateurs Bayesiens.

- A J3, plusieurs LSS présentaient une très forte corrélation avec l'AUC₀₋₁₂. Les stratégies C0-C3-C6, C0-C2-C9 ou C0-C1,5-C9 semblaient permettre une très bonne estimation de cet indice ($r^2 > 0,9$). A J7, seule la stratégie C0-C1,5-C4h permettait d'obtenir une valeur de r^2 supérieure à 0,9. A J30, des stratégies très voisines de celle retenue permettaient également de bien estimer l'AUC : C0-C1,5-C3, C0-C1-C4 et C0-C1-C3. Le tableau 17 rapporte les performances de cette LSS pour chacune des trois périodes.

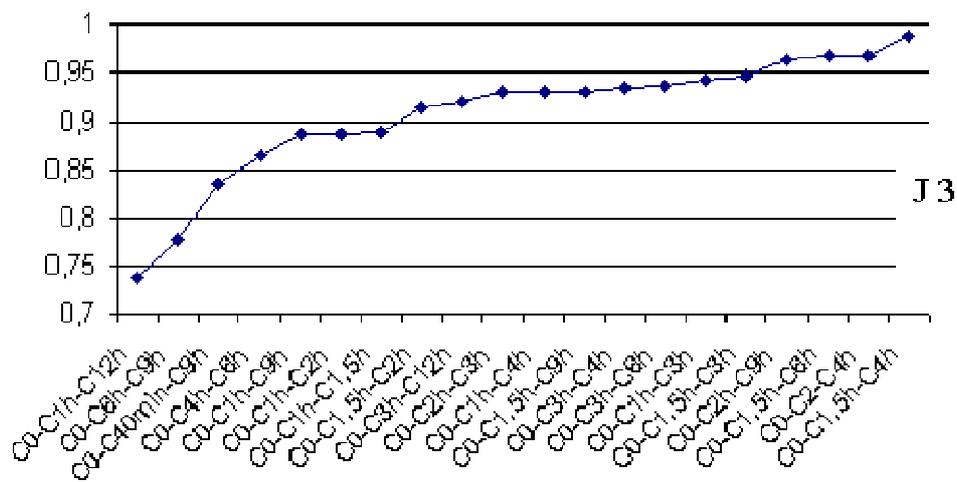
- D'autre part, la stratégie C0-C1-C3 sélectionnée précédemment pour les transplantés rénaux stables (Léger F et al. 2002), chez les greffés cardiaques (Monchaud C et al. 2003) et

pulmonaires (Rousseau A et al. 2003), permettait, dans cette population de transplantés *de novo*, d'estimer l'AUC avec un biais moyen de $-4,5 \pm 15,6$ % à J3 (2 patients avec un biais > 20%), $-3,2 \pm 6,2$ % à J7 (1 patient avec un biais > 20%), et $4,7 \pm 2,5$ % à J30 (0 patient avec un biais > 20%).

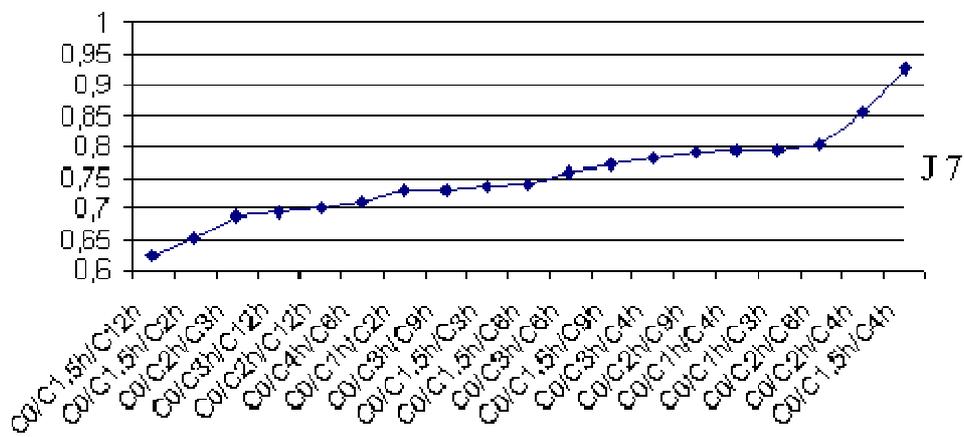
Tableau 17: Performances de la stratégie d'échantillonnage C0-C1,5-C4 pour l'estimation Bayésienne de l'AUC₀₋₁₂ de la ciclosporine chez des transplanté rénaux *de novo* (n=24).

Délai postgreffe	J3 (n=24)	J7 (n=24)	J30 (n=24)
Meilleure LSS	C0 – 1,5h – C4h	C0 – 1,5h – C4h	C0 – 1,5h – C4h
Biais moyen % (\pm écart type)	0,9 \pm 4,6	3,2 \pm 6,2	1,7 \pm 9,5
RMSE %	4,9	6,8	9,4
Patients avec un biais <-20% ou >20%	0	0	1

$R^2 \text{ AUC}_{\text{LSS}} / \text{AUC}_{\text{TRAP}}$



$R^2 \text{ AUC}_{\text{LSS}} / \text{AUC}_{\text{TRAP}}$



$R^2 \text{ AUC}_{\text{LSS}} / \text{AUC}_{\text{TRAP}}$

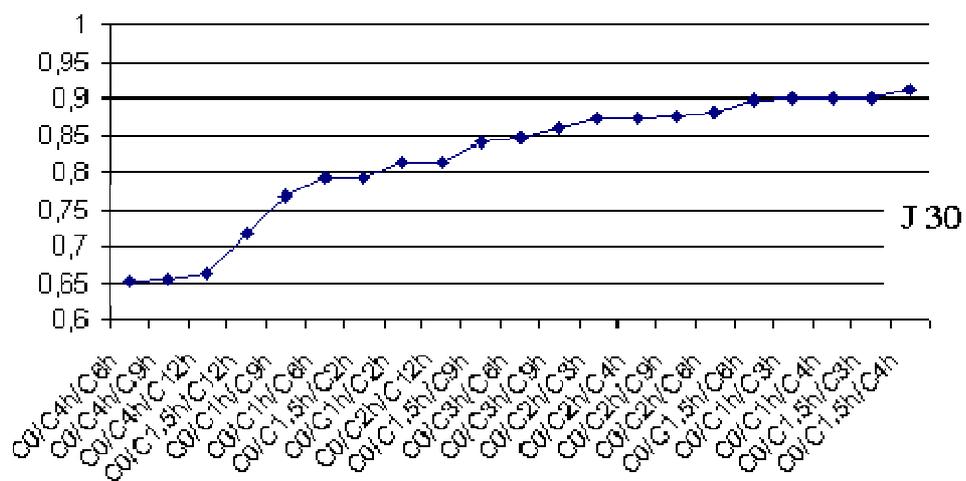


Figure 7 : Etude de corrélation entre AUC₀₋₁₂ estimée par estimation Bayésienne à l'aide de différentes stratégies d'échantillonnage limité et l'AUC₀₋₁₂ de référence (méthode des trapèzes) à J3, J7 et J30 post-greffe chez 24 transplantés rénaux.

4- Discussion

L'obtention la plus précoce possible, dès les tous premiers jours suivant la greffe, et le maintien d'une exposition efficace à la ciclosporine semble réduire de façon significative les risques d'apparition d'un rejet aigu ou chronique (Mahalati K et al. 2000 ; Lindholm A et al. 1993). La difficulté à atteindre très rapidement une exposition efficace reste cependant un problème majeur. Au cours de l'étude MO2ART, il a été observé que seulement 21 patients sur 108 (19,5%) avec une reprise tardive de fonction du greffon avaient atteint la cible visée de C2 (1600 µg/L) au cinquième jour suivant une greffe rénale (Thervet E et al. 2003). Dans la présente étude, seulement 33% des patients à J3 et 66% des patients à J7 se trouvaient dans la zone thérapeutique cible de C0. Ces résultats sont relativement proches de ceux observés par le groupe Canadien (56% des patients dans la cible 250-450µg/L à J3) (Canadian Neoral Transplantation Study Group. 2001) et de Felipe et al. (39% des patients dans la cible 200-400 µg/L à J4) (Felipe CR et al. 2003).

L'absorption orale des médicaments est généralement réduite après la transplantation, notamment à cause d'une diminution de la motilité intestinale (Gubbins PO et al. 1991). De ce fait, les doses administrées aux patients dans les premiers jours suivant la chirurgie sont toujours élevées. Dans cette étude, la dose matinale à J3 était en moyenne de 238 ± 54 mg contre 190 ± 69 mg à un mois. Bien que les cibles de C0 soient différentes d'une étude à l'autre, cette diminution significative des doses a été rapportée dans chacun des articles concernant le suivi de transplantés rénaux *de novo* durant cette période (Canadian Neoral

Transplantation Study Group. 2001 ; International Neoral Renal Transplantation study Group. 2002 ; Felipe CR et al. 2003).

Pour tous les indices d'exposition rapportés à la dose administrée, une augmentation significative a été observée entre le troisième et le trentième jour suivant la greffe. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par l' « International Neoral Renal Transplantation Study Group » dans une population similaire de 24 transplantés rénaux suivis entre le troisième jour et le troisième mois (International Neoral Renal Transplantation Study Group. 2002). Dans une étude réalisée chez 23 transplantés, Felipe et al. avait également rapporté une augmentation progressive des indices d'exposition à la ciclosporine entre le quatrième jour et le deuxième mois suivant la greffe (Felipe CR et al. 2003).

D'autre part, dans notre étude, aucune différence significative, en terme d'exposition rapportée à la dose, n'a été observée entre la fin du premier mois et des délais supérieurs après transplantation. Ces résultats confirment ceux rapportés par Felipe et al. qui n'avaient observé aucune variation significative du paramètre AUC D.C. entre le deuxième et le troisième mois, puis entre le troisième et le sixième mois suivant la greffe (Felipe CR et al. 2003). En 1998, Keown et al. avaient observé que l'AUC₀₋₁₂ se stabilisait entre la 4^e et la 6^e semaine dans une population de 167 greffés rénaux suivis entre la 2^e et la 12^e semaine (Keown PA et al. 1998).

L'augmentation progressive de l'exposition à la ciclosporine au cours du premier mois est un phénomène encore inexpliqué. Bien que la forme Neoral® ait amélioré la solubilité et la diffusion de la ciclosporine au niveau intestinal, l'activité des isoformes du cytochrome P450 3A intestinal et de la glycoprotéine-P influence de façon sensible l'absorption de la ciclosporine (Hebert MF et al. 1997 ; Lampen A et al. 1996). Chez le rat, il a été montré une diminution progressive de l'expression du CYP450 3A4 et de l'activité métabolique microsomiale après une administration chronique de ciclosporine (Brunner LJ et al. 1998).

Cette inhibition temps-dépendante du CYP450 par la ciclosporine pourrait expliquer en partie les changements pharmacocinétiques observés.

Cette étude rapporte une variabilité pharmacocinétique inter-individuelle très importante. Notamment, une variabilité moyenne des concentrations au cours de l'interdose supérieure à 50% a été calculée au 3^e jour suivant la greffe. A cette période, chaque concentration présentait une variabilité inter-individuelle supérieur à 40%. Ces chiffres sont difficilement comparables à ceux de la littérature dans la mesure où des prélèvements à T20min et T40min (présentant de très fortes variabilités inter-individuelles) n'ont pas été réalisés dans les études publiés jusqu'alors. Toutefois, en utilisant les données publiées de l'étude du Groupe International chez des transplantés rénaux (8 prélèvements entre deux doses), nous avons estimé la variabilité inter-individuelle des concentrations à 38% à J3 (International Neoral Renal Transplantation Study Group. 2002).

Notre étude a permis d'observer une diminution progressive de la variabilité inter-individuelle des principaux indices d'exposition à la ciclosporine au cours du premier mois. Cette variabilité inter-individuelle était modérée à élevée pour C0, C2, AUC₀₋₄ et AUC₀₋₁₂. L'AUC₀₋₁₂ présentait la variabilité inter-individuelle la plus élevée (53% et 36% à J3 et J7, respectivement), qui n'était dépassée que par celle de C0 à J30 (34% et 30% respectivement).

D'autre part, nous avons estimé que la variabilité de l'AUC₀₋₄ expliquait moins de 40% de la variabilité de l'AUC₀₋₁₂. Ce résultat n'est pas en accord avec ceux publiés par A. Johnston en 2000 (Johnston A et al. 2000). Cette étude rapportait une variabilité inter-individuelle maximale entre C0 et C2 chez 65 rénaux stables ainsi que chez 15 transplantés cardiaques *de novo*. Par extension, ces auteurs avaient conclu que la plus grande variabilité de la PK du Neoral était imputable aux 4 premières heures de l'inter-dose. Nous n'avons pas

retrouvé ce résultat d'après les AUC_{0-4} et AUC_{0-12} estimées par la méthode des trapèzes dans une population de 24 patients greffés depuis moins de 1 mois.

La variabilité intra-individuelle moyenne pour l'ensemble des concentrations observées était de 35%. En étudiant les concentrations correspondant à chacun des horaires de prélèvement, il a été constaté que les CV inter-occasion étaient tous supérieurs à 25%. Parmi les paramètres d'exposition, l' AUC_{0-12} présentait la plus faible variabilité intra-individuelle au cours de cette étude (27%). Cette observation, qui s'ajoute au fait que l' AUC_{0-12} présentait la plus importante variabilité inter-individuelle, est un argument en faveur d'une utilisation de l' AUC_{0-12} pour le suivi thérapeutique de la ciclosporine. En effet, le STP devrait toujours, à notre sens, être réalisé sur la base d'un indice présentant à la fois une forte variabilité inter-individuelle et une faible variabilité intra-individuelle.

Cette étude rapporte une faible, voire une absence de corrélation entre C0 et exposition globale à la ciclosporine exprimée sous la forme AUC_{0-12} . Ceci confirme les résultats de nombreuses études ayant montré une absence de corrélation entre cet indice et l'apparition de signes de rejet ou le développement d'une néphrotoxicité (Oellerich et al. 1995 et 1998). En accord avec les principales publications parues récemment, le C2 s'est montré être le point le mieux corrélé à l' AUC_{0-4} (Keown P et al. 1998 ; Mahalati K et al. 1999 ; Kelles A et al. 1999 ; Cantarovich M et al. 1998). Cependant, une corrélation imparfaite entre AUC_{0-4} et AUC_{0-12} a été retrouvée au cours de notre étude (r^2 de l'ordre de 0,80). De plus, C2 ne semblait pas être bien corrélé à l' AUC_{0-12} ($r^2 < 0,7$), et l' AUC_{0-4} ne représentait que 57% de l' AUC_{0-12} , en moyenne. Ces résultats confirment ceux du Groupe International ayant rapporté une corrélation moyenne entre C2 et exposition globale au Neoral® au cours des 2 premières semaines suivant la greffe chez 16 patients (r^2 entre C2 et AUC_{0-12} : 0,35 à J3 ; 0,59 à J7 ; 0,67 à J14), ainsi que chez 24 autres transplantés (r^2 entre C2 et AUC_{0-12} : 0,43 à J7 ; 0,71 à J14). Il semblerait, d'après nos travaux mais aussi d'après la littérature, qu'un point plus

tardif C3 ou C4 soit un indice mieux corrélé à l'AUC₀₋₁₂. Pour autant, le C2 semble avoir trouvé sa place dans les premières semaines suivant une greffe rénale. L'efficacité du suivi thérapeutique sur la base du C2 a essentiellement fait l'objet de travaux visant à comparer ses performances à celles du C0, et montrant sa supériorité (Levy GA et al. 2001 ; Cantarovich M et al. 2003). D'autre part, de nombreuses études ont illustré son efficacité sur le plan clinique chez le transplanté rénal, hépatique et cardiaque ((Levy GA et al. 2002). Notamment, les résultats de l'étude MO2ART publiés à la fin de l'année 2003 ont rapporté de très bons résultats en terme d'effets indésirables et de rejets chez 296 suivi sur la seule base du C2 pendant 12 semaines (Thervet E et al. 2003). Toutefois, aucune étude comparative entre suivi sur la base du C2 et suivi sur la base de l'AUC₀₋₁₂ n'a été réalisée à ce jour.

De nombreuses études de régression multi-linéaire ont montré qu'une bonne estimation de l'AUC₀₋₁₂ de la ciclosporine est possible sur la base de deux ou trois prélèvements sanguins seulement. En 2001, David et al. rapportait l'existence de plus d'une trentaine de stratégies d'échantillonnage limité (LSS) pour la CsA (David OJ et al. 2001). Une telle technique est en effet simple à développer et à appliquer car elle se résume à un polynôme. Cependant elle se trouve limitée par la nécessité du strict respect des horaires de prélèvement. De plus, elle n'autorise que la détermination d'un seul index d'exposition, l'AUC₀₋₁₂, et elle ne fournit qu'une valeur chiffrée dont la pertinence n'est pas évaluable. Ceci nous a incités à développer différents estimateurs Bayesiens permettant une plus grande flexibilité dans les horaires de prélèvement et donnant accès à la prédiction simultanée des principaux paramètres PK et indices d'exposition individuels, à partir d'un nombre équivalent d'échantillons.

Dans une première étape, la modélisation des données de concentrations recueillies au cours du premier mois chez les 24 transplantés rénaux a permis d'appliquer avec succès un modèle pharmacocinétique bicompartmental décrivant la phase d'absorption à l'aide du loi

Gamma (Debord J et al 2001). Sur la base de ce modèle ont ensuite été développés trois estimateurs Bayesiens dédiés chacun à un délai post-transplantation (J3, J7 et J30). Ces estimateurs Bayesiens permettaient de calculer, sur la base de 3 prélèvements sanguins, l' AUC_{0-12} ainsi que les principaux indices d'exposition à la ciclosporine. La stratégie d'échantillonnage proposée incluait 3 prélèvements compris dans les 3 premières heures suivant la prise et était donc bien adaptés à une activité de routine hospitalière.

Ces estimateurs Bayesiens, dédiés à l'adaptation de posologie de la ciclosporine au cours des quatre premières semaines suivant une greffe rénale, se sont ajoutés à celui développé précédemment au sein de l'Unité Fonctionnelle de Pharmacocinétique du CHU de Limoges pour les transplantés rénaux stables (Leger F et al. 2002).

Ils sont employés dans l'activité de routine d'adaptation de posologie des immunosuppresseurs proposée au sein de cette unité et participent ainsi au suivi thérapeutique de la ciclosporine et à la prise en charge des patients. Dans cette application, la LSS 0, 1h et 3h est utilisée afin de rendre la procédure homogène avec la période « stable ». Ils pourraient également faciliter la mise en place d'études prospectives visant à améliorer le STP de la ciclosporine, qu'il s'agisse d'études comparatives entre plusieurs indices d'exposition ou d'études de type « exposition contrôlée », visant à définir plus précisément les valeurs cibles d'exposition en terme d' AUC_{0-12} .

SOUS-PARTIE 2 : PHARMACOCINETIQUE DE LA CICLOSPORINE CHEZ LE TRANSPLANTE RENAL : MODELISATION EN UNE ETAPE

1- Buts de l'étude

Les objectifs de cette étude étaient multiples :

- Comparer les performances de différents modèles pharmacocinétiques pour la description de profils PK de la ciclosporine obtenus chez des transplantés rénaux.
- Etudier l'influence de cofacteurs sur les paramètres pharmacocinétiques et développer un modèle prenant en compte ces covariables explicatives.
- Utiliser ce modèle pour réaliser une estimation Bayésienne permettant l'obtention des paramètres pharmacocinétiques individuels à partir de stratégies limitées d'échantillonnage.

2- Matériels et méthodes

2-1 Patients :

Les données provenaient de plusieurs études :

- Des patients inclus dans les 2 études précédemment citées : PRIMOCINE et STABLOCINE (cf sous-partie 1).
- Des transplantés rénaux *de novo* issue d'une étude indépendante et recevant tous Neoral® en 2 prises quotidiennes ainsi que du mycophénolate mofétil (CELLCEPT®). Ces patients ont fournis des profils PK de concentration de la CsA au 15^e jour puis au 2^e et 3^e mois post-greffe.

10 profils « riches » ont pu être exploités pour cette analyse. Les horaires de prélèvement étaient : T0, T20min ou T30min, T40min, T1h, T1,5h, T2h, T3h, T4h, T6h, T9h et T12h.

Le tableau 18 présente les principales caractéristiques de ces 10 patients.

Tableau 18 : Caractéristiques des 10 patients greffés rénaux supplémentaires utilisés pour l'analyse « en une étape ».

	Moyenne (extrêmes)
Age (années)	46 (20-59)
Poids (kg)	60 (49 - 70)
Taille (cm)	165 (155 – 173)
Sexe (H/M)	2/3
Créatininémie (μM)	105 (76 - 170)
Dose matinale de ciclosporine (mg)	J15: 200 (125-250) ; J30: 175 (75-250) J60 : 160 (75-250) ; J90: 120 (75-125)
Délai post-greffe (jours)	40 (14-96)

2-2 Méthodes de dosage :

Chez tous les patients, les concentrations sanguines de ciclosporine ont été mesurées par trois techniques de dosage différentes, comme décrit dans la sous-partie 1 :

- Une technique EMIT, décrite précédemment.
- Une technique FPIA utilisant des réactifs Cyclosporine AxSYM® et un automate AxSYM® (Abbott). Cette technique a une limite de quantification de 25 $\mu\text{g/L}$ (données fabricant). Pour les concentrations supérieures à 800 $\mu\text{g/L}$, une dilution au quart dans du sang total humain vierge était réalisée. Cette procédure de dilution a été validée en interne en terme d'exactitude

et de précision, ainsi que lors de la participation du laboratoire au contrôle de qualité externe international (Cyclosporin Proficiency Testing Scheme – <http://www.bioanalytics.co.uk> ; accessible août 2004).

- Une technique de chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (LC-ES-MS) mise en place et validée au sein du service de Pharmacologie et Toxicologie du CHU de Limoges (Léger F et al. 2002). Pour cette technique, 200 µl de sang sont nécessaires au dosage. Après extraction par l'éther en milieu basique, la ciclosporine A (1209 u.m.a.) sanguine est dosée par étalonnage interne (ciclosporine D ; 1216,8 u.m.a.). La séparation est effectuée par chromatographie en phase inverse et la détection par spectrométrie de masse après ionisation par Electrospray. Le système chromatographique comprend : un système de pompes haute pression à gradient PE 200 Micro LC (Perkin-Elmer), un injecteur PE Serie 200 (Perkin-Elmer) et une colonne SYMMETRY C18, 5 µm (150 x 1 mm d.i.) (Waters). L'analyseur est un spectromètre de masse PE SCIEX API 100 (Perkin-Elmer Sciex). Il s'agit d'un simple quadripôle équipé d'une source « electrospray » travaillant pour ce dosage en mode d'ionisation positif, avec application d'une tension d'accélération des ions dans l'interface entre pression atmosphérique et vide primaire, permettant une fragmentation des ions parents. La limite de quantification de la technique est de 10µg/L. La linéarité s'étend de 10 à 2500µg/L.

- Les concentrations de ciclosporine des patients des études PRIMOCINE et STABLOCINE ont été mesurées par les trois méthodes de dosage décrites ci-dessus.

- Les concentrations des patients « supplémentaires » ont été mesurées par LC-ES-MS uniquement.

2-3 Pharmacocinétique de population

2-3-1 Analyse des données par le logiciel NONMEM

Les données ont été modélisées avec la version V du logiciel NONMEM (Beal SL et al. Nonmem User's guide, I-VIII. Hanover, Maryland, GloboMax, 1989-1998) et l'interface Visual-NM qui permet une analyse graphique des données (Gomeni R, Visual-NM user's manual. R.D.P.P., Montpellier, France).

Les concentrations mesurées par EMIT, FPIA et LC-ES-MS ont été séparées en 3 fichiers distincts. Cette séparation avait pour but de ne pas prendre en compte 3 cinétiques pour un même patient lors de la même visite. Elle permettait également de comparer les résultats PK obtenus pour chacune des trois techniques.

2-3-2 Choix du modèle pharmacocinétique pharmacostatique

La détermination d'un modèle pharmacostatique ou modèle de base, qui permet de décrire au mieux l'évolution des concentrations en fonction du temps, est réalisée à l'aide du sous-programme appelé PREDPP (*Prediction for Population Pharmacokinetics*) permettant d'analyser les données obtenues avec différents modèles pharmacocinétiques.

La méthode FO a été utilisée en première intention. Dans une seconde étape, l'algorithme FOCE a été utilisée afin d'augmenter la précision d'estimation des paramètres et particulièrement de leur variabilité.

2-3-2-1 Modèles testés pour les trois techniques de dosage

➤ Modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 0 et élimination d'ordre 1 :

Ce modèle peut être obtenu grâce au module ADVAN3-TRANS4 du sous-programme PREDPP. Il comporte 5 paramètres :

Clairance apparente : CL/F (L/h)

Volume de distribution central apparent : V_c/F (L)

Volume de distribution périphérique apparent : V_p/F (L)

Durée d'absorption : $D1$ (h)

Clairance intercompartimentale : Q/F (L/h)

➤ Modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 1 et « lag-time » et élimination d'ordre 1 :

Ce modèle peut être obtenu grâce au module ADVAN4-TRANS4 du sous-programme PREDDP. Il comporte 6 paramètres :

- Constante d'absorption d'ordre 1 : K (h^{-1})
- Clairance apparente : CL/F (L/h)
- Volume de distribution central apparent : V_c/F (L)
- Volume de distribution périphérique apparent : V_p/F (L)
- Clairance intercompartimentale : Q/F (L/h)
- Lag-time (h^{-1})

➤ Modèle bicompartimental avec absorption décrite par une loi d'Erlang et élimination d'ordre 1 :

Ce modèle peut être obtenu grâce au module ADVAN5 SS5 du sous-programme PREDDP.

Une description de ce modèle est donnée dans la figure 8.

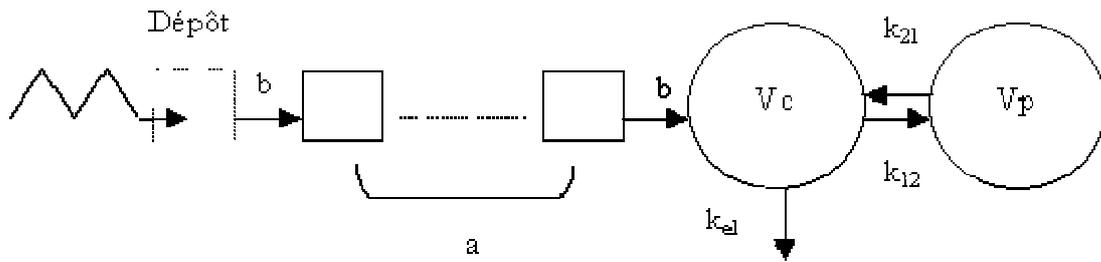


Figure 8 : Modèle à 2 compartiments avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par la loi d'Erlang.

La distribution d'Erlang est la solution pour une chaîne linéaire de a compartiments placés entre le compartiment dépôt et le compartiment central. Dans cette chaîne, tous les compartiments sont connectés entre eux par une constante de transfert identique b . Il s'agit d'un cas particulier de la loi Gamma (cf sous-partie 1):

$$f(t) = \begin{cases} \frac{b^a}{\Gamma(a)} t^{a-1} \exp(-bt) & t \geq 0 \\ 0 & t < 0 \end{cases}$$

Mais contrairement à la loi Gamma, a est ici toujours un entier.

Le nombre de compartiments a , en amont de V_c , était fixé à la même valeur pour tous les patients. Celle-ci a été optimisée en augmentant progressivement a à partir de $a=3$. Chaque changement de la valeur de a créait un nouveau modèle à tester.

Ce modèle comporte 5 paramètres :

- Constante de transfert entre les compartiments « délai » et le compartiment central : b (h^{-1})
- Clairance apparente : CL/F (L/h)
- Volume de distribution central apparent : V_c/F (L)

- Volume de distribution périphérique apparent : V_p/F (L)

- Clairance intercompartimentale : Q/F (L/h)

Comme la distribution Gamma, la distribution de Erlang permet de décrire des courbes d'absorption retardée. Ce modèle a été utilisé par Rousseau et al. pour une étude PKpop menée chez des transplantés rénaux stables (Rousseau A et al. 2004).

➤ Modèle bicompartimental avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par une loi

Gamma :

Ce modèle peut être obtenu grâce au module ADVAN6 SS6 du sous-programme PREDDP.

La limite du « modèle d'Erlang » est que le même nombre de compartiments « délai » (a) est affecté à tous les patients. Le groupe de Karlsson (Faculté de Pharmacie, Upssala, Suède) a récemment proposé un modèle qu'ils appellent « transit compartment model » basé sur une loi Gamma pour décrire le délai d'absorption. Ce modèle, présenté par Radojka Savic au congrès de Population Approach Group in Europe en 2004 (PAGE, Upssala 2004, Suède) peut être schématisé comme sur la figure 9:

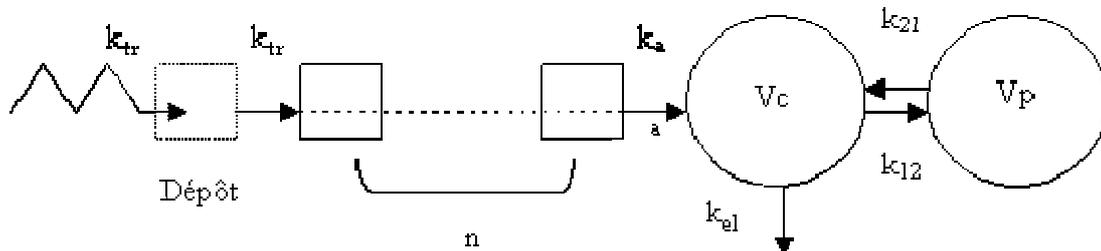


Figure 9 : Modèle à 2 compartiments avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par la loi Gamma.

Ces auteurs décrivent les échanges au niveau du compartiment absorption avec l'équation différentielle :

$$\frac{dX}{dt} = Dose \cdot \frac{(k_{tr} \cdot t)^n}{n!} \cdot k_{tr} - k_a \cdot X$$

où X est la quantité de médicament présente au temps t, n est le nombre de compartiments « délai » et k_{tr} la constante de transfert entre 2 compartiments délais (paramètres équivalents à a et b dans le modèle « Erlang »).

Plusieurs mathématiciens ont cherché à exprimer n ! à l'aide d'exponentielles. L'intégrale eulérienne de deuxième espèce ou fonction gamma (Γ) en donne une expression :

$$n! = \Gamma(n+1)$$

La formule de Stirling fournit un équivalent de n ! valable quand $n \rightarrow \infty$:

$$S = \sqrt{2n\pi} \left(\frac{n}{e} \right)^n$$

Cependant, l'erreur commise est importante pour les petites valeurs de n ($n < 100$). Savic et al. ont utilisé un ajustement exponentiel. Toutefois, l'erreur relative commise en appliquant la Formule de Stirling ne suit pas une décroissance exponentielle.

De ce fait, nous avons préféré une correction connue sous le nom de formule de Stirling-Pierroux qui considère que l'erreur relative commise par la Formule de Stirling suit une progression arithmétique :

$$n! = S * \left[1 + \frac{1}{12n - 0,46} \right]$$

Il est à noter que le modèle pharmacocinétique proposé par Savic et al. conserve un compartiment « absorption » (et donc une constante d'absorption) en amont du compartiment central. (*Nous avons testé le modèle en enlevant ce compartiment absorption, ce qui altérerait significativement les résultats*).

Ce modèle comprend les 7 paramètres suivants:

- Constante de transfert entre les compartiments « délai » et le compartiment central : k_{tr} (h^{-1})
- Nombre de compartiments délais : n (variable continue)
- Constante d'absorption entre le dernier compartiment « délai » et le compartiment central: k_a
- Clairance apparente : CL/F (L/h)
- Volume de distribution central apparent : V_c/F (L)
- Volume de distribution périphérique apparent : V_p/F (L)
- Clairance intercompartimentale : Q/F (L/h)

2-3-2-2 Critères de choix des modèles pharmacocinétiques

Cette étape consistait à identifier un modèle pharmacocinétique et son modèle d'erreur associé, permettant de décrire au mieux les concentrations en fonction du temps. A ce stade de l'analyse, aucune covariable n'était introduite dans les modèles testés.

Plusieurs critères statistiques ou approches graphiques ont été utilisés :

1) La comparaison des valeurs de fonction objective (OFV : *Objective Function Value*) obtenues pour différents modèles. Ce critère dérive de la méthode des moindres carrés pondérés. Il est proportionnel au logarithme de la fonction du maximum de vraisemblance.

A nombre de paramètres équivalents, le meilleur modèle est celui rendant minimale la valeur de cette expression analytique. La comparaison entre 2 modèles est obtenue en appliquant le test du maximum de vraisemblance : la différence de valeur de fonction objective est distribuée selon une loi de χ^2 . Le degré de liberté (ddl) représente la différence en nombre de paramètres. On obtient :

$$\Delta \text{ OFV} = \text{OFV}_{\text{modèle 1}} - \text{OFV}_{\text{modèle 2}} = \chi^2_{1-\alpha}$$

où l'on pose l'hypothèse nulle que l'OFV obtenu pour le modèle 1 n'est pas différente de celle obtenue pour le modèle 2. La table du χ^2 permet de rejeter l'hypothèse au risque $\alpha = 1\%$, lorsque la différence entre les 2 modèles est supérieure à 6,63 ($p < 0,01$; ddl = 1).

Au cours de nos travaux, toute différence d'OFV $> 6,7$ a donc été considérée comme significative.

2) La précision d'estimation des paramètres (SE : *standard error of estimate*), ainsi que la précision d'estimation de la variabilité inter-individuelle.

3) L'importance de l'erreur résiduelle ou inexpliquée par le modèle.

3) L'analyse de régression entre les concentrations observées DV (*Dependant Variable*) et les concentrations prédites sans tenir compte des concentrations individuelles (PRED). Ce critère était considéré plus pertinent que les IPRED (*Individual Prediction*) puisque l'analyse disposait de données riches (10 ou 11 prélèvements par patient). Lors du calcul Bayésien des IPRED, « le poids » donné à chaque individu est en effet prépondérant. Ainsi, lorsqu'on dispose de données riches, l'ajustement entre IPRED et DV peut être très satisfaisant même si le modèle pharmacocinétique n'est pas optimal.

4) L'analyse des résidus entre PRED et DV (RES), l'analyse des résidus pondérés entre PRED et DV (WRES), l'analyse des résidus pondérés en fonction du temps.

2-3-2-3 Modèles d'erreur

Le modèle d'erreur représente la relation décrivant les écarts aléatoires entre les paramètres prédits et ceux observés, et entre les concentrations prédites et observées.

La déviation entre les paramètres estimés pour chaque sujet (θ_i) (et éventuellement chaque occasion) et leurs valeurs moyennes dans la population (θ) a été décrite de deux manières différentes :

1) Par un modèle d'erreur inter-individuelle (η) de type exponentiel :

$$\theta_i = \theta \cdot \exp(\eta_i)$$

On considère que cette erreur inter-individuelle suit une distribution normale de moyenne 0 et de variance ω^2 . La valeur de ω^2 constitue la variabilité inter-individuelle d'un paramètre, estimée dans la population, dont on peut calculer l'intervalle de confiance à 95%. La valeur individuelle d'un paramètre θ_i est estimée après le calcul de chaque variabilité θ . Pour cette raison, on parle de paramètres obtenus *a posteriori*.

2) Par un modèle permettant de prendre en compte simultanément la variabilité intra-individuelle (appelée encore inter-occasion) et la variabilité inter-individuelle (les patients de PRIMOCINE ayant fourni chacun 3 profils PK) :

$$\theta_{ij} = \theta \cdot \exp(\eta_i + \eta_j)$$

où η_j est la variabilité inter-occasion de chaque individu (Karlsson M0 et al. 1993). On considère que cette erreur intra-individuelle suit une distribution normale de moyenne 0 et variance ω^2 .

La variabilité inter-occasion a été introduite successivement sur chaque paramètre PK, puis sur l'ensemble des paramètres sur lesquels son influence était significative. La diminution de l'OFV et les valeurs de variabilité estimée étaient considérées comme critère de jugement.

La déviation entre les concentrations mesurées chez un patient (θ_i) et celles prédites avec ses paramètres a été décrite par un modèle d'erreur résiduelle.

Nous avons utilisé un modèle dit « mixte » :

$$C_{\text{obs}} = C_{\text{pred}} \cdot (1 + \varepsilon_i) + \varepsilon'_i$$

où C_{obs} représente la valeur de concentration observée et C_{pred} celle prédite par le modèle. ε représente l'erreur résiduelle proportionnelle et ε' l'erreur résiduelle additive, qui sont normalement distribuées, avec des moyennes de zéro et des variances σ^2 et σ'^2 qui représentent les variabilités résiduelles additive et proportionnelle.

Ce type de modèle est utilisé lorsque les plus petites concentrations observées se rapprochent de la limite de quantification de la méthode analytique utilisée (Karlsson MO et al. 1995). Le modèle mixte semblait le plus approprié, notamment du fait que les trois techniques de dosage présentaient des limites de quantification proches des concentrations minimales mesurées.

2-3-3 Analyse de l'influence des covariables sur les paramètres pharmacocinétiques

La méthodologie à suivre pour réaliser cette analyse a été bien illustrée dans la littérature (Maître PO et al. 1991 ; Mandema JW et al. 1992 ; Wahlby U et al. 2002).

2-3-3-1 Analyse univariée – Screening des covariables

Cette étape consiste à tester individuellement l'influence des covariables sur les différents paramètres du modèle pharmacocinétique. On parle de screening des covariables. Il s'agit de construire des modèles simples reliant une seule covariable à un paramètre.

La pertinence d'une covariable a été principalement jugée, après son introduction dans le modèle de population, par le test du maximum de vraisemblance :

$$\Delta \text{OFV} = \text{OFV}_{\text{cov}} - \text{OFV}_{\text{ref}} = \chi^2_{1-\alpha}$$

La précision de l'estimation des paramètres et la diminution de la variabilité ont également été retenus comme critères de jugement.

Au cours de cette analyse, l'influence des covariables suivantes a été testée :

- Covariables continues : âge (AGE) en années, poids (WT) en Kg, taille (HGT) en cm, surface corporelle (BSA) en m², créatininémie (CREA) en μM, dose de corticoïdes associée (CORTI) en mg, dose de mycophénolate associée (MPA) en mg.

- Covariable codée de façon binaire : sexe (SEX) (0 pour les femmes et 1 pour les hommes)

- La covariable « délai post-greffe » (DELA) a été considéré de plusieurs manières :

1) Sous forme d'une covariable continue (en jours).

2) Sous forme d'une covariable « catégorisée » permettant de créer plusieurs périodes de délais :

- DELA=0 si délai<30j et DELA=1 si délai>30j
- DELA=0 si délai<5j, DELA=1 si 5j<délai<25j, DELA=2 si délai>25j
- DELA=0 si délai < 15j, DELA=1 si 15j<délai<89j, DELA=2 si délai >89j

3) Sous forme d'une variable continue puis « catégorisée » :

- DELA = variable continue si délai<35j et DELA=1 si délai>35j

Chacune de ces covariables a été testée sur 3 paramètres du modèle : b, Vc/F et CL/F.

Pour chaque paramètre θ et pour chacune des covariables (COV), plusieurs type d'équations ont été utilisées :

- $\theta_1 \pm \theta_2 \cdot \text{COV}$ ou $\theta_1 \cdot (1 \pm \theta_2 \cdot \text{COV})$
- $\theta_1 \cdot (1 + \theta_2 / \text{COV})$

2-3-3-2 Analyse multivariée

Cette étape consistait à introduire dans un seul modèle intermédiaire comportant les covariables identifiées au cours de l'analyse univariée.

A partir du modèle intermédiaire, une déletion indépendante des covariables, c'est-à-dire un retrait des covariables une à une, a été effectuée.

Les valeurs d'OFV obtenues pour chaque modèle comportant une covariable en moins ont été comparées à celle du modèle intermédiaire. Une covariable était retenue pour le modèle final si son retrait entraînait une augmentation de la fonction objective $> 10,9$ ($p < 0,001$). Cette étape primordiale avait pour but de retirer des covariables redondantes.

2-3-4 Validation des modèles et estimateurs Bayesiens

Le modèle de population développé à partir des concentrations obtenues par la méthode LC-ES-MS a pu être validé avec les données issues de patients indépendants. L'analyse Bayésienne de 10 profils PK « riches » a été réalisée avec l'option POSTHOC du logiciel NONMEM à partir des paramètres du modèle final, utilisés comme information *a priori*.

Pour ces 10 profils PK, la relation entre concentrations observées et prédites a été étudiée par analyses de corrélation et de régression. Le biais moyen et le RMSE ont également été calculés.

Dans une deuxième étape, la LSS C0-C1h-C3h a été testée. Une LSS incluant T0, T1h et T3h a été proposée pour l'estimation l'AUC₀₋₁₂ chez le transplanté rénal (Gaspari F et al. 1998 ; Léger F et al. 2002 ; Rousseau a et al. 2004), mais également pour d'autres types de transplantation (Rousseau A et al. 2003 ; Monchaud C et al. 2003).

Les performances de cette LSS en terme d'estimation de l'AUC₀₋₁₂ ont été étudiées. Pour ce, la relation entre AUC₀₋₁₂ calculées par la méthode des trapèzes et prédites par la LSS a été étudiée par analyses de corrélation et régression, calculs du biais moyen et de la RMSE.

2-3-5 Comparaison des 3 méthodes de dosage

Chaque patient inclus dans l'étude PRIMOCINE devait fournir 3 profils PK (à J3, J7 et J30) dosés par EMIT, par FPIA et par LC-ES-MS. Chaque patient de l'étude STABLOCINE devait fournir 1 profil dosé également par les 3 méthodes.

Il semblait important de comparer les résultats obtenus pour chacune des trois méthodes et de déterminer l'influence de la technique de dosage sur le modèle PK de population et sur la valeur des paramètres PK individuels.

Les moyennes des paramètres PK individuels estimés par méthode Bayésienne (modèle final de population) après dosage par LC-ES-MS, FPIA et EMIT ont été calculées, et le test de Bonferroni ainsi qu'une ANOVA ont été réalisés pour les comparer.

3- Résultats

Les courbes d'évolution des concentrations en fonction du temps sont représentées sur la figure 10.

Au total, 276 profils PK ont été étudiés. Le nombre de données de concentrations exploitables pour la construction des modèles était de :

- 965 pour le modèle « technique EMIT »
- 962 pour le modèle « technique FPIA »
- 956 pour le modèle « technique LC-ES-MS »

Le groupe de validation totalisait 127 données de concentration.

3-1 Choix du modèle de base

Les performances des modèles à 2 compartiments testés en fonction de la technique de dosage sont résumées dans les tableaux 19, 20 et 21. Quelle que soit la technique de dosage considérée, il a été observé que :

- Le modèle avec une absorption décrite par une loi d'Erlang avec $a=5$ (soit 5 compartiments pour la chaîne en amont du V_c) avait une OFV significativement inférieure à celles des autres modèles testés.
- La variabilité résiduelle était la plus faible en utilisant une loi d'Erlang avec $a=5$.
- L'OFV diminuait selon l'ordre suivant : ordre 0 > ordre 1 avec temps de latence > loi de Erlang avec $a=3$ > loi de Erlang avec $a=4$ > loi de Erlang avec $a=5$. En particulier, Δ OFV entre l'ordre 1 et la loi d'Erlang avec $a=5$ était de 160 pour la méthode EMIT, 175 pour la LC-MS et 106 pour la FPIA. Les différences entre la loi d'Erlang avec $a=5$ et l'ordre 0 étaient très importantes (Δ OFV = 1115, 546 et 466).

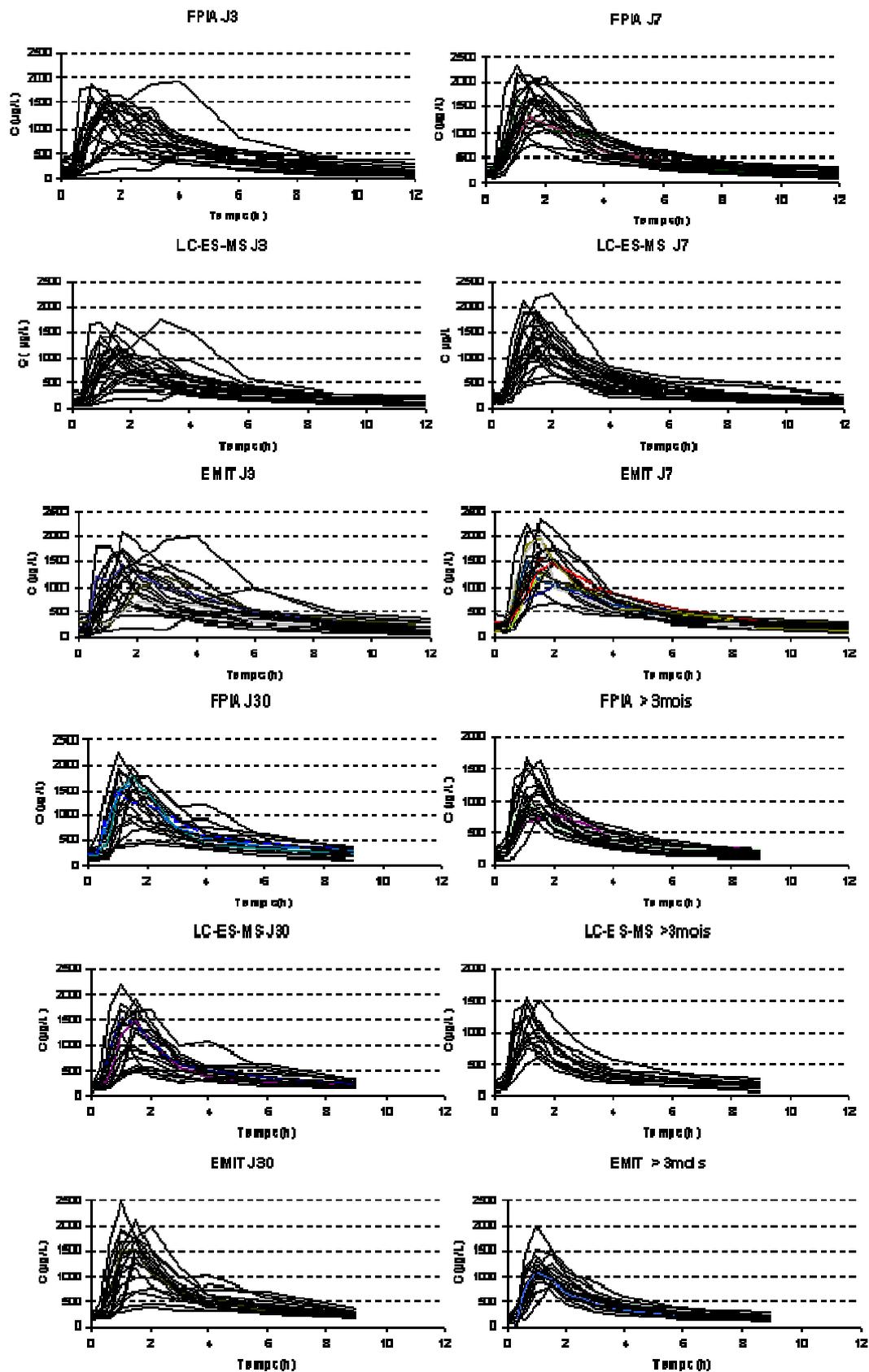


Figure 10 : Profils pharmacocinétiques de la ciclosporine observés chez des transplantés rénaux au cours du 1er mois (n=24) et pour des délais post-greffe supérieurs à 3 mois (n=20), en fonction de la technique de dosage employée (EMIT, FPIA ou LC-ES-MS).

Tableau 19: Caractéristiques des différents modèles PK à 2 compartiments testés pour modéliser les données obtenues par FPIA.

	ORDRE 0	ORDRE 1 + lag-time	ERLANG a = 3	ERLANG a = 4	GAMMA	ERLANG a = 5	ERLANG a = 6
OFV	9458	9098	9068	9020	8993	8992	8992
Δ OFV		- 360 *	- 30 *	- 48 *	-27	- 28 *	0
Variabilité résiduelle : prop. (%) / add. (µg/L)	28,5 / 6,0	15,2 / 40,5	13,3 / 44,1	13,4 / 43,2	13,0 / 39,4	12,9 / 41,6	12,8 / 41,5
D1 (h)	1,13 ± 0,07						
b ou k_r (h⁻¹)			6,1 ± 2,7	6,0 ± 2,4	33,7 ± 5,8	7,49 ± 0,27	9,0 ± 3,1
Ka (h⁻¹)		2,4 ± 0,27					
Vc/F (L)	107 ± 8,5	91 ± 7	91 ± 7	92 ± 6	90 ± 8	96 ± 6	99 ± 7
Vp (L)	370 ± 312	142 ± 26	112 ± 17	109 ± 13	95 ± 17	117 ± 12	127 ± 24
CL/F (L.h⁻¹)	39,8 ± 2,9	35,3 ± 1,33	34,9 ± 1,5	35,0 ± 1,3	33 ± 1,2	34,9 ± 1,3	34,9 ± 1,4
Q/F (L.h⁻¹)	20 ± 2	26 ± 4	27 ± 5	27 ± 5	23 ± 4	27 ± 4	27 ± 4
Lag-time (h)		0,31 ± 0,03					

Tableau 20: Caractéristiques des différents modèles PK à 2 compartiments testés pour modéliser les données obtenues par EMIT.

	ORDRE 0	ORDRE 1 + lag-time	ERLANG a = 3	ERLANG a = 4	ERLANG a = 5	ERLANG a = 6
OFV	10246	9251	9196	9122	9091	9094
Δ OFV		- 995 *	- 55 *	- 74 *	- 31 *	+ 3
Variabilité résiduelle : prop. (%) / add. (µg/L)	49,5 / 38,5	12,9 / 42,5	10,7 / 45,1	10,6 / 44,8	10,1 / 43,7	10,0 / 44,2
D1 (h)	5,1 ± 0,2					
b ou k_r (h⁻¹)			5,34 ± 0,26	5,98 ± 0,23	7,37 ± 0,25	8,80 ± 0,28
Ka (h⁻¹)		2,7 ± 1,8				
Vc/F (L)	140 ± 5	90 ± 8	90 ± 7	91 ± 6	96 ± 6	100 ± 7
Vp (L)	186 ± 73	135 ± 18	108 ± 10	108 ± 9	116 ± 13	125 ± 18
CL/F (L.h⁻¹)	38,1 ± 6,8	36,4 ± 1,6	35,5 ± 1,5	36,3 ± 1,7	36,0 ± 1,7	35,9 ± 1,68
Q/F (L.h⁻¹)	15 ± 4	28 ± 5	29 ± 5	29 ± 5	29 ± 5	29 ± 5
Lag-time (h)		0,31 ± 0,03				

Tableau 21: Caractéristiques des différents modèles PK à 2 compartiments testés pour modéliser les données obtenues par LC-ES-MS.

	ORDRE 0	ORDRE 1 + lag-time	ERLANG a = 3	ERLANG a = 4	ERLANG a = 5	ERLANG a = 6
OFV	9300	8930	8880	8812	8755	8754
Δ OFV		- 370 *	- 50 *	- 68 *	- 57 *	- 1
Variabilité résiduelle : prop. (%) / add. (µg/L)	22,9 / 26,0	22,0 / 26,0	11,0 / 32,6	10,9 / 33,3	10,3 / 31,2	10,3 / 30,9
D1 (h)	4,7 ± 0,52					
b ou k_{tr} (h⁻¹)			5,78 ± 0,31	5,99 ± 0,27	7,43 ± 29,0	8,92 ± 0,32
Ka (h⁻¹)		0,81 ± 0,11				
Vc/F (L)	95 ± 9	45 ± 5	99 ± 8	100 ± 7	107 ± 7	111 ± 7
Vp (L)	164 ± 97	217 ± 20	137 ± 18	133 ± 17	139 ± 12	147 ± 15
CL/F (L.h⁻¹)	50,0 ± 7,4	45,8 ± 3,1	44,3 ± 1,5	44,4 ± 2,1	44,0 ± 1,2	43,9 ± 2,1
Q/F (L.h⁻¹)	38 ± 5	32 ± 7	35 ± 6	36 ± 6	36 ± 6	36 ± 6
Lag-time (h)		0,31 ± 0,04				

- Lorsque a atteignait la valeur de 6, l'OFV observée n'était pas significativement différente de celle obtenue avec $a=5$. L'incrémentation du nombre de compartiments dans la chaîne a donc été arrêtée au stade $a=5$. Les résultats obtenus avec $a=2$ (non présentés) étaient proches de ceux obtenus avec l'ordre 1. Rappelons que si $a=1$, on obtient une loi exponentielle (ordre 1).

- Un résumé de l'analyse de régression entre concentration prédites (PRED) et concentrations observées (DV) est présenté dans le tableau 22.

Tableau 22 : Résumé de l'analyse de régression entre concentrations observées (DV) et prédites (PRED) par 3 modèles structuraux différents.

	EMIT (n=965)			LC-MS (n=956)			FPIA (n=968)		
Modèle	Ordre 0	Ordre1	Erlang $a=5$	Ordre 0	Ordre1	Erlang $a=5$	Ordre 0	Ordre 1	Erlang $a=5$
r² (PRED/DV)	0,36	0,45	0,56	0,32	0,45	0,57	0,46	0,52	0,60

- Les graphes de corrélation obtenus pour la technique EMIT sont représentés sur la figure 11. Pour chacune des 3 méthodes de dosage, l'ajustement PRED versus DV obtenu avec le modèle comportant la loi d'Erlang avec $a=5$ montrait une répartition homogène des concentrations autour de la droite d'identité et les meilleurs coefficients de corrélation. L'ajustement avec une absorption d'ordre 0 montrait au contraire un biais important, notamment pour les concentrations supérieures à 1500 $\mu\text{g/L}$.

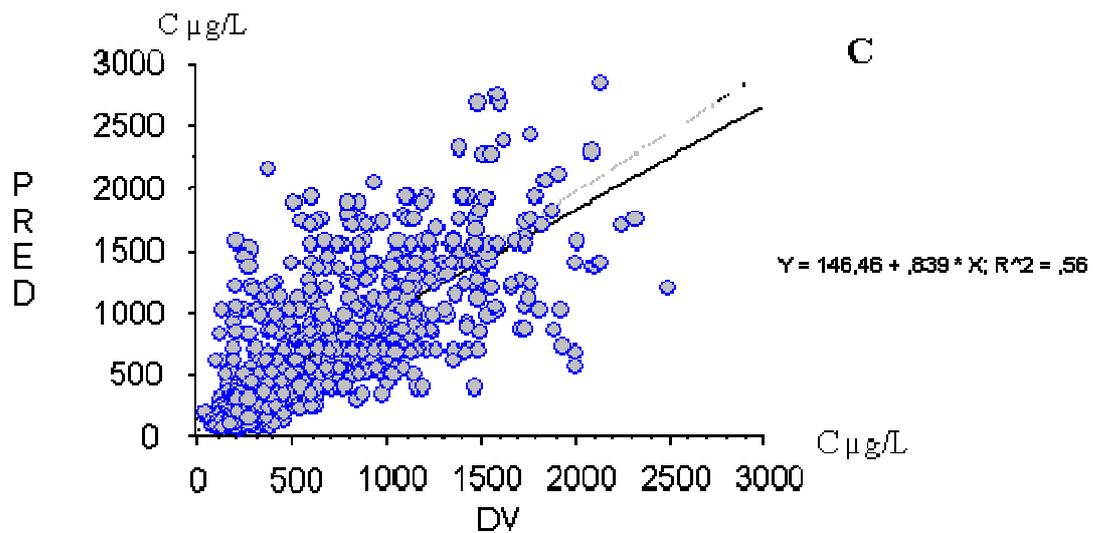
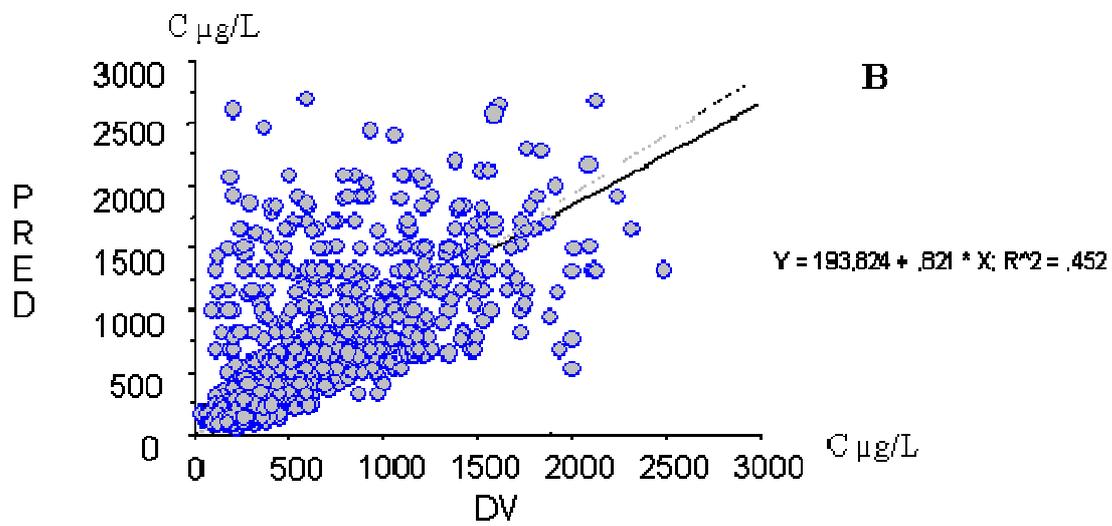
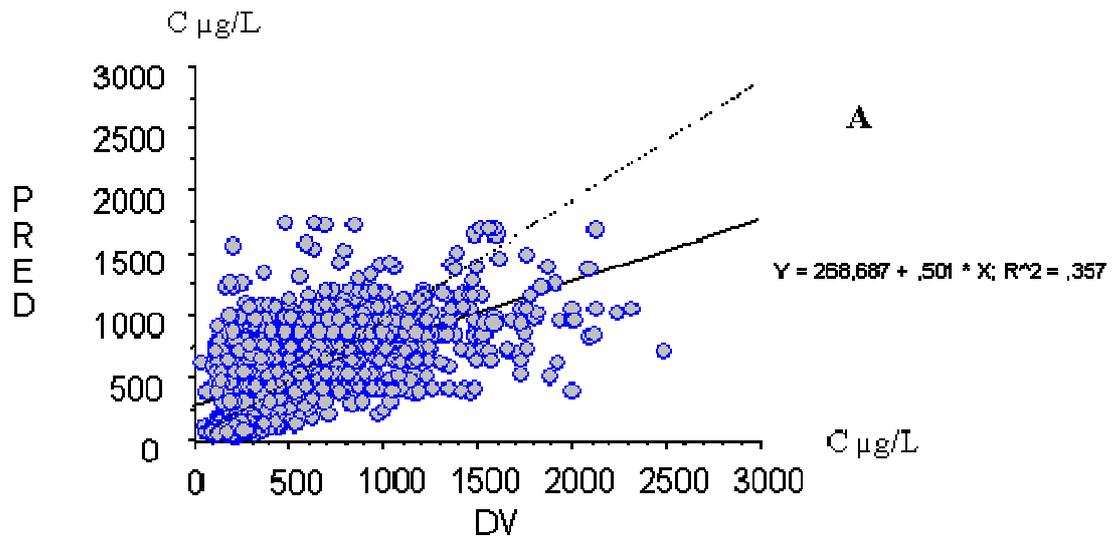


Figure 11 : Graphe de corrélation entre concentrations observées par la méthode EMIT et prédites par des modèles à 2 compartiments avec une absorption décrite par un processus d'ordre 0 (A), d'ordre 1 avec un temps de latence (B), ou une loi de Erlang (C).

A titre d'exemple, la figure 12 représente les résultats obtenus en modélisant le profil d'absorption d'un patient à J3 obtenu à partir des paramètres individuels (POSTHOC).

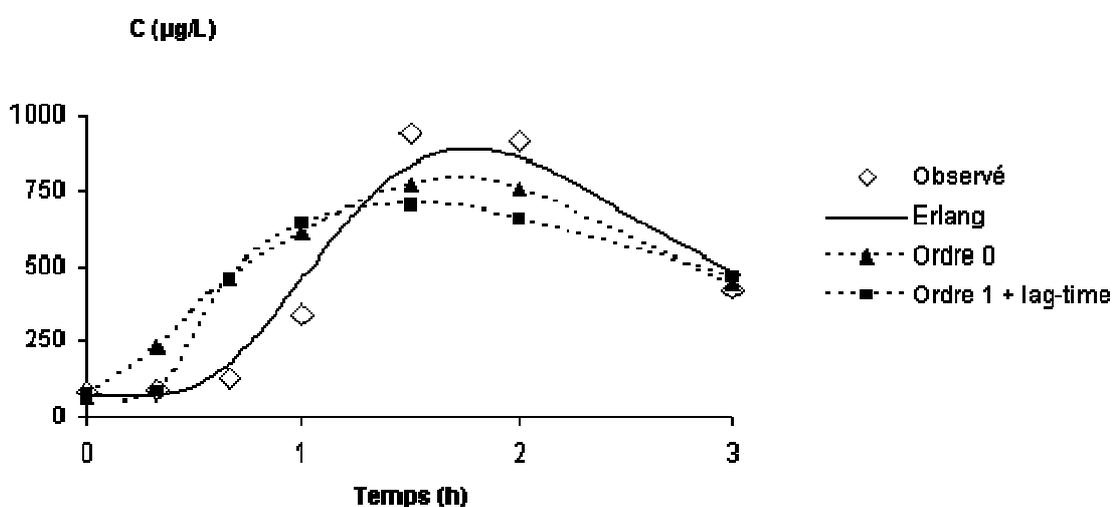


Figure 12 : Modélisation de la phase d'absorption par 3 modèles PK différents.

(Les courbes ont été obtenues grâce à l'option POSTHOC du logiciel NONMEM par un calcul des concentrations toutes les 2 minutes).

Sur la figure 12, on observe une croissance très lente des concentrations jusqu'à T40min, ce qui traduit un délai d'absorption assez important. Le modèle d'ordre 0 n'a pu prendre en compte ce retard à l'absorption. Il en était de même, avec le modèle d'ordre 1, et ce malgré le paramètre « temps de latence ».

Le développement du modèle « Gamma » a été initié très récemment. Pour cette raison, seuls les résultats obtenus sur la base des concentrations mesurées par la méthode FPIA sont présentés ici. Ce modèle présentait des performances très proches de celles obtenues pour

« Erlang $a=5$ »(OFV= 8992 et 8993, respectivement). Cependant, le modèle avec une loi Gamma intégrait 2 paramètres de plus que celui avec la loi de Erlang. Celui-ci n'a donc pas été retenu.

A ce stade de l'analyse, pour chacune des 3 techniques de dosage, un modèle à 2 compartiments, avec élimination d'ordre 1, dans lequel l'absorption est décrite par une loi d'Erlang avec 5 compartiments en amont du compartiment central a été retenu.

Dans une 2^e étape l'incorporation de la variabilité inter-occasion (BOV) a été testée.

- Pour la technique EMIT l'introduction simultanée de BOV sur b , V_c/F et CL/F a entraîné une diminution de l'OFV de 47 points. La variabilité inter-occasion sur les 3 paramètres était estimée avec une bonne précision : 22,5 % (10-35,7%) pour b , 45,2% (35,3-53,2%) pour V_c/F et 25,2% (15,7-31,9%) pour CL/F . De ce fait, BOV a été conservé pour le modèle de base de la technique EMIT.

- Pour les techniques FPIA et LC-ES-MS, BOV ne modifiait pas significativement l'OFV lorsqu'elle était prise en compte, quel que soit le nombre de paramètres sur lesquels BOV était introduite.

Ainsi, les modèles structuraux retenus avant analyse des covariables étaient 3 modèles « Elang », mais celui dédié à la méthode EMIT intégrait une variabilité intra individuelle sur b , V_c/F et CL/F . Les paramètres pharmacocinétiques obtenus pour chacune des trois techniques grâce à ce modèle sont résumés dans le tableau 23.

Tableau 23 : Paramètres pharmacocinétiques estimés avec le meilleur modèle structural (2 compartiments, absorption suivant la loi d'Erlang, élimination du 1^{er} ordre) en fonction des techniques de dosage.

b : constante de transfert entre les compartiments de la chaîne entre le dépôt et le compartiment central ; **Vc/F** : Volume de distribution central apparent ; **Vp/F** : Volume de distribution périphérique apparent ; **CL/F** : Clairance apparente ; **Q/F** : Clairance intercompartimentale ; **prop.** : erreur proportionnelle ; **add.** : erreur additive ; **IC95%** : intervalle de confiance à 95%.

Paramètres	<i>b</i> (h ⁻¹)	Q/F (L.h ⁻¹)	Vc/F (L)	Vp (L)	CL/F (L.h ⁻¹)
EMIT					
Moyenne	7,3	20	112	164	37
Précision de l'estimation	4,4%	11,4%	11,2%	37,5%	10,1%
Variabilité interindividuelle (%)	19,7	43,8	27,4	/	32,5
(IC 95%)	(10,5-25,9)	(0-70,5)	(3,8-38,6)	/	(29,3-35,4)
Variabilité intraindividuelle (%)	22,5	/	45,2	/	25,2
(IC 95%)	(0-35,7)	/	(35,3-53,2)	/	(15,7-31,9)
Variabilité résiduelle : prop. 14,5% - add. 45,8 µg/L					
FPIA					
Moyenne	7,5	27	96	117	35
Précision de l'estimation	3,7%	14,5%	6,6%	10,1%	3,8%
Variabilité interindividuelle (%)	21,7	84,3	56,3	60,9	31,2
(IC 95%)	(14,1-26,8)	(42,4-111,4)	(44,4-66,1)	(3,2-86,1)	(24,7-36,5)
Variabilité résiduelle : prop. 12,9% - add. 41,6 µg/L					
LC-MS					
Moyenne	7,4	36	107	139	44
Précision de l'estimation	3,9%	16,1%	6,5%	8,5%	4,8%
Variabilité interindividuelle (%)	24,7	97	64,9	64,4	41,4
(IC 95%)	(17,6-30,2)	(53,9-126,3)	(54,4-73,9)	(36,3-83,5)	(31,1-49,5)
Variabilité résiduelle : prop. 10,3% - add. 41,2 µg/L					

La validité de ce modèle peut s'illustrer concrètement en simulant des profils pharmacocinétique (courbe des concentrations en fonction du temps obtenu à partir des paramètres individuels (POSTHOC) :

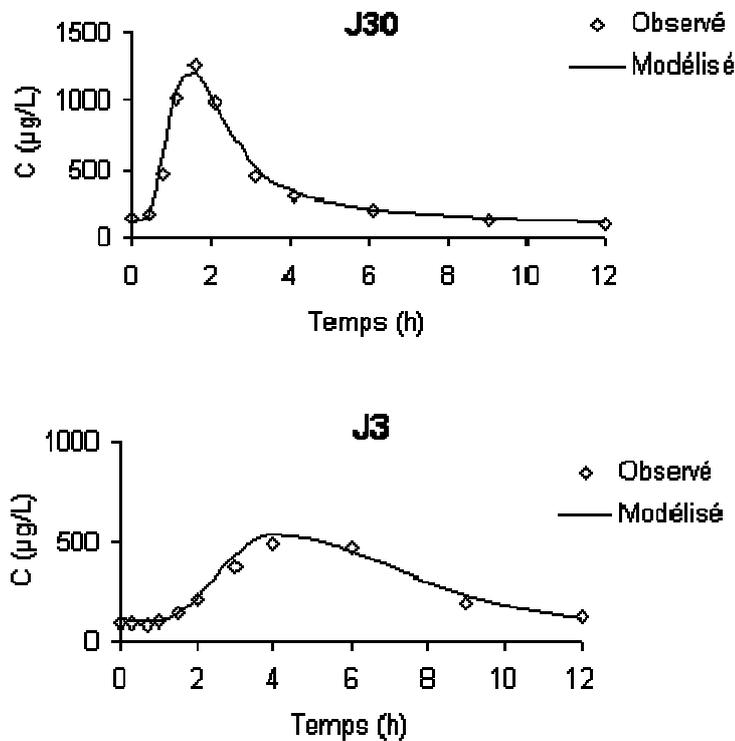


Figure 13: Modélisation de 2 profils PK obtenus au cours du premier mois suivant la greffe (technique de dosage FPIA) chez un même patient.

3-2 Modèles d'erreur

Le modèle d'erreur du type $Y_{ij} = f(x_{ij}, \theta) \cdot (1 + \varepsilon_i) + \varepsilon'_i$, c'est-à-dire comportant une erreur proportionnelle et une erreur additive a donné des résultats satisfaisants pour chacune des trois techniques. A titre d'illustration, pour la méthode LC-ES-MS, l'analyse des résidus (RES = PRED-DV) en fonction de PRED est représentée sur la figure 14.

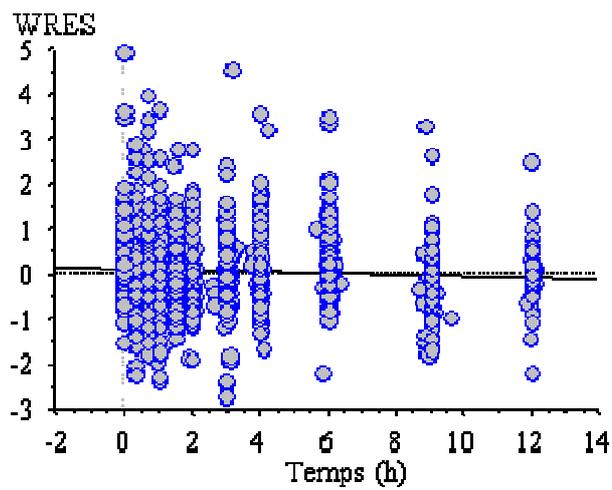
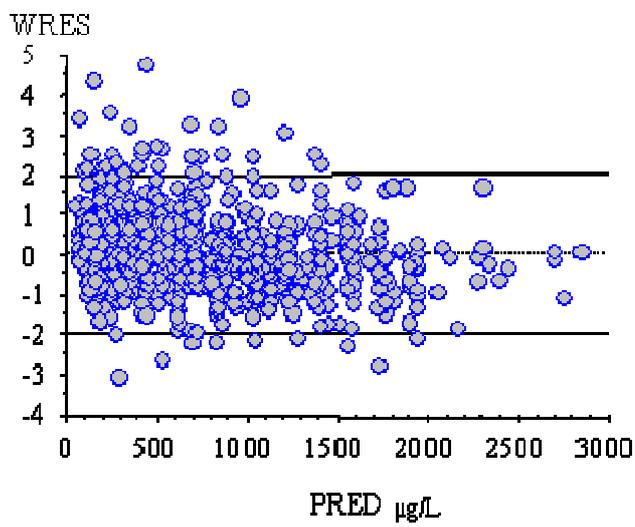
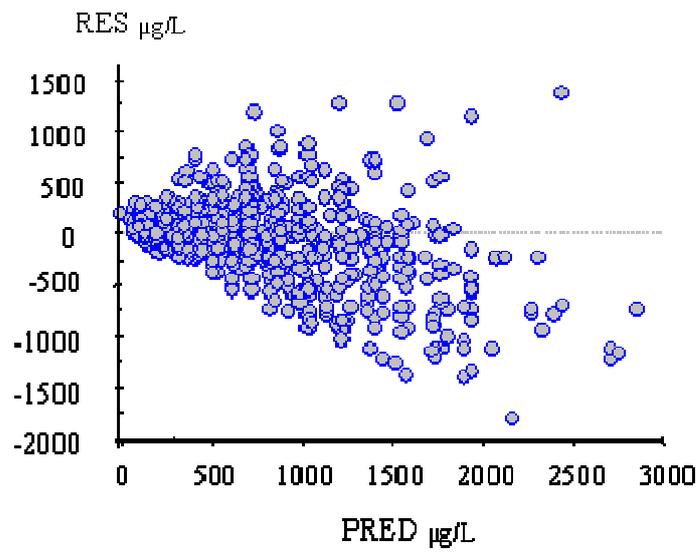


Figure 14 : Evaluation graphique des performances du modèle d 'erreur résiduelle (données LC-ES-MS). PRED : concentrations prédites par le modèle PK ; RES : résidus entre concentrations observées et prédites par le modèle PK ; WRES : résidus pondérés.

Sur ce graphe, on observe une augmentation de RES en fonction de PRED ce qui signifie que l'erreur sur DV n'a pas le même écart type en fonction de PRED, et donc qu'un modèle additif simple n'est pas justifié. La représentation des résidus pondérés (WRES) montre une répartition resserrée dans la fourchette d'intervalle entre +2 et -2, soit dans l'intervalle de confiance à 95% autour de DV. De même la distribution des WRES en fonction du temps est très homogène.

D'autre part, les erreurs résiduelles additives estimées étaient voisines des limites de quantification de chacune des 3 méthodes analytiques.

Ceci permettait de justifier le choix d'un modèle mixte avec une erreur proportionnelle et une erreur additive. Ce résultat est en accord avec les travaux précédemment publiés par Rousseau et al. pour la modélisation de la ciclosporine chez le transplanté rénal stable (Rousseau A et al. 2004).

3-3 Influence des covariables

3-3-1 Analyse univariée des covariables

Les tableaux 24, 25 et 26 présentent les résultats des screening des covariables mené pour chacune des trois techniques de dosage. Dans ces trois tableaux n'ont été rapportées que les équations ayant entraîné une baisse significative de l'OFV ($\Delta\text{OFV} > 6,7$).

➤ Pour la technique FPIA, il a été trouvé une influence :

- du poids sur Vc/F et CL/F,

- de BSA sur V_c/F et CL/F ,
- du délai post-transplantation sur b , V_c/F et CL/F , quel que soit le type de codage employé.
- Pour la technique EMIT, il a été retrouvé une influence :
 - de la dose de corticoïdes sur CL/F ($\Delta OFV=8$),
 - du délai sur b , quel que soit le type de codage employé.
- Pour la technique LC-ES-MS, il a été trouvé une influence :
 - du délai post-greffe sur b quel que soit le type de codage employé.

Tableau 24 : Résumé du screening des covariables pour la méthode FPIA.

	<i>V_c/F</i>			
	Equation testée	Δ OFV / modèle de référence	Valeur θ_6	Variabilité interindividuelle V _c /F
Modèle de référence	03	0	0	56,3%
Poids (WT)	03.WT	-16		53,6%
	03+06.WT	-18	0,027	53,3%
BSA	03.BSA	-15		54,2%
	03+06.BSA	-14	58,4	53,8%
Délai post-greffe (DELA) :				
Variable continue	03.(1+06.DELA)	-47	0,0002	56,5%
<1mois ou >1mois	03.(1+06.DELA)	-48	0,0034	56,6%
<15j – 15j à 3mois – >3mois	03.(1+06.DELA)	-39	0,0016	56,4%

	<i>CL/F</i>			
	Equation testée	Δ OFV / modèle de référence	Valeur θ_6	Variabilité interindividuelle CL/F
Modèle de référence	05	0	0	31,2%
Poids (WT)	05+06.WT	-10	0,26	28,9%
BSA	05.BSA	-9		29,5%
	05+06.BSA	-11	15,2	29,3%
Dose de corticoïdes	05+06.CORTI	-5 NS		
Délai post-greffe (DELA) :				
Variable continue	05.(1+06.DELA)	-48	0,048	31,1%
<1mois ou >1mois	05.(1+06.DELA)	-48	0,0037	31,1%
<15j – 15j à 3mois – >3mois	05.(1+06.DELA)	-40	0,004	31,1

	<i>b</i>			
	Equation testée	Δ OFV / modèle de référence	Valeur θ_6	Variabilité interindividuelle <i>b</i>
Modèle de référence	01	0	0	21,1%
Délai post-greffe (DELA) :				
Variable continue	01.(1+06.DELA)	-51	0,0012	21,9%
<1mois ou >1mois	01.(1+06.DELA)	-61	0,16	21,1%
<15j – 15 j à 3mois – >3mois	01.(1+06.DELA)	-58	0,70	21,1%

Tableau 25 : Résumé du screening des covariables pour la méthode LC-ES-MS.

	<i>b</i>			
	Equation testée	Δ OFV / modèle de référence	Valeur θ_6	Variabilité interindividuelle <i>b</i>
Modèle de référence Délai post-greffe (DELA) :	θ_1	0	0	24,7%
Variable continue	$\theta_1.(1+\theta_6.DELA)$	-40	0,25	23,2%
<1mois ou >1mois	$\theta_1.(1+\theta_6.DELA)$	-23	0,03	24,4%
<15j – 15j à 3mois – >3mois	$\theta_1.(1+\theta_6.DELA)$	-39	0,13	22,7%

Tableau 26 : Résumé du screening des covariables pour la méthode EMIT.

	<i>b</i>			
	Equation testée	Δ OFV / modèle de référence	Valeur θ_6	Variabilité interindividuelle – intraindividuelle <i>b</i>
Modèle de référence	θ_1	0	0	19,7 – 22,5%
Dose de corticoïdes Délai post-greffe (DELA) :	$\theta_5+\theta_6.CORTI$	-8	0,013	19,4 – 22,5%
Variable continue	$\theta_1.(1+\theta_6.DELA)$	-30	0,003	12,2 – 25,8%
<1mois ou >1mois	$\theta_1.(1+\theta_6.DELA)$	-47	0,33	10,1 – 24,3%
<15j – 15j à 3mois – >3mois	$\theta_1.(1+\theta_6.DELA)$	-40	1,02	9,1 – 22,3%

3-3-2 Analyse multivariée des covariables

Le modèle incorporant les covariables identifiées au cours de l'analyse univariée et minimisant l'OFV a été recherché.

➤ Pour la technique FPIA, les tests visant à trouver la combinaison de covariables rendant minimale l'OFV ont permis d'identifier le modèle intermédiaire suivant :

- $b = \theta 1.(1+\theta 6.DELA)$, avec $DELA=0$ si $délai < 15j$, $DELA=1$ si $15j < délai < 89j$ et $DELA=2$ si $délai > 89j$.

- $Vc/F = \theta 3.(1+\theta 7.WT).BSA$

- $CL/F = \theta 5.(1+\theta 8.WT).BSA$

➤ Pour la technique EMIT:

- $b = \theta 1.(1+\theta 6.DELA)$, avec $DELA=0$ si $délai < 15j$, $DELA=1$ si $15j < délai < 89j$ et $DELA=2$ si $délai > 89j$.

- $CL/F = \theta 5.(1+\theta 7.CORTI)$

➤ Pour la technique LC-ES-MS:

- $b = \theta 1.(1+\theta 6.DELA)$, avec $DELA=0$ si $délai < 15j$, $DELA=1$ si $15j < délai < 89j$ et $DELA=2$ si $délai > 89j$.

3-4 Construction du modèle final

Pour les trois techniques, le modèle final retenu était :

$$b = \theta_1.(1+\theta_6.DELA)$$

avec DELA=0 si délai<15j, DELA=1 si 15j<délai<89j et DELA=2 si délai>89j.

soit : $\theta_1 = 6,50$ et $\theta_6 = 1,02$ pour EMIT

soit : $\theta_1 = 6,62$ et $\theta_6 = 0,13$ pour LC-ES-MS

soit : $\theta_1 = 7,05$ et $\theta_6 = 0,070$ pour FPIA

Les caractéristiques de chaque modèle final (méthode FOCE) sont rapportées dans le tableau 27.

Tableau 27: Paramètres pharmacocinétiques de population de la ciclosporine obtenus avec 3 méthodes de dosage différentes.

b : constante de transfert entre les compartiments de la chaîne entre le dépôt et le compartiment central ; *V_c/F* : Volume de distribution central apparent ; *V_p/F* : Volume de distribution périphérique apparent ; *CL/F* : Clairance apparente ; *Q/F* : Clairance intercompartimentale ; prop. : erreur proportionnelle ; add. : erreur additive ; IC95% : intervalle de confiance à 95% ; DELA : délai post-greffe.

Paramètres	<i>b</i> (h ⁻¹)	Q/F (L.h ⁻¹)	V _c /F (L)	V _p /F (L)	CL/F (L.h ⁻¹)
EMIT					
Moyenne ± précision d'estimation	θ ₁ = 6,5 ± 0,4 θ ₆ = 1,0 ± 0,3 <i>b</i> = θ ₁ . (1+θ ₆ .DELA)	θ ₂ = 21 ± 2	θ ₃ = 109 ± 11	θ ₄ = 147 ± 41	θ ₅ = 36,9 ± 3,3
Variabilité interindividuelle (%) (IC 95%)	9,1 (3,9-16,4)	42,4 (0-67,2)	27,4 (3,5-39,3)	/	31,2 (25,1-36,3)
Variabilité intraindividuelle (%) (IC 95%)	22,3 (12,4-29,1)	/	45,1 (35,2-55,2)	/	24,8 (16,1-31,2)
Variabilité résiduelle : prop. 14,5% - add. 43,4 µg/L					
FPIA					
Moyenne ± précision d'estimation	θ ₁ = 7,1 ± 0,3 θ ₆ = 0,07 ± 0,004 <i>b</i> = θ ₁ . (1+θ ₆ .DELA)	θ ₂ = 28 ± 4	θ ₃ = 109 ± 7	θ ₄ = 125 ± 22	θ ₅ = 34,5 ± 1,30
Variabilité interindividuelle (%) (IC 95%)	21,4 (14,2-26,7)	81,1 (38,7-107,9)	56,0 (43,6-66,2)	/	31,0 (24,7-36,2)
Variabilité résiduelle : prop. 14,3% - add. 27,2 µg/L					
LC-ES-MS					
Moyenne ± précision d'estimation	θ ₁ = 6,6 ± 0,3 θ ₆ = 0,13 ± 0,04 <i>b</i> = θ ₁ . (1+θ ₆ .DELA)	θ ₂ = 37 ± 5	θ ₃ = 118 ± 12	θ ₄ = 140 ± 12	θ ₅ = 44,1 ± 2,1
Variabilité interindividuelle (%) (IC 95%)	22,7 (17,5-26,9)	95,4 (53,6-123,9)	64,5 (54,0-73,5)	/	41,4 (30,6-49,8)
Variabilité résiduelle : prop. 10,2% - add. 30,4 µg/L					

3-5 Validation du modèle et estimateur Bayésien

La validation du modèle de population a pu être réalisée à partir des données de concentrations observées dans un groupe indépendant de patients.

Les résultats de l'analyse Bayésienne des 10 profils PK « riches » (option POSTHOC) à partir des paramètres du modèle final utilisés comme information *a priori* sont présentés sur la figure 15.

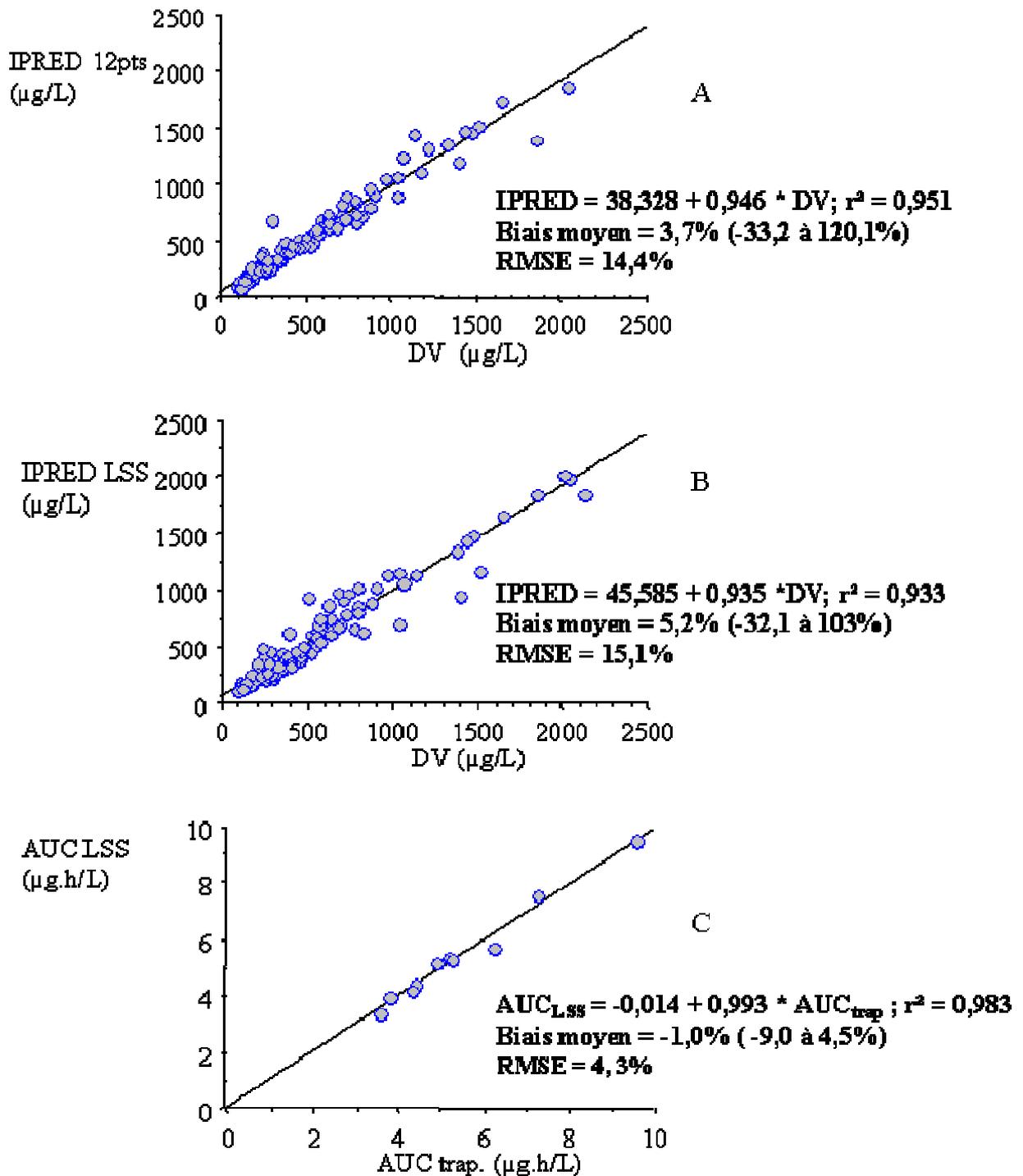


Figure 15 : Résultats des analyses de corrélation permettant de valider le modèle final dans une population indépendante (n=10 profils).

A : Corrélation entre concentrations observées (DV) et prédites (n=117)

B : Corrélation entre DV et concentrations prédites sur la base d'une LSS incluant T0, T1h et T3h.

C : Corrélation entre AUC₀₋₁₂ observées (AUC_{trap}) et AUC₀₋₁₂ prédites par la LSS.

Les pentes et ordonnées à l'origine des droites représentées sur la figure 15 n'étaient pas significativement différentes de 1 et 0, respectivement.

La stratégie incluant des prélèvements à T0, T1h et T3h a permis d'estimer l'AUC0-12 avec un biais inférieur à $\pm 20\%$ chez tous les patients.

3-6 Comparaison des paramètres pharmacocinétiques estimés à partir des 3 méthodes de dosage

Des modèles de population finals similaires, incorporant, sur la constante de transfert b , le délai post-greffe comme covariable, ont été retenus pour les 3 méthodes de dosage. Il semblait cependant exister des différences au niveau de la clairance apparente (tableau 27) : $CL/F = 44,1 \pm 2,1 \text{ L.h}^{-1}$ pour la LC-ES-MS contre $36,9 \pm 3,3 \text{ L.h}^{-1}$ et $34,5 \pm 1,3 \text{ L.h}^{-1}$ pour les méthodes EMIT et FPIA respectivement. De même pour le volume central apparent : $118 \pm 12 \text{ L}$ pour la LC-ES-MS contre $109 \pm 11 \text{ L}$ et $109 \pm 7 \text{ L}$ pour les méthodes EMIT et FPIA, respectivement.

L'analyse de variance a montré une influence significative de la méthode de dosage employée sur les valeurs de clairance apparente ($p < 0,001$), de volume central apparent ($p = 0,004$) et d'AUC0-12 ($p < 0,001$).

En utilisant comme information *a priori* les paramètres de population de chaque modèle final, les paramètres PK individuels des 92 profils ($24 \times 3 + 20$) obtenus pour chacune des méthodes de dosage dans les études PRIMOCINE et STABLOCINE ont été estimés (option POSTHOC). Les valeurs des paramètres CL/F , VC/F et AUC0-12 sont rapportées dans le tableau 28 :

Tableau 28 : Paramètres pharmacocinétiques calculés par méthode Bayésienne en fonction des 3 techniques de dosage (n=92 profils).

	Moyenne \pm écart type	Extrêmes
AUC (EMIT)	5,6 \pm 1,8	2,6 à 12,5
AUC (FPIA)	5,7 \pm 1,8	2,7 à 12,1
AUC (LC-ES-MS)	4,6 \pm 1,5	2,0 à 9,4
VC/F (EMIT)	111 \pm 70	34 à 435
VC/F (FPIA)	111 \pm 67	33 à 342
VC/F (LC-ES-MS)	118 \pm 81	33 à 388
CL/F (EMIT)	36,3 \pm 11,2	14,9 à 70,7
CL/F (FPIA)	35,5 \pm 11,0	18,0 à 70,8
CL/F (LC-ES-MS)	44,5 \pm 15,3	16,6 à 77,3

La comparaison des ces données individuelles (test de Bonferroni) a confirmé que la clairance apparente estimée par la méthode LC-ES-MS était significativement plus élevée que celles obtenues par les méthodes EMIT et FPIA ($p < 0,05$). Aucune différence significative n'était observée entre les clairances apparentes déterminées par EMIT et FPIA. Les valeurs du volume central apparent estimées pour les 3 méthodes analytiques n'étaient pas significativement différents.

Ceci se traduisait par des valeurs d'AUC estimées par la méthode LC-ES-MS significativement plus faibles que celles estimées par les 2 méthodes immunologiques ($p < 0,05$).

L'analyse des biais observés sur l'AUC₀₋₁₂ modélisée est présentée sur la figure 16 et dans le tableau 29:

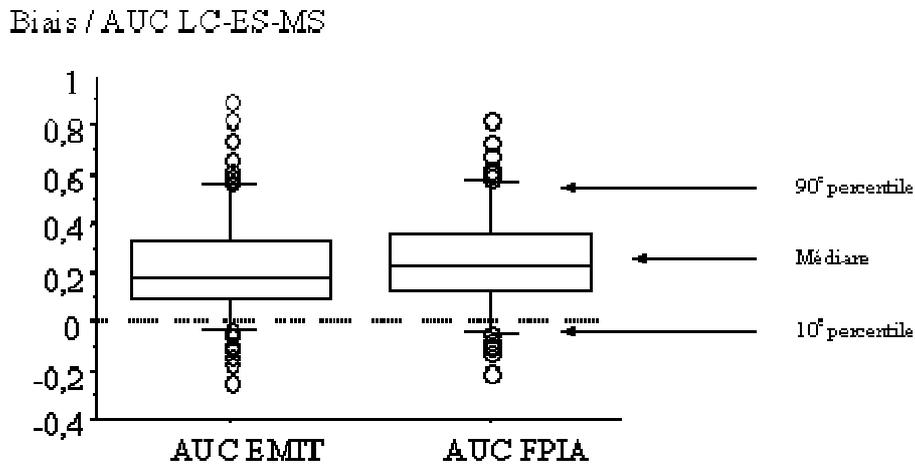


Figure 16 : Représentation graphique des biais calculés entre AUC₀₋₁₂ obtenues après dosage par 2 méthodes immunologiques (EMIT et FPIA) et AUC₀₋₁₂ par chromatographie (LC-ES-MS) (méthode de référence).

Tableau 29 : Biais calculés entre les valeurs d'AUC₀₋₁₂ obtenues par 2 méthodes immunologiques (FPIA et EMIT) et les valeurs obtenues par chromatographie (LC-ES-MS) (n=92).

	Moyenne ± Ecart type	Extrêmes
Biais AUC (EMIT)	22,8 ± 23,0 %	-24,8 à 90,1 %
Biais AUC (FPIA)	24,2 ± 21,4 %	-21,1 ± 82,4 %

A titre d'illustration le profil de concentration observé chez un patient de l'étude PRIMOCINE au troisième jour post-greffe est présenté sur la figure 17. Il s'agit d'un patient pour lequel le biais des AUC EMIT et FPIA estimé par NONMEM était de l'ordre de 75% par rapport à la LC-ES-MS. De la même manière, toutes les valeurs extrêmes de biais ont pu être confirmées par l'analyse visuelle des courbes et le calcul des AUC par la méthode des trapèzes

(un dosage de contrôle a été réalisé pour les patients chez lesquels des biais très importants étaient observés).

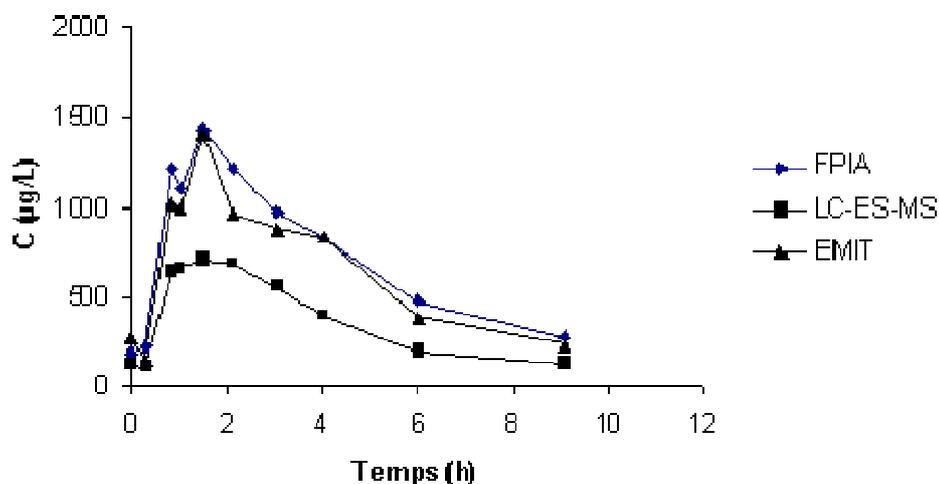


Figure 17 : Courbes d'évolution des concentrations de ciclosporine observées après dosage par 3 techniques analytiques différentes (EMIT, FPIA et LC-ES-MS) chez un même patient à J3 post-greffe.

4- Discussion

En utilisant le logiciel NONMEM, les 92 profils pharmacocinétiques de la ciclosporine observés dans 2 populations de 24 et 20 patients transplantés rénaux respectivement, dont les délais post-greffe s'étendaient de 3 jours à plusieurs années, ont été décrits avec précision par un modèle à 2 compartiments combinant une élimination d'ordre 1 et une absorption décrite par une distribution de Erlang.

Brièvement, le modèle « Erlang » consiste à interposer une chaîne de compartiments « délai » entre le dépôt et le compartiment central. Ces compartiments « fictifs » sont reliés entre eux par une constante transfert de valeur identique tout au long de la chaîne. Yu et al. ont proposé un modèle PK comportant également une chaîne de compartiments intercalée entre le dépôt et le compartiment central (Yu LX et al. 1999). Ces auteurs proposaient de considérer

ces différents compartiments comme une modélisation du cheminement du médicament dans l'intestin. Cette interprétation physiologique semble être applicable à notre modèle.

En adoptant cette manière de décrire la phase d'absorption, 3 modèles différents ont été mis au point. Chacun d'entre eux est dédié à une méthode de dosage ayant permis de mesurer les concentrations de ciclosporine : chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (LC-ES-MS), FPIA et EMIT.

Le modèle « Erlang » s'est montré plus performant que des modèles classiques avec absorption d'ordre 0 ou d'ordre 1. L'intégration d'un paramètre temps de latence ou « *lag-time* » permettant de décrire les retards à l'absorption dans les modèles classiques donnait des performances en retrait par rapport à la distribution d'Erlang. Les différences des valeurs des fonctions objectives (OFV), critère principal de comparaison des performances 2 modèles, étaient très importantes entre « ordre 0 » et « Erlang » (>1000 pour la méthode EMIT), et entre « ordre 1 » et « Erlang » (>100 pour les trois méthodes de dosages). L'examen visuel des graphes de distribution des WRES et de corrélation entre PRED et DV confirmait également la supériorité de ce modèle.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans une population de 70 transplantés rénaux stables qui avaient montré la supériorité d'une distribution d'Erlang par rapport à l'ordre 0 et à l'ordre 1 (Rousseau A et al. 2004). Dans une étude publiée récemment, Tokui et al. ont calculé les paramètres PK de la ciclosporine chez 125 transplantés rénaux stables à l'aide d'un modèle à 2 compartiments absorption d'ordre 1. Ces auteurs rapportaient une bonne précision d'estimation des paramètres PK et notamment de la constante du premier ordre ($k_a=2,16\pm 0,12 \text{ h}^{-1}$). Toutefois, les profils PK recueillis au cours de leur étude ne comportaient aucun prélèvement entre T0 et T1h, contrairement à notre étude qui comprenait des prélèvements à T20min et T40min.

Le modèle « Erlang » comprend 5 paramètres pour caractériser la pharmacocinétique de la ciclosporine contre 6 pour un modèle d'ordre 1 avec temps de latence. Cette différence est importante dans la mesure où le nombre de prélèvements à inclure dans une LSS est intimement lié au nombre de paramètres présents dans le modèle PK.

Un modèle décrivant l'absorption par une distribution Gamma a également été programmé dans le logiciel NONMEM. Cette approche constituait une alternative au modèle précédemment développé à l'aide d'un logiciel « maison » (cf sous-partie 1) (Debord J et al. 2001). Ce modèle « Gamma » obtenu sous NONMEM, décrivait de façon très satisfaisante les données. Toutefois, pour des performances très voisines de celles obtenues par le modèle « Erlang », il nécessitait 2 paramètres supplémentaires. Selon le principe de parcimonie nous avons décidé de réaliser l'analyse de population à l'aide du modèle Erlang.

Pour chacun des 5 paramètres du modèle « Erlang », la précision d'estimation obtenue par la méthode FOCE était de l'ordre de 10 à 12 % (excepté V_p/F), et les intervalles de confiance à 95% étaient étroits. Le modèle d'erreur associé à ce modèle PK comportait une erreur proportionnelle et une erreur additive : quelle que soit la méthode de dosage considérée, l'erreur proportionnelle était de l'ordre de 12 à 15%, et l'erreur additive restait toujours inférieure ou voisine à la limite de quantification de la technique analytique. Ces résultats témoignent des très bonnes performances de ces modèles.

Parmi les covariables testées au cours de cette analyse de population, et quelle que soit la méthode de dosage considérée, seul le délai post-transplantation influençait significativement les paramètres PK de la ciclosporine dans les modèles finals. Après avoir testé de nombreuses manières d'introduire la covariable « délai post-greffe » dans le modèle, il est apparu que la catégorisation de celle-ci donnait les meilleurs résultats. Ainsi, dans le modèle final, le délai se a été fractionné en trois périodes : inférieur à J15, de J15 à 3 mois et

supérieur à 3 mois. Dans une population de transplantés cardiaques recevant de la ciclosporine par voie orale, Parke J et al. avaient également proposé de catégoriser le délai post-greffe (Parke J et al. 2000). Dans cette étude les auteurs rapportaient une très nette amélioration des performances de leur modèle en introduisant la covariable « délai inférieur à J5 » sur le paramètre de biodisponibilité. Dans notre étude, l'introduction de ce paramètre sur la constante de transfert b , reliant les compartiments fictifs en amont du compartiment central, améliorait très significativement les performances du modèle ($\Delta\text{OFV} = 39, 48$ et 40 pour les méthodes LC-ES-MS, FPIA et EMIT, respectivement).

Dans le modèle PK développé, la constante b est directement reliée au temps moyen d'absorption MAT ($b=a/\text{MAT}$). L'influence du facteur « délai post-greffe » sur ce paramètre est en accord avec le résultats que nous avons trouvé lors de l'analyse en 2 étapes de ces données et qui avaient montré une augmentation progressive de l'exposition à la ciclosporine au cours du temps (cf sous-partie 1).

Tokui et al. ont identifié le poids corporel comme covariable influençant significativement le volume central (Tokui K et al. 2004). Lors de l'analyse univariée des covariables, nous avons également retrouvé ce résultat pour le modèle dédié à la méthode FPIA. Cette covariable a été introduite dans le modèle intermédiaire, puis sa déletion a entraîné une augmentation significative de l'OFV ($\Delta\text{OFV}=14$; $p<0,001$). Cependant, lors de la mise au point du modèle final, la prise en compte du poids sur V_c/F dégradait la précision de l'estimation de ce paramètre (méthode FOCE). Nous avons donc rejeté cette covariable.

La validation du modèle « Erlang » incluant le délai post-greffe comme covariable a été réalisée par analyse Bayésienne sur la base des concentrations obtenues par la méthode LC-ES-MS. Pour ce, une population indépendante de patients transplantés rénaux ayant fourni 10 profils PK riches entre J15 et le 3^e mois post-greffe a été utilisée. Les profils observés ont

pu être modélisés avec une grande précision. Une LSS incluant des prélèvements à T0, T1h et T3h a également permis de prédire de façon satisfaisante l'exposition à la ciclosporine (biais moyen entre AUC_{0-12} observées et prédites: $-1,0 \pm 4\%$; $RMSE = 4,3\%$). En utilisant cette LSS, aucun des 10 profils ne présentait un biais supérieur à 20% en valeur absolue. Ce résultat confirme les résultats de travaux antérieurs ayant identifié cette LSS comme un bon prédicteur de l'exposition à la ciclosporine (Léger F et al. 2002 ; Monchaud C et al. 2003 ; Rousseau A et al. 2003).

Il semblait également important d'étudier la PKpop de la ciclosporine dosée par 3 techniques analytiques différentes et de comparer les résultats obtenus. L'analyse Bayésienne des données a permis de mettre en évidence une influence significative de la méthode de dosage employée sur les paramètres PK individuels de la ciclosporine. Dans la population de 44 transplantés rénaux étudiée ici (92 profils), la clairance apparente estimée à partir de concentrations mesurées par LC-ES-MS était significativement plus élevée que celle estimée par les méthodes immunologiques (EMIT ou FPIA). De ce fait, l' AUC_{0-12} était en moyenne 20% plus élevée lorsque les concentrations étaient mesurées par EMIT ou FPIA plutôt que par LC-ES-MS ($p < 0,05$). Pour certains profils, la surestimation pouvait atteindre 80 à 90%. Ce phénomène ne semblait pas être répétitif chez un même patient.

Cette différence des valeurs d' AUC_{0-12} estimées traduit vraisemblablement la plus grande spécificité de la technique LC-ES-MS pour la CSA et son absence d'interférences avec les métabolites de la CsA ou des molécules endogènes (Deters M et al. 1998) et pourrait justifier, à notre sens, la définition de cibles d' AUC_{0-12} dédiées à cette technique analytique si celle-ci devait être employée en routine. Le groupe de travail du suivi thérapeutique des immunosuppresseurs (*IATDMCT - Working Group on Immunosuppressive Drug Monitoring*), recommande que le suivi thérapeutique des concentrations de ciclosporine tienne compte de la méthode de dosage (Holt DW et al. 2000 ; Holt DW et al. 2002). Une surestimation des

concentrations sanguines de CsA par les méthodes immunologiques, par rapport à la chromatographie a déjà été rapportée (Schutz E et al. 1998 ; Simpson J et al. 1998 ; Kovarik JM et al. 1994 ; Oellerich M et al. 1995 ; Proficiency Testing Scheme 2002 : <http://www.bioanalytics.co.uk>). Elle serait de l'ordre de 5 à 22% avec les réactifs EMIT et de 16 à 32% avec la méthode FPIA-AxSYM chez les transplantés rénaux et cardiaques, ce qui concorde avec les résultats que nous avons obtenus.

SOUS-PARTIE 3 : PHARMACOCINETIQUE DE POPULATION DE LA CICLOSPORINE EN TRANSPLANTATION PULMONAIRE

1- Buts de l'étude

Les objectifs de cette étude étaient multiples :

- Développer un modèle PK permettant la description de données issues de patients transplantés pulmonaires atteints ou non de la mucoviscidose et recevant de la ciclosporine en 2 ou 3 administrations quotidiennes.

- Réaliser une analyse de population afin d'étudier l'influence de cofacteurs sur les paramètres PK de la ciclosporine dans ces populations.

- Développer un estimateur Bayésien permettant de calculer les paramètres PK individuels et les principaux indices d'exposition à la ciclosporine à l'aide d'une stratégie limitée d'échantillonnage.

2- Matériels et méthodes

2-1 Patients

Les profils de concentration de la ciclosporine provenaient de patients transplantés pulmonaires suivis dans 2 centres.

- L'hôpital Foch à Suresnes (France) : Service de Pneumologie (équipe du Docteur Marc Stern) et service de Pharmacologie (Docteur Nicole Bernard)

- L'hôpital Erasme à Bruxelles (Belgique) : Service de Pneumologie (Professeur Marc Estenne) et service de Pharmacologie (Docteur Philippe Thiry)

Les données pharmacocinétiques issues de ces 2 centres ont été regroupées au sein d'une base de données commune.

Pour les patients recevant 3 doses par jour, un prélèvement sanguin était effectué juste avant la dose matinale de ciclosporine (T0), puis à T1h, T2h, T3h, T4h, ainsi qu'à T5h, T6h ou T7h.

Pour les patients recevant deux doses quotidiennes de NEORAL®, les prélèvements ont été réalisés juste avant la dose matinale de ciclosporine (T0), puis à T20min ; T40min ; T1h ; T1,5h ; T2h ; T2,5h ; T3h ; T4h ; T6h ; T9h et T12h après l'administration.

2-1-1 Groupe de construction du modèle

Les données issues de 65 patients recevant de la ciclosporine par voie orale sous forme NEORAL® en 2 ou 3 prises quotidiennes ont servi à mettre au point le modèle PK de population. Ces patients avaient bénéficié d'une transplantation pulmonaire soit dans le cadre de leur mucoviscidose (n=27), soit pour d'autres indications (n=38).

2-1-2 Groupe de validation du modèle

La validation du modèle a été réalisée dans un groupe indépendant de 34 patients. Parmi ceux-ci, 20 étaient atteints de mucoviscidose et 14 ne l'étaient pas.

Les principales caractéristiques de ces deux groupes sont reportées dans le tableau 30.

2-2 Méthode de dosage

Les concentrations sanguines de ciclosporine ont été mesurées par une technique EMIT (Dade-Behring Diagnostics, Deerfield USA). Ces dosages ont été réalisés dans les services de Pharmacologie de l'hôpital Foch et de l'hôpital Erasme.

Tableau 30 : Caractéristiques des patients transplantés pulmonaires inclus dans les groupes de construction et de validation du modèle PK.

	Groupe de construction (n=65)	Groupe de validation (n=34)	
	<i>Moyenne ± écart type</i>	<i>Moyenne ± écart type</i>	<i>Comparaison entre</i>
	<i>(Extrêmes)</i>	<i>(Extrêmes)</i>	<i>les deux groupes</i>
Age (années)	42 ± 11 (24 – 58)	44 ± 11 (22 – 58)	n.s.
Poids (kg)	57 ± 12 (37 – 93)	59 ± 15 (42 – 88)	n.s.
Taille (cm)	169 ± 9 (159 – 192)	170 ± 7 (162 – 179)	n.s.
Surface corporelle (m²)	1,68 ± 0,16 (1,47 – 2,23)	1,60 ± 0,06 (1,41 – 1,79)	n.s.
Créatininémie (µmol/L)	116 ± 41 (45 – 248)	130 ± 52 (50 – 223)	n.s.
Délai post-greffe (j)	216 ± 270 (15 – 1500)	170 ± 164 (30 – 1800)	n.s.
Dose de ciclosporine (mg)	170 ± 80 (75 – 425)	180 ± 60 (50 – 275)	n.s.

2-3 Pharmacocinétique de population

La même version du logiciel NONMEM que celle précédemment décrite a été utilisée (cf sous-partie 2 de ce mémoire).

2-3-1 Choix du modèle pharmacocinétique structural

La détermination du modèle de base a été réalisée à partir du groupe de construction incluant 65 patients à l'aide du sous-programme PREDPP (Prediction for Population Pharmacokinetics). La méthode FO a été utilisée en première intention. Dans une seconde étape, l'algorithme FOCE était utilisé afin d'augmenter la précision d'estimation des paramètres et particulièrement de leur variabilité.

Une comparaison de différents modèles structuraux a été réalisée. Les différents modèles PK testés au cours de cette analyse étaient les mêmes que ceux présentés précédemment (cf sous-partie 2 de ce mémoire) :

- Modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 0 et élimination d'ordre 1.
- Modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 1 et « lag-time » et élimination d'ordre 1.
- Modèle bicompartimental avec absorption décrite par une loi d'Erlang et élimination d'ordre 1.
- Modèle bicompartimental avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par une loi Gamma.

Parallèlement à cette étude comparative, un modèle bicompartimental avec absorption décrite par une loi d'Erlang et élimination d'ordre 1, intégrant un facteur de biodisponibilité (F1) a été développé. Celui-ci avait pour but d'étudier la biodisponibilité relative de la ciclosporine entre patients « muco » et patients « non-muco ». La biodisponibilité a été fixée arbitrairement à 1 pour les patients « non-muco ». L'équation suivante a été utilisée :

$$TV F1 = (MUCO + (1 - MUCO)) \cdot \theta_6 \cdot \exp(\eta_6)$$

Les critères statistiques et approches graphiques utilisés au cours de cette étude étaient les mêmes que ceux présentés précédemment (cf sous-partie 2 de ce mémoire)

La déviation entre les paramètres estimés pour chaque sujet (θ_i) et leurs valeurs moyennes dans la population (θ) a été décrite par un modèle d'erreur inter-individuelle (η) de type exponentiel :

$$\theta_i = \theta \cdot \exp(\eta_i)$$

La déviation entre les concentrations mesurées chez un patient (θ_i) et celles prédites avec ses paramètres estimés a été décrite par un modèle d'erreur résiduelle dit « mixte » :

$$C_{\text{obs}} = C_{\text{pred}} \cdot (1 + \varepsilon_i) + \varepsilon'_i$$

Où C_{obs} représente la valeur de concentration observée et C_{pred} celle prédite par le modèle. ε_i représente l'erreur résiduelle proportionnelle et ε'_i l'erreur résiduelle additive, qui sont normalement distribuées, avec des moyennes égales à zéro et des variances σ^2 et σ'^2 qui représentent les variabilités résiduelles additive et proportionnelle.

2-3-2 Analyse de l'influence des covariables sur les paramètres pharmacocinétiques

L'influence des covariables suivantes a été testée :

- covariables continues : âge (AGE) en années, poids (WT) en kg, taille (HGT) en cm, surface corporelle (BSA) en m², créatininémie (CREA) en μM , délai post-greffe (DELA) en jour.

- Covariables codées de façon binaire : sexe (SEX) (0 pour les femmes et 1 pour les hommes) et mucoviscidose (MUCO) (1 : patient souffrant de mucoviscidose ; 0 : patient transplanté pour une autre indication).

Plusieurs type d'équations ont été utilisés pour étudier la relation entre chacune des covariables (COV) et chacun des paramètres (θ):

$$\diamond \theta_1 \pm \theta_2 \cdot \text{COV} \text{ ou } \theta_1 \cdot (1 \pm \theta_2 \cdot \text{COV})$$

$$\diamond \theta_1 \cdot (1 \pm \theta_2 / \text{COV})$$

L'analyse multivariée a consisté à introduire dans un seul modèle intermédiaire l'ensemble des covariables identifiées au cours de l'analyse univariée.

A partir du modèle intermédiaire, une déletion indépendante des covariables a été effectuée. Une covariable était retenue pour le modèle final si son retrait entraînait une augmentation de la fonction objective $> 10,9$ ($p < 0,001$).

2-3-3 Validation du modèle final et des estimateurs Bayesiens

Grâce à l'option POSTHOC, les paramètres de population du modèle final ont pu être utilisés comme information a priori pour réaliser une analyse Bayésienne. Celle-ci avait pour but de déterminer l' AUC_{0-12} à partir d'une stratégie d'échantillonnages limité (LSS).

Le groupe de construction (65 patients) a été utilisé afin de déterminer la meilleure LSS comportant 3 prélèvements dans les 4 premières heures de l'interdose (soit 6 combinaisons possibles). La meilleure stratégie a ensuite été testée dans le groupe de validation (34 patients). Pour ce, la relation entre AUC_{0-12} calculées par la méthode des trapèzes et prédites par la LSS a été étudiée par analyses de corrélation et régression, et calcul du biais moyen et de la RMSE.

3-Résultats

Les données de concentrations en fonction du temps observées sont représentées sur la figure 18. Au total, le nombre de données exploitables pour la construction du modèle était de 599.

Le groupe de validation a permis d'obtenir 348 données de concentrations.

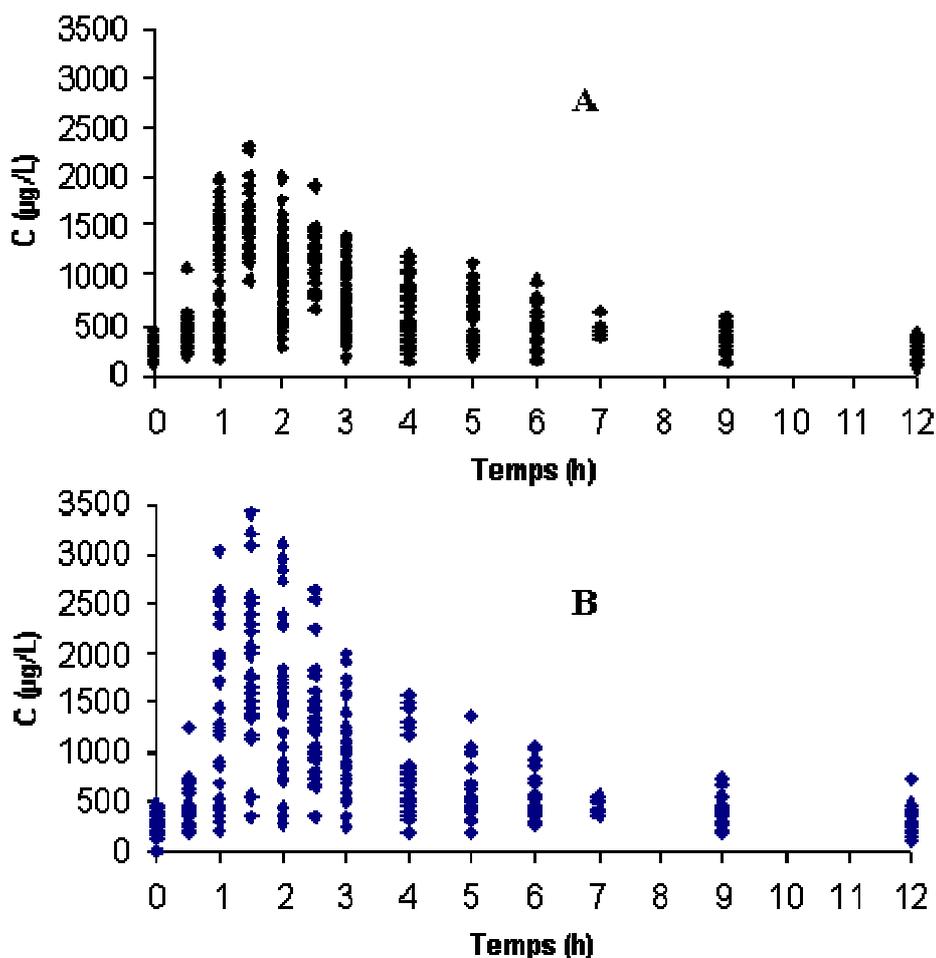


Figure 18 : Courbes observées des concentrations de ciclosporine en fonction du temps chez des transplantés pulmonaires. A : groupe de construction du modèle (n=65) ; B : groupe de validation du modèle (n=34).

3-1 Choix du modèle de base

Les valeurs de fonction objective des modèles testés sont rapportées dans le tableau 31 :

Tableau 31 : Valeurs des fonctions objectives obtenues pour différents modèles à 2 compartiments appliquées aux données issues de transplantés pulmonaires.

Modèle testé	Fonction Objective OFV
Absorption d'ordre 0	6038
Absorption d'ordre 1 avec lag-time	5935
Absorption décrite par une loi de Erlang (a=6)	5857
Absorption décrite par une loi Gamma	5775

Un modèle à 2 compartiments avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par une loi d'Erlang permettait d'obtenir une valeur de fonction significativement plus faible que celle obtenue avec les autres modèles ($p < 0,01$).

L'incrémentation du nombre de compartiments « délai » de $a=3$ à $a=6$ a permis de diminuer progressivement l'OFV. Avec $a=7$, l'OFV ne diminuait pas de façon significative par rapport à celle obtenue pour $a=6$.

Pour le modèle « Gamma », seul la méthode FO a permis une estimation des paramètres PK. Les méthodes FOCE, FOCE INTER et FOCE HYBRID n'ont pu être utilisées avec succès. Pour cette raison, le modèle « Gamma » a été rejeté.

Les graphes de corrélation obtenus entre PRED et DV, et IPRED et DV avec le modèle « Erlang » sont rapportés sur la figure 19.

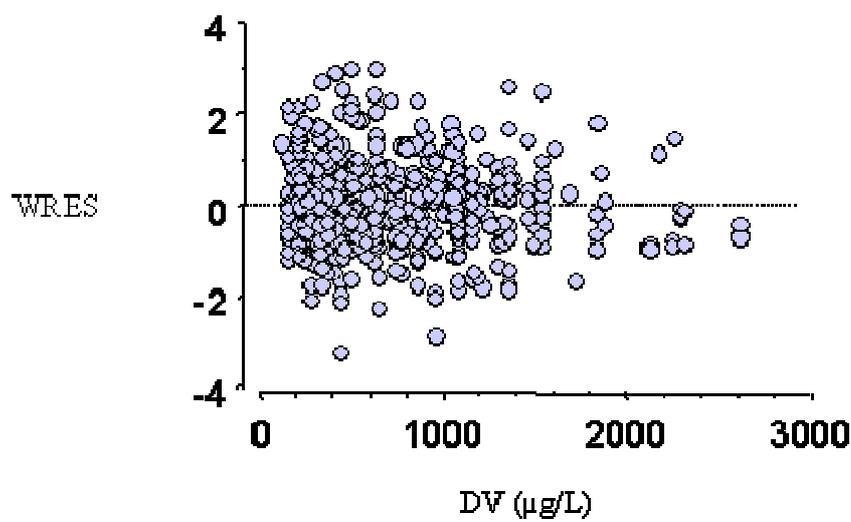
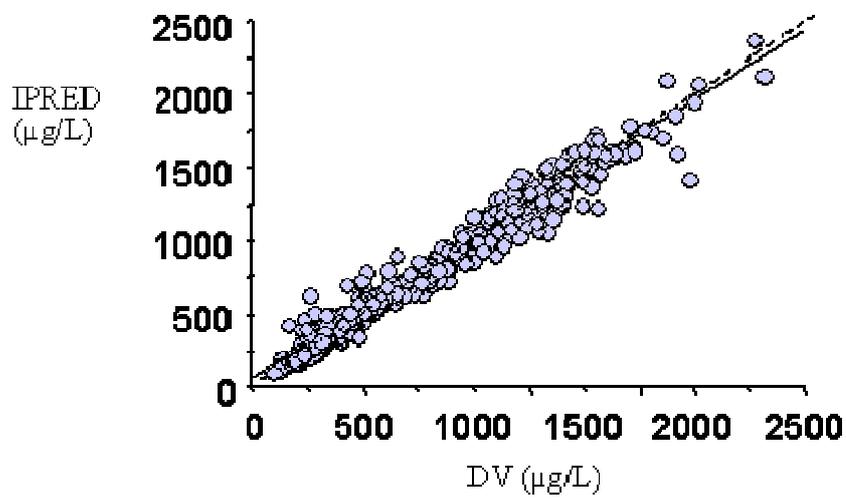
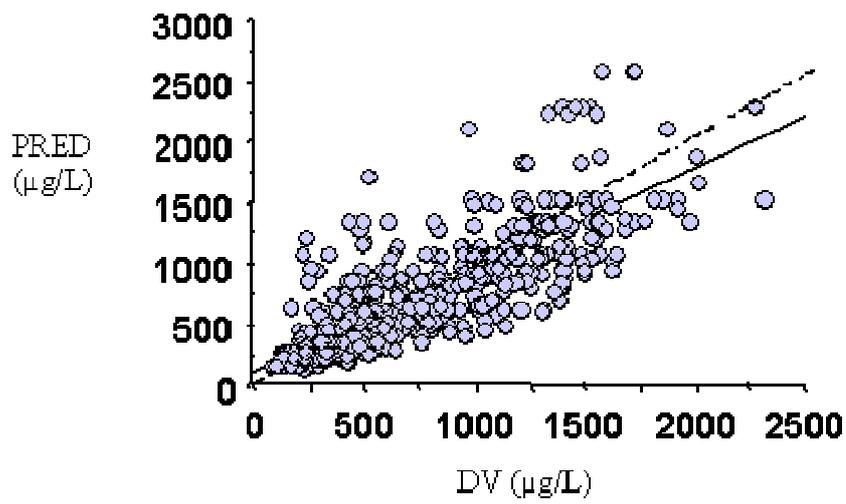


Figure 19 : Evaluation graphique des performances du modèle de base.

PRED : concentrations prédites par le modèle PK ; **RES** : résidus entre concentrations observées et prédites par le modèle PK ; **WRES** : résidus pondérés.

L'ajustement PRED versus DV montre une répartition des concentrations autour de la droite d'identité. La représentation des résidus pondérés (WRES) montre une répartition resserrée dans la fourchette d'intervalle entre +2 et -2 (intervalle de confiance à 95%) autour de DV.

Les paramètres pharmacocinétiques de population du modèle structural retenu sont présentés dans le tableau 32 :

Tableau 32: Paramètres PK de population du modèle de base à 2 compartiments décrivant la phase d'absorption par une loi d'Erlang.

b : constante de transfert entre les compartiments de la chaîne entre le dépôt et le compartiment central ; **Vc/F** : Volume de distribution central apparent ; **Vp/F** : Volume de distribution périphérique apparent ; **CL/F** : Clairance apparente ; **Q/F** : Clairance intercompartimentale ; **prop.** : erreur proportionnelle ; **add.** : erreur additive

Paramètres	<i>b</i> (h ⁻¹)	Q/F (L.h ⁻¹)	Vc/F (L)	Vp/F (L)	CL/F (L.h ⁻¹)
Moyenne	7,68	45,2	86,2	123,0	32,5
Précision de l'estimation	12,1%	23%	9,3%	53,1%	3,1%
Variabilité résiduelle : prop. 16,4% - add. 44,2 µg/L					

L'estimation des paramètres était très satisfaisante (notamment pour les paramètres *b*, Vc/F et CL/F) de même que les valeurs d'erreur résiduelle proportionnelle et additive (proche de la limite de quantification de la méthode de dosage).

3-2 Analyse des covariables

L'introduction de la covariable « mucoviscidose » sur le paramètre Vc/F a entraîné une baisse significative de l'OFV (p<0,01) :

$$\Delta\text{OFV} = -15 \text{ avec } \mathbf{Vc/F} = \mathbf{03} + \mathbf{06.MUCO}$$

Il en était de même avec l'introduction de cette covariable sur le paramètre CL/F :

$$\Delta\text{OFV} = -24 \text{ avec } \text{CL/F} = \theta_5 + \theta_6 \cdot \text{MUCO}$$

Les autres covariables testées n'entraînaient pas de modification significative de la valeur de l'OFV ($\Delta\text{OFV} < -6,7$)

3-3 Construction du modèle intermédiaire et du modèle final

Le modèle intermédiaire incorporait la covariable « mucoviscidose » sur les deux paramètres CL/F et Vc/F, entraînant une diminution significative de l'OFV ($\Delta\text{OFV} = -37$; $p < 0,01$). La déletion de la covariable a entraîné une augmentation de +19 et +16 de l'OFV lors du retrait sur Vc/F et CL/F, respectivement. Le modèle final comportait donc le facteur « mucoviscidose » sur les 2 paramètres Vc/F et CL/F. Les paramètres PK du modèle final sont rapportées dans le tableau 34 :

Tableau 33 : Paramètres pharmacocinétiques du modèle de population final (2 compartiments, absorption décrite par une loi d'Erlang et élimination d'ordre 1).

b : constante de transfert entre les compartiments de la chaîne entre le dépôt et le compartiment central ; Vc/F : Volume de distribution central apparent ; Vp/F : Volume de distribution périphérique apparent ; CL/F : Clairance apparente ; Q/F : Clairance intercompartmentale ; prop. : erreur proportionnelle ; add. : erreur additive ; IC95% : intervalle de confiance à 95%.

Paramètre	Moyenne	Précision	Variabilité interindividuelle (IC 95%)
<i>b</i> (h ⁻¹)	7,94	1,4 %	25,8 % (15,7-33)
CL/F (L.h ⁻¹)	$\theta_1 = 29,9$	4,4%	25.5 % (16,4-31,6)
	MUCO : $\theta_2 = 7,7$	19,8 %	
VC/F (L)	$\theta_3 = 78,4$	10,0 %	50.5 % (23,5-67,5)
	MUCO : $\theta_4 = 6,1$	12,5 %	
Q/F (L.h ⁻¹)	27,8	9,0%	65.5 % (42,7-79,7)
Vp/F (L)	162	43 %	non estimée
Erreur résiduelle : prop. 14,2% ; Add. 26,2 µg/L			

La précision d'estimation des paramètres pharmacocinétiques de population était très satisfaisante (excepté pour V_p/F). Le modèle d'erreur résiduelle permettait d'obtenir une erreur additive voisine de la limite de quantification de la méthode de dosage.

La validité du modèle « Erlang » est illustrée dans la figure 20 par des exemples de profils PK modélisés (courbes des concentrations en fonction du temps obtenues à partir des paramètres individuels) :

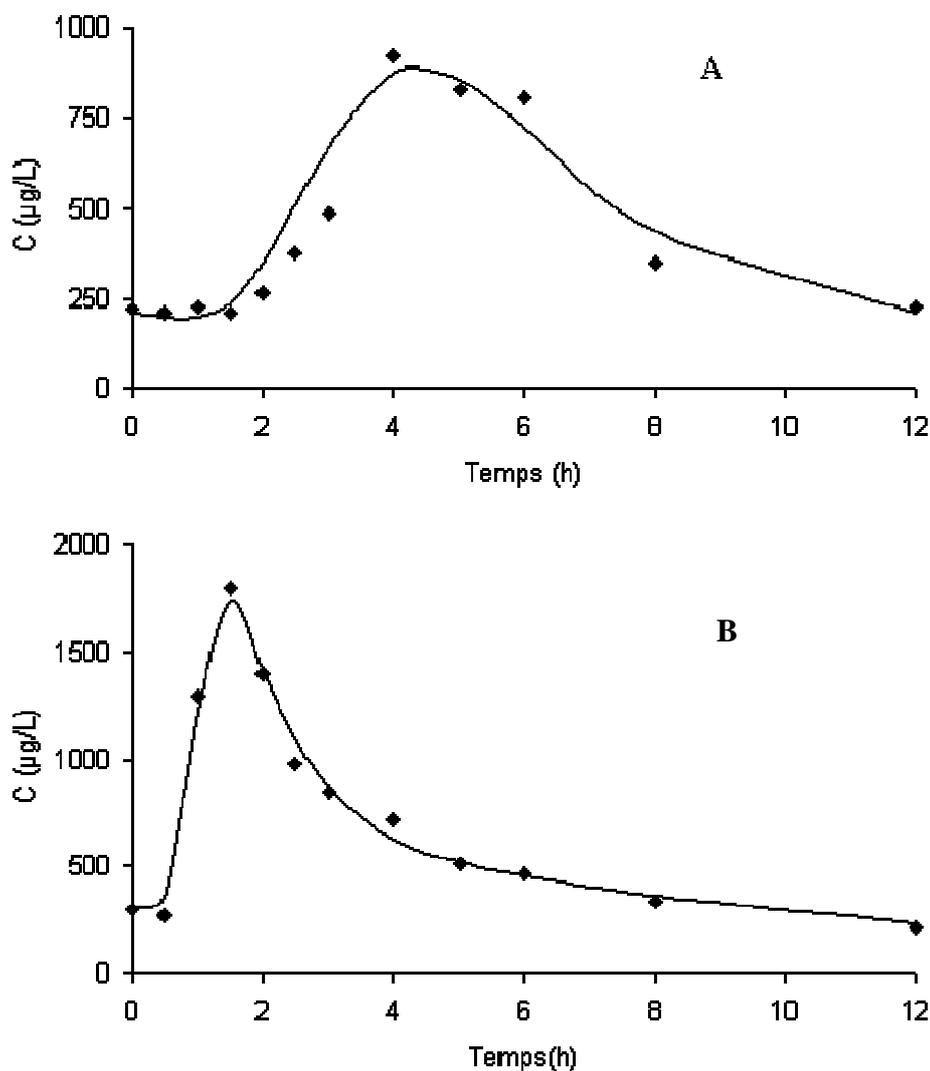


Figure 20 : Modélisation de 2 profils PK de la ciclosporine par le modèle Erlang chez des transplantés pulmonaires. A : patient atteint de mucoviscidose ; B : patient non atteint de mucoviscidose

La figure 20 illustre la capacité de ce modèle à décrire des profils d'absorption retardée (cas typique du patient atteint de mucoviscidose) ou des profils d'absorption plus classique.

L'étude des paramètres PK individuels a montré que le paramètre CL/F était significativement plus élevé chez les patients « muco » que chez les patients « non muco » : $35,9 \pm 7,1 \text{ L.h}^{-1}$ versus $28,9 \pm 7,2 \text{ L.h}^{-1}$ ($p < 0,05$). De même pour le paramètre Vc/F : $2,4 \pm 1,2 \text{ L/kg}$ chez les patients « muco » versus $1,7 \pm 0,8 \text{ L/kg}$ chez les patients « non muco » ($p < 0,05$).

Un modèle « Erlang » intégrant un facteur de biodisponibilité F1 a ensuite été utilisé, avec F1 fixé à 1 pour les patients « non muco ». L'introduction de ce 6^e paramètre faisait baisser significativement l'OFV ($\Delta\text{OFV}=50$; $p < 0,01$). L'analyse des paramètres individuels pour les patients « muco » a permis le calcul d'un facteur moyen de biodisponibilité relative de 0,73, signifiant qu'en moyenne la biodisponibilité orale de la ciclosporine en transplantation pulmonaire était diminuée de 27% chez les patients souffrant de mucoviscidose, comparativement aux patients n'étant pas atteints de cette maladie.

3-5 Validation du modèle et estimateur Bayésien

La validation du modèle de population a pu être réalisée à partir des données de concentrations observées dans un groupe indépendant de 34 patients.

Dans le groupe de construction, la stratégie T0-T1h-T3h a été identifiée comme celle permettant la meilleure estimation de l'AUC₀₋₁₂ : le biais moyen entre AUC estimées par LSS et celles calculées par la méthode des trapèzes à partir de l'ensemble des concentrations était égal à -3,1% et la RMSE égale à 12,2%.

Cette LSS a ensuite été appliquée aux 34 profils PK « riches » à partir des paramètres du modèle final utilisés comme information *a priori*. Le biais moyen entre AUC₀₋₁₂ calculées

par cette LSS et celles calculées par la méthodes des trapèzes à partir de l'ensemble des concentrations était de $-2,9\%$ ($-9,8 ; 14,0\%$) et la RMSE de $13,2\%$.

A titre d'exemple, la modélisation de 2 profils obtenus à partir de la LSS C0-C1-C3 est présentée sur la figure 21 :

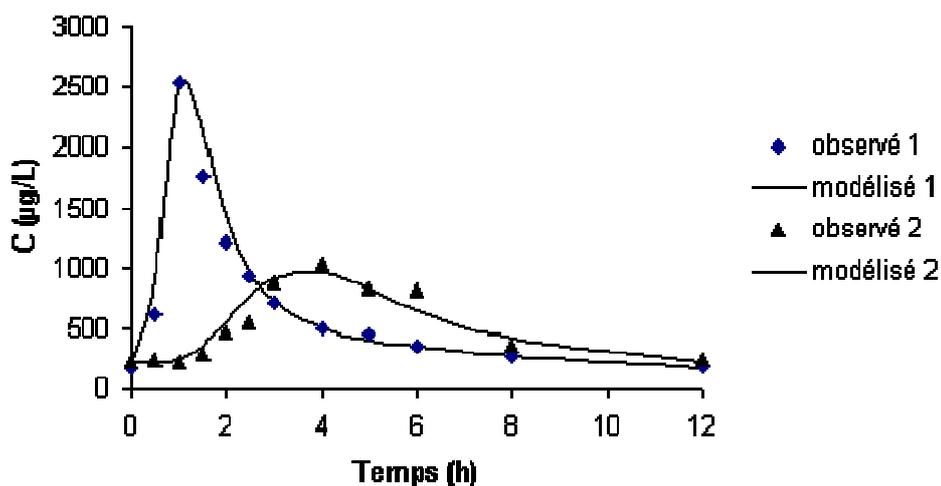


Figure 21 : Modélisation à partir de 3 prélèvements effectués à T0, T1h et T3h de 2 profils issus du groupe indépendant de transplantés pulmonaires.

4- Discussion

Bien que la ciclosporine soit utilisée chez plus de la moitié des transplantés pulmonaires (Taylor DO et al. 2002), peu de travaux concernant la pharmacocinétique de la ciclosporine en transplantation pulmonaire ont été publiés.

A l'aide du logiciel NONMEM, les profils PK de la ciclosporine obtenus dans une population de transplantés pulmonaires ont été décrits de façon satisfaisante par un modèle bicompartimental combinant une élimination d'ordre 1 et une absorption décrite par une loi

d'Erlang. Développé dans un groupe de 65 patients, ce modèle a ensuite été testé avec succès dans une population indépendante de 34 patients.

La population étudiée incluait des patients transplantés pulmonaires atteints ou non de mucoviscidose, dont les délais post-greffe s'étendaient de quelques jours à plusieurs années, et recevant de la ciclosporine en 2 ou 3 prises quotidiennes. Les valeurs de C_{max} mesurées étaient comprises entre 289 et 3282 $\mu\text{g/L}$ et celles des T_{max} entre 1 à 5 heures. Malgré l'hétérogénéité de cette population, le modèle développé a permis une estimation précise des paramètres PK de population (avec une précision de l'ordre de 2% pour la constante d'absorption, inférieure à 20% pour les autres paramètres, mis à part V_p/F).

Le modèle « Erlang » s'est montré plus performant que les modèles classiques avec absorption d'ordre 0 ou d'ordre 1, avec ou sans paramètre de temps de latence. Ces résultats sont tout à fait concordants avec ceux obtenus chez le transplanté rénal. Ils reflètent certainement la plus grande flexibilité de la loi d'Erlang par rapport à un paramètre de temps de latence. Le modèle a permis en effet de modéliser aussi bien des profils PK présentant une absorption retardée (voire un défaut d'absorption) que des absorptions intenses et rapides.

Dans le groupe de 65 patients ayant permis la construction du modèle, seul le facteur « mucoviscidose » a été identifié comme influençant les paramètres PK de la ciclosporine. L'introduction de cette covariable sur les paramètres V_c/F et CL/F augmentait de façon significative les performances du modèle. Contrairement au résultat trouvé chez les transplantés rénaux, le facteur « délai post-greffe » n'a pas été identifié ici comme covariable explicative. Dans le groupe ayant servi à la construction du modèle, le délai post-transplantation moyen était d'environ 7 mois, et seulement 10 patients avaient fourni un profil PK au cours du premier mois. Cette faible proportion de patients en phase précoce explique peut être l'absence d'effet « période post-greffe » significatif dans cette population.

L'étude des paramètres PK individuels a mis en évidence des différences significatives entre patients « muco » et patients « non muco ». Notamment, les valeurs moyennes de V_c/F et CL/F étaient plus élevées chez les patients « muco ». Ceci pouvait signifier que la mucoviscidose entraîne une excrétion plus rapide et/ou une accélération du métabolisme de la ciclosporine, ou une diminution de sa biodisponibilité (F). Une analyse réalisée sur la base d'un modèle intégrant un paramètre de biodisponibilité a permis de montrer une diminution de F voisine de 25% chez les patients souffrant de mucoviscidose, ce qui penche donc en faveur de la deuxième hypothèse. Ce résultat est en accord avec plusieurs études ayant montré que les patients « muco » nécessitaient des doses doubles voire triples de ciclosporine pour obtenir une exposition au médicament similaire à celle des patients « non-muco » (Trull A et al. 1999 ; Kesten S et al. 1998 ; Reynaud-Gaubert A et al. 1997 ; Knoop C et al. 2003). Ce phénomène peut être imputé, au moins en partie, à la diminution des sécrétions pancréatiques, fréquemment observée en cas de mucoviscidose, et qui est à l'origine d'une diminution de l'absorption des substances lipophiles. Des travaux ont cependant montré que la supplémentation en enzymes pancréatiques ne modifiait pas ou peu la biodisponibilité de la ciclosporine chez ces patients (Tsang VT et al. 1994).

L'augmentation de la clairance apparente des médicaments chez les patients « muco » pourrait être due à une augmentation de leur sécrétion tubulaire, elle-même due à une augmentation de l'expression de la glycoprotéine-P au niveau des tubules rénaux (Susanto M et al. 2002). Il semblerait en effet exister une relation étroite entre l'expression de la P-gp et celle du canal CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) qui appartiennent à la classe des transporteurs ABC. Plus précisément, l'absence ou la plus faible expression du canal CFTR chez les patients « muco » entraînerait une sur-expression de la P-gp à l'origine d'une augmentation de la clairance apparente des substrats de cette dernière (Trezise AE et al. 1997). Sur un modèle cellulaire, Susanto et al. ont montré que des

molécules connues pour présenter des clairances apparentes augmentées en cas de mucoviscidose (dicloxacilline et triméthoprime) étaient des substrats de la P-gp alors que deux autres antibiotiques (cefsulodine et sulfaméthoxazole) pour lesquels ce phénomène n'était pas observé n'étaient pas des substrats de cette protéine (Susanto M et al. 2002).

En utilisant les paramètres pharmacocinétiques de population comme information *a priori*, un estimateur Bayésien a pu être développé et validé dans un groupe indépendant de patients. Basé sur une stratégie d'échantillonnage incluant 3 prélèvements, à T0, T1h et T3h, il a permis une estimation précise de l'exposition à la ciclosporine sous forme d' AUC_{0-12} , que la CsA soit administrée en 2 ou 3 prises quotidiennes. Toutefois, la population étudiée ne comportait pas de patients greffés depuis moins de 15 jours. Les performances de cet estimateur Bayésien en phase très précoce restent donc à tester.

Dans une population de 14 transplantés pulmonaires recevant de la ciclosporine sous forme Neoral en 2 prises quotidiennes, Dumont et al. ont développé une équation de RML utilisant 2 prélèvements à T0 et T3h (Dumont RJ et al. 2001). Celle-ci a permis d'estimer l' AUC_{0-12} chez ces 14 patients avec un biais inférieur à $\pm 20\%$ (entre -7,0 et +13,1%). Elle n'a cependant pas été validée dans un groupe indépendant de patients. Curieusement les auteurs rapportaient un biais plus important pour une équation de RML incluant T0, T1h et T3h (entre -10,3 et +22,4%). Rousseau et al. ont étudié 22 transplantés pulmonaires stables, dont 11 atteints de mucoviscidose et ayant fourni chacun 3 profils PK complets sur une période de 5 jours (également inclus dans cette étude) (Rousseau A et al 2003). Sur la base d'un modèle bicompartimental décrivant la phase d'absorption à l'aide d'une loi Gamma et d'une approche de population en 2 étapes, 2 estimateurs Bayésiens ont été développés (un dédié à la sous-population « muco » et un autre à la sous-population « non-muco »). Pour chacun d'entre eux, la stratégie utilisant le schéma C0-C1h-C3h permettait d'estimer au mieux l' AUC_{0-12} (RMSE = 8,67 et 10,3% pour les patients « muco » et « non-muco », respectivement).

Le modèle pharmacocinétique et l'estimateur Bayésien développés au cours de ces travaux doivent être enrichis et complétés par des modèles équivalents pour les autres immunosuppresseurs grâce à l'étude multicentrique STIMMUGREP (Suivi Thérapeutique des Immunosuppresseurs en Greffe Pulmonaire). Cette étude a pour objectif la mise au point, chez des patients greffés pulmonaires atteints ou non de mucoviscidose, de modèles pharmacocinétiques de population pour l'optimisation individuelle de posologie, par méthode Bayésienne, de l'ensemble du traitement immunosuppresseur (ciclosporine, mycophénolate mofétil, sirolimus, évérolimus) au cours des 12 premiers mois suivant la transplantation pulmonaire, chez des patients « muco » et « non-muco ».

SOUS-PARTIE 4 : ANALYSE DE POPULATION EN UNE ETAPE DE LA CICLOSPORINE A PARTIR D'UNE LARGE BASE DE DONNEES

1-Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude étaient multiples :

- Développer, à l'aide du logiciel NONMEM, un modèle pharmacocinétique de population à partir d'une base de données regroupant des profils PK de la ciclosporine, obtenus par différentes méthodes de dosage, chez des patients transplantés rénaux, cardiaques et pulmonaires, adultes et enfants.

- Déterminer l'influence des principales covariables sur les paramètres PK de la ciclosporine dans cette population

- Si possible, développer un estimateur Bayésien permettant l'estimation des paramètres PK individuels à partir d'une stratégie d'échantillonnage limitée.

2- Matériels et méthodes

2-1 Patients

Les données de concentrations de CsA issues de différentes populations de transplantés ont été regroupées au sein d'une base de donnée unique.

2-1-1 Patients greffés cardiaques :

Les données pharmacocinétiques dont nous disposions provenaient d'une étude multicentrique (OLN351) promue par les laboratoires Novartis (Cooney GF et al. 1998 et 2001), qui avait pour principal objectif la comparaison des biodisponibilités de 2 formes galéniques de ciclosporine (NEORAL® et SANDIMMUN®). Notre analyse a porté sur les seules

données issues des patients ayant reçu de la ciclosporine sous forme NEORAL®, par voie orale en 2 prises quotidiennes.

Seize patients bénéficiant d'une première greffe cardiaque ont fourni chacun 3 profils pharmacocinétiques obtenus successivement 7 jours, 3 mois et 1 an après transplantation. A chacune des visites, un prélèvement était effectué juste avant le dose matinale de ciclosporine (T0), puis à T20min, T40min, T1h, T1.5h, T2h, T2.5h T3h, T4h, T6h, T9h et T12h.

Les principales caractéristiques de cette population sont reportées dans le tableau 34.

Tableau 34 : Caractéristiques de la population de 16 transplantés cardiaques.

S1 : Une semaine après transplantation

M3 : Trois mois après transplantation

A1 : Un an après transplantation

	Moyenne ± écart type
Age (années)	54 ± 10
Poids (kg)	85 ± 13
Rapport Femme/homme	2/15
Dose ciclosporine à S1 (mg)	200 ± 58
Dose ciclosporine à M3 (mg)	159 ± 40
Dose ciclosporine à A1 (mg)	162 ± 37

La posologie quotidienne totale de ciclosporine était répartie en deux prises égales à 12h d'intervalle, par voie orale sous forme NEORAL®. Les patients ne recevaient aucun traitement connu pour interférer avec le devenir de la ciclosporine dans l'organisme (Yee GC et al. 1990).

La technique de dosage utilisée au cours de l'étude OLB351 était l'immunopolarisation de fluorescence (FPIA) avec des anticorps monoclonaux, développé pour l'automate TDx (Abbott Laboratories®).

2-1-2 Transplantés pulmonaires

99 patients transplantés pulmonaires étudiés précédemment ont été utilisés pour cette analyse (cf sous-partie 3 de ce mémoire). Les concentrations sanguines de ciclosporine ont été mesurées par la technique EMIT (Dade-Behring).

2-1-3 Patients transplantés rénaux pédiatriques

Les données pharmacocinétiques issues de 31 transplantés rénaux pédiatriques, recevant de la ciclosporine sous forme Neoral® par voie orale en 2 prises quotidiennes, nous ont été transmises par le Pr E. Jacqz-Aigrin (Service de pharmacologie pédiatrique et pharmacogénétique, hôpital Robert-Debré, Paris).

Dans cette population, des profils PK ont été réalisés dès les premiers jours, puis aux environs du 3^e mois, et entre le 9^e et 12^e mois suivant la transplantation. A chacune des visites, un prélèvement était effectué juste avant la dose matinale de ciclosporine (T0), puis à T1h, T2h, T3h, T4h, T6h et T12h.

Les patients recevaient tous de l'azathioprine et des corticoïdes en association à la ciclosporine et pouvaient recevoir des anticorps monoclonaux (SIMULECT®) et du mycophénolate mofétil (CELLCEPT®).

Les principales caractéristiques de cette population sont regroupées dans le tableau 35.

Les dosages ont été réalisés par la technique EMIT (Dade-Behring).

Tableau 35 : Principales caractéristiques de la population de 31 transplantés rénaux pédiatriques.

	Moyenne \pm écart type	Extrêmes
Délai post-greffe (j)	118 \pm 112	6 – 354
Dose matinale de ciclosporine (mg/kg)	5,2 \pm 2,2	2 – 12
Poids (kg)	31 \pm 12	10,5 – 52,1
Surface corporelle (m²)	1,1 \pm 0,32	0,52 – 1,91
Age (années)	10 \pm 4	1,6 – 15,2

2-1-4 Patients transplantés rénaux adultes

Les patients des études PRIMOCINE et STABLOCINE précédemment décrites ont été inclus dans cette analyse (cf sous-partie 2).

Comme décrit précédemment, nous disposions de 276 profils PK. Chaque patient inclus dans l'étude PRIMOCINE avait fourni 3 profils PK (à J3, J7 et J30) dosés par EMIT, par FPIA et par LC-ES-MS. Chaque patient de l'étude STABLOCINE avait fourni 1 profil dosé également par les 3 méthodes.

Toutefois, les profils PK des transplantés pulmonaires et transplantés rénaux pédiatriques (décrits aux paragraphes précédents) étaient tous mesurés par la méthode EMIT. Souhaitant construire une base de données représentant toutes les techniques de dosage employées dans des proportions équivalentes, les données obtenues par la méthode EMIT chez les greffés rénaux adultes n'ont pas été utilisées pour cette analyse. D'autre part, afin de ne pas introduire 2 cinétiques par patient à une même période post-greffe (une obtenue par FPIA et une autre par LC-ES-MS), un tirage au sort à été réalisé entre ces 2 méthodes.

Au total, 92 profils PK ont été introduits dans la base de données. Leur répartition en termes de période post-greffe et méthodes analytiques est présentée dans le tableau 36.

Tableau 36 : Répartition par méthode de dosage et par période post-greffe des patients inclus dans la base de données « tout type de greffe ».

Délai post-transplantation		J3	J7	J30	> 3 mois
Nombre de patients greffés rénaux	Méthode FPIA	12	12	12	10
	Méthode LC-ES-MS	12	12	12	10

2-2 Pharmacocinétique de population

2-2-1 Analyse des données par le logiciel NONMEM

Les données ont été modélisées avec la version V du logiciel NONMEM (Beal SL et al. Nonmem User's guide, I-VIII. Hanover, Maryland, GloboMax, 1989-1998) et l'interface Visual-NM qui permet une analyse graphique des données (Gomeni R, Visual-NM user's manual. R.D.P.P., Montpellier, France).

La méthode FO a été utilisée en première intention. Dans une seconde étape, l'algorithme FOCE a été utilisée afin d'optimiser la précision d'estimation des paramètres et particulièrement de leur variabilité.

2-2-1-1 Modèle structural et modèles d'erreur

Grâce au module ADVAN5 SS5 du sous-programme PREDDP, un modèle bicompartimental avec absorption décrite par une loi d'Erlang et élimination d'ordre 1 a été utilisé (cf sous-parties 2 et 3 de ce mémoire).

Comme décrit précédemment, ce modèle comporte 5 paramètres : la constante de transfert entre les compartiments « délai » et le compartiment central (b), la clairance

apparente (CL/F), le volume de distribution central apparent (Vc/F), le volume de distribution périphérique apparent (Vp/F) et la clairance intercompartimentale (Q/F).

Le nombre de compartiments a , en amont de Vc/F, a été fixé à la même valeur pour tous les patients. Celle-ci a été optimisée en augmentant progressivement a à partir de $a=3$. Chaque changement de la valeur de a créait un nouveau modèle à tester.

La déviation entre les paramètres estimés pour chaque sujet (θ_i) et leurs valeurs moyennes dans la population (θ) a été décrite par un modèle d'erreur inter-individuelle (η) de type exponentiel :

$$\theta_i = \theta \cdot \exp(\eta_i)$$

Cette erreur inter-individuelle suit une distribution normale de moyenne 0 et de variance ω^2 .

La valeur de ω^2 constitue la variabilité inter-individuelle d'un paramètre, estimée dans la population, dont on peut calculer l'intervalle de confiance à 95%.

✧ Prise en compte de la technique de dosage :

L'étude réalisée chez les transplantés rénaux avait montré une influence significative de la méthode de dosage employée sur les paramètres PK de la ciclosporine (cf sous-partie 2 de ce mémoire).

Pour la présente analyse, ce paramètre a été testé de 2 manières complémentaires :

- Par l'incorporation de la méthode de dosage dans le modèle d'erreur résiduelle :

Un modèle « mixte » permettant de calculer une erreur proportionnelle et une erreur additive propre à chacune des méthodes a été mis au point.

Les performances de ce modèle d'erreur ont été comparées à celles obtenues avec un modèle « mixte » classique en confrontant les valeurs de fonction objective obtenues dans les 2 cas, ainsi que l'importance de l'erreur résiduelle.

- Par l'introduction du type de méthode employée sur le paramètre SCALE :

Cette approche consiste à introduire un paramètre « qui mesure le biais entre plusieurs techniques de dosage à l'origine de valeurs estimées du volume central apparent différentes pour des mêmes données identiques » (Boeckmann AJ et al. Nonmem User's Guide, part V, Chap 3. nov 1994).

Pour cette analyse, nous avons considéré la méthode LC-ES-MS comme méthode de référence. Deux paramètres, dédiés respectivement à « EMIT » et « FPIA », ont été intégrés sur le paramètre SCALE.

2-2-1-2 Analyse univariée des covariables

La pertinence d'une covariable a été principalement jugée, après son introduction dans le modèle de population, par le test du maximum de vraisemblance :

$$\Delta \text{OFV} = \text{OFV}_{\text{cov}} - \text{OFV}_{\text{ref}} = \chi^2_{1-\alpha}$$

La précision de l'estimation des paramètres et la diminution de la variabilité ont également été retenus comme critères de jugement.

Au cours de cette analyse, l'influence des covariables suivantes a été testée :

✧ Covariables continues :

Age (AGE) en années, poids (WT) en kg, taille (HGT) en cm, surface corporelle (BSA) en m², créatininémie (CREA) en μM.

✧ Covariables codées de façon binaire :

- Sexe (SEX) (0 pour les femmes et 1 pour les hommes)
- Mucoviscidose (MUCO) (1 : patient souffrant de mucoviscidose ; 0 : patient transplanté pour une autre indication)
- Classe d'âge (PED) (1 : âge patient <18ans ; 0 : âge patient >18 ans)
- Association de corticoïdes (CORTI)
- Association de mycophénolate mofétil (MPA)

✧ Cas particulier du type de greffe

Plusieurs combinaisons ont été testées :

- 3 types de greffes : Cœur – Poumon – Rein
- 4 types de greffes : Cœur – Poumon « muco » - Poumon « non muco » - Rein
- jusqu'à 6 types en combinant « greffe » et « délai » (voir ci-dessous)

✧ Cas particulier du délai post-transplantation

La covariable « délai post-greffe » (DELA) a été considérée de plusieurs manières :

- 1) Sous forme d'une covariable continue (en jours).
- 2) Sous forme d'une covariable « catégorisée » permettant de créer plusieurs périodes de délais :
 - DELA=0 si délai \leq 30j et DELA=1 si délai >30j
 - DELA=0 si délai \leq 5j, DELA=1 si $5j \leq$ délai \leq 25j, DELA=2 si délai > 25j

- DELA=0 si délai $\leq 15j$, DELA=1 si $15j \leq \text{délai} \leq 89j$, DELA=2 si délai $>89j$

3) Sous forme d'une variable continue puis « catégorisée » :

- DELA = variable continue si délai $< 35j$ et DELA=1 si délai $\geq 35j$

4) Sous forme d'une variable imbriquée avec le type de transplantation :

Différents combinaisons prenant en compte à la fois le délai post-greffe et le type de greffe ont été testées. Au maximum, 6 catégories de patients pouvait être combinées.

1 : Greffés cardiaques – délais = 7j

2 : Greffés cardiaques – délais = 3 mois

3 : Greffés cardiaques – délais = 1 an

4 : Greffés pulmonaires – délais < 1 mois

5 : Greffés pulmonaires – délais > 1 mois

6 : Greffés rénaux – délais ≤ 1 mois

7 : Greffés rénaux – délais > 1 mois

Chacune de ces covariables a été testée sur 3 paramètres du modèle : b, Vc/F et CL/F.

Pour chaque paramètre θ et pour chacune des covariables (COV), plusieurs type d'équations ont été utilisées :

- $\theta_1 \pm \theta_2 \cdot \text{COV}$ ou $\theta_1 \cdot (1 \pm \theta_2 \cdot \text{COV})$
- $\theta_1 \cdot (1 + \theta_2 / \text{COV})$

2-2-1-3 Analyse multivariée et construction du modèle final

Cette étape consistait à introduire dans un seul modèle intermédiaire les covariables identifiées au cours de l'analyse univariée. A partir du modèle intermédiaire, une déletion indépendante des covariables, c'est-à-dire un retrait des covariables une à une, a été effectué.

Une covariable était retenue pour le modèle final si son retrait entraînait une augmentation de la fonction objective $> 10,9$ ($p < 0,001$).

2-2-1-4 Validation du modèle et estimateurs Bayesiens

Afin de pouvoir constituer un groupe de validation représentatif, 60 cinétiques ont été retirées de la base de données par tirage au sort au sein de chacune des sous-populations. Ainsi, le groupe « test » était constitué de 60 patients répartis de la façon suivante :

- 5 Greffés cardiaques – délais = 7j
- 5 Greffés cardiaques – délais = 3 mois
- 5 Greffés cardiaques – délais = 1 an
- 5 Greffés pulmonaires – « muco »
- 5 Greffés pulmonaires – « non muco »
- 5 Greffés rénaux – délais = 3 j
- 5 Greffés rénaux – délais = 7 j
- 5 Greffés rénaux – délais = 1 mois
- 5 Greffés rénaux – délais > 3 mois
- 15 Greffés rénaux pédiatriques

Un nouveau modèle de population a été développé à partir du modèle global (modèle structural, modèle d'erreur et covariables) et de la nouvelle base de données amputée de ces 60 cinétiques. Les paramètres PK de population de ce modèle ont ensuite été utilisés comme information *a priori* pour la mise au point d'un estimateur Bayésien.

La stratégie d'échantillonnage limité incluant T0, T1h et T3h a été testée dans ce groupe « test ». Les performances de cet estimateur Bayésien avec cette LSS ont été évaluées par comparaison entre AUC_{0-12} calculées par la méthode des trapèzes et prédites, par analyses de corrélation et régression, calcul du biais moyen et de la RMSE.

3- Résultats

La base de données complète comprenait 309 cinétiques :

- 44 profils issus de transplantés cardiaques
- 99 profils issus de transplantés pulmonaires
- 92 profils issus de transplantés rénaux adultes
- 74 profils issus de transplantés pédiatriques

Au total, 3072 données de concentrations ont été exploitées pour la construction du modèle PK de population.

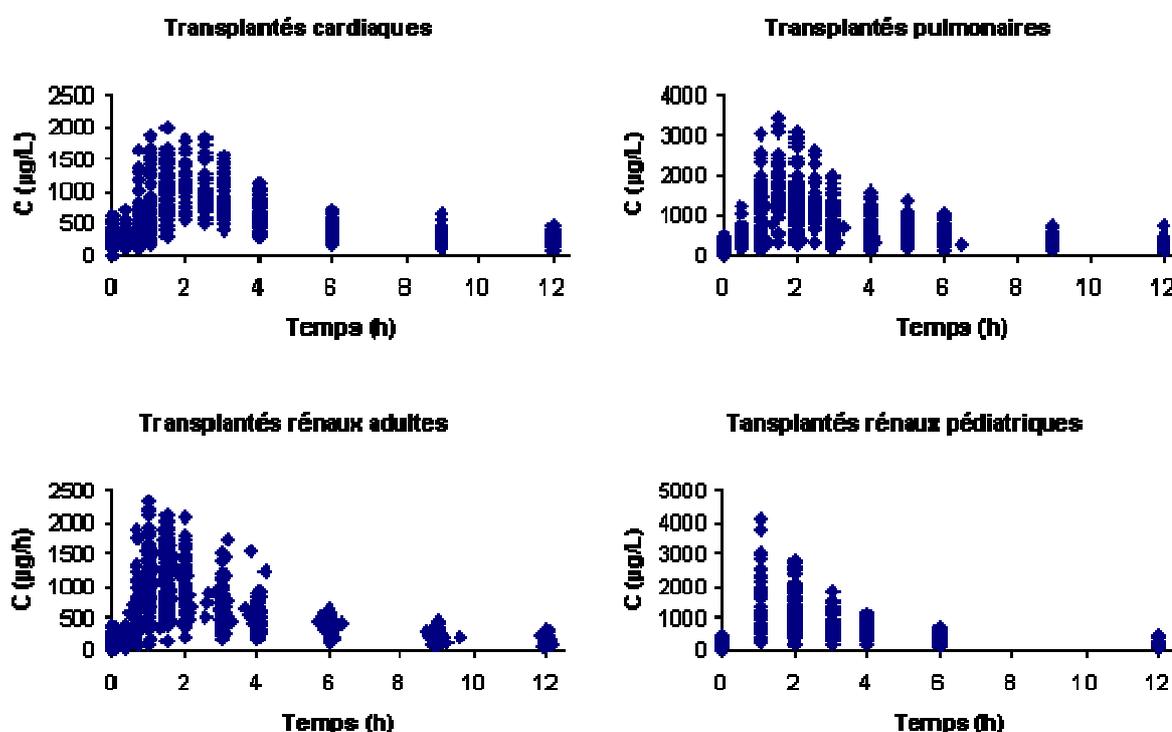


Figure 22 : Courbes de concentrations observées dans les 4 sous-populations ayant servi à la construction du modèle PK de population.

3-1 Modèle structural

Le modèle bicompartimental avec absorption décrite par une loi d'Erlang et élimination d'ordre 1 précédemment décrit modélisait de façon satisfaisante les données. Le nombre de compartiments « délai » pour ce modèle était de 5. Associé à un modèle d'erreur résiduelle

« mixte », il donnait une valeur de fonction objective égale à 30822. Dans un deuxième temps, un modèle d'erreur « mixte » différent pour chaque méthode de dosage employée a été testé. Ce modèle d'erreur, qui avait pour spécificité d'estimer une erreur résiduelle proportionnelle et additive pour chacune des 3 techniques, a conduit à une OFV égale à 30748, soit une diminution de 74 unités par rapport au modèle classique ($p < 0,01$). Dans une troisième étape, le facteur « méthode de dosage » a été introduit sur le paramètre SCALE du modèle. La diminution d'OFV était alors de 169 unités par rapport au second modèle ($p < 0,01$). Ce résultat signifiait donc que la méthode de dosage influençait significativement la valeur du paramètre V_c/F , confirmant ainsi les résultats observés lors de l'étude des seuls transplantés rénaux. Un résumé de cette étude comparative est présenté dans le tableau 37.

Tableau 37 : Comparaison de 3 modèles d'erreur résiduelle appliqués au modèle « Erlang ».

	OFV	Δ OFV	Erreur Résiduelle		
			<i>Proportionnelle</i>	<i>Additive</i>	
Erreur résiduelle mixte	30822	0	12,2 %	38,3 μ g/L	
Erreur résiduelle mixte pour chaque technique de dosage	30748	- 74	<i>EMIT</i>	12,5 %	50,3 μ g/L
			<i>LC-ES-MS</i>	7,8 %	31,8 μ g/L
			<i>FPIA</i>	9,6 %	39,1 μ g/L
Erreur résiduelle mixte pour chaque technique de dosage + effet méthode sur SCALE	30579	- 243	<i>EMIT</i>	9,6 %	48,2 μ g/L
			<i>LC-ES-MS</i>	11,0 %	30,2 μ g/L
			<i>FPIA</i>	11,3 %	37,9 μ g/L

A ce stade de l'analyse, un modèle PK « Erlang » tenant compte de la technique de dosage sur le paramètre SCALE et dans le modèle d'erreur résiduelle a été retenu. Ce dernier permettait notamment d'obtenir une erreur additive voisines des limites de quantification des 3 techniques de dosage.

Les performances de ce modèle structural sont illustrées graphiquement sur la figure 23.

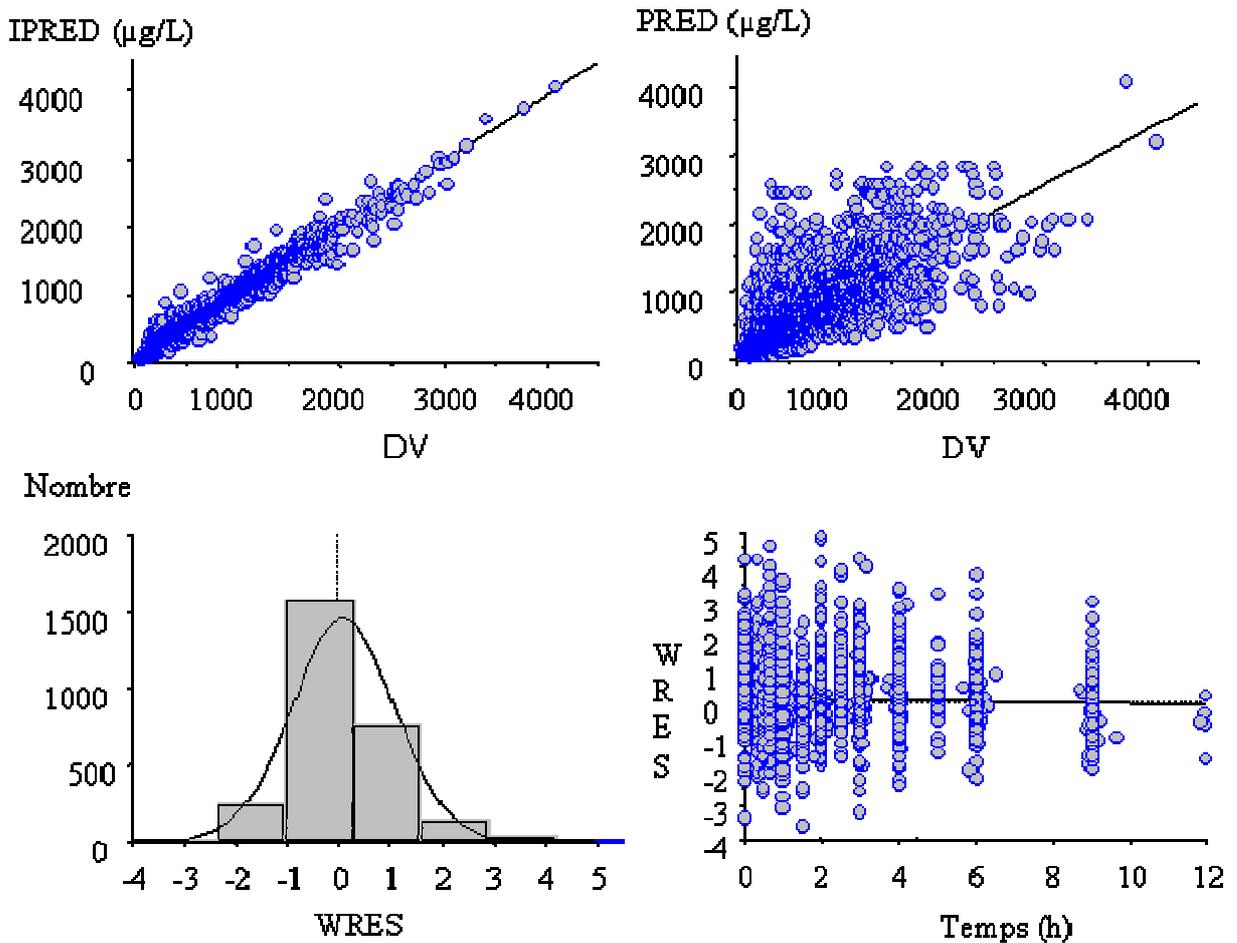


Figure 23 : Analyse graphique des performances du modèle de base retenu pour l'analyse PKpop de la base de données complète.

IPRED : concentrations prédites individuelles ; **PRED** : concentrations prédites ; **DV** : concentrations observées ; **WRES** : résidus pondérés.

L'ajustement PRED versus DV obtenu avec le modèle « Erlang » montre une répartition homogène des concentrations autour de la droite d'identité. La représentation des résidus pondérés (WRES) montre une répartition resserrée dans la fourchette d'intervalle entre +2 et -2, soit dans l'intervalle de confiance à 95% autour de DV. De même la distribution des WRES en fonction du temps est très homogène.

Les paramètres PK de population du modèle structural sont rapportés dans le tableau 38.

Tableau 38 : Paramètres pharmacocinétiques de population du modèle structural (2 compartiments, absorption suivant la loi d'Erlang, élimination du 1^{er} ordre) retenu pour l'analyse PKpop de la base de données complète.

b : constante de transfert entre les compartiments de la chaîne entre le dépôt et le compartiment central ; Vc/F : Volume de distribution central apparent ; Vp/F : Volume de distribution périphérique apparent ; CL/F : Clairance apparente ; Q/F : Clairance intercompartimentale ; IC95% : intervalle de confiance à 95%.

Paramètres	<i>b</i> (h ⁻¹)	Q/F (L.h ⁻¹)	Vc/F (L)	Vp/F (L)	CL/F (L.h ⁻¹)
Moyenne	6,9	34	84	142	35,4
Précision de l'estimation	3,1 %	6,5 %	5,4 %	9,7 %	4,4 %
Variabilité interindividuelle (%)	26,5	87,8	70,5	79,7	41,3
(IC 95%)	(17,9- 32,9)	(70,1 – 98,2)	(62,6 – 77,8)	(59,7 – 95,5)	(33,8 – 47,5)

La précision d'estimation de tous les paramètres du modèle était très satisfaisante et ne dépassait pas 10%. Les intervalles de confiances à 95% des variabilités inter-individuelles étaient étroits.

3-2 Analyse des covariables

✧ Dans une première étape, un « screening » des covariables continues a été réalisé.

Parmi celles-ci, seuls les cofacteurs poids corporel et âge ont entraîné une baisse significative de l'OFV lorsqu'ils étaient introduits sur les paramètres Vc/F et CL/F.

- **Vc/F = 03.(1+06.WT) ⇒ ΔOFV = - 47 (p<0,01)**
- **CL/F = 05.(1+06.WT) ⇒ ΔOFV = - 50 (p<0,01)**
- **Vc/F = 03.(1+06.AGE) ⇒ ΔOFV = -15 (p<0,01)**
- **CL/F = 05.(1+06.AGE) ⇒ ΔOFV= - 9 (p<0,01)**

Le délai post-greffe, la taille, la surface corporelle et la créatininémie n'ont pas fait diminuer de façon significative l'OFV (ΔOFV > -6,7).

✧ Dans une deuxième étape, les covariables codées de façon binaire ont été testées.

Le cofacteur « mucoviscidose » entraînait une baisse significative de l'OFV lorsqu'il était introduit sur les paramètres Vc/F et CL/F.

$$- \quad Vc/F = 03.(1+06.MUCO) \Rightarrow \Delta OFV = - 17 (p < 0,01)$$

$$- \quad CL/F = 05.(1+06.MUCO) \Rightarrow \Delta OFV = - 20 (p < 0,01)$$

Le sexe, l'association de corticoïdes ou de mycophénolate mofétil, et un âge inférieur à 18 ans n'entraînaient pas de modifications significatives de l'OFV ($\Delta OFV > -6,7$).

✧ Puis, les covariables catégorisées ont été testées.

➤ La séparation des types de transplantation en 4 catégories (Cœur – Poumon « muco » - Poumon « non muco » - Rein) entraînait une diminution de l'OFV de 19 unités, lorsqu'il était introduit sur le paramètre *b*.

$$- \quad b = 01.(1+06.TYP4) \Rightarrow \Delta OFV = - 19 (p < 0,01)$$

➤ La prise en compte, sur le paramètre *b*, d'un délai soit inférieur à 1 mois soit supérieur à 1 mois entraînait une diminution de l'OFV de 9 unités.

$$- \quad b = 01.(1+06.DEL1) \Rightarrow \Delta OFV = - 9 (p < 0,01)$$

➤ La séparation du délai post-greffe en 3 périodes (0-15j ; 15j-3mois ; plus de 3 mois) faisait diminuer l'OFV de 19 unités, lorsqu'elle était introduite sur *b*.

$$- \quad b = 01.(1+06.DEL3) \Rightarrow \Delta OFV = - 9 (p < 0,01)$$

✧ La covariable comportant 7 catégories imbriquant « type de transplantation » et « période post-greffe » a permis de faire diminuer l'OFV de 16 unités lorsqu'elle était introduite sur le paramètre *b* :

$$- \quad b = \theta_1.(1+\theta_6.TYP7) \Rightarrow \Delta OFV = -16 \text{ (p}<0,01)$$

3-3 Construction du modèle intermédiaire et du modèle final

La combinaison de covariables rendant minimale l'OFV incluait le poids corporel, le délai post-greffe et la covariable « 4 types de greffe » (Cœur- Poumon « muco » - Poumon « non-muco » - Rein) répartis sur b, Vc/F et CL/F de la façon suivante:

$$- \quad b = \theta_1 + \theta_6 . DEL3 + \theta_7 . TYP4$$

$$- \quad Vc/F = \theta_3 + \theta_8 . WT$$

$$- \quad CL/F = \theta_5 + \theta_9 . WT$$

L'étape de délétion des covariables est résumée dans le tableau 39:

Tableau 39 : Etape de délétion des covariables pour la construction du modèle final.

b : constante de transfert intercompartimental ; Vc/F : Volume central apparent ; CL/F : Clairance apparente ; DEL3 : délai post-greffe catégorisé en 3 périodes (0-15j / 15-89j / >89j) ; TYP4 : type de transplantation codé de façon catégorisée (Cœur / poumon / Poumon et mucoviscidose / Rein) ; WT : poids corporel

Modèle	Covariable exclue	Augmentation de l'OFV
Effet sur <i>b</i>	DEL3	+ 25
	TYP4	+ 22
Effet sur Vc/F	WT	+ 59
Effet sur CL/F	WT	+ 50

La délétion de chacune des covariables ayant entraîné une augmentation significative de l'OFV ($\Delta OFV > 10,9$; $p < 0,001$), le modèle final correspondait au modèle intermédiaire proposé. Ses caractéristiques sont reportées dans le tableau 40:

Tableau 40 : Paramètres pharmacocinétiques de population du modèle final développé à partir de la base complète.

Paramètres	b (h^{-1})	Q/F ($L.h^{-1}$)	Vc/F (L)	Vp/F (L)	CL/F ($L.h^{-1}$)
Moyenne (SE%)	$b = \theta_1 + \theta_6.DELA + \theta_7.TYP4$				
	$\theta_1 = 5,3 (1,7)$		$Vc/F = \theta_3 + \theta_8.WT$		$CL/F = \theta_5 + \theta_9.WT$
	$\theta_6 = 0,4 (9,5)$	$\theta_2 = 32 (4,5)$	$\theta_3 = 87 (3,7)$	$\theta_4 = 129 (5,6)$	$\theta_5 = 32,8 (3,0)$
	$\theta_7 = 0,4 (8,2)$		$\theta_8 = 0,9 (5,6)$		$\theta_9 = 0,23(9,8)$
Variabilité inter-individuelle (%) (IC 95%)	$\theta_1 : 26,4$ (22,9 - 29,5)	$\theta_2 : 85,3$ (73,8 - 95,3)	$\theta_3 : 63,5$ (54,7 - 71,3)	$\theta_4 : 86,2$ (71,2 - 98,9)	$\theta_5 : 35,9$ (31,6 - 39,7)
Erreur Résiduelle	EMIT	Proportionnelle		Additive	
	FPIA	10,7 %		47,5 μ g/L	
	LC-ES-MS	11,2 %		28,2 μ g/L	
		10,8 %		37,4 μ g/L	

Le modèle final présentait une très bonne précision d'estimation (inférieure à 10%) de tous les paramètres et de leur variabilité. Par rapport au modèle structural, la variabilité des paramètres Vc/F et CL/F étaient abaissée de 7% et 5,4%, respectivement. Les erreurs résiduelles proportionnelles étaient acceptables et les erreurs additives voisines des limites de quantification des 3 méthodes analytiques. Les performances de ce modèle sont illustrées sur la figure 24 représentant la modélisation de plusieurs profils PK issus de la base de données.

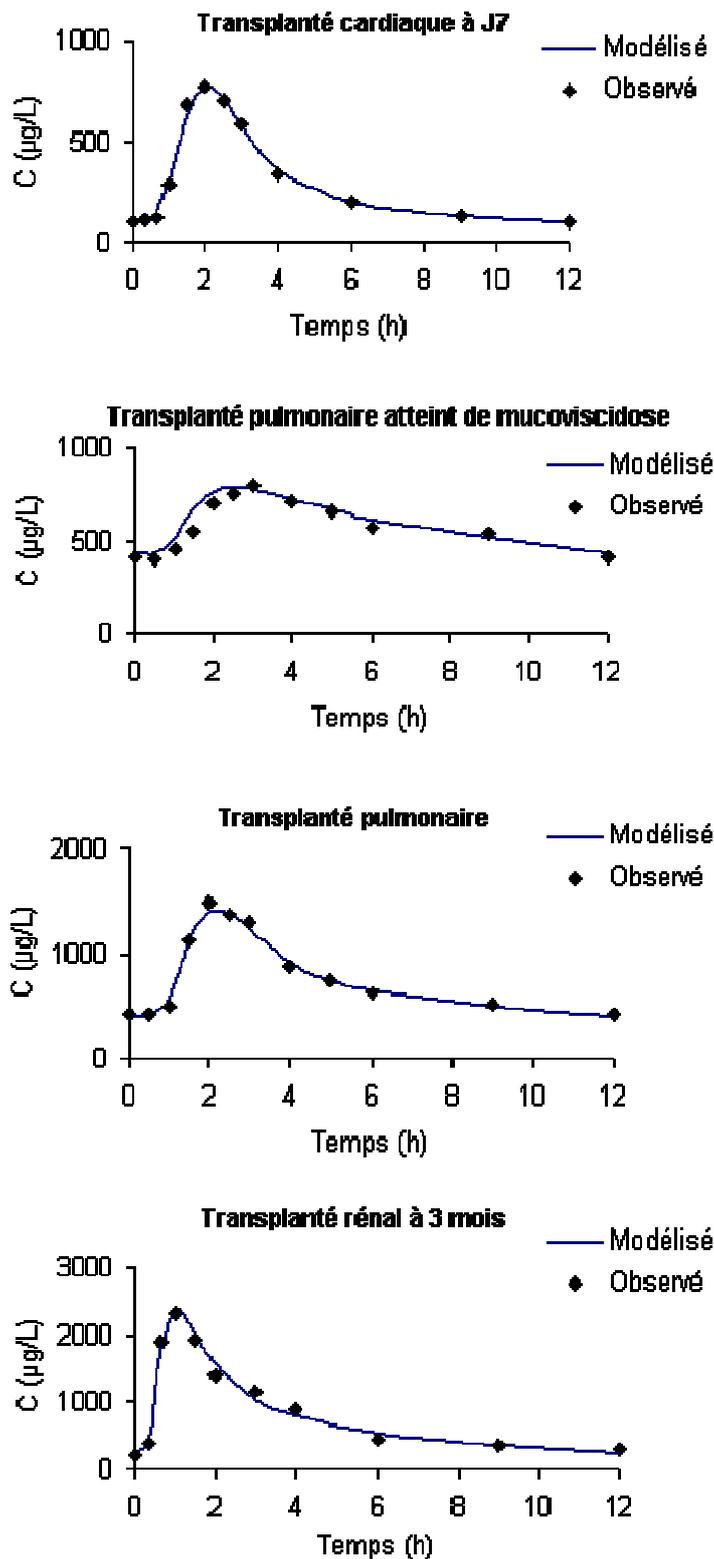


Figure 24 : Exemples de modélisation de profils PK issus de la base de données complète par le modèle final.

3-4 Validation du modèle et estimateur Bayésien

Le nouveau modèle PK construit à partir de la base de données amputée de 60 profils présentait des paramètres de population très proches de ceux obtenus avec la base complète : $b = 5,30$ (SE : 1,9%) ; $Q = 32,0$ (SE : 5,5%) ; $V_c/F = 89,4$ (SE : 4,8%) ; $V_p/F = 133,0$ (SE : 6,7%) ; $CL/F = 34,1$ (SE : 3,7%). Ce résultat montre la stabilité du modèle de population développé. Ces paramètres PK de population ont été utilisés comme information *a priori* pour l'évaluation d'un estimateur Bayésien dans le groupe « test » de 60 individus.

Pour cet estimateur Bayésien, le biais moyen entre AUC_{0-12} estimées à l'aide LSS T0-T1h-T3h et celles calculées par la méthode des trapèzes à partir de l'ensemble des concentrations était de 2,0% (de -19,1 à +21,4%), et la RMSE de 10,5%. Un seul patient présentait un biais supérieur à +20% (21,4%) dans la population de 60 individus. Les performances détaillées de cet estimateur Bayésien basé sur la LSS T0-T1h-T3h pour chacun des 4 types de greffe représentés dans la population est illustrée sur la figure 25.

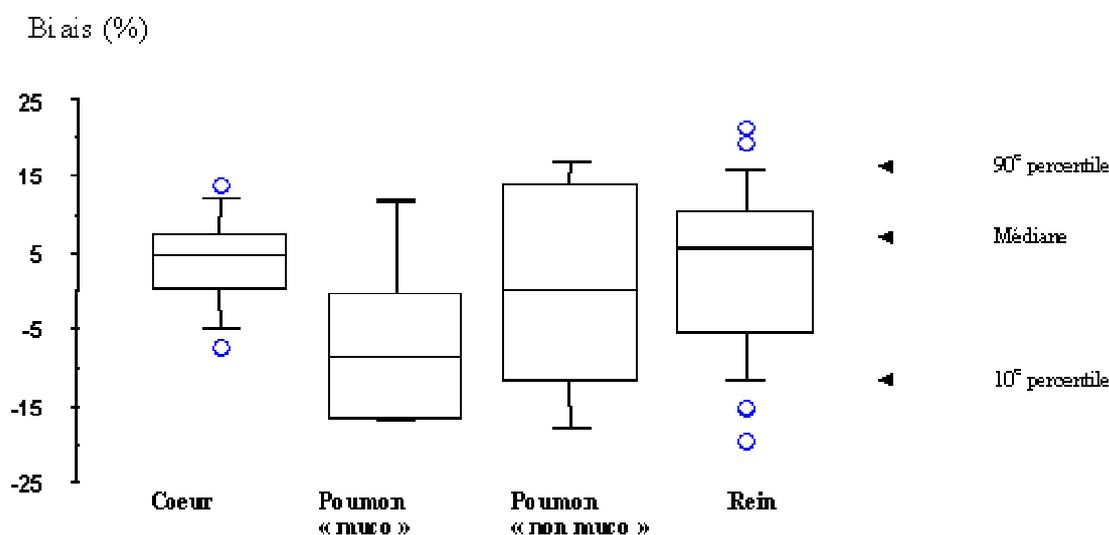


Figure 25 : Représentation graphique des biais calculés entre AUC_{0-12} estimées par la LSS T0-T1h-T3h et celles calculées par la méthodes trapèzes (12 prélèvements) en fonction du type de greffe considéré.

Le tableau 41 résume l'analyse de ces biais en tenant compte de la période post-greffe pour les patients cardiaques et rénaux, et de la sous-population pédiatrique incluse dans la population de transplantés rénaux.

Tableau 41 : Résumé de l'analyse des biais entre AUC₀₋₁₂ estimées par la LSS T0-T1h-T3h et celles calculées par la méthode des trapèzes.

	Performance prédictive			Nombre de patients avec un biais <-20% ou > +20%
	Médiane	RMSE	Extrêmes	
Cardiaques (n=15)				
➤ 7 jours (n=5)	+1,2 %	7,7 %	-7,6 à +13,7 %	0
➤ 3 mois (n=5)	+5,9 %	5,5 %	-1,4 à +8,9 %	0
➤ 1 an (n=5)	+6,1 %	7,1 %	+2,0 à +11,9 %	0
Poumons « muco » (n=5)	-8,6 %	12,6 %	-16,8 à +11,8 %	0
Poumons « non muco » (n=5)	+0,1 %	13,0	-17,8 à +16,8 %	0
Rein (n=35)				
➤ 3 jours (n=5)	+ 5,4 %	11,0 %	-9,7 à +21,4 %	1
➤ 7 jours (n=5)	+ 6,5 %	8,9 %	-7,2 à +15,4 %	0
➤ 30 jours (n=5)	+ 13,1 %	11,0 %	+ 6,2 à +19,3 %	0
➤ > 3 mois (n=5)	+ 4,2 %	10,9%	-11,4 à +17,4 %	0
➤ pédiatriques (n=15)	- 9,4 %	13,0 %	-17,9 à +13,1%	0

Ce tableau montre des valeurs de biais faibles et assez similaires dans chacune des sous-populations considérées. En observant les valeurs extrêmes et les médianes dans chacun de ces groupes, la LSS T0-T1h-T3h ne semblait pas entraîner de sous-estimation ou de surestimation systématique des valeurs d'AUC₀₋₁₂. La figure 26 rapportent 3 exemples de modélisation obtenues à partir de cette LSS.

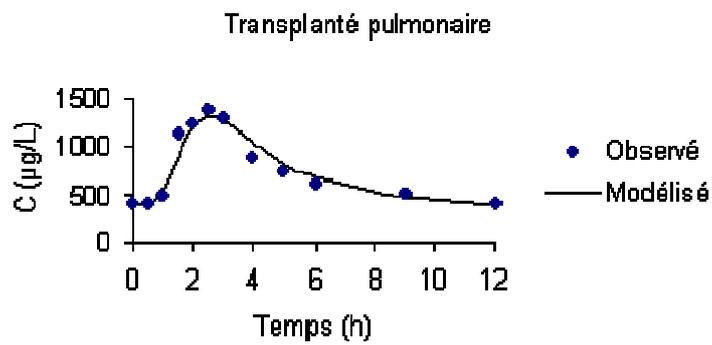
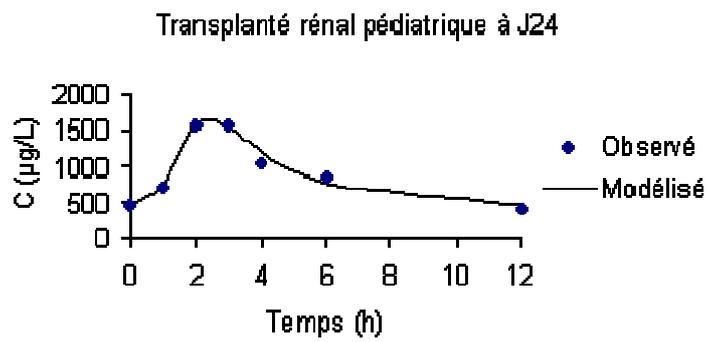
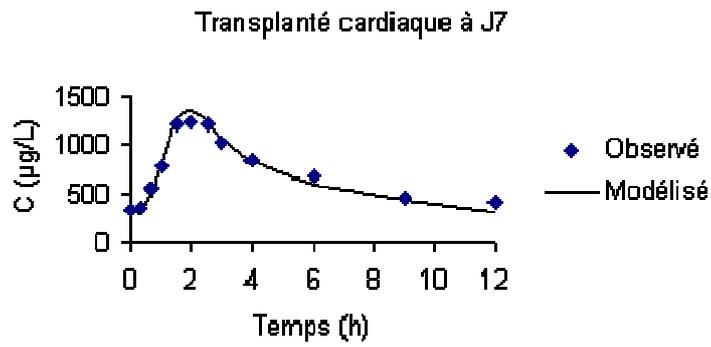


Figure 26 : Modélisation de 3 profils pharmacocinétiques issus du groupe de validation à partir de la LSS T0-T1h-T3h

4- Discussion

A l'aide du logiciel NONMEM, ces travaux ont permis de réaliser une analyse pharmacocinétique de population de la ciclosporine dans une très large cohorte de patients. Une base de données qui incluait plus de 300 profils PK (soit plus de 3000 concentrations) issus de patients adultes et enfants ayant bénéficié d'une greffe rénale, cardiaque ou pulmonaire, et recevant de la ciclosporine en 2 ou 3 prises quotidiennes a été constitué. Un modèle PK simulant la phase d'absorption par une loi d'Erlang a permis de décrire avec précision l'ensemble des profils PK étudiés. L'approche PKpop utilisant ce modèle a permis d'identifier le poids corporel, la période post-greffe et le type de transplantation comme covariables explicatives. Enfin, un estimateur Bayésien a pu être mis au point et validé dans un groupe indépendant de patients. Il permet une estimation précise de l'AUC₀₋₁₂ à l'aide 3 prélèvements sanguins à T0, T1h et T3h, quel que soit le type de greffe et la période post-greffe considérés.

A notre connaissance, les résultats de ces travaux ne peuvent être comparés qu'à ceux publiés par Kyhl et al. (Kyhl et al. 1998). Ces auteurs ont en effet réalisé, avec NONMEM, une analyse PKpop de la ciclosporine, administrée chez des transplantés rénaux adultes (n=728) et cardiaques et/ou pulmonaires (n=151), sous forme Neoral en 2 prises quotidiennes. Les patients avaient fourni chacun 1 à 5 prélèvements permettant de constituer une base de données de 3617 concentrations. Les covariables suivantes avaient été testées : délai post-greffe, sexe, dose, groupe ethnique, poids corporel, taille, pression artérielle, et médicaments associés. A l'aide d'un modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 0, l'analyse PKpop n'avait identifié aucune covariable « influençant les concentrations calculées de ciclosporine ». Les auteurs rapportaient en outre que les patients présentant des concentrations de CsA inférieures à 250 µg/L au cours des 3 premières heures (soit une faible absorption) ne présentaient pas des caractères démographiques significativement différents des autres

patients. Bien que cette étude semblât très intéressante, les résultats présentés par cette équipe danoise étaient très peu détaillés. La méthodologie employée pour l'analyse des données à l'aide du logiciel NONMEM ne faisait l'objet d'aucune description. Notamment, les performances du modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 0, la valeur des paramètres PK de population et leurs variabilités, n'étaient pas discutées.

Notre étude a mis en évidence l'influence du facteur « délai post-greffe » sur l'absorption de la ciclosporine. Une covariable segmentant le délai post-greffe en 3 périodes successives (de la greffe jusqu'au 15^e jour, puis du 15^e jour au troisième mois, puis un délai supérieur à 3 mois) améliorerait significativement les performances du modèle de population. Ce résultat confirme celui obtenu pour les seuls transplantés rénaux. Il est également compatible avec ceux de l'analyse non-compartimentale qui avait montré une augmentation significative de l'AUC₀₋₁₂ pondérée par la dose entre le 7^e jour et le 3^e mois post-greffe chez les transplantés cardiaques ($34,2 \pm 12,6$ mg.h/L *versus* $39,4 \pm 7,3$ mg .h/L pour 1g de dose ; $p < 0,05$), mais aucune différence sur cet indice d'exposition entre le 3^e mois et 12^e mois ($39,4 \pm 7,3$ mg .h/L *versus* $38,4 \pm 10,3$ mg .h/L ; n.s.) (Cooney GF et al. 1998). Toutefois, cette évolution du paramètre AUC/dose témoigne en réalité de celle de la clairance apparente ($CL/F = \text{Dose} / \text{AUC}$), et peut donc résulter de variations de la clairance systémique de la ciclosporine.

Le type d'organe transplanté a également été identifié comme covariable explicative au cours l'analyse PKpop. La distinction entre patients greffés cardiaques, rénaux, pulmonaires atteints de mucoviscidose ou pulmonaires non atteints de mucoviscidose, a été identifiée comme la meilleure catégorisation du facteur « type de greffe ». La prise en compte du facteur « mucoviscidose » lors d'une greffe pulmonaire confirme les résultats de notre étude dédiée à cette population et des données publiées (Trull A et al. 1999 ; Kesten S et al. 1998 ; Reynaud-Gaubert et al. 1997 ; Knoop C et al. 2003 ; Rousseau A et al. 2003).

Le poids corporel a été identifié comme covariable explicative de la variabilité du volume central apparent et de la clairance apparente. Cette covariable n'était pas significativement corrélée à ces 2 paramètres lors de l'analyse séparée des populations de greffés rénaux et pulmonaires. L'élargissement de la base de données a certainement permis à celle-ci d'atteindre un seuil de significativité dans la présente étude. Enfin, le facteur « poids corporel » ne semblait pas être directement imputable à la seule introduction de la sous-population de transplantés pédiatriques, dans la mesure où une covariable « enfant ou adulte » n'était corrélée à aucun des paramètres du modèle. Parke J et al., en utilisant un modèle mono-compartimental avec une constante d'absorption d'ordre 1 (sous NONMEM) pour réaliser une analyse PKpop de la CsA au cours des trois premières semaines suivant une greffe cardiaque chez 46 patients (26 recevaient de la CsA sous forme Neoral® et 20 sous forme Sandimmun®) (Parke J et al. 2000, avaient également trouvé une corrélation entre poids corporel et CL/F. Sur la base d'un modèle bicompartimental avec absorption d'ordre 1, Tokui et al. ont identifié le poids comme covariable influençant le volume de distribution ($V_c/F = \theta_1 + \theta_2 \cdot \text{poids}$) chez 125 transplantés rénaux stables recevant de la ciclosporine sous forme Neoral® (Tokui K et al. 2004).

L'administration concomitante de mycophénolate mofétil (CELLCEPT®) ou de corticoïdes ne semble pas influencer la valeur des paramètres de population de la ciclosporine. Il a été montré que la ciclosporine diminue les concentrations plasmatiques de l'acide mycophénolique (AMP), probablement en inhibant l'excrétion de l'AMPG (principal métabolite de l'AMP) des hépatocytes vers la bile, inhibant ainsi son cycle entéro-hépatique (Van Gelder T et al. 2001). En revanche, aucune interaction du MMF ou des corticoïdes sur la pharmacocinétique de la CsA n'a été décrite, à notre connaissance.

En outre, ce modèle tenait compte de la méthode de dosage employée pour mesurer les concentrations de ciclosporine. L'effet « méthode » a été intégré au modèle sur le paramètre

SCALE. Ce dernier permet de prendre en compte un biais éventuel sur la mesure du paramètre Vc/F imputable à la technique analytique mise en œuvre. La très nette amélioration des performances du modèle apportée lors de l'intégration de ce paramètre confirme les résultats de l'étude menée chez les transplantés rénaux qui avaient montré une influence significative de la méthode de dosage sur les paramètres PK de la ciclosporine.

Le modèle d'erreur résiduelle permettait également d'estimer une erreur proportionnelle et additive propre à chacune des 3 techniques de dosage intégrées dans la base de données. Les valeurs estimées de la part additive des erreurs résiduelles étaient toutes proches des limites de quantifications définies pour les techniques et les erreurs proportionnelles voisines de 10%. Ces résultats justifiaient *a posteriori* le choix d'un modèle d'erreur « mixte ».

Le modèle développé a fait l'objet d'une validation rigoureuse. Dans un premier temps, 60 profils PK ont été retirés de la base de données. Un nouveau modèle de population a alors été construit à partir des données restantes (249 profils). Les paramètres de population estimés par ce nouveau modèle étaient très proches de ceux obtenus avec la base complète, ce qui est en faveur d'une très grande stabilité du modèle. Un estimateur Bayésien a ensuite été construit en utilisant comme information *a priori* les paramètres de population de ce second modèle. Basé sur une stratégie d'échantillonnage limité incluant 3 prélèvements, à T0, T1h et T3h, celui-ci a été testé dans le groupe indépendant de 60 patients. Il a permis une estimation satisfaisante de l'AUC₀₋₁₂ quel que soit le type d'organe ou la période post-transplantation considérés. Ce résultat réaffirme la pertinence de cette combinaison de prélèvements, déjà validée dans différentes populations de transplantés.

Cette étude a donc permis de confirmer dans une population plus large les résultats obtenus lors des travaux précédents, notamment l'influence du délai post-greffe, du

type de transplantation, mais également de la méthode de dosage sur les valeurs estimées des paramètres PK de la ciclosporine. Le modèle de population développé intègre ces différentes covariables ainsi que le type de greffe et pourrait ainsi servir de base à de nouvelles études cliniques prospectives incluant des populations de transplantés non explorées jusqu'alors (par exemple, une population pédiatrique en phase précoce). L'estimateur Bayésien qui lui est associé et qui ne nécessite que 3 concentrations par patient pour obtenir une estimation des principaux paramètres PK et indices d'exposition à la ciclosporine constitue par ailleurs un atout majeur pour la mise en place de telles études.

CONCLUSION– PERSPECTIVES

Les travaux présentés dans ce mémoire ont montré que des modèles d'absorption basés sur la loi Gamma ou la loi d'Erlang (qui en est un cas particulier) étaient plus performants et plus flexibles que les modèles classiques généralement utilisés (ordre 0 ou ordre 1), et permettaient la modélisation de profils peu classiques ou erratiques. A partir de ces modèles, des études de pharmacocinétique de population de la ciclosporine ont pu être réalisées. Ces dernières ont permis d'identifier les principaux facteurs à l'origine de la variabilité du devenir dans l'organisme de cet immunosuppresseur. Conjointement à ces études, des outils permettant d'estimer l'exposition individuelle à ce médicament ont également été développés.

Très peu d'études présentant une modélisation pharmacocinétique des profils de concentration de la ciclosporine administrée par voie orale ont été publiées. La difficulté à modéliser les profils d'absorption de cette molécule en sont la principale cause. Classiquement, les modèles publiés se base sur des constantes d'absorption d'ordre 0 ou d'ordre 1, auxquelles peut être associé un paramètre « temps de latence » afin de mimer les retard à l'absorption. Les travaux présentés dans ce mémoire ont montré que ces approches minimalistes ne permettaient pas de décrire tous les profils d'absorption pouvant être observés chez des patients transplantés recevant de la ciclosporine par voie orale. La multiplication des prélèvements sanguins au cours des 2 premières heures de l'interdose (parfois 4 au cours de la première heure) dans les protocoles cliniques ayant servi de base à nos études, a permis de mettre en avant les limites de ces modèles classiques, dont le principal handicap réside dans leur incapacité à modéliser, au sein d'une même population, des absorptions retardées avec Cmax faibles aussi bien que des absorptions rapides avec Cmax élevées.

Quatre études pharmacocinétiques ont été réalisées. Leur ordre d'apparition dans ce mémoire correspond à la chronologie de nos travaux, mais illustre également différentes approches pharmacocinétiques, de la plus simple à la plus complexe : approche non-compartmentale, modélisation en 2 étapes et modélisation en 1 étape permettant une analyse de population.

La méthode « en 2 étapes » a été appliquée dans un premier temps à une population de transplantés rénaux. Cette technique requiert un nombre d'observations important pour chaque sujet afin de définir au mieux les profils pharmacocinétiques et vise à constituer une population de référence décrite par la moyenne et la distribution de ses paramètres PK. Cette méthode nous a permis de décrire les principaux paramètres PK de la ciclosporine au cours du premier mois post-greffe chez le transplanté rénal. Toutefois, ces outils pharmacocinétiques obtenus en 2 étapes présentent un inconvénient de taille, dans la mesure où ils ne sont théoriquement applicables qu'à une seule population de patients. Ainsi, un estimateur Bayésien développé à partir d'une population de transplantés étudiés 1 an après transplantation ne peut être appliqué en toute sécurité à une population de transplantés étudiés quelques jours après la greffe. Pour cette raison, et afin de proposer des adaptations individuelles de posologie plus sûres, nous avons été amenés à développer 3 estimateurs Bayésiens pour la seule période du premier mois suivant une greffe rénale.

La méthode « en 2 étapes » contraint donc à multiplier les populations de référence et donc, les protocoles cliniques permettant le recrutement des patients. Ce problème majeur peut être limité par l'approche « en 1 étape ».

Cette méthode a été appliquée aux mêmes données de transplantés rénaux que celles utilisées pour l'approche « en 2 étapes ». Le principal bénéfice retiré de cette analyse est d'avoir pu regrouper au sein d'une même population des patients greffés depuis 3 jours ou

depuis plusieurs années. La méthode non-linéaire à effet mixte (NONMEM), permettant de réaliser une analyse PKpop de la ciclosporine, a clairement identifié le facteur « période post-greffe » comme une covariable directement corrélée au paramètre d'absorption. Ainsi, un seul estimateur Bayésien a été développé et validé pour l'ensemble de la population de patients greffés rénaux, alors que l'approche en 2 étapes en avaient nécessité quatre. De même, les données issues de 2 populations de transplantés pulmonaires ont été analysées grâce au logiciel NONMEM. L'étude PKpop a mis en évidence une influence significative du facteur « mucoviscidose » sur le volume central apparent et sur la clairance apparente. Ce facteur, détecté lors de l'analyse en 2 étapes, avait nécessité la mise au pont de 2 estimateurs Bayésiens pour différencier les patients atteints de mucoviscidose de ceux indemnes de cette maladie, alors que l'« analyse NONMEM » a permis de développer un seul outil. Dans une dernière étape, plusieurs populations de transplantés ont été regroupées au sein d'une seule base de données. L'analyse « en 1 étape » de cette population très hétérogène a permis d'identifier les principaux facteurs influençant les paramètres PK de la ciclosporine. Le modèle de population développé et l'estimateur Bayésien qui lui est associé permettent d'estimer les paramètres PK et les principaux indices d'exposition à la ciclosporine en tenant compte *a priori* du type de transplantation, du délai écoulé depuis la greffe et du poids corporel, ainsi que de la méthode analytique employée. Cet outil devrait permettre d'estimer les paramètres PK de certains types de patients n'appartenant pas aux populations de la base. En effet, si la population ayant servi au développement de notre modèle n'inclut, par exemple, ni transplantés pulmonaires en phase précoce, ni transplantés cardiaques pédiatriques, la présence des covariables « type de greffe », « délai post-greffe » et « poids corporel » au sein du modèle de population devrait permettre l'analyse de ces nouvelles populations. L'absence de données issues de transplantés hépatiques constitue toutefois une lacune de cette base de données. En effet, le foie étant l'organe principal de métabolisme de la ciclosporine, la transplantation hépatique est vraisemblablement responsable de modifications importantes de

la pharmacocinétique de la ciclosporine, qui ne sont probablement pas extrapolables à partir de populations de transplantés rénaux, cardiaques ou pulmonaires. L'intégration de telles populations au sein de notre base de données permettrait d'étendre le champ d'application des outils que nous avons développés.

Chacune des quatre études présentées au cours de ce mémoire a permis le développement d'un ou plusieurs estimateurs Bayésiens. Ceux-ci ont pour principal avantage de pouvoir prédire, chez chaque individu, les paramètres PK et l'exposition au médicament à l'aide de 3 prélèvements effectués au cours des 3 premières heures de l'interdose. Caractérisés par leur facilité d'usage en routine hospitalière, ces outils peuvent être d'un grand intérêt sur le plan clinique et doivent contribuer à améliorer la prise en charge individuelle des patients. Une des principales difficultés rencontrées pour la mesure de l' AUC_{0-12} est la nécessité de multiplier les prélèvements pour chaque patient (jusqu'à 12 au cours de la journée). Les estimateurs Bayésiens développés ici permettent de surmonter ce problème.

Ces estimateurs Bayésiens devraient rendre également possible la réalisation d'études prospectives comparant au moins deux indices d'exposition. Notamment, bien que de nombreuses études aient été menées dans le but d'asseoir la supériorité du suivi thérapeutique effectué sur la mesure du C2 plutôt que par C0, aucune n'a comparé C2 et AUC_{0-12} . Ils pourraient également participer à des études de type « exposition contrôlée » permettant de définir des valeurs cibles d'exposition au sein de sous-populations peu étudiées jusqu'à présent (greffés pulmonaires et enfants notamment). L'étude prospective DICAM menée chez des transplantés rénaux stables chez lesquels la posologie de ciclosporine est adaptée pour atteindre deux valeurs d' AUC_{0-12} cibles, l' AUC_{0-12} étant calculée par un estimateur Bayésien (logiciel Ciclo®), utilisant 3 prélèvements (T0, T1h, T3h), en est un parfait exemple.

Ainsi utilisés ces outils pharmacocinétiques s'inscriraient à part entière dans une démarche visant à diminuer le taux d'échec thérapeutique et l'incidence des effets indésirables ou toxiques de la ciclosporine chez les patients ayant bénéficié d'une transplantation d'organe solide.

BIBLIOGRAPHIE

- Anglicheau D, Thervet E, Etienne I et al. CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphisms and cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 422-33
- Aziz T, Gamel A, Keevil B, et al. Clinical impact of Neoral in heart transplantation. *Transplant Proc* 1998; 30: 1152-3
- Banner NR, David OJ, Leaver J, et al. Pharmacokinetics of oral cyclosporine in heart transplant patients during the immediate period after surgery. *Transplant Int* 2002; 15: 649-54
- Barone G, Bunke Cm, Choc MC. The safety and tolerability of cyclosporine emulsion versus cyclosporine in a randomized, double blind comparison in primary allograft recipients. *Transplantation* 1996; 61: 968-70
- Barros EJ, Boim MA, Ajzen, H et al. Glomerular hemodynamics and hormonal participation on cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 1987; 32: 19–25
- Bartucci MR, Koshla B, Fleling-Brooks S et al. renal function following conversion from Sandimmun to Neoral instable renal transplant recipients. *J Transplant Coord* 1997; 7: 78-81
- Beal SL, Sheiner LB 1992. NONMEM user's guides. NONMEM Project Group. San Francisco: University of California - 1992
- Bernabeu M, Krupp P, Wiskott E. Long-term safety of cyclosporine in renal transplant recipients: Worldwide experience. *Transplant Proc* 1993; 25: 17-9
- Breant V, Charpiat B, Sab J. How many Patients and Blood Levels Appear Needed for Population Pharmacokinetic Analysis? A Study with a One – Compartment Model applied to Cyclosporine. *Eur J Clin Pharmacol* 1996; 51: 283-288
- Broyer M, Maisin A, Guest G et al. Passage du sandimmun au Neoral en transplantation rénale chez l'enfant. *Arch Pediatr* 1999 ; 6: 1066-9
- Brozmanova H, Grundmann M, Safarcik K et al. High-performance liquid chromatography method for therapeutic drug monitoring of cyclosporine A and its two metabolites in renal transplant patients. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000; 749: 93-100
- Brunner LJ, Bennett WM, Koop DR. Cyclosporine suppresses rat hepatic cytochrome P450 in a time-dependent manner. *Kidney Int* 1998; 54: 216-23
- Campana C, Regazzi MB, Buggia I et al. Clinically significant drug interactions with cyclosporin A: un update. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 141-79
- Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group: Absorption profiling of cyclosporine microemulsion during the first 2 weeks after renal transplantation. *Transplantation* 2001; 72: 1024-35
- Cantarovich M, Elstein E, De Varennes B et al. Clinical benefit of Neoral dose monitoring with cyclosporine 2-hr post-dose levels compared with trough levels in stable heart transplant patients. *Transplantation* 1999; 68: 1839-42

- Cantarovich M, Quantz M, Elstein E, et al. Neoral dose monitoring with cyclosporine 2-hour post-dose levels in heart transplant patients receiving anti-thymocyte globulin induction. *Transplant Proc* 2000; 32: 446-8
- Cattral MS, Hemming AW, Greig PD et al. Low incidence of rejection after synchronous pancreas-kidney transplantation with Neoral. *Transplant Proc* 1998; 30: 1946
- Charpiat B, Falconi I, Breant V. A population pharmacokinetic model of cyclosporine in the first postoperative phase in patients with liver transplants, and its predictive performance with Bayesian fitting. *Ther Drug Monit* 2000; 2: 158-64
- Chowbay B, Cumaraswamy W, Cheung YB, et al. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 89-95
- Christian U, Sewing KF. Cyclosporin metabolism in transplant patients. *Pharmacol Ther* 1993; 57: 291-345
- Cockburn I, Gotz E, Gulich A et al. An interim analysis of the on-going long-term safety study of cyclosporine in renal transplantation. *Transplant Proc* 1988; 20: 519-29
- Cole E, Keown PA, Landsberg D et al. Safety and tolerability of cyclosporine and cyclosporine microemulsion during 18 months of follow-up in stable renal recipients (a report of the Canadian Neoral Study Group). *Transplantation* 1998; 65: 505-10
- Cole E, Maham N, Cardella C et al. Clinical benefits of neoral C2 monitoring in the long-term management of renal transplant recipients. *Transplantation* 2003; 75: 2086-90
- Cooney GF, Habucky K, Hoppu K. Cyclosporine Pharmacokinetics in paediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 481-95
- Cooney GF, Johnston A. Neoral C-2 monitoring in cardiac transplant patients. *Transplant Proc* 2001; 33: 1572-5
- Cremers SC, Scholten EM, Schoemaker RC. A compartmental pharmacokinetic model of cyclosporin and its predictive performance after Bayesian estimation in kidney and simultaneous pancreas-kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1201-1208
- Cyclosporin Proficiency Testing Scheme – <http://www.bioanalytics.co.uk> (available august 2004)
- D'argenio DZ. Optimal sampling times for pharmacokinetics experiments. *J Pharmacokinet Biopharm* 1981; 9: 739-5
- David OJ, Johnston A. Limited sampling-strategies for estimating cyclosporin area under the concentration-time curve: Review of current algorithms. *Ther Drug Monit* 2001; 23: 100-114
- Davidian M, Giltinan DM. Nonlinear models for repeated measurement data. London: Chapman et Hall 1995

Debord J, Risco E, Harel M, Le Meur Y, Büchler M, Lachâtre G, Le Guellec C, marquet P. Application of a gamma model of absorption to oral cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40: 375-82

Deters M, Kaefer V, Kirchner GI. Liquid chromatography/mass spectrometry for therapeutic drug monitoring of immunosuppressant. *Analytica Chimica Acta* 2003; 492: 133-145

Dictionnaire Vidal. Paris: Editions du Vidal; 2004

Dorent R, Albat B, Baladier V et al. French multicenter study of Neoral conversion in heart transplant patients. *Transplant Proc* 1997; 29: 2326-7

Ducharme MP, Verret L, Brouillette D et al. Ability of a first-pass pharmacokinetic model to characterize cyclosporine blood concentrations after administrations of Sandimmune or Neoral formulations. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 165-70

Dumont RJ, Partovi N, Levy RD, Fradet G, Ensom MH. A limited sampling strategy for cyclosporine area under the curve monitoring in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2001: 897-900

Dunn S, Cooney G, Sommerauer J et al. Pharmacokinetics of an oral solution of the microemulsion formulation of cyclosporine in maintenance pediatric liver transplant recipients. *Transplantation* 1997; 63: 1762-7

Dunn S, Falkenstein K, David OJ. Relationship between cyclosporine microemulsion C₂ levels and exposure in de novo and maintenance pediatric liver transplant recipients. *Am J transplant* 2001; Suppl: 419 (abstract)

Einecke G, Mai I, Dieckmann F et al. Optimizing Neoral therapeutic drug monitoring with cyclosporine trough and C₂ concentrations in stable renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2001. 33; 102-110

Eisen HJ, Hobbs RE, Davis SF et al. Safety, tolerability and efficacy of cyclosporine microemulsion in heart transplant recipients: a randomized, multicenter, double-blind comparison with the oil based formulation of cyclosporine – results at six months after transplantation. *Transplantation* 1999; 68: 663-71

Eisen HJ, Hobbs RE, Davis SF. Safety, tolerability, and efficacy of cyclosporine microemulsion in heart transplant recipients: a randomized, multicenter, double-blind comparison with the oil-based formulation of cyclosporine-results at 24 months after transplantation. *Transplantation* 2001 ;71: 70-8

English J, Evan A, Houghton DC et al. Cyclosporine-induced acute renal dysfunction in the rat. Evidence of arteriolar vasoconstriction with preservation of tubular function. *Transplantation* 1987 ; 44: 135-41

Ettenger RE, Smith HT, Kaiser B et al. Use of Neoral in pediatric renal transplantation. *Transplant Proc* 1996; 28: 2257-8

Fahr A. Cyclosporine clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1993; 24:472-95

Felipe CR, Silva HT jr, Machado PG et al. Time-dependent change in cyclosporine exposure: implications for achieving target concentrations. *Transplant Int* 2003; 16: 494-503

Frei UA. Neoral® in renal transplant patients: results of European studies. Cedars Knoll (NJ): World Medical Press 1995; special report: 28-33

Frei UA, Neumayer HH, Buchholz B, Niese D on Behalf Of the International Sandimmun Neoral Study Group. Randomized, double-blind, one-year study of the safety and tolerability of cyclosporine microemulsion compared with conventional cyclosporine in renal transplant patients. *Transplantation* 1998; 65:1455-60

Gaspari F, Perico N, Signorini O, et al. Abbreviated kinetic profiles in area-under-the-curve monitoring of cyclosporine therapy. *Technical. Kidney Int* 1998; 54:2146-50

Gomeni R, Pineau G, Mentré F. Population kinetics and conditional assessment of the optimal dosage regimen using the P-PHARM software package. *Anticancer Res.* 1994; 14: 2321-6

Grant D, Kneteman N, Tchervenkov J, et al. Peak cyclosporine levels correlate with freedom from liver graft rejection: Results of a prospective randomized comparison of Neoral and sandimmune for liver transplantation. *Transplantation* 1999;67; 1999-2004

Grevel J, Welsh MS, Kahan BD. Cyclosporine monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monit* 1989; 11: 246-8

Gubbins PO, Bertch KE. Drug absorption in gastrointestinal disease and surgery. Clinical pharmacokinetic and therapeutic implications. *Clin Pharmacokinet* 1991; 21: 431-47

Halloran PF, Helms LM, Kung L et al. The temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine in vivo. *Transplantation* 1999; 68: 1356-61

Hebert MF. Contributions of hepatic and intestinal metabolites and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery. *Deliv Rev* 1997; 27: 201-14

Hemming AW, Greig PD, Catral MS et al. A microemulsion of cyclosporine without intravenous cyclosporine in liver transplantation. *Transplantation* 1996; 62: 1798-802

Hesselink DA, Van Shaik RH, Van der Heiden IP et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74: 245-54

Holt DW, Armstrong VW, Griesmacher A, et al. International federation of clinical Chemistry/International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology working group on immunosuppressive drug monitoring. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 59-67

Holt DW, Denny K, Lee T et al. Cyclosporine measurement – Who care about inaccuracy? *Accreditation Assurance Quality* 2001; 6: 405-21

Hoppu K, Jalanko S, Laine J et al. Comparison of conventional oral cyclosporine and cyclosporine microemulsion formulations in children with a liver transplant. A pharmacokinetic and clinical study. *Transplantation* 1996; 62: 66-71

Hourmant L, Antoine C, Bayle F et al. An open multicenter trial of conversion from Sandimmun to Neoral in stable kidney-transplant patients. *Transplant Proc* 1997; 29: 2313-4

Hoyer PF, Boekenkamp R, Vester U et al. Conversion from sandimmun to Neoral® and induction therapy with Neoral in pediatric renal transplant recipients. *Transplant Proc* 1996; 28: 2259-61

Humbert H. Metabolites of cyclosporine: blood and tissue levels. Biological activity? *Nucl Med Biol* 1990. 17: 723-7

International Neoral renal Transplantation Study Group. Randomized, international study of cyclosporine microemulsion absorption profiling in renal transplantation with basiliximab immunoprophylaxis. *Am J Transplant* 2002; 2: 157-66

Jacobson PA, Ng J, Green KG. Posttransplant day significantly influences pharmacokinetics of cyclosporine after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9: 304-11

Johnston A, David OJ, Cooney GF. Pharmacokinetic validation of Neoral Absorption profiling. *Transplant Proc* 2000; 32(Suppl):53S-56S

Kabasakul SC, Clarke M, Kane H et al. Comparison of Neoral and sandimmun cyclosporin A pharmacokinetic profil in young renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol* 1997; 11: 318-21

Kahan BD, Dunn J, Fitts C. reduced inter-intrajsubject variability in cyclosporine pharmacokinetics in renal transplant recipients treated with microemulsion formulation in conjunction with fasting low-fat meals or high-fat meals. *Transplantation* 1995; 59: 505-11

Kahan BD, Keown P, Gary A et al. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther* 2002; 24: 330-350

Kahan BD, Van Buren CT, Flechner SM et al. Clinical and experimental studies with cyclosporin in renal transplantation. *Surgery* 1985; 125: 97-104

Kahan BD, Wideman CA, Ried M et al. The value of serum trough cyclosporine levels in human renal transplantation. *Transplant Proc* 1984; 16: 1195-9

Karlsson MO, Beal SL, Sheiner LB. Three new residual error models for population PK/PD analyses. *J Pharmacokin Biopharm* 1995; 23: 651-72

Karlsson MO, Sheiner LB. The importance of modeling interoccasion variability in population pharmacokinetic analyses. *J Pharmacokin Biopharm* 1993; 21:735-50

Kelles A, Herman J, Tjandra-Maga TB et al. Sandimmune to Neoral conversion and value of abbreviated AUC monitoring in stable pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Transplant* 199 ; 3:282-7

Keown PA, Landsberg D, Halloran P et al. A randomized prospective multicenter pharmacoepidemiologic study of cyclosporine microemulsion in stable renal graft recipients. *Transplantation* 1996; 62: 1744-52

Keown PA for the Canadian and International Neoral Study Groups. Use of cyclosporine micro-emulsion in de novo and stable renal transplantation: clinical impact, pharmacokinetic consequences and economic benefits. *Transplant Proc* 1996; 28: 2147-50

Keown PA, Niese D on behalf of the International Sandimmun Neoral Study Group. Cyclosporine microemulsion increases drug exposure and reduces acute rejection without incremental toxicity in de novo renal transplantation. *Kidney Int* 1998; 54: 938-44

Kesten S, Scavuzzo M, Chaparro C. Pharmacokinetic profile and variability of cyclosporine versus neoral in patients with cystic fibrosis after lung transplantation. *Pharmacotherapy* 1998; 18: 847-50

Knoop C, Vervier I, Thiry P. Cyclosporine pharmacokinetics and dose monitoring after lung transplantation: comparison between cystic fibrosis and other conditions. *Transplantation* 2003; 76: 683-8

Kovarik JM, Koelle EU. Cyclosporin pharmacokinetics in the elderly. *Drugs Aging* 1999; 15: 197-205

Kovarik JM, Mueller EA, Van Bree JB et al. Cyclosporin pharmacokinetics and variability from a microemulsion formulation – A multicenter investigation in kidney transplant patients. *Transplantation* 1994; 58: 65-63

Kronbach T, Fischer V, Meyer UA. Cyclosporine metabolism in liver: identification of a cytochrome P-450III gene family as the major cyclosporine-metabolizing enzyme explains interactions of cyclosporine with other drugs. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43: 630-5

Kyhl LEB, Rasmussen SN, Aarons L (1998). Population pharmacokinetics of cyclosporine: influence of covariables and assessment of cyclosporine absorption in kidney, lung, heart and heart-lung transplanted patients. *Transplant proc* (30): 1680

Kyhl LEB, Rasmussen SN, Aarons L et al. population pharmacokinetics of cyclosporine: influence of covariables and assessment of cyclosporine absorption in kidney, lung, heart and heart + lung transplanted patients. *Transplant Proc* 1998; 30:1680

Lampen A, Christians U, Bader A et al. drug interactions and interindividual variability of cyclosporine metabolism in the small intestine. *Pharmacology* 1996; 52: 159-68

Levy GA, Therivet E, Lake J et al. Patient management by Neoral C(2) monitoring: an international consensus statement. *Transplantation* 2002; 73 (9 Suppl): S12-8.

Levy GA. C2 monitoring strategy for optimizing immunosuppression from Neoral® formulation. *Biodrugs* 2001; 15: 279-90

Levy GA. Neoral therapy in liver transplantation. *Transplant Proc* 1996. 28; 2225-35

Lindholm A, Kahan BD. Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations, and AUC monitoring on outcome after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 1993; 54:205-218

Lown KS, Kolars JC, Thummel KE et al. Interpatient heterogeneity in expression of CYP3A4 and CYP3A5 in small bowel. *Drug Metab Dispos* 1994; 22: 947-55

Mahalati K, Belitsky P, Sketris I et al. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. *Transplantation* 1999.; 68: 55-62

- Mahalati K, Belitsky P, West K, et al. Approaching the therapeutic window for cyclosporine in kidney transplantation: a prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 828-34
- Maitre PO, Buhner M, Thomson D et al. A three-step approach combining bayesian regression and NONMEM population analysis: application to midazolam. *J Pharmacokinet Biopharm* 1991; 19: 377-84
- Mallet A. A Maximum likelihood estimation method for random coefficient regression models. *Biometrika* 1986; 73: 645-56
- Mallet A. Notion de pharmacocinétique de population. In: *Pharmacocinétique*. Ed. Ellipses, Paris : 1990
- Mandema JW, Verotta D, Sheiner LB. Building population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. Models for covarites effects. *J Pharmacokinet Biopharm* 1992; 20: 511-28
- Marquet P. Suivi Thérapeutique Pharmacologique de la ciclosporine. In: *Suivi Thérapeutique Pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments*. Ed Elsevier, Paris: 2004
- Maurer G. Metabolism of cyclosporine. *Transplant Proc* 1985; 17: 19-26
- Mentré F, Gomeni R. A two-step iterative algorithm for estimation in nonlinear mixed effectmodels with an evaluation in population pharmacokinetics. *J Biopharm Stat* 1995; 5: 141-58
- Mihatsch MJ, Thiel G, Ryffel B. Histopathology of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant. Proc.* 1988 ; 20: 759-71
- Mirza DF, Gunson BK, Soonawalla Z et al. Reduced acute rejection after liver transplantation with Neoral-based triple immunosuppression. *Lancet* 1997; 349:701-2
- Monchaud C, Rousseau A, Leger F. Limited sampling strategies using Bayesian estimation or multilinear regression for cyclosporin AUC(0-12) monitoring in cardiac transplant patients over the first year post-transplantation. *Eur J Clin Pharmacol* 2003 ; 58: 813-20
- Mueller EA, Kovarik JM, Van Bree JB. Improved dose linearity of cyclosporine pharmacokinetics from microemulsion formulation. *Pharm Resp* 1994; 11: 301-4
- Niese D, on behalf of the International Sandimmun Neoral study group. A double-blind randomized study of Sandimmun Neoral versus Sandimmun in new renal transplant recipients: results after 12 months. *Transplant Proc* 1995; 27: 1849-56
- Noble S, Markham A. Cyclosporin: a review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (neoral®). *Drugs* 1995; 50: 924-41
- Oellerich M, Armstrong VW, Kahan BD et al. Lake Louise consensus conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995; 17: 642-54

- Opelz G, Schwarz V, Henderson R et al. Non-Hodgkin's lymphoma after kidney or heart transplantation: frequency of occurrence during the first posttransplant year. *Transpl Int* 1994; 7 Suppl 1: S353-6
- Opelz G, Schwarz V, Wulciak T et al. Analysis of non-Hodgkin's lymphomas in organ transplant recipients. *Transplant Rev* 1995; 59: 135-8
- Opelz G, Dohler B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant* 2004; 4: 222-30
- Otto MG, Mayer AD, Clavien PA et al. on behalf of the MILTON study Group. Randomized trial of cyclosporine microemulsion versus conventional cyclosporine in liver transplantation. *Transplantation* 1998; 66:1632-40
- Oyer PE, Stinson EB, Jamieson SW et al. Cyclosporine in cardiac transplantation: a 21/2 year follow-up. *Transplant Proc* 1982; 15: 2546-59
- Parke J, Charles BJ. NONMEM population pharmacokinetic modelling of orally administered cyclosporine from routine drug monitoring data after heart transplantation. *Ther Drug Monit* 1998; 20 :284-93
- Parke J, Charles BJ. Factors affecting oral cyclosporin disposition after heart transplantation: bootstrap validation of a population pharmacokinetic model. *Eur J Clin Pharmacol* 2000 ; 56 :481-7
- Penn I. Malignancy in transplanted organs. *Transplant Int* 1993; 6: 1-3
- Pescovitz MD, Barone G, Choc MG. Safety and tolerability of cyclosporine microemulsion versus cyclosporine: two-year data in primary renal allograft recipients. A report of Neoral study group. *Transplantation* 1997; 63: 778-80
- Pescovitz MD, First MR. Improved cyclosporine pharmacokinetics in maintenance renal transplant recipients converted to cyclosporine microemulsion. *Transplant Int* 1998; 11 Suppl 1: S94-7
- Pethig K, Geiger M, Korn A et al. Follow-up after conversion to Neoral in stable heart recipients. *Transplant Proc* 1996; 28: 2282-4
- Pfeiffer M. guidelines on cyclosporine monitoring. Dade Behring symposium, Paris. December 1998
- Pollard SG et al. Comparison of microemulsion and conventional formulations of cyclosporine A in preventing acute rejection in de novo renal transplant recipients. *Transplantation* 1999; 68: 1325-31
- Ptacevski RJ, Venkataramanan R, Burckart GJ. Clinical pharmacokinetics of cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 1986; 11: 107-32
- Rasmussen A, Hjortrup A, Hansen B et al. Induction of immunosuppression by microemulsion cyclosporine in liver transplantation. *Transplantation* 1996; 62: 1031-3

- Reynaud-Gaubert A, Viard L, Girault D. Improved absorption and bioavailability of cyclosporine A from a microemulsion formulation in lung transplant recipients affected with cystic fibrosis. *Transplant Proc* 1997; 29: 2450-3
- Rogerson ME, Marsden JT, Reid KE et al. Cyclosporine blood concentrations in the management of renal transplant recipients. *Transplantation* 1986; 41: 276-84
- Rousseau A, Léger F, Le Meur Y, Saint-Marcoux F, Paintaud G, Buchler M, Marquet P. Population pharmacokinetic modeling of oral cyclosporin using NONMEM: comparison of absorption pharmacokinetic models and design of a Bayesian estimator. *Ther Drug Monit* 2004; 26: 23-30
- Rousseau A, Monchaud C, Debord J, Vervier I, Estenne M, Thiry P, Marquet P. Bayesian forecasting of oral cyclosporin pharmacokinetics in stable lung transplant recipients with and without cystic fibrosis. *Ther Drug Monit* 2003; 25: 28-35
- Ryffel B, Michael J, Mihatsch MJ et al. Immunosuppression and cancer: the cyclosporin case. *Drug Chem Toxicol* 1992; 15: 95-115
- Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, Hori R, Kamano T. Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. *J Biol Chem* 1993, 268: 6077-80
- Samara E, Granneman R. Role of population pharmacokinetics in drug development: a pharmaceutical industry perspective. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 294-312
- Schadeli F, Marti HP, Frey FJ. Population pharmacokinetic model to predict steady-state exposure to once-daily cyclosporin microemulsion in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41: 59-69
- Schroeder TJ, Hariharan S, First MR. Relationship between cyclosporine bioavailability and clinical outcome in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 1994; 26:2787-90
- Schumitsky A (1991). Non parametric EM algorithms for estimating prior distributions. *Applied Mathematics and computation* 45:143-57
- Schutz E, Sviranov D, Shipkova et al. Cyclosporin whole blood immunoassays (AxSYM, CEDIA and EMIT): a critical overview of performance characteristics and comparison with HPLC. *Clin Chem* 1998; 444: 2158-64
- Senel MF, Van Buren CT, Welsh M et al. Impact of early cyclosporin average blood concentration on early kidney transplant failure. *Transpl Int.* 1998; 11: 46-52
- Shah VP, Yacobi A, Barr Wh. Evaluation of orally administered highly variable drugs and drug formulations. *Pharm Res* 1996; 13: 1590-4
- Sheiner LB, Rosenberg B, Marathe VV et al. Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. *J pharmacokinet Biopharm* 1977; 8: 635-51
- Sheiner LB, Rosenberg B, Melmon KL et al. Modeling of individual pharmacokinetics for computer-aided dosage. *Computers and biomedical research* 1972; 5: 441-59

- Simpson J, Zhang Q, Ozaeta P et al. A specific method for measurement of cyclosporin A in human whole blood by liquid chromatography tandem-mass spectrometry. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 294-300
- Sindhi R, La Via MF, Paulling E et al. Stimulated response to peripheral lymphocytes may distinguish cyclosporine effect in renal transplant recipients receiving a cyclosporine+rapamycin regimen. *Transplantation* 2000; 69: 432-36
- Snyder SH, Sabatini DM. Immunophilins and the nervous system. *Nature Med* 1995; 1: 32-7
- Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel Dh et al. Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 1982; 2: 614-23
- Storck M, Mickley V, Gräb C et al. Cyclosporine levels in diabetic (type 1) patients undergoing kidney and pancreas transplantation: role of a new galenica formulation. *Transplant Proc* 1994; 26:2996-8
- Susanto M, Benet LZ. Can enhanced renal clearance of antibiotics in cystic fibrosis patients be explained by P-glycoprotein transport. *Pharm Resp* 2002; 19 (4): 457-6
- Svensen UG, Larsen KR, Allermann H et al. Neoral conversion Study: shift from Sandimmun classic formulation to Neoral in heart lung transplant patients. *Transplant Proc* 1996; 2281
- Taylor DO, Edwards LB, Mohacsi PJ. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: nineteenth official report-2003. *J Heart Lung Transplant* 2002; 22: 616-629
- Taylor PJ, Jones CE, Martin PT et al. Microscale high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry assay for cyclosporin A in blood. *J Chrom B Biomed Sci Appl* 1998; 705: 289-94
- Thervet E, Pfeffer P, Scolari MP et al. Clinical outcomes during the first three months posttransplant in renal allograft recipients managed by C2 monitoring of cyclosporine microemulsion. *Transplantation* 2003; 76: 903-14
- Tokui K, Kimanata T, Uchida K et al. Dose adjustment strategy for oral microemulsion formula of cyclosporine: population Pharmacokinetics-based analyse in kidney transplant patients. *Ther Drug Monit* 2004; 26(3): 287-94
- Tredger JM for the United Kingdom Neoral Pilot Study Group. Using cyclosporine Neoral immediately after liver transplantation. *Ther Drug Monit* 1995; 17: 638-41
- Trezise AE, Romano PR, Gill DR et al. The multidrug resistance and cystic fibrosis genes have complementary patterns of epithelial expression. *EMBO J*1992; 11: 4291-4303
- Trompeter R, Fitzpatrick M, Hutchinson C et al. Longitudinal evaluation of the pharmacokinetics of cyclosporin microemulsion in pediatric renal transplant recipients and assessment of C2 levels as a marker for absorption. *Pediatr transplant* 2003; 7: 282-8
- Trull A, Steel L, Sharples L, Stewart S, Parameshwar J, McNeil K, Wallwork J. Randomized, trough blood Cyclosporine concentration-controlled trial to compare the pharmacodynamics

of Sandimmune and Neoral in de novo lung transplant recipients. *Ther Drug Monit* 1999; 21:17-26

Trull A, Steel L, Sharples L, Stewart S, Parameshwar J, McNeil K, Wallwork J. Randomized, trough blood Cyclosporine concentration-controlled trial to compare the pharmacodynamics of Sandimmune and Neoral in de novo lung transplant recipients. *Ther Drug Monit* 1999; 21:17-26

Tsang VT, Johnston A, Heritier F, et al. Cyclosporin pharmacokinetics in heart-lung transplant recipients with cystic fibrosis. Effects of pancreatic enzymes and ranitidine. *Eur J Clin Pharmacol* 1994 ; 46: 261-5

Tsunoda SM, Aweeka FT. The use of therapeutic drug monitoring to optimize immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 107-40

Urien S, Laurent N, Barre J et al. Pharmacokinetic modelling of cefotaxime and desacetylcefotaxime--a population study in 25 elderly patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004;60: 11-6

Van Gelder T, Klupp J, Barten MJ et al. Comparison of the effects of tacrolimus and cyclosporine on the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Ther Drug Monit* 2001, 23:119-28

Van Gelder T, Klupp J, Sawamoto T et al. ATP-binding cassette transporters and calcineurin inhibitors: potential clinical implications. *Transplant Proc* 2001; 33: 2420-1

Veness MJ, Quinn DI, Ong CS et al. Aggressive cutaneous malignancies following cardiothoracic transplantation. The Australian experience. *Cancer* 1999; 85: 1758-64

Vidal C, Kirchner GI, Wunsch KF et al. Automated simultaneous quantification of the immunosuppressants 40-O-(2-hydroxyethyl) rapamycin and cyclosporine in blood with electrospray-mass spectrometric detection. *Clin Chem* 1998; 44:1275-82

Von Ahsen N, Richter M, Grupp C et al. No influence of the MDR-1 C3435T polymorphism or a CYP3A4 promoter polymorphism (CYP3A4-V allele) on dose-adjusted cyclosporin A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients. *Clin Chem* 2001; 47: 1048-52

Wahlby U, Jonsson EN, Karlsson MO. Comparison of stepwise covariate model building strategies in population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis. *AAPS PharmSci* 2002; 4 (4): E27

White DJ, Calne RY. The use of cyclosporin A immunosuppression in organ grafting. *Immunol Rev* 1982; 115: 65-98

Whitman DA, Abbott V, Freigien K et al. Recent advance in high-performance liquid chromatography/mass spectrometry and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: detection of cyclosporine and metabolites in kidney and liver tissue. *Ther Drug Monit* 1993; 15:552-56

Yates CR, Zhang W, Song P, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 polymorphic expression on cyclosporine oral disposition in renal transplant patients. *J Clin Pharmacol* 2003 ; 43: 555-64

Yu LX, Amidon GL. A compartmental absorption and transit model for estimating oral drug absorption. *Int J Pharm* 1999; 186: 119-25

Zaldonis DB, Keenan RJ, Pham SM et al. Neoral conversion in stable thoracic transplant patients leads to dose reduction. *Transplant Proc* 1998; 1158-9

Zencke G, Baumann G, Wenger R et al. Molecular mechanisms of immunosuppression by cyclosporins. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 685: 330-5

FIGURES

- 1) Formule développée de la ciclosporine A.
- 2) Schéma d'un modèle à 2 compartiments avec absorption d'ordre 1.
- 3) Profils d'évolution des concentrations de ciclosporine en fonction du temps observés chez des transplantés rénaux, 3 jours, 7 jours et 30 jours après la greffe (n=24), et pour des délais supérieurs à 3 mois (n=20).
- 4) Variabilité inter-individuelle (A) et intra-individuelle (B) des concentrations observées en fonction des horaires de prélèvements au cours du premier mois chez 24 transplantés rénaux *de novo*.
- 5) Etude de corrélation entre AUC 0-4 et AUC 0-12 au cours du premier mois suivant une transplantation rénale (n=24).
- 6) Modélisation de profils PK à l'aide du modèle bicompartimental avec absorption « Gamma » chez des greffés rénaux au cours du premier mois post-transplantation.
- 7) Etude de corrélation entre AUC₀₋₁₂ estimée par estimation Bayésienne à l'aide de différentes stratégies d'échantillonnage limité et l'AUC₀₋₁₂ de référence (méthode des trapèzes) à J3, J7 et J30 post-greffe chez 24 transplantés rénaux.
- 8) Modèle à 2 compartiments avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par la loi d'Erlang.
- 9) Modèle à 2 compartiments avec élimination d'ordre 1 et absorption décrite par la loi Gamma.
- 10) Profils pharmacocinétiques de la ciclosporine observés chez des transplantés rénaux au cours du 1^{er} mois (n=24) et pour des délais post-greffe supérieurs à 3 mois (n=20), en fonction de la technique de dosage employée (EMIT, FPIA ou LC-ES-MS).
- 11) Graphe de corrélation entre concentrations observées par la méthode EMIT et prédites par des modèles à 2 compartiments avec une absorption décrite par un processus d'ordre 0 (A), d'ordre 1 avec un temps de latence (B), ou une loi de Erlang (C).
- 12) Modélisation de la phase d'absorption par 3 modèles PK différents.

- 13) Modélisation de 2 profils PK obtenus au cours du premier mois suivant la greffe (technique de dosage FPIA) chez un même patient.
- 14) Evaluation graphique des performances du modèle d 'erreur résiduelle (données LC-ES-MS).
- 15) Résultats des analyses de corrélation permettant de valider le modèle final dans une population indépendante (n=10 profils).
- 16) Représentation graphique des biais calculés entre AUC_{0-12} obtenues après dosage par 2 méthodes immunologiques (EMIT et FPIA) et AUC_{0-12} par chromatographie (LC-ES-MS) (méthode de référence).
- 17) Courbes d'évolution des concentrations de ciclosporine observées après dosage par 3 techniques analytiques différentes (EMIT, FPIA et LC-ES-MS) chez un même patient à J3 post-greffe.
- 18) Courbes observées des concentrations de ciclosporine en fonction du temps chez des transplantés pulmonaires. A : groupe de construction du modèle (n=65) ; B : groupe de validation du modèle (n=34).
- 19) Evaluation graphique des performances du modèle de base.
- 20) Modélisation de 2 profils PK de la ciclosporine par le modèle Erlang chez des transplantés pulmonaires.
- 21) Modélisation à partir de 3 prélèvements effectués à T0, T1h et T3h de 2 profils issus du groupe indépendant de transplantés pulmonaires.
- 22) Courbes de concentrations observées dans les 4 sous-populations ayant servi à la construction du modèle PK de population.
- 23) Analyse graphique des performances du modèle de base retenu pour l'analyse PKpop de la base de données complète.
- 24) Exemples de modélisation de profils PK issus de la base de données complète par le modèle final.
- 25) Représentation graphique des biais calculés entre AUC_{0-12} estimées par la LSS T0-T1h-T3h et celles calculées par la méthodes trapèzes (12 prélèvements) en fonction du type de greffe considéré.

26) Modélisation de 3 profils pharmacocinétiques issus du groupe de validation à partir de la LSS T0-T1h-T3h.

TABLEAUX

- 1) Classification des immunosuppresseurs selon leur mécanisme d'action
- 2) Les interactions médicamenteuses établies de type pharmacocinétique de la ciclosporine
- 3) Principales études ayant étudié l'efficacité et la tolérance de la ciclosporine sous forme Neoral® en transplantation rénale.
- 4) Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C0) après une transplantation rénale (d'après Marquet P. 2004)
- 5) Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C0) en fonction du type de greffe (d'après Marquet P. 2004)
- 6) Principales études ayant étudié la corrélation entre C2 et AUC0-4
- 7) Zone thérapeutique de la concentration 2 heures après la prise de ciclosporine (C2) en fonction de l'indication et du délai post-greffe
- 8) Réactivité croisée des méthodes immunologiques vis à vis des métabolites de la ciclosporine (d'après Marquet P. 2004)
- 9) Les techniques de dosage immunologiques de la ciclosporine (d'après Marquet P. 2004)
- 10) Caractéristiques de la population de transplantés rénaux dans le premier mois suivant la greffe : étude PRIMOCINE (n=24).
- 11) Caractéristiques de la population de transplantés rénaux au-delà du troisième mois suivant la greffe ; étude STABLOCINE (n=20).
- 12) Principaux indices d'exposition à la ciclosporine observés au cours du premier mois dans une population de 24 transplantés rénaux de novo, et chez 20 patients « stables » greffés depuis plus de 3 mois.
- 13) Etude des variabilités inter- et intra-individuelles des principaux indices d'exposition à la ciclosporine observés au cours du premier mois suivant la greffe chez 24 transplantés rénaux *de novo*.

- 14) Corrélations entre concentrations et AUC_{0-4} ou AUC_{0-12} au cours du premier mois chez 24 transplantés rénaux de novo.
- 15) Paramètres pharmacocinétiques calculés à l'aide d'un modèle à 2 compartiments avec absorption « Gamma » chez 24 transplantés rénaux de novo au cours du premier mois suivant la greffe.
- 16) Performances du modèle à 2 compartiments avec absorption « Gamma » pour l'estimation des principaux paramètres d'exposition à la ciclosporine chez 24 transplantés rénaux au cours du premier mois suivant la greffe.
- 17) Performances de la stratégie d'échantillonnage C0-C1,5-C4 pour l'estimation Bayésienne de l' AUC_{0-12} de la ciclosporine chez des transplantés rénaux *de novo* (n=24).
- 18) Caractéristiques des 10 patients greffés rénaux supplémentaires utilisés pour l'analyse « en une étape ».
- 19) Caractéristiques des différents modèles PK à 2 compartiments testés pour modéliser les données obtenues par FPIA
- 20) Caractéristiques des différents modèles PK à 2 compartiments testés pour modéliser les données obtenues par EMIT
- 21) Caractéristiques des différents modèles PK à 2 compartiments testés pour modéliser les données obtenues par LC-ES-MS.
- 22) Résumé de l'analyse de régression entre concentrations observées (DV) et prédites (PRED) par 3 modèles structuraux différents.
- 23) Paramètres pharmacocinétiques estimés avec le meilleur modèle structural (2 compartiments, absorption suivant la loi d'Erlang, élimination du 1^{er} ordre) en fonction des techniques de dosage.
- 24) Résumé du screening des covariables pour la méthode FPIA.
- 25) Résumé du screening des covariables pour la méthode LC-ES-MS.
- 26) Résumé du screening des covariables pour la méthode EMIT.
- 27) Paramètres pharmacocinétiques de population de la ciclosporine obtenus avec 3 méthodes de dosage différentes.

- 28) Paramètres pharmacocinétiques calculés par méthode Bayésienne en fonction des 3 techniques de dosage (n=92 profils).
- 29) Biais calculés entre les valeurs d'AUC₀₋₁₂ obtenues par 2 méthodes immunologiques (FPIA et EMIT) et les valeurs obtenues par chromatographie (LC-ES-MS) (n=92).
- 30) Caractéristiques des patients transplantés pulmonaires inclus dans les groupes de construction et de validation du modèle PK.
- 31) Valeurs des fonctions objectives obtenues pour différents modèles à 2 compartiments appliqués aux données issues de transplantés pulmonaires.
- 32) Paramètres PK de population du modèle de base à 2 compartiments décrivant la phase d'absorption par une loi d'Erlang
- 33) Paramètres pharmacocinétiques du modèle de population final (2 compartiments, absorption décrite par une loi d'Erlang et élimination d'ordre 1).
- 34) Caractéristiques de la population de 16 transplantés cardiaques.
- 35) Principales caractéristiques de la population de 31 transplantés rénaux pédiatriques.
- 36) Répartition par méthode de dosage et par période post-greffe des patients inclus dans la base de données « tout type de greffe ».
- 37) Comparaison de 3 modèles d'erreur résiduelle appliqués au modèle « Erlang ».
- 38) Paramètres pharmacocinétiques de population du modèle structural (2 compartiments, absorption suivant la loi d'Erlang, élimination du 1^{er} ordre) retenu pour l'analyse PKpop de la base de données complète.
- 39) Etape de déletion des covariables pour la construction du modèle final.
- 40) Paramètres pharmacocinétiques de population du modèle final développé à partir de la base complète.
- 41) Résumé de l'analyse des biais entre AUC₀₋₁₂ estimées par la LSS T0-T1h-T3h et celles calculées par la méthode des trapèzes.

GLOSSAIRE

- **AUC** : Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps.
- **AUC₀₋₁₂** : Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps entre 0 et 12 heures.
- **AUC₀₋₄** : Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps entre 0 et 4 heures.
- **C₀** : concentration sanguine de ciclosporine mesurée juste avant une administration.
- **C₂** : concentration sanguine de ciclosporine mesurée deux heures après administration.
- **CL/F** : Clairance apparent.
- **C_{max}** : Concentration maximale observée au cours de l'interdose.
- **C_{sA}** : Ciclosporine A.
- **EMIT** : enzyme multiplied immuno-assay technique.
- **FPIA** : fluorescence polarization immuno-assay technique.
- **LC-ES-MS** : Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.
- **LSS** : Stratégie d'échantillonnages limités.
- **NONMEM** : NONlinear Mixed Effect Model.
- **OFV** : Valeur de la fonction objective.
- **PK** : pharmacocinétique.
- **PKpop** : Pharmacocinétique de population.
- **Q/F** : Clairance intercompartimentale.
- **RMSE** : Root mean squared error.
- **STP** : Suivi Thérapeutique Pharmacologique.
- **T_{max}** : Temps auquel apparaît la concentration maximale au cours de l'interdose.
- **V_c/F** : Volume de distribution central apparent.
- **V_p/F** : Volume de distribution périphérique apparent.