

UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE, SANTÉ (ED N°524)

FACULTE DE MÉDECINE

INSERM UMR-S850 « Pharmacologie des immunosuppresseurs et de la transplantation »

Thèse N° [-----]

Thèse

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LIMOGES

Discipline / Spécialité : Pharmacologie

présentée et soutenue par

Caroline MONCHAUD

le 16 septembre 2011

Mise au point et validation d'outils d'individualisation du traitement immunosuppresseur en greffe pulmonaire

Thèse dirigée par Pr Annick ROUSSEAU et Pr Pierre MARQUET

JURY :

Rapporteurs

M. Dr Saik URIEN, Directeur de Recherche (INSERM Paris)

M. Pr Marc ESTENNE, Professeur – Praticien Hospitalier (Hôpital Erasme, Bruxelles)

M. Pr Christophe PISON, Professeur – Praticien Hospitalier (CHU de Grenoble)

Examineurs

M. Pr Pierre-Marie PREUX, Professeur – Praticien Hospitalier (CHU de Limoges)

Mme Pr Annick ROUSSEAU, Professeur (Université de Limoges)

M. Pr Pierre MARQUET, Professeur – Praticien Hospitalier (CHU de Limoges)

Remerciements

A Chloé, ma fleur, mon rayon de soleil

Avant de présenter ce travail, je tiens à remercier les personnes sans qui tout ceci ne serait jamais arrivé. Merci Pierre, de votre accueil dans l'équipe dès mes premiers pas en pharmacologie. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée, votre patience, votre bienveillance et les conseils précieux que vous m'avez toujours donnés. Merci Annick, pour ta disponibilité, ta bonne humeur communicative, ton soutien dans les moments difficiles, tes encouragements et tous les conseils avisés que tu m'as donnés.

Je souhaite également exprimer tout mon respect et mes remerciements chaleureux à M. Gérard Lachâtre, pour son accueil dans le service et le soutien qu'il m'a toujours apporté.

J'adresse mes remerciements à Ms. Saïk Urien, Marc Estenne et Christophe Pison, qui ont accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Merci à Marc Estenne et Christophe Pison pour leur collaboration enthousiaste. Je remercie également M. Pierre-Marie Preux, qui a accepté de participer au jury de soutenance de ce mémoire.

Je remercie l'association Vaincre La Mucoviscidose pour le soutien financier apporté aux études cliniques en transplantation pulmonaire que nous présentons dans ce travail. J'ai également une pensée particulière pour les patients qui ont participé à ces études, dont j'espère qu'elles contribueront au succès croissant de la transplantation pulmonaire.

J'exprime mes vifs remerciements à mes collègues, qui ont contribué à ce travail, chacun à leur manière : Franck S.-M., François-Ludovic, Frédéric, Hélène, Fabrice, Aurélie, Karen, Karine, Jean-Louis, Franck G. Un très grand merci également à Benoît Marin pour son aide dans l'organisation de la conférence de consensus. Enfin, je tiens à adresser un grand merci à Brenda de Winter pour son aide précieuse (dank je Brenda !).

Je remercie du fond du cœur mes parents, qui m'ont toujours encouragée et soutenue dans tous mes projets.

Last but not least, ma pensée est pour Olivier : merci de ta patience et de ton soutien sans faille. Merci d'être à mes côtés.

Glossaire

ABIS	Adaptation Bayésienne des ImmunoSuppresseurs
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AFMPS	Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AUC	Area Under the concentration-time Curve (Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps entre 2 prises, quelle que soit la fréquence des prises)
AUC _{0-nh}	Area Under the concentration-time Curve over <i>n</i> hours (Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps entre 2 prises à <i>n</i> heures d'intervalle)
BASALT	Bayesian dose Adjustment of immunoSuppressants After Lung Transplantation
BOS	Bronchiolitis Obliterans Syndrome (syndrome de bronchiolite oblitérante)
C ₀	Concentration résiduelle
CCPPRB	Comité Consultatif de Protection des Personnes se Prêtant à des Recherches Biomédicales
CEP	Composite endpoint
CF	Cystic Fibrosis (mucoviscidose)
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CL	Clairance
C _{max}	Concentration maximale
CMV	Cytomégalovirus
CNIL	Commission Nationale Informatique et Libertés
CPP	Comité de Protection des Personnes
CWRES	Conditional Weighted Residuals (résidus pondérés conditionnels)
CYP	Cytochrome P450
DV	Dependant Variable
DPG	Délai post-greffe
EDTA	Acide éthylène diamine tétra-acétique
EIG	Événement Indésirable Grave
ERA	Episode de Rejet Aigu
F	Biodisponibilité
FDA	Food and Drug Administration
FKBP-12	FK Binding Protein 12
HEGP	Hôpital Européen Georges Pompidou
HLA	Human Leukocyte Antigen
IATDMCT	International Association for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology
IL-2	Interleukine 2
IMPDH	Inosine MonoPhosphate DésHydrogénase
IPRED	Individual-predicted concentrations (concentrations individuelles prédites)
ISHLT	International Society of Heart and Lung Transplantation
IT2B	Iterative 2-stage Bayesian Approach
ITT	Intention de Traiter
J	Jour
IV	Intra-veineuse
k _a	Constante d'absorption
LBA	Lavage Broncho-Alvéolaire

LC-MS/MS	Chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem
M	Mois
mTOR	mammalian Target Of Rapamycin
MMF	Mycophénolate mofétil
MPA	Mycophenolic Acid (acide mycophénolique)
MPAG	7-O-mycophenolic acid glucuronide
NFAT	Nuclear factor of activated T-cells (facteur nucléaire des lymphocytes T activés)
OFV	Objective Function Value
P-gp	P-glycoprotein
PRED	Model-predicted concentrations (concentrations prédites par le modèle)
PTLD	Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
S	Semaine
SOOM IV	Sud-Ouest – Outre-Mer 4
STP	Suivi Thérapeutique Pharmacologique
TTS	The Transplantation Society
UFRCB	Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistiques
VEMS	Volume Expiratoire Maximum Seconde
VIH	Virus d'Immunodéficience Humaine
VPC	Visual Predictive Checks
WRES	Weighted Residuals (résidus pondérés)

Sommaire

Introduction	9
Objectifs	23
1 Etat de l'art concernant la pharmacocinétique et le STP des immunosuppresseurs en transplantation thoracique	24
1.1 Pharmacocinétique et STP des anti-calcineurines en transplantation thoracique.....	25
1.2 Pharmacocinétique et STP du MMF et des inhibiteurs de la mTOR en transplantation thoracique	25
2 Etude Stimmugrep.....	29
2.1 Objectifs de l'étude.....	29
2.2 Critères d'inclusion et de non-inclusion.....	30
2.3 Modalités d'administration des traitements.....	30
2.4 Modalités de prélèvements	31
2.5 Modalités de réalisation des dosages.....	31
3 Modélisation pharmacocinétique et développement d'estimateurs Bayésiens en transplantation pulmonaire	32
3.1 Modélisation pharmacocinétique et développement d'estimateurs Bayésiens pour le tacrolimus (Prograf®)	33
3.2 Modélisation pharmacocinétique et développement d'estimateurs Bayésiens pour le mycophénolate mofétil (CellCept®).....	41
4 Mise en place d'outils d'évaluation de l'efficacité et de la toxicité des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire	51
5 Etude « preuve de concept » de STP en transplantation pulmonaire : l'étude BASALT	60
5.1 Le protocole	60
5.2 Bilan pratique – Problèmes et solutions	68
6 Discussion générale.....	76
7 Conclusion et perspectives	82
Bibliographie	85
Annexe : l'étude Basalt	92

Table des illustrations

Figure 1. Survie du receveur après greffe de poumon selon la période de la greffe. ^[3]	10
Figure 2. Evolution du rapport AUC/Dose au cours de la première année post-greffe, chez les patients inclus dans l'étude Stimmugrep.	43
Figure 3. Incidence du rejet aigu de greffon rénal prouvé par biopsie en fonction des AUC _{0-12h} combinées de tacrolimus et de MPA. ^[91]	61
Figure 4. Courbe d'inclusions de l'étude Basalt.	73

Table des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques de la population incluse dans le travail de thèse	32
Tableau 2. Posologies initiales de tacrolimus et de MMF dans l'étude Basalt	63
Tableau 3. Dossiers d'adaptation de posologie postés sur le site « BASALT »	74

Introduction

La transplantation pulmonaire

Chaque année en France, entre 200 et 300 nouveaux patients sont inscrits en liste d'attente d'une greffe pulmonaire ou cœur-poumon, dont plus d'une vingtaine d'enfants. En 2010, 263 greffes pulmonaires ont été effectuées par 11 centres en France. Malheureusement, les donneurs sont peu nombreux et le délai médian d'attente en France est d'environ 10 mois.^[1] Néanmoins, d'après les données du registre de l'ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation) le nombre de transplantations pulmonaires chez l'adulte au niveau mondial est passé d'environ 1500 par an dans les années 1997-2000 à plus de 2700 par an depuis 2007.^[2] Parallèlement, la probabilité de survie après transplantation pulmonaire a augmenté, pour atteindre actuellement environ 80 % à 1 an et 50% à 5 ans.^[2]

La transplantation pulmonaire correspond à la prise en charge ultime des patients souffrant d'insuffisance respiratoire terminale, dont les étiologies sont diverses. Parmi ces étiologies, la mucoviscidose représente environ 1/3 des indications de transplantation pulmonaire. Il s'agit d'une maladie génétique autosomique à transmission récessive, fréquente et grave, touchant l'enfant (1/3500 naissances, soit plus de 200 enfants par an en France). On estime le nombre de patients atteints à 6000 en 2010, dont environ 45% ont plus de 18 ans. L'espérance de vie de ces patients est aujourd'hui de 46 ans. La mucoviscidose se traduit entre autre par :

- des infections respiratoires à répétition, puis chroniques, qui aboutissent à des lésions bronchiques et parenchymateuses pulmonaires et à une insuffisance respiratoire chronique.
- une perturbation des fonctions digestives avec malabsorption (responsable de retards de croissance), stéatorrhée et douleurs abdominales, le tout nécessitant l'administration thérapeutique d'enzymes pancréatiques.

Malgré les progrès thérapeutiques, l'insuffisance respiratoire terminale est quasiment inéluctable. A ce stade, la transplantation pulmonaire est l'ultime ressource thérapeutique.

Depuis la première greffe de poumons, en 1963, de nombreux domaines ont été améliorés. Ainsi, l’optimisation des critères de sélection des patients, de la prise en charge des donneurs, de la préservation des organes, des tests d’histocompatibilité, des techniques chirurgicales, de la prise en charge post-opératoire, des traitements immunosuppresseurs et de leur suivi, a largement contribué au succès croissant de cette thérapeutique.

Toutefois, la survie à 10 ans est encore inférieure à 40% et depuis 2 décennies, elle ne semble pas avoir autant progressé que la survie à 1 an et 5 ans (figure 1).^[3]

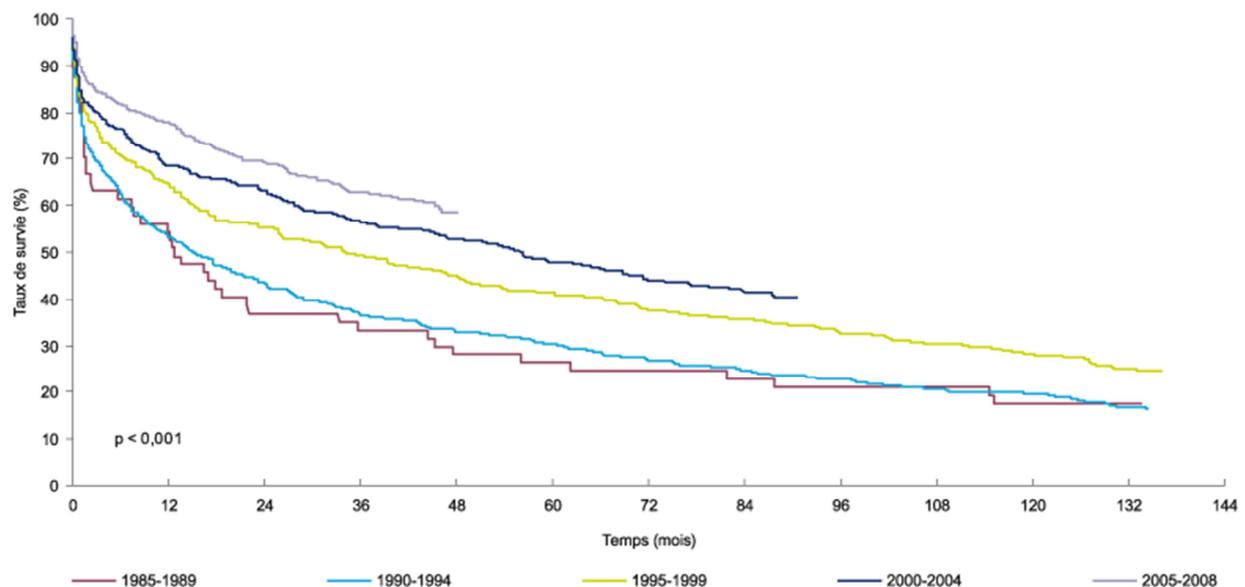


Figure 1. Survie du receveur après greffe de poumon selon la période de la greffe.^[3]

La transplantation pulmonaire n’est pas comparable à la transplantation d’autres organes solides, en termes de morbidité et de mortalité. Tout d’abord, contrairement à la dysfonction du greffon rénal qui peut être prise en charge par la dialyse, la perte du greffon en transplantation pulmonaire aboutit généralement au décès (en France, les re-transplantations représentent moins de 5% des greffes pulmonaires).^[4] Par ailleurs, le poumon est un organe lymphoïde et extrêmement immunogène du fait de son contact direct avec l’environnement via la respiration (micro-organismes et particules de pollution en suspension dans l’air).^[5] D’autre part, contrairement au rein ou au foie, le poumon n’est pas, à quelques exceptions près, directement impliqué dans le métabolisme et l’élimination des médicaments. Enfin, le tissu alvéolaire présente une large surface de contact avec la circulation sanguine. L’ensemble

de ces particularités peut être à l'origine de différences dans la pharmacocinétique des médicaments, en particulier immunosuppresseurs, chez les patients transplantés pulmonaires.

Malgré l'amélioration des stratégies immunosuppressives, l'incidence des rejets aigus et chroniques et de la mortalité après une transplantation pulmonaire reste élevée, en comparaison des autres types de greffes d'organes solides. Entre 2004 et 2009, entre 40 et 50% des patients transplantés pulmonaires ont été traités pour au moins un épisode de rejet aigu (ERA) pendant la première année de greffe.^[2] Depuis, de nombreuses études en transplantation pulmonaire ont montré que le rejet aigu était un facteur de risque significatif pour le développement du rejet chronique.^[6] Le syndrome de bronchiolite oblitérante ou BOS (rejet chronique d'allogreffe en transplantation pulmonaire) et les infections représentent les facteurs les plus péjoratifs sur la survie à long terme et sur la qualité de vie.^[6]

Les causes de décès sont, par ordre décroissant, les infections respiratoires et les sepsis, la bronchiolite oblitérante (rejet chronique du greffon pulmonaire), les cancers, les événements cardiovasculaires et les autres causes.^[7] Les épisodes infectieux, les cancers, les événements cardiovasculaires, mais aussi l'insuffisance rénale survenant chez 10 à 20% des patients greffés cardiaques ou pulmonaires, sont favorisés par l'immunosuppression (en particulier si elle trop intense). Le BOS traduit au contraire un manque d'efficacité de ce traitement. Elle est favorisée par la survenue de rejets aigus du greffon, réaction immunologique à traduction morphologique, diagnostiquée sur la biopsie du greffon et graduée selon la classification de l'ISHLT.

En conséquence, de nouvelles améliorations du traitement et de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires sont absolument nécessaires.

Les traitements immunosuppresseurs

L'amélioration de la survie après transplantation pulmonaire est largement attribuable au développement de stratégies immunosuppressives efficaces.^[8] Les stratégies employées en transplantation pulmonaire sont issues des essais cliniques conduits dans d'autres types de greffes, tels que la greffe de rein. Faute de recommandations consensuelles, la stratégie thérapeutique d'entretien (prévention des ERA et du BOS) la plus répandue est une trithérapie immunosuppressive associant un corticoïde, un inhibiteur de la calcineurine (ciclosporine ou tacrolimus) et un antimétabolite (mycophénolate mofétil – MMF – ou azathioprine).^[9]

1. Le tacrolimus

Le tacrolimus (FK506, Prograf[®]) est un macrolide immunosuppresseur isolé en 1984 du champignon *Streptomyces tsukubaensis*. Bien que sa structure moléculaire soit différente de celle de la ciclosporine, son mécanisme d'action immunosuppresseur en est proche^[10] : c'est un inhibiteur de la calcineurine et de la sécrétion d'interleukine 2 (IL-2) par les lymphocytes T.^[11] Le tacrolimus exerce son action immunosuppressive en se liant à une protéine intra-cellulaire (FKBP-12), pour former un complexe inhibiteur qui bloque l'activité phosphatase de la calcineurine. Il en résulte un blocage en chaîne de la voie de la calcineurine, ayant pour conséquence une inhibition complète de la translocation du facteur NFAT, empêchant ainsi la transcription des gènes produisant les cytokines et donc inhibant l'activation et la prolifération des lymphocytes T.

Le tacrolimus est indiqué en transplantation rénale, hépatique et cardiaque, ainsi que pour le traitement du rejet de toute allogreffe résistant à un traitement par d'autres immunosuppresseurs, mais il n'a pas l'AMM dans le traitement de première intention en transplantation pulmonaire. Aucune des études qui ont comparé tacrolimus et ciclosporine en transplantation pulmonaire n'ont montré de différence de survie au cours des trois premières années, mais elles ont retrouvé une plus faible incidence de rejets aigus,^[12] de BOS, de la combinaison rejet aigu/BOS/bronchite lymphocytaire^[13] et d'effets indésirables^[14] sous tacrolimus. En conséquence, depuis quelques années, le tacrolimus tend à remplacer la ciclosporine dans le traitement des transplantés pulmonaires, en traitement de sauvetage après les premiers épisodes de rejet aigu, mais également en première intention, en association avec l'azathioprine ou le MMF. A présent, le tacrolimus est le principal anticalcineurine administré en transplantation pulmonaire, adulte et pédiatrique (plus de 70% des patients dans le monde).^[15]

2. Le mycophénolate mofétil

Le mycophénolate mofétil (MMF, CellCept[®]) est le produit d'un programme de développement mené par Nelson, Allison et Eugui des laboratoires Syntex.^[16] Après avoir le rachat de son brevet par les laboratoires Roche, il a été autorisé aux USA en 1995 et en France en 1996, après les résultats de trois essais internationaux multicentriques.^[17-19]

Après administration par voie orale, le MMF est rapidement hydrolysé par des carboxyestérases en une substance active, l'acide mycophénolique (MPA), au niveau de l'estomac, de l'intestin grêle, du sang, du foie et des tissus.^[20,21] Le MPA est ensuite métabolisé majoritairement en un glucuronide inactif, le MPAG, qui subit une recirculation entéro-hépatique.^[22]

Les propriétés immunosuppressives du MPA sont dues à son inhibition réversible de l'inosine 5'-monophosphate déshydrogénase (IMPDH),^[23] enzyme clé de la synthèse *de novo* des purines,^[24,25] essentielle pour la réplication d'ADN lors de la prolifération cellulaire. En inhibant l'IMPDH2, le MPA bloque spécifiquement la prolifération et l'expansion clonale des lymphocytes B et T,^[26] permettant une immunosuppression efficace chez les patients transplantés.^[24,25,27,28]

L'utilisation du MMF en transplantation pulmonaire a fortement augmenté depuis les 10 dernières années. Il est à présent prescrit dans approximativement 50% des traitements d'entretien en transplantation pulmonaire, adulte et pédiatrique.^[2,15]

Le MMF est disponible en formulations orales (capsules, comprimés, et poudre pour suspension orale) et intraveineuses.^[29] Il est habituellement prescrit pour la prévention du rejet après transplantation d'organe solide, en association à un anticalcineurine et un corticoïde.^[28,30] La réduction de la fréquence des rejets aigus et l'amélioration de la survie des greffons et des patients avec le MMF par rapport à l'azathioprine l'ont conduit progressivement à remplacer l'azathioprine comme agent antiprolifératif de choix en transplantation pulmonaire, bien que, dans la plupart des pays, il n'ait pas d'AMM dans cette indication.^[2]

En transplantation cardiaque, le résumé des caractéristiques du produit (RCP) du MMF stipule qu'il doit être administré par voie orale, en association à la ciclosporine, à une posologie de 3 g/j en deux prises. Du fait de l'absence d'interaction pharmacocinétique avec le tacrolimus (contrairement à la ciclosporine), la dose de MMF habituellement prescrite en association avec le tacrolimus est de 2 g/j en 2 prises. Par analogie, les mêmes doses standard sont maintenant utilisées en transplantation pulmonaire.^[9]

De même que pour le tacrolimus, le MMF est prescrit en première intention ou en remplacement de l'azathioprine en cas de rejet, bien qu'il n'ait pas l'AMM en transplantation

pulmonaire et que deux études prospectives n'aient pas montré de différences d'efficacité entre ces deux anti-métabolites.^[7,31] Au contraire, le MMF s'est révélé d'une efficacité supérieure à l'azathioprine (Imurel[®]) chez les patients ayant bénéficié d'une allogreffe de rein,^[17-19] de foie^[32] et de cœur.^[33,34] en termes de réduction de l'incidence des rejets aigus (prouvés par biopsie) ou des échecs au traitement (perte du greffon, décès ou interruption prématurée de la prise de MMF quelle qu'en soit la raison).

3. L'association tacrolimus – MMF en transplantation pulmonaire

La stratégie thérapeutique en transplantation pulmonaire, associant tacrolimus, MMF et corticoïdes en première intention, semble dictée à la fois par les résultats positifs obtenus dans les autres transplantations d'organe, et par l'expérience clinique de son efficacité lors des changements de traitement effectués au moment d'un rejet. Ainsi, entre 2002 et 2009, le traitement de maintenance de près de 40% des patients transplantés pulmonaires, à un et cinq ans post-greffe, consistait en l'association tacrolimus – MMF.^[2]

Les stratégies d'individualisation thérapeutique en transplantation

Pour obtenir le meilleur compromis entre efficacité et risque de toxicité, il est nécessaire de déterminer le schéma posologique optimal (dose et fréquence d'administration) chez chaque individu. Cette individualisation de posologie consiste donc à ajuster les doses de médicament à administrer pour atteindre une exposition cible.

Généralités sur le suivi thérapeutique pharmacologique

L'Association Internationale de Suivi Thérapeutique et de Toxicologie Clinique (IATDMCT) donne au suivi thérapeutique pharmacologique (STP) la définition suivante :

« Le STP est une spécialité clinique pluridisciplinaire visant à améliorer la prise en charge du patient en ajustant individuellement la dose des médicaments pour lesquels le bénéfice clinique du STP a été démontré dans la population générale ou dans une population particulière. Il repose sur des informations pharmacogénétiques, démographiques et cliniques a priori et/ou sur la mesure a posteriori des concentrations sanguines de médicaments (suivi pharmacocinétique) ou des composés endogènes de substitution ou des paramètres biologiques d'effet (suivi pharmacodynamique). »^[35]

Ainsi, l'objectif du STP est de réduire la très grande variabilité interindividuelle de la relation dose-concentration de ces médicaments et éviter ainsi les larges sous-expositions (à l'origine des échecs thérapeutiques) ou surexpositions (à l'origine des effets toxiques) au traitement.

Le STP d'un médicament est justifié si :

- sa relation concentration-effet pharmacologique est meilleure que sa relation dose-effet ;
- sa relation dose-concentration présente une grande variabilité inter-individuelle ;
- il présente une zone thérapeutique étroite ;
- sa réponse pharmacologique est difficilement accessible par une mesure de l'effet ;
- il présente des interactions médicamenteuses.

De plus, il est préférable que sa variabilité intra-individuelle à court terme soit faible ou modérée.

Le suivi thérapeutique pharmacologique des immunosuppresseurs en transplantation

Une immunosuppression optimale est indispensable au maintien d'un greffon viable. L'importante variabilité intra- et inter-individuelle de la pharmacocinétique des immunosuppresseurs et leur fourchette thérapeutique étroite représentent un challenge pour les cliniciens, qui doivent déterminer la meilleure stratégie immunosuppressive et la dose nécessaire pour chaque patient. Ainsi, la connaissance des caractéristiques pharmacocinétiques de ces médicaments et l'individualisation thérapeutique basée sur le STP sont essentiels pour améliorer le traitement.

Le STP des médicaments immunosuppresseurs est donc actuellement largement utilisé en transplantation d'organe, en raison de la relation entre l'exposition systémique et les effets cliniques, à la fois en termes d'efficacité et de toxicité.^[36] Il est d'ailleurs obligatoire pour la plupart des médicaments immunosuppresseurs (ciclosporine, tacrolimus, sirolimus, évérolimus).

Différentes techniques sont proposées. Pour la plupart des médicaments immunosuppresseurs, le STP et l'individualisation de la posologie sont basés sur le suivi de la

concentration résiduelle, C_0 . Pour la ciclosporine, l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps sur l'intervalle entre 2 administrations, ou AUC_{0-12h} (area under the curve over 12 hours), ainsi que l' AUC_{0-4h} (aire sous la courbe des concentrations dans les 4 heures suivant la prise du médicament), ont également été identifiés comme de bons, voire meilleurs, prédicteurs de l'effet clinique chez les patients transplantés rénaux.^[37,38] L'AUC de la molécule active représente le meilleur index d'exposition pour la plupart des médicaments, mais sa mesure peut nécessiter une dizaine de prélèvements, en l'absence de méthodes pharmacocinétiques, et notamment d'estimateurs Bayésiens, permettant son estimation sur la base d'un nombre réduit de prélèvements sanguins. Le STP de la ciclosporine basé sur la concentration 2 heures après la prise (C_2), a également été proposé, car il a été démontré une forte corrélation du C_2 avec l' AUC_{0-4h} ainsi qu'avec l'incidence des épisodes de rejet aigu, chez des patients transplantés rénaux et hépatiques.^[39,40] La plupart des études en transplantation rénale et hépatique suggèrent que le C_0 de tacrolimus est prédictif de son effet, c'est donc l'index d'exposition le plus utilisé pour le STP du tacrolimus.^[41,42] Toutefois, la dernière conférence de consensus sur le STP du tacrolimus a retenu l' AUC_{0-12h} comme le meilleur indicateur de l'exposition au tacrolimus en transplantation rénale et a proposé des valeurs cibles à atteindre chez le patient transplanté rénal.^[42] A l'opposé, le MMF est habituellement administré à dose fixe, possiblement ajustée ensuite sur la base de signes cliniques d'inefficacité ou de toxicité. Toutefois, des essais menés en transplantation rénale laissent penser que le STP du MMF basé sur la mesure de l'AUC devrait faire partie intégrante des pratiques cliniques standards, en particulier pendant la période post-transplantation précoce.^[43]

Principes de la pharmacocinétique de population

1. Généralités

Pour la majorité des médicaments, une même dose administrée chez deux individus donnés ou chez un même individu mais à deux moments donnés, ne conduit pas à des concentrations identiques. Ces observations sont dues aux variabilités pharmacocinétiques inter- et intra-individuelle, dont l'amplitude est variable d'une molécule à l'autre et d'un patient à l'autre.

Dans les études de pharmacocinétique traditionnelles, l'unité d'analyse est l'individu, et l'objectif des critères d'inclusion est de limiter les sources de variabilité. A l'opposé, la pharmacocinétique de population considère comme unité d'analyse une population particulière, c'est-à-dire un ensemble d'individus.^[44] L'objectif initial de la pharmacocinétique de population, introduite par Sheiner et col.,^[45] était de décrire la pharmacocinétique d'un médicament, d'identifier et de quantifier les sources de variabilité entre les individus. Cette méthode permet d'analyser globalement un ensemble d'individus, et peut être réalisée à partir d'un nombre limité de prélèvements par sujet, à la condition que l'ensemble des prélèvements décrive l'intégralité du profil des concentrations au cours du temps. Ceci permet ainsi d'étudier la pharmacocinétique d'un médicament dans des populations autrefois exclues des essais cliniques pour des raisons éthiques (enfants, personnes âgées, malades dans un état critique).

La pharmacocinétique de population permet de prendre en compte et d'estimer plusieurs sources de variabilité :

- la variabilité interindividuelle, c'est-à-dire entre les individus. Chaque individu est différent, ses paramètres pharmacocinétiques lui sont spécifiques, et différents de ceux de la population. Les sources de cette variabilité peuvent être démographiques, génétiques, physiopathologiques ou environnementales. Ces facteurs sont introduits dans les modèles de pharmacocinétique de population, et sont appelés covariables.
- la variabilité intraindividuelle, ou inter-occasion, c'est-à-dire au sein d'un même individu, à différentes périodes de son traitement.
- la variabilité résiduelle. Elle peut être due aux erreurs de mesures des concentrations, des temps de prélèvements, et à l'inadéquation du modèle pour décrire l'évolution des concentrations. Elle correspond à la part non expliquée par le modèle.

Les principales méthodes utilisées en pharmacocinétique de population reposent sur le principe du maximum de vraisemblance : la meilleure estimation des paramètres est celle rendant maximale la probabilité du résultat observé.

La méthode la plus souvent utilisée pour l'analyse des données de population est basée sur la modélisation d'effets mixtes, incluant des effets fixes et des effets aléatoires.^[46] Ainsi, dans les modèles de population, le modèle peut être décomposé en sous-modèles.

- **Le modèle à effets fixes.** Les effets fixes sont les propriétés observables (et prévisibles) des individus. Le modèle quantifie la relation entre un effet mesurable (tel que la fonction rénale, l'hématocrite, l'albuminémie, l'existence d'une pathologie) et les paramètres pharmacocinétiques (par exemple, la clairance du médicament). Il est composé des paramètres pharmacocinétiques, auxquels vont éventuellement s'ajouter l'effet de covariables. Le but d'intégrer des covariables au modèle structural est de mieux expliquer la variabilité, et de diminuer la variabilité résiduelle.
- **Le modèle à effets aléatoires.** C'est un modèle statistique qui décrit les effets qui ne peuvent pas être prédits à l'avance, c'est-à-dire la variabilité.
 - La variabilité inter-individuelle : elle représente la distribution de la déviation (exprimée par la variance et la covariance) de paramètres pharmacocinétiques individuels, par rapport à la moyenne de la population et à la façon dont les déviations sont corrélées entre elles.
 - La variabilité intra-individuelle : elle informe sur les modifications des paramètres pharmacocinétiques au cours du temps, dans les cas où une molécule est ré-administrée de façon séquentielle.
 - La variabilité résiduelle : elle correspond à la part de variabilité non expliquée par le modèle, et inclut les erreurs de mesure, des temps de recueil, et la déviation du modèle mathématique par rapport à la réalité. Elle permet de juger de la qualité d'un modèle pharmacocinétique.

2. Modèles non linéaires à effets mixtes : méthodologie NONMEM®

Le logiciel NONMEM® (NONlinear Mixed Effect Model^[47]) permet d'implémenter des modèles non linéaires à effets mixtes en pharmacocinétique. Ce programme utilise une approche de population dite « en une étape », qui permet d'estimer directement les paramètres moyens (et leur variabilité) dans une population d'individus, à partir de l'ensemble des concentrations observées.

Il permet donc d'estimer les différentes valeurs de paramètres pharmacocinétiques de population, les variabilités interindividuelles et intra-individuelles de chaque paramètre et l'erreur résiduelle, et d'évaluer l'ajustement entre les concentrations observées et les concentrations prédites.

La qualité de l'ajustement entre les concentrations prédites et les concentrations observées sur l'ensemble de la population est estimée par la valeur de la fonction objective (OFV), égale à $-2 \times \log(\text{vraisemblance})$. Elle permet également d'évaluer la justesse de l'estimation des paramètres pharmacocinétique par le modèle au sein de la population.

Classiquement, l'analyse de pharmacocinétique de population consiste à construire puis valider un modèle structural.

1. Construction du modèle structural.

La construction du modèle structural est classiquement décomposée en 3 étapes : choix du modèle structural de base, recherche des covariables pertinentes, élaboration du modèle final.

a. Choix du modèle structural de base.

Différents modèles compartimentaux peuvent être appliqués pour décrire l'absorption, la distribution et l'élimination des médicaments. Cette étape consiste donc à sélectionner le modèle pharmacocinétique permettant de décrire au mieux l'évolution des concentrations du médicament au cours du temps.

Cette étape inclut également la détermination du modèle statistique le mieux adapté à la description de chaque variabilité (inter- et intra-individuelle, résiduelle).

b. Recherche des covariables pertinentes.

Cette étape, classique en analyse multivariée, consiste en la détermination des facteurs individuels (covariables) qui influencent significativement un paramètre pharmacocinétique, et donc permettent d'expliquer une fraction significative de la variabilité inter- voire intra-individuelle du paramètre. La relation entre les paramètres pharmacocinétiques et ces covariables est décrite par une équation mathématique.

Les covariables sont d'abord testées individuellement sur chaque paramètre pharmacocinétique. Dans un second temps, toutes les covariables significatives en analyse univariée sont intégrées simultanément dans un modèle intermédiaire.

c. Sélection du modèle

Le choix du modèle se fait sur :

- des critères statistiques : OFV, précision d'estimation des paramètres, variabilité résiduelle.

Lorsque la même méthode d'estimation est utilisée (par exemple, la méthode FOCE – First Order Conditional Estimation), la comparaison de différents modèles emboîtés (ou hiérarchiques, c'est-à-dire ne différant que sur un seul paramètre, par exemple l'addition d'une covariable ou de la variabilité interindividuelle sur un paramètre pharmacocinétique) se base sur le test du rapport de vraisemblance ou likelihood ratio (LRT). On formule l'hypothèse selon laquelle il n'y a pas de différence entre les 2 modèles comparés. Sous cette hypothèse, la différence des fonctions objectives suit une loi du χ^2 à q degrés de liberté, q étant le nombre de paramètres estimés en plus dans le modèle complet par rapport au modèle réduit. La diminution significative de l'OFV témoigne d'un meilleur ajustement du modèle. Par exemple, une baisse de l'OFV > 10,83 met en évidence l'amélioration significative d'un modèle emboîté, pour un nombre de degrés de liberté = 1, $p < 0,001$.

La qualité de l'ajustement du modèle est également déterminée par une faible erreur résiduelle et une bonne précision de l'estimation des paramètres pharmacocinétiques.

- des critères graphiques :

- concentrations observées (DV) en fonction des concentrations prédites par le modèle (PRED) et en fonction des concentrations individuelles prédites par estimation Bayésienne (IPRED).
- résidus pondérés (WRES) ou résidus pondérés conditionnels (CWRES) en fonction du temps (TIME).
- distribution du biais en fonction des concentrations observées et/ou du temps.

d. Elaboration du modèle final

La pertinence de chaque covariable est vérifiée par délétion indépendante à partir du modèle intermédiaire. Une covariable n'est retenue dans le modèle final que si l'OFV augmente significativement (6,64 points, test du χ^2 , $p < 0,01$) lorsqu'elle est ôtée du modèle intermédiaire.

2. Validation du modèle.

La validation **interne** peut être réalisée :

- par Bootstrap : c'est une méthode de ré-échantillonnage aléatoire qui crée des populations virtuelles ayant des caractéristiques proches de la population de départ.
- par validation croisée : cette méthode consiste à partitionner la population de départ en n sous-groupes (dans la plupart des cas, $n = 4$ ou 10 : chaque sous-groupe rassemble alors 25 ou 10% des patients). Les paramètres de population sont estimés dans un ensemble de $n-1$ sous-groupes : les paramètres pharmacocinétiques individuels des patients du $n^{\text{ième}}$ groupe (c'est-à-dire, dont les données n'ont pas été prises en compte pour le calcul des paramètres de population) sont alors estimés par méthode Bayésienne, à partir de ces paramètres de populations. Le principe de permutation circulaire est appliqué, de façon à obtenir les paramètres individuels dans chacun des n sous-groupes.
- par la méthode des Visual Predictive Checks (VPC) : cette méthode consiste en la comparaison entre les concentrations observées et des intervalles de prédiction, et elle est basée sur la simulation de jeux d'observations sous le modèle, permettant la construction d'une « enveloppe » où devrait se trouver un pourcentage donné d'observations (classiquement, 90%).^[48] L'analyse des VPC ne repose pas toujours sur un test statistique formel, mais cette approche est très utile pour la visualisation des déficiences du modèle

La validation **externe** du modèle est basée sur l'estimation des concentrations et des paramètres pharmacocinétiques individuels par méthode Bayésienne, dans un groupe de patients indépendants, en utilisant le modèle de population comme information *a priori*.

3. Estimation Bayésienne

L'estimation Bayésienne est une méthode statistique basée sur l'expérience acquise dans une population. Elle permet de déterminer les paramètres pharmacocinétiques d'une molécule chez un patient donné, sans avoir besoin d'un nombre élevé de valeurs de concentrations, ce qui rend cette méthode appropriée à l'adaptation de posologie en pratique clinique. En effet, l'estimation d'un paramètre pharmacocinétique tel que la clairance apparente chez un patient donné, à partir d'un nombre limité de valeurs de concentrations, permet d'en déduire l'exposition, grâce à la relation suivante :

$$AUC = \frac{D}{CL/F}$$

où AUC représente l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps (h.mg/L), c'est-à-dire l'exposition du patient, D représente la dose administrée au patient (mg), et CL/F représente la clairance apparente du médicament chez ce patient (L/h).

Pour les médicaments présentant une pharmacocinétique linéaire (relation linéaire entre la dose administrée et l'exposition), une posologie individualisée, permettant d'atteindre l'exposition cible peut ainsi être calculée et proposée au clinicien.

La méthode Bayésienne conjugue une information de groupe (information *a priori* provenant de la population) et des informations individuelles (concentrations) apportées par l'expérience. L'information de groupe peut provenir soit d'un modèle pharmacocinétique de population, soit d'une étude pharmacocinétique en deux étapes (IT2B : iterative 2-stage Bayesian approach). Seules des analyses de pharmacocinétique de population sont présentées dans ce travail. La méthode IT2B ne sera donc pas développée ici.

Objectifs

Dans ce document, nous dresserons tout d'abord un exposé de l'état de l'art sur la pharmacocinétique et le STP des immunosuppresseurs en transplantation thoracique (cardiaque et pulmonaire). Dans une deuxième partie, nous présenterons brièvement l'étude Stimmugrep, sur laquelle se sont appuyés les travaux réalisés en pharmacocinétique, et la mise au point d'outils dédiés au STP du tacrolimus et du MMF en transplantation pulmonaire, exposés ensuite dans une troisième partie. Dans une quatrième partie, nous présenterons les recommandations établies lors d'une conférence de consensus pour l'élaboration de critères de jugement utilisables dans les essais cliniques sur les immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. La cinquième partie de ce document présentera brièvement une étude « preuve de concept » sur l'apport du STP du tacrolimus et du MMF en transplantation pulmonaire. Enfin, la dernière partie sera une discussion globale dans laquelle nous mettrons en perspective nos résultats avec les connaissances actuelles, et aborderons les thèmes qui devront être approfondis dans ce domaine.

1 Etat de l'art concernant la pharmacocinétique et le STP des immunosuppresseurs en transplantation thoracique

La prise en charge du patient transplanté pulmonaire présente des particularités lorsqu'on la compare aux autres types de greffe. Tout d'abord, les posologies d'immunosuppresseurs nécessaires en transplantation pulmonaire, en particulier pendant la phase de maintenance, sont plus élevées qu'en transplantation cardiaque, hépatique ou rénale, en raison de la forte immunogénicité du tissu pulmonaire. Ces fortes posologies représentent pour ces patients un risque plus élevé de toxicité liée aux immunosuppresseurs. Par ailleurs, en raison des particularités pharmacocinétiques potentielles observées chez ces patients, il est vraisemblable que la pharmacocinétique des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire soit différente de celle observée dans les autres types de greffe. Par exemple, les patients transplantés pulmonaires souffrent fréquemment de gastroparésie, liée soit à leur pathologie initiale (mucoviscidose), soit à l'intervention chirurgicale. La gastroparésie peut avoir un impact sur l'absorption des médicaments et modifier les profils pharmacocinétiques des immunosuppresseurs.^[49,50] Ces particularités justifient l'étude spécifique de la pharmacocinétique des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. D'une façon plus générale, la population de patients transplantés pulmonaires est très hétérogène, du fait de la diversité des indications de la greffe. Ceci est en faveur de l'individualisation thérapeutique et de l'ajustement de la posologie. Enfin, un STP rapproché des patients transplantés pulmonaires semble justifié, du fait de la forte mortalité dans cette population.

Une revue de la littérature sur la pharmacocinétique et le STP des principaux immunosuppresseurs en transplantation thoracique (cardiaque et pulmonaire) a donc été réalisée dans le but d'identifier les domaines devant être étudiés dans les futurs travaux de pharmacocinétique et de STP dans cette indication, afin d'améliorer les performances de ce type de transplantation et la survie des patients.

Cette revue de littérature a été publiée en 2 parties dans le journal *Clinical Pharmacokinetics*.

1.1 Pharmacocinétique et STP des anti-calcineurines en transplantation thoracique

Monchaud C, Marquet P. Pharmacokinetic optimization of immunosuppressive therapy in thoracic transplantation: part I. Clin Pharmacokinet. 2009;48(7):419-62.

1.2 Pharmacocinétique et STP du MMF et des inhibiteurs de la mTOR en transplantation thoracique

Monchaud C, Marquet P. Pharmacokinetic optimization of immunosuppressive therapy in thoracic transplantation: part II. Clin Pharmacokinet. 2009;48(8):489-516.

2 Etude Stimmugrep

Le travail réalisé sur la pharmacocinétique du tacrolimus et du mycophénolate mofétil, et présenté dans la troisième partie de cette thèse, s'est appuyé sur l'étude Stimmugrep :

« Étude clinique multicentrique, ouverte, de mise au point de modèles pharmacocinétiques de population pour l'optimisation individuelle de posologie simultanée, par méthode Bayésienne, de l'ensemble du traitement immunosuppresseur (ciclosporine, tacrolimus, mycophénolate mofétil, sirolimus, évérolimus) au cours des douze premiers mois suivant une greffe pulmonaire. »

Cette étude a été promue par le Centre Hospitalier Universitaire de Limoges. Avant de débiter, elle avait reçu un avis favorable du Comité de Protection des Personnes se Prêtant à des Recherches Biomédicales (CCPPRB) du Limousin, et avait été approuvée par le Comité d'Éthique de l'hôpital Erasme (Bruxelles, Belgique).

Au total, 121 patients ont été inclus et suivis un an, dans 6 centres en France et en Belgique, sur une période de 3 ans (1er trimestre 2004 jusqu'au quatrième trimestre 2006).

2.1 Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude était d'établir et valider des modèles pharmacocinétiques de population et des estimateurs Bayésiens utilisant un nombre limité de prélèvements, pour la ciclosporine, le tacrolimus, le mycophénolate, le sirolimus et l'évérolimus chez des patients venant de recevoir une greffe pulmonaire ou cœur-poumon, atteints ou non de mucoviscidose, permettant de décrire l'évolution de la pharmacocinétique de ces médicaments au cours de la première année post-transplantation.

Les objectifs secondaires de l'étude Stimmugrep étaient les suivants : (i) rechercher des facteurs physiopathologiques prédictifs des caractéristiques pharmacocinétiques individuelles (statut vis-à-vis de la mucoviscidose, âge, surface corporelle, dose d'enzymes pancréatiques, etc.) ; (ii) établir une meilleure définition des relations AUC – effet de ces différents immunosuppresseurs chez les patients greffés pulmonaires, grâce au recueil de données cliniques (contemporaines et postérieures au recueil des prélèvements biologiques) et à leur confrontation aux données pharmacocinétiques.

2.2 Critères d'inclusion et de non-inclusion

Les patients inclus étaient des hommes, des femmes et des enfants âgés d'au moins 10 ans, atteints ou non de mucoviscidose, qui devaient bénéficier d'une greffe pulmonaire ou cœur-poumon dans les jours suivant l'inclusion, ou en avoir bénéficié moins de trois mois avant la date d'inclusion. Tous les patients inclus devaient être traités par au moins l'un des médicaments étudiés (ciclosporine, tacrolimus, MMF, sirolimus, évérolimus). Ils étaient autorisés à participer à un autre protocole de recherche clinique, en particulier dans un protocole thérapeutique (ex. comparaison d'associations médicamenteuses ou prescription hors AMM d'un immunosuppresseur récent). Enfin, les patients ne pouvaient être inclus que s'ils avaient donné un consentement éclairé par écrit pour participer à l'étude. Pour les patients mineurs, le consentement de participation à l'étude devait être signé des deux parents.

Par ailleurs, les patients ne pouvaient pas être inclus dans l'étude s'ils avaient bénéficié d'une re-transplantation pulmonaire ou cœur-poumon ou d'une greffe d'organe antérieure, s'ils souffraient de problèmes neuro-psychiques ne permettant pas une bonne compréhension du protocole ou un consentement fiable, s'ils présentaient une anémie sévère, inférieure à 6 g/dL, ne permettant pas des prélèvements sanguins multiples, ou s'ils ne pouvaient pas participer à au moins 2 périodes de prélèvement au cours de l'étude.

2.3 Modalités d'administration des traitements

Pour les études pharmacocinétiques du tacrolimus et du MMF, les médicaments étudiés étaient administrés à jeun, à 8h du matin et les prélèvements sanguins s'étendaient de 7h55 à 16h ou 20h (selon le nombre d'administrations quotidiennes et le type de séjour du patient).

Un petit déjeuner de type « européen » était proposé dans l'heure suivant l'administration, et les autres repas étaient libres. Conformément aux habitudes de prescription, chez les patients atteints de mucoviscidose, des enzymes pancréatiques étaient administrées au moment de chaque repas, à des doses variables d'un patient à l'autre et dépendant du type de repas. De plus, une gélule d'enzymes pancréatiques était systématiquement administrée en même temps que la prise de tacrolimus, molécule très lipophile et en suspension dans des excipients lipophiles, mais pas pour le MMF. Dans tous

les cas, toutes les doses administrées et heures d'administration réelles dans la journée de chaque cinétique devaient être notées dans le cahier d'observation.

2.4 Modalités de prélèvements

Les prélèvements sanguins étaient effectués dans des tubes en verre de 5 mL contenant de l'EDTA, par les infirmières des services investigateurs, juste avant l'administration matinale de tout médicament (C_0) puis 20, 40, 60, 90 minutes (± 5 min), 2, 3, 4, 6 et 8 heures (± 10 min) après cette administration. Lors des périodes d'hospitalisation et pour les modalités thérapeutiques faisant appel à deux administrations quotidiennes, un prélèvement supplémentaire était effectué 12 heures après l'administration (et avant l'administration suivante). Les horaires réels d'administration des médicaments de l'étude et de réalisation des prélèvements étaient notés sur le cahier clinique et sur les étiquettes collées sur les tubes de prélèvement.

Pour chaque patient, un prélèvement supplémentaire de 5 mL de sang total sur EDTA a été recueilli pour l'analyse pharmacogénétique.

2.5 Modalités de réalisation des dosages

Les dosages de tacrolimus ont été réalisés : (i) dans les laboratoires des centres investigateurs, en utilisant la méthode analytique locale ; ces laboratoires devaient participer au contrôle de qualité international du dosage de cette molécule (Tacrolimus Proficiency Testing Scheme, Analytical Services Limited, Londres), et (ii) dans le service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance du CHU de Limoges, chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

Les dosages de mycophénolate ont été centralisés dans le service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance du CHU de Limoges et dosés par une méthode LC-MS/MS.

Les géotypages ont également été centralisés dans ce service.

3 Modélisation pharmacocinétique et développement d'estimateurs Bayésiens en transplantation pulmonaire

La troisième partie de ce travail, qui s'est appuyé sur l'étude Stimmugrep, a consisté à modéliser la pharmacocinétique du tacrolimus et du mycophénolate mofétil, et à développer et valider des estimateurs Bayésiens pour ces molécules, afin de mettre en place des outils d'adaptation de posologie et de les mettre à la disposition des cliniciens, à travers le système expert ABIS développé par l'UMR-S850 INSERM et accessible via une interface web (<https://pharmaco.chu-limoges.fr>).

Les principales caractéristiques de la population incluse dans ce travail, issue de l'étude Stimmugrep, sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques de la population incluse dans le travail de thèse

	Données tacrolimus	Données mycophénolate
Nombre de patients (avec/sans mucoviscidose)	38/40	14/26
Sexe (F/H)	38/40	16/24
Age (années) ⁽¹⁾	40,3±14,2	43,1±13,9
Poids (kg) ⁽¹⁾	56,3±13,1	56,7±11,9
Nombre de profils pharmacocinétiques	178	95
J7-J14	24	15
M1	37	21
M3	52	30
M12	69	29
Posologie (mg/prise) ⁽²⁾		
J7-J14	2,25 (0,5 – 11)	1000 (1000 – 1500)
M1	3 (1 – 9,5)	1000 (500 – 1500)
M3	3,5 (0,5 – 10)	750 (250 – 1500)
M12	4 (0,5 – 12)	500 (250 – 1500)
AUC _{0-12h} trapèzes (h.mg/L) ⁽²⁾		
J7-J14	0,148 (0,070 – 0,318) AUC<150 : n = 13 (56%)	20,6 (6,4 – 77,2) AUC<30 : n = 12 (80%)
M1	0,152 (0,053 – 0,274) AUC<150 : n = 14 (39%)	18,8 (6,8 – 58,2) AUC<30 : n = 14 (67%)
M3	0,148 (0,090 – 0,304) AUC<120 : n = 13 (25%)	25,7 (4,7 – 79,5) AUC<30 : n = 19 (63%)
M12	0,143 (0,058 – 0,336) AUC<120 : n = 24 (36%)	28,9 (2,3 – 66,5) AUC<30 : n = 15 (52%)

(1) Moyenne ± Ecart type

(2) Médiane (min – max)

3.1 Modélisation pharmacocinétique et développement d'estimateurs Bayésiens pour le tacrolimus (Prograf®)

Malgré sa large utilisation dans les stratégies d'entretien après transplantation pulmonaire, peu de données sont disponibles sur la pharmacocinétique du tacrolimus dans cette population. La majorité des données sur la pharmacocinétique de cette molécule est issue d'essais ou d'observations dans d'autres types de transplantation d'organe, en particulier en greffe rénale.

Le tacrolimus présente une zone thérapeutique étroite entre efficacité et néphrotoxicité et des variabilités inter-individuelles importantes, que ce soit en termes de biodisponibilité ou de métabolisme. Il est substrat du cytochrome P450 (CYP), en particulier l'isoforme CYP3A5, et de la P-glycoprotéine (P-gp) ; il a été montré que certains polymorphismes des gènes de ces protéines influençaient leur expression ou leur activité et par ce biais modifiaient le profil pharmacocinétique du tacrolimus.^[51] Cependant, toutes les études portant sur ce sujet n'ont pas retrouvé de telles corrélations.^[52,53]

Le STP du tacrolimus est obligatoire et constitue un outil majeur pour la prise en charge des patients transplantés. Actuellement, le C_0 est l'indice d'exposition le plus couramment utilisé pour le STP du tacrolimus. Toutefois, l'indice d'exposition reflétant le mieux l'exposition globale au tacrolimus est l' AUC_{0-12h} . Aussi, bien que la relation entre exposition et effet n'ait pas encore été précisément explorée pour cette molécule, la dernière conférence de consensus a préconisé que le STP du tacrolimus en transplantation rénale soit basé sur le suivi de l' AUC_{0-12h} .^[42] Le STP du tacrolimus pourrait contribuer à l'amélioration de la survie des patients transplantés pulmonaires, en minimisant à la fois le risque de rejet et l'incidence des infections. En transplantation thoracique, une corrélation souvent considérée comme correcte entre C_0 et AUC ($r^2=0,5$ à $0,8$) a été rapportée,^[54,55] si bien que dans la plupart des situations, seul le C_0 est pris en compte pour l'adaptation de posologie. Cependant, plusieurs auteurs rapportent des cas de néphrotoxicité ou de rejet malgré des C_0 conformes aux valeurs cibles ; certaines études en transplantation rénale n'ont même retrouvé aucune association statistique entre les C_0 et l'incidence du rejet aigu.^[56,57] Les concentrations mesurées à d'autres horaires de prélèvement (3 heures : C_3 , 4 heures : C_4 ou 6 heures : C_6) seraient en effet mieux corrélées à l'AUC que le C_0 , sans qu'aucune d'entre elles n'ait été validée cliniquement.^[58-61]

Faute de recommandations consensuelles concernant les cibles thérapeutiques pour le C_0 du tacrolimus en transplantation pulmonaire, on peut citer celles recommandées en transplantation cardiaque,^[42,62] c'est-à-dire 15-20 $\mu\text{g/L}$ jusqu'à 60 jours (J60) post-greffe, 10-15 $\mu\text{g/L}$ de J60 à J180, et 5-10 $\mu\text{g/L}$ au-delà de 6 mois.

Des modèles pharmacocinétiques avec estimateurs Bayésiens dédiés à l'estimation de l' $\text{AUC}_{0-12\text{h}}$ du tacrolimus à partir d'un nombre limité de prélèvements sanguins ont été développés par l'UMR-S850 INSERM, pour les patients greffés pulmonaires, atteints ou non de mucoviscidose, pendant la période post-greffe stable dans un premier temps.^[63] En dehors de différences notables entre les deux populations, cette étude a montré une importante variabilité intra-individuelle de la cinétique à court terme (une semaine). Notamment, la variabilité des valeurs de C_0 était significativement plus importante que celle de l' AUC , que les patients soient atteints ou non de mucoviscidose.

Au total, une meilleure connaissance de la pharmacocinétique du tacrolimus chez les patients transplantés pulmonaires et la mise au point d'outils dédiés à son STP pourraient participer à l'amélioration de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires.

Notre objectif était donc de caractériser la pharmacocinétique de population du tacrolimus chez des patients transplantés pulmonaires, et d'étudier l'influence de covariables biologiques, cliniques et pharmacogénétiques sur la pharmacocinétique du tacrolimus. Dans un second temps, nous avons développé un estimateur Bayésien dédié au calcul de l' $\text{AUC}_{0-12\text{h}}$, pour le STP du tacrolimus en transplantation pulmonaire. Ce travail a été soumis pour publication dans la revue *Clinical Pharmacokinetics* :

Monchaud C, de Winter BC, Knoop C, Estenne M, Reynaud-Gaubert M, Pison C, Stern M, Kessler R, Dromer D, Guillemain R, Marquet P, Rousseau A. Population pharmacokinetic/pharmacogenetic modeling and design of a Bayesian estimator for the therapeutic drug monitoring of tacrolimus in lung transplantation. (Article re-soumis à Clin Pharmacokinet le 29 juin 2011 après révision)

Dans ce travail, un modèle de pharmacocinétique de population a été développé selon la méthode des modèles non linéaires à effets mixtes du logiciel NonMEM[®] (version VI). Ce modèle s'est basé sur 182 profils pharmacocinétiques complets, collectés au cours de la première année post-greffe, chez 78 patients qui ont participé à l'étude Stimmugrep. Le

génotype des patients pour la mutation *CYP3A5 A6986G* a été caractérisé par discrimination allélique, en utilisant la méthode Taqman.

Les patients ont été séparés en un groupe index (n = 115 profils pharmacocinétiques) et un groupe de validation (n = 67 profils pharmacocinétiques). Un estimateur Bayésien, permettant le calcul de l' AUC_{0-12h} de tacrolimus à partir d'un nombre limité d'échantillons, a été développé à partir du modèle pharmacocinétique final et des profils du groupe index. La performance de l'estimateur Bayésien a été évaluée dans le groupe de validation, en comparant l' AUC_{0-12h} ainsi estimée et l' AUC_{0-12h} calculée par la méthode des trapèzes.

Le modèle pharmacocinétique retenu était un modèle bi-compartimental, avec description de la vitesse d'absorption selon une densité de probabilité suivant la loi d'Erlang et élimination par un processus d'ordre 1. Les covariables finalement retenues dans ce modèle étaient la mucoviscidose et le polymorphisme du *CYP3A5*.

Ce travail a permis de montrer, de manière similaire à ce qui avait été précédemment décrit dans la littérature,^[64-66] que la clairance apparente du tacrolimus était en moyenne 40% supérieure chez les patients expresseurs du *CYP3A5* que chez les patients non expresseurs (24,5 vs. 17,5 L/h). Par ailleurs, nous avons pu observer une modification de l'absorption du tacrolimus chez les patients atteints de mucoviscidose, avec une biodisponibilité réduite d'environ 40% et une constante d'absorption divisée par 2 (soit, un allongement du temps d'absorption) par rapport aux patients ne présentant pas cette pathologie (3,32 vs. 7,06 h⁻¹).

L'estimateur Bayésien développé avec le modèle pharmacocinétique final et des concentrations mesurées à 40 minutes, 2 et 4 heures post-dose était caractérisé par de bonnes performances : le biais entre l' AUC_{0-12h} estimée par méthode Bayésienne et l' AUC_{0-12h} calculée par la méthode des trapèzes était en moyenne de 0,9% (IC95% = -1,4 ; +3,7%), et supérieur à 20% dans seulement 1,8% des cas (1/66). L'imprécision était, quant à elle, égale à 9,8%.

Cette analyse de pharmacocinétique de population suggère donc que la pharmacocinétique du tacrolimus chez les patients atteints de mucoviscidose soit caractérisée par une absorption plus lente et une biodisponibilité plus faible que chez les autres patients transplantés pulmonaires. Ainsi, avant tout STP, des doses plus élevées de tacrolimus

semblent justifiées pour les patients atteints de mucoviscidose, afin d'atteindre des niveaux d'expositions équivalents aux patients transplantés pour d'autres indications.

Par ailleurs, l'estimateur Bayésien développé dans cette étude permet une estimation robuste de l'exposition des patients au tacrolimus transplantés pulmonaires, atteints ou non de mucoviscidose, au cours de la première année post-transplantation. Cet outil de STP peut donc être utilisé dans le cadre d'essais cliniques de STP du tacrolimus en transplantation pulmonaire, et devrait aider les cliniciens pour l'individualisation de la posologie du tacrolimus basée sur l' AUC_{0-12h} .

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Population pharmacokinetic modeling and design of a Bayesian estimator for the therapeutic drug monitoring of tacrolimus in lung transplantation

C. Monchaud^(1,2), B.C. de Winter⁽¹⁾, C. Knoop⁽³⁾, M. Estenne⁽³⁾, M. Reynaud-Gaubert⁽⁴⁾, C.
Pison⁽⁵⁾, M. Stern⁽⁶⁾, R. Kessler⁽⁷⁾, R. Guillemain⁽⁸⁾, P. Marquet^(1,2), A. Rousseau⁽¹⁾.

¹ INSERM UMR-S850, CHU Limoges, Université de Limoges, France

² Service de Pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance, CHU Limoges, France

³ Service de Pneumologie, Hôpital Universitaire Erasme, Université Libre de Bruxelles,
Bruxelles, Belgique

⁴ Service de Pneumologie, CHU Nord, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée
Aix-Marseille, Marseille, France

⁵ Clinique de Pneumologie, CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier, INSERM 884,
Grenoble, France

⁶ Service de Pneumologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

⁷ Service de Pneumologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

⁸ Service de Chirurgie cardiovasculaire, Pôle Cardio-thoracique, AP-HP, HEGP, Paris, France

Running title: Tacrolimus pharmacokinetics in lung transplantation

Word count: 3974

Acknowledgements

The Stimmugrep trial was sponsored by the Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation, Limoges University Hospital and co-funded by PHRC régional, Vaincre la Mucoviscidose and Agence de la Biomédecine, France.

Pierre Marquet is a consultant for Roche Pharma France and has received honoraria and research grants from Roche Pharma and Novartis. The other authors have no conflicts of interest that are directly relevant to the content of this study.

We gratefully thank Hélène Roussel, Fabrice Béavogui, François-Ludovic Sauvage and Jérôme Lacouture for their excellent technical assistance.

Name and address for correspondence

Prof Annick Rousseau

INSERM UMR-S850

Faculty of Medicine, University of Limoges

2 rue du Dr Marcland

87025, Limoges Cedex

FRANCE

Tel: +33.555.43.58.86. Fax: +33.555.43.59.36.

E-mail: annick.rousseau@unilim.fr

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Abstract

Background: Therapeutic drug monitoring of tacrolimus is a major support to patient management and could help improve the outcome of lung transplant recipients, by minimizing the risk of rejections and infections. However, despite the wide use of tacrolimus as part of maintenance immunosuppressive regimens after lung transplantation, little is known about its pharmacokinetics in this population. A better knowledge of the pharmacokinetics of tacrolimus in lung transplant recipients, and the development of tools dedicated to its therapeutic drug monitoring, could thus help improve their outcome.

Objectives: (i) to characterize the population pharmacokinetics of tacrolimus in lung transplant recipients, including the influence of biological and pharmacogenetic covariates; (ii) to develop a Bayesian estimator of tacrolimus AUC_{0-12h} for its therapeutic drug monitoring in lung transplant recipients.

Methods: A population pharmacokinetic model was developed by nonlinear mixed-effects modeling using NONMEM[®] version VI, from 182 tacrolimus full concentration time profiles collected in 78 lung transplant recipients within the first year post-transplantation. Patients' genotype for the *CYP3A5* A6986G SNP was characterized by TaqMan allelic discrimination. Patients were divided into an index (n=125 profiles) and a validation (n=57 profiles) dataset. A Bayesian estimator was derived from the final model using the index dataset, in order to determine the tacrolimus AUC_{0-12h} based on a limited number of samples. The predictive performance of the Bayesian estimator was evaluated in the validation dataset by comparing the estimated AUC_{0-12h} with the trapezoidal AUC_{0-12h} .

Results: Tacrolimus pharmacokinetics was described using a 2-compartment model with Erlang absorption and first order elimination. The model included cystic fibrosis and *CYP3A5* polymorphism as covariates. The relative bioavailability of patients with CF was

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

approximately equal to 60% of the relative bioavailability observed in patients without CF, and the transfer rate constant between the transit compartments was twice smaller in patients with than without cystic fibrosis (3.32 vs. 7.06 h⁻¹). The apparent clearance was 40% higher in CYP3A5 expressers than in non-expressers (24.5 vs. 17.5 L/h). A good predictive performance was obtained with the Bayesian estimator developed using the final model and concentrations measured at 40 min, 2, and 4h post-dose, as shown by the mean bias (1.1%, 95%CI: -1.4 to 3.7%) and imprecision (9.8%) between the estimated and the trapezoidal AUC_{0-12h}. The bias was >20% in 1.8% of cases.

Conclusion: Population pharmacokinetic analysis showed that lung transplant patients with cystic fibrosis displayed a lower bioavailability and a smaller transfer rate constant between transit compartments than those without, while the apparent clearance was higher in CYP3A5 expressers than in non-expressers. The Bayesian estimator developed in this study provides an accurate prediction of tacrolimus exposure in lung transplant patients, with and without cystic fibrosis, throughout the first year post-transplantation. This tool may allow routine tacrolimus dose individualization, and may be used to conduct clinical trials on therapeutic drug monitoring of tacrolimus after lung transplantation.

3.2 Modélisation pharmacocinétique et développement d'estimateurs Bayésiens pour le mycophénolate mofétil (CellCept®)

Comme pour les anticalcineurines, la pharmacocinétique du MMF est complexe,^[20] avec une importante variabilité intra- et interindividuelle. La plupart des études ont été menées chez des patients transplantés rénaux, et peu de données sont disponibles sur la pharmacocinétique du MPA en transplantation pulmonaire.^[21,28] Or, le poumon n'étant pas impliqué dans l'élimination du mycophénolate, et la modification de la fonction pulmonaire n'ayant *a priori* pas d'influence sur les concentrations plasmatiques de MPA, contrairement à celle de la fonction rénale,^[21,28] l'expérience acquise en transplantation rénale ne peut pas être appliquée directement aux patients transplantés pulmonaires.

Une étude de la pharmacocinétique du MPA en transplantation pulmonaire est d'autant plus nécessaire que, dans les études antérieures menées par notre équipe sur la ciclosporine et le tacrolimus comme dans l'étude Stimmugrep (cf. chapitre 3.1), des différences de comportement pharmacocinétique des patients atteints de mucoviscidose par rapport aux patients n'en souffrant pas, ont été mises en évidence, notamment au niveau de l'absorption et de la clairance. En effet, les patients souffrant de mucoviscidose présentent des troubles gastro-intestinaux et pancréatiques chroniques, à l'origine d'une diminution de l'absorption des médicaments. Par ailleurs, une hypoalbuminémie est fréquemment observée chez ces patients.^[67] La diminution de l'albuminémie n'a pas été rapportée comme ayant un impact sur la forme libre de MPA, mais elle pourrait être à l'origine d'une augmentation de la clairance apparente du MPA total, résultant potentiellement en une diminution de l'exposition globale au MPA.^[68] Ainsi, les patients transplantés pulmonaires, en particulier atteints de mucoviscidose, présentent un risque augmenté de sous-immunosuppression et d'échec thérapeutique. Des doses plus élevées de MMF pourraient donc être justifiées dans cette population.^[69]

Contrairement aux autres médicaments immunosuppresseurs, le STP du MMF n'est pas obligatoire. Pourtant, à l'échelle d'une population, des concentrations résiduelles et des AUC variant de 1 à 10 selon les individus peuvent être observées pour une même dose et se traduire chez un certain nombre de patients par une inefficacité clinique (épisodes de rejet aigu du greffon), tandis que chez d'autres elles entraînent des effets indésirables

potentiellement graves (troubles digestifs, infections opportunistes bactériennes ou virales, leucopénies), pouvant conduire à des problèmes d'observance du traitement par le patient, à une réduction des doses ou à l'arrêt du traitement par le clinicien.^[17-19] A titre d'illustration, des arrêts de traitement à 3 ans, pour effets secondaires, ont été rapportés chez 21 % à 36% des patients transplantés rénaux inclus dans les études menées pour l'obtention de l'AMM, aux Etats-Unis^[70] et en Europe.^[71] Ce taux d'abandon serait encore plus important en transplantation pulmonaire, où les doses administrées (sans adaptation de posologie) sont plus fortes : dans une étude prospective comparant MMF et azathioprine en transplantation pulmonaire, 46,5% des patients du bras MMF ont abandonné le traitement au cours des trois ans de suivi (contre 59,5% dans le bras azathioprine).^[7] Or, toute diminution de posologie ou arrêt du MMF sont des facteurs de risque potentiels d'inefficacité clinique.

L'efficacité thérapeutique et la survenue d'effets indésirables sont influencées par l'exposition au MPA, exprimée par son AUC. Une relation linéaire entre la dose et l'AUC a été rapportée chez les transplantés rénaux. Toutefois, la variabilité inter-individuelle de cette relation est élevée,^[72] si bien que la relation AUC – effets (thérapeutiques et indésirables) est *a priori* plus fiable que la relation dose – effets.

En transplantation, rénale, il a été montré qu'à dose identique, l'exposition du patient au MPA (exprimée par son C_{max} et son AUC) était variable au cours du temps. Schématiquement, le rapport AUC/Dose est très faible lors des premiers jours de traitement puis augmente progressivement pour atteindre l'état stable après plusieurs semaines (généralement au troisième mois), avec là encore des différences très importantes entre les individus.^[22,73-78] L'origine de cette évolution n'est pas clairement établie, mais l'augmentation de l'exposition au MPA pourrait s'expliquer par une diminution de sa clairance avec le temps, liée d'une part à une augmentation de sa fixation protéique, due notamment à la reprise de la fonction rénale et à l'augmentation des concentrations plasmatiques d'albumine,^[75,78] d'autre part à la modifications d'interactions pharmacocinétiques avec les corticoïdes et la ciclosporine. Dans l'étude Stimmugrep, nous avons pu observer cette augmentation du rapport AUC/Dose au cours de la première année post-greffe (figure 2). Ces éléments plaident donc en faveur d'une adaptation de posologie fréquente (hebdomadaire le premier mois, puis mensuelle jusqu'à la fin de la première année) pour chaque malade en début de traitement, basée le suivi de l'AUC.

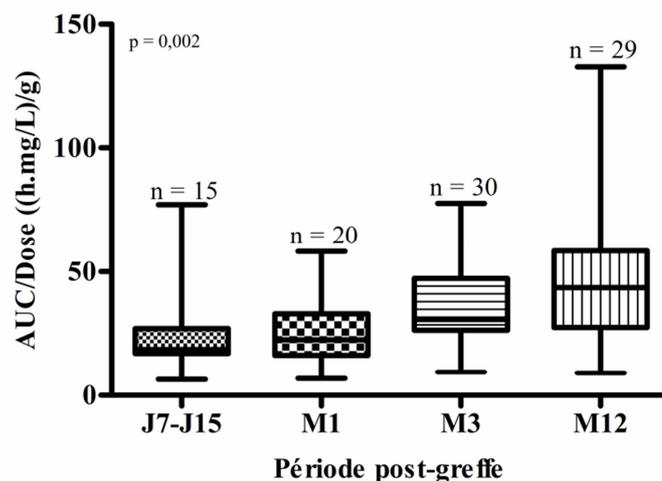


Figure 2. Evolution du rapport AUC/Dose au cours de la première année post-greffe, chez les patients inclus dans l'étude Stimmugrep.

Des stratégies d'échantillonnage limité pour le MMF en transplantation pulmonaire ont été proposées par Ting et col.^[79] Toutefois, ces stratégies ont été développées dans une petite population (19 patients), sont basées sur des équations de régression linéaire multiple, et ne prennent en compte aucune covariable, telles que le traitement associé ou la mucoviscidose. Un estimateur Bayésien permettant de déterminer l'AUC à l'aide d'un nombre limité de prélèvements, prenant en compte l'influence de covariables, et permettant plus de flexibilité sur le respect des temps de prélèvements, serait préférable.^[80] Avant la mise en place de l'étude Stimmugrep, aucun estimateur Bayésien n'avait été développé et n'était disponible pour le MPA en transplantation pulmonaire.

Au total, une meilleure connaissance de la pharmacocinétique du MPA chez les patients transplantés pulmonaires et la mise au point d'outils dédiés à son STP pourrait participer à l'amélioration de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires.

Avec l'aide de Brenda de Winter, post-doctorante dans l'unité, nous avons donc caractérisé la pharmacocinétique du MPA, par méthode pharmacocinétique de population, chez des patients transplantés pulmonaires et rénaux, avec comme objectif de déterminer les différences entre ces deux populations. Dans un second temps, nous avons développé un estimateur Bayésien dédié au calcul de l'AUC, pour le STP du MPA en transplantation pulmonaire. Ce travail a été accepté dans la revue *Clinical Pharmacokinetics*.

de Winter BC, Monchaud C, Prémaud A, Pison C, Kessler R, Reynaud-Gaubert M, Dromer C, Stern M, Guillemain R, Knoop C, Estenne M, Marquet P, Rousseau A. Bayesian estimation of mycophenolate mofetil in lung transplantation using a population pharmacokinetic model developed in kidney and lung transplant recipients.

Un modèle de pharmacocinétique de population a été développé par la méthode des modèles non linéaires à effets mixtes et en utilisant le logiciel NonMEM[®], version VI. Ce modèle s'est basé sur 460 profils pharmacocinétiques complets, recueillis au cours de l'étude Stimmugrep (41 patients transplantés pulmonaires traités par MMF et suivis pendant la première année post-greffe) et de 6 essais cliniques en transplantation rénale (116 patients transplantés rénaux traités par MMF et suivis, selon les études, de 1 mois à 1 an après la greffe).

Les patients ont été séparés en un groupe index (363 profils pharmacocinétiques collectés chez 116 patients transplantés rénaux et 61 profils pharmacocinétiques collectés chez 27 patients transplantés pulmonaires) et un groupe de validation (35 profils pharmacocinétiques collectés chez 14 patients transplantés pulmonaires). Un estimateur Bayésien, permettant le calcul de l'AUC_{0-12h} de MPA à partir d'un nombre limité d'échantillons, a été développé à partir du modèle pharmacocinétique final et des profils du groupe index. La performance de l'estimateur Bayésien a été évaluée dans le groupe de validation, en comparant l'AUC_{0-12h} ainsi estimée et l'AUC_{0-12h} calculée par la méthode des trapèzes. L'évaluation de la performance de l'estimateur Bayésien s'est également appuyée sur le calcul du biais entre les recommandations de dose basées sur les AUC_{0-12h} calculées par estimation Bayésienne et par la méthode des trapèzes, en prenant une AUC_{0-12h} cible de 45 h.mg/L. Le calcul de la dose nécessaire pour atteindre cette cible était basé sur la formule suivante :

$$\frac{Dose_{nouvelle}}{45} = \frac{Dose_{initiale}}{AUC_{mesurée}}$$

La dose ainsi calculée était arrondie au multiple de 250 mg le plus proche (correspondant au plus petit dosage de MMF disponible sur le marché). Une modification maximale correspondant à 3 fois la dose initiale et une dose maximale de 4 g/jour étaient acceptées.

Le modèle pharmacocinétique retenu était un modèle bi-compartimental, associé à une absorption d'ordre 1 avec temps de latence, et une élimination d'ordre 1. Les covariables incluses dans ce modèle étaient le type de transplantation (rénale ou pulmonaire), l'anticalcineurine associé (ciclosporine ou tacrolimus), le délai post-greffe (antérieur ou postérieur à J14), et la mucoviscidose.

Ce travail a permis de montrer que l'absorption du mycophénolate était ralentie chez les patients transplantés pulmonaires par rapport aux transplantés rénaux, avec une constante d'absorption (k_a) en moyenne 53% inférieure. En effet :

$$k_a = \theta_1 \times \theta_2^{Tx}$$

avec $Tx = 0$ pour la transplantation rénale et $Tx = 1$ pour la transplantation pulmonaire

$$\theta_1 = 1,9 \text{ h}^{-1} (SE = 7,8\%) \text{ et } \theta_2 = 0,47 (SE = 17\%)$$

Par ailleurs, nous avons pu observer que la clairance apparente du MPA était en moyenne 50% plus élevée chez les patients transplantés pulmonaires que chez les transplantés rénaux. Quel que soit le type de greffe, la clairance apparente était également 60% plus élevée chez les patients co-traités par ciclosporine que chez ceux co-traités par tacrolimus ou sirolimus.

$$CL/F = \theta_3 \times \theta_4^{IS} \times \theta_5^{Tx}$$

avec $IS = 0$ pour le tacrolimus et le sirolimus et $IS = 1$ pour la ciclosporine

$$\theta_3 = 13,0 \text{ L/h} (SE = 5,5\%), \theta_4 = 1,6 (SE = 5,0\%) \text{ et } \theta_5 = 1,5 (SE = 7,8\%)$$

Le volume de distribution, quant à lui, augmentait au-delà de J14 post-greffe :

$$V_C/F = \theta_6 \times \theta_7^{DPG}$$

avec $DPG = 0$ au-delà de 14 jours post-greffe et $DPG = 1$ avant 14 jours post-greffe

$$\theta_6 = 34,9 \text{ L} (SE = 7,4\%) \text{ et } \theta_7 = 0,79 (SE = 5,4\%)$$

Enfin, de manière similaire à ce qui a été précédemment décrit pour la ciclosporine et le tacrolimus, nous avons pu observer une biodisponibilité réduite d'environ 30% chez les patients transplantés pulmonaires atteints de mucoviscidose, par rapport aux patients ne présentant pas cette pathologie (transplantés pulmonaires ou rénaux) :

$$F = 1 \times \theta_8^{CF}$$

avec $CF = 0$ chez les patients sans et $CF = 1$ avec mucoviscidose

$$\theta_6 = 0,69 (SE = 14\%)$$

L'estimateur Bayésien développé en utilisant le modèle pharmacocinétique final et la concentration de MPA mesurée avant la prise du MMF, puis 1 heure et 4 heures après la prise, était caractérisé par un biais non significatif entre les AUC_{0-12h} estimées par méthode Bayésienne et les AUC_{0-12h} calculées par la méthode des trapèzes (-1,9 h.mg/L, IC95% = -3,8-0,03 h.mg/L). Le biais était supérieur à 25% dans 10/35 cas, dont 9 correspondaient à des patients sous tacrolimus ou sirolimus associé. L'imprécision moyenne était, quant à elle, égale à 5,8 h.mg/L. Les doses de MMF recommandées (arrondies à 250 mg, correspondant au plus petit dosage de MMF disponible) avec les 2 méthodes étaient identiques dans près de 75% des cas (26/35), et une différence de 250 mg a été retrouvée dans 20% des cas (7/35).

Cette analyse de pharmacocinétique de population confirme donc que la pharmacocinétique du MPA chez les patients transplantés pulmonaires est différente de celle observée chez les patients transplantés rénaux, et que les données rapportées en transplantation rénale ne peuvent pas être extrapolées à la transplantation pulmonaire. En effet, nous avons pu observer que les patients transplantés pulmonaires présentent une absorption plus faible et une clairance apparente plus élevée du MPA que les patients transplantés rénaux. De plus, comme dans le cas des anticalcineurines, la pharmacocinétique du MPA chez les patients atteints de mucoviscidose est caractérisée par une absorption plus lente et une biodisponibilité plus faible, justifiant des posologies plus élevées dans cette population pour atteindre des niveaux d'exposition équivalents aux patients transplantés pour d'autres indications.

L'estimateur Bayésien développé dans cette étude est caractérisé par un biais plus important et une plus grande imprécision que des estimateurs Bayésiens développés de

manière similaire chez des patients transplantés rénaux. Cette moins bonne performance pourrait être expliquée par l'importante variabilité de la pharmacocinétique observée en transplantation pulmonaire, et par le fait que la majorité des patients de cette étude ne recevaient pas de ciclosporine, qui réduit la variabilité sur l'élimination du MPA, en bloquant son cycle entéro-hépatique. Par ailleurs, cette étude n'a regroupé que 41 patients transplantés pulmonaires (et 116 patients transplantés rénaux), chez lesquels entre 1 et 4 profils pharmacocinétiques du MPA ont été recueillis au cours de la première année post-greffe. Ainsi, le nombre de profils collectés à chaque période était relativement restreint, en particulier pour les périodes post-greffe précoces (12 profils à J7-J14 post-greffe, 10 profils à M1, 11 profils à M2 et 63 profils entre M2 et la fin de la première année). Ce nombre de profils est d'autant plus insuffisant que ces patients pouvaient être atteints ou non de mucoviscidose, et co-traités par ciclosporine ou par tacrolimus, réduisant la population en de multiples sous-groupes, constitués chacun d'un faible nombre de patients. Or, dans un article de référence,^[81] Peter ID Lee, de la FDA, a démontré que 20 patients étaient nécessaires dans une sous-population afin de pouvoir mettre en évidence une différence de 30% sur la clairance entre la valeur moyenne typique dans la population et les valeurs dans chaque sous-population, avec une puissance de 80%.

Malgré ses limites, nous pensons que l'estimateur Bayésien mis au point dans cette étude pourrait fournir aux cliniciens des informations supplémentaires sur l'exposition des patients au MPA. Cet outil pourrait également être utilisé dans le cadre d'essais cliniques de STP du MMF en transplantation pulmonaire, afin de définir une ou des valeur(s) d' AUC_{0-12h} cible, permettant d'obtenir le meilleur compromis entre efficacité et toxicité, et d'évaluer l'intérêt du STP du MMF basé sur l' AUC_{0-12h} en transplantation pulmonaire, de manière comparable à ce qui a été fait précédemment en transplantation rénale. Enfin, il pourrait contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires, atteints ou non de mucoviscidose, en permettant une individualisation de la posologie du MMF.

Manuscript accepté par Clinical Pharmacokinetics le 30 Mai 2011.

Bayesian estimation of mycophenolate mofetil in lung transplantation using a population pharmacokinetic model developed in kidney and lung transplant recipients

Brenda CM de Winter¹, Caroline Monchaud^{1*}, Aurélie Prémaud^{1*}, Christophe Pison², Romain Kessler³,
Martine Reynaud-Gaubert⁴, Claire Dromer⁵, Marc Stern⁶, Romain Guillemain⁷, Christiane Knoop⁸,
Marc Estenne⁸, Pierre Marquet¹, Annick Rousseau¹

¹INSERM Unit 850, CHU Limoges, University of Limoges, Limoges, France

²Clinique de Pneumologie, CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier, INSERM Unit 884, Grenoble, France

³Service de Pneumologie, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France

⁴Service de Chirurgie Thoracique, CHU Nord, Marseille, France

⁵Service de Chirurgie Thoracique, Hôpital du Haut-Lévêque, Bordeaux, France

⁶Service de Pneumologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

⁷Service de Chirurgie cardiovasculaire, HEGP, Paris, France

⁸Service de Pneumologie, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgium

*These authors contributed equally to this work

Running title: Pharmacokinetics of MPA in lung transplantation

Corresponding author: Annick Rousseau, INSERM UMR-S850, University of Limoges, 2 rue du Dr Marcland, 87025, Limoges Cedex, France. E-mail: annick.rousseau@unilim.fr

Abstract

Background: The immunosuppressive drug mycophenolate mofetil (MMF) is used to prevent rejection after organ transplantation. In kidney transplant recipients, it has been demonstrated that adjustment of the MMF dose according to the area under the concentration-time curve (AUC) of mycophenolic acid (MPA), the active moiety of MMF, improves clinical outcome. Due to the high risk of rejections and infections in lung transplant recipients, therapeutic drug monitoring of the MPA AUC might be even more useful in these patients.

Objective: To characterize the pharmacokinetics of MPA in lung and kidney transplant recipients, describe the differences between the two populations and develop a Bayesian estimator of MPA AUC in lung transplant recipients.

Methods: In total, 460 MPA concentration-time profiles from 41 lung and 116 kidney transplant recipients were included. Nonlinear mixed-effects modeling was used to develop a population pharmacokinetic model. Patients were divided in an index and a validation dataset. The pharmacokinetic model derived from the index dataset was used to develop a Bayesian estimator, which was validated using the 35 lung transplant recipients' profiles of the validation dataset.

Results: MPA pharmacokinetics were described using a 2-compartment model with time-lagged, first order absorption and first order elimination. The influence of cyclosporine co-treatment and the changes over time post-transplantation were included in the model. Lung transplant recipients had a 53% slower absorption rate and a 50% higher MPA apparent clearance compared to kidney transplant recipients ($p < 0.001$). In lung transplant recipients, the bioavailability was 31% lower in patients with than in patients without cystic fibrosis ($p < 0.001$). The Bayesian estimator developed using the population pharmacokinetic model and taking into account cyclosporine co-treatment, cystic fibrosis, and time post transplantation with concentrations measured at 0, 1, and 4h after MMF dose administration resulted in a non-significant bias and a mean imprecision of 5.8 mgxh/L. This higher imprecision compared to that of similar estimators previously developed in kidney

transplantation might be caused by the high MPA pharmacokinetic variability seen in lung transplant recipients and by the fact that a large part of the patients did not receive cyclosporine, which reduces the variability in the elimination phase of MPA by blocking its enterohepatic cycling.

Conclusion: Lung transplant recipients have a lower MPA absorption rate and a higher apparent clearance than kidney transplant recipients, while cystic fibrosis results in lower MPA bioavailability. A Bayesian estimator using MPA concentration-time samples at 0, 1, and 4h postdose had the best predictive performance.

4 Mise en place d'outils d'évaluation de l'efficacité et de la toxicité des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire

En transplantation pulmonaire, l'objectif principal des études sur les immunosuppresseurs est en général d'évaluer le bénéfice, le risque, ou le rapport bénéfice/risque d'un traitement ou d'une stratégie définie. Pour répondre à cet objectif, le critère d'évaluation principal peut être un critère d'évaluation unique, tel que la mortalité ou la morbidité (par exemple, les épisodes de rejet aigu du greffon).

A notre connaissance, aucune étude clinique comparant différentes stratégies thérapeutiques avec une période de suivi supérieure à 3 ans n'a été menée en transplantation pulmonaire. Pourtant, les événements pouvant avoir un impact sur la survie des patients sont multiples et leur délai de survenue variable et parfois long, nécessitant la mise en œuvre d'essais cliniques sur un nombre de sujets important et de longues durées de suivi.

De plus en plus fréquemment, les critères de jugement utilisés dans les essais cliniques en transplantation sont des critères d'évaluation composite (composite endpoint, CEP), combinant par exemple le décès et le rejet aigu dans un critère unique. La combinaison des critères de jugement classiques (souvent cliniques) avec des événements d'intérêt moins fréquemment utilisés, mais pertinents (qu'ils soient cliniques, biologiques ou histologiques : par exemple, la présence d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur) dans un CEP présente plusieurs intérêts :

- Statistique : l'augmentation du nombre d'événements permet de réduire le nombre de sujets nécessaire et d'éviter les essais cliniques de très grande ampleur.
- Physiopathologique : même non létaux, des événements peuvent avoir un impact importants sur l'histoire naturelle de la pathologie.
- Pour l'évaluation globale du patient : l'utilisation d'événements variés pourrait améliorer l'évaluation des traitements ou stratégies testées, à la fois en termes d'efficacité, de tolérance, d'acceptabilité, et/ou de qualité de vie.

- En outre, l'utilisation d'un CEP permettrait de prendre en compte dans un critère unique de multiples critères de jugement, et d'éviter une interprétation erronée des risques compétitifs, lorsqu'un événement grave ou précoce réduit l'incidence d'un autre événement.

Toutefois, les CEP couramment utilisés dans les essais cliniques en transplantation présentent des limites. Tout d'abord, ils ne font souvent pas la distinction entre efficacité et toxicité, combinant, par exemple, les épisodes de rejet aigu du greffon (critère d'efficacité) et l'arrêt du médicament immunosuppresseur pour des effets indésirables (critère de toxicité).^[82] De plus, dans la plupart des cas, aucune pondération des événements combinés dans le CEP ne permet de prendre en compte leur gravité relative et leur impact relatif sur la survie des patients. Par exemple, le décès et les épisodes de rejet aigu du greffon peuvent être combinés dans un critère unique tout en ayant un poids identique (0 pour l'absence d'événement, 1 pour décès ou rejet aigu).^[13,43,83,84] Ceci pourrait introduire un biais dans l'interprétation des résultats. Enfin, l'utilisation de différents CEP dans les différents essais cliniques rend délicate, pour ne pas dire impossible, la comparaison des résultats issus de différents essais cliniques.

Un certain nombre de précautions doivent être prises lors de l'élaboration d'un CEP. Tout d'abord, le CEP doit avoir une pertinence clinique. Tous les événements inclus dans le CEP doivent avoir, idéalement, une valeur prédictive cliniquement et statistiquement prouvée, ou être acceptés par un consensus d'experts. Les événements non létaux doivent être cliniquement pertinents, c'est-à-dire associés à un pronostic péjoratif, et leur modification doit être associée à une modification de la survie. Enfin, les éléments constitutifs du CEP doivent être relativement homogènes, en particulier en termes de conséquence sur la survie du patient et d'effet attendu de l'intervention. La pondération des événements peut être utile si l'impact sur la survie du patient est différent, à condition que les poids soient validés.

L'analyse d'un CEP peut être basée sur la comparaison, entre plusieurs groupes, de sa survenue au cours du temps (analyse de survie), de son incidence cumulée à une date précise (comparaison de fréquences), ou de scores quantitatifs calculés sur la base des événements les composants, en combinant possiblement des critères d'efficacité et de toxicité (comparaison de moyennes).

Au total, la mise en place d'outils d'évaluation des stratégies immunosuppressives pour les essais cliniques en transplantation pulmonaire pourrait participer à l'amélioration de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires. Dans ce contexte, nous avons eu pour objectif de proposer des recommandations sur un ou plusieurs CEP pour les essais cliniques sur les immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire, composé(s) d'événements cliniques multiples pertinents, et permettant l'évaluation du rapport bénéfice/risque. Ces recommandations se sont basées sur un consensus d'experts dans le domaine de la transplantation pulmonaire. Ce travail a fait l'objet d'une publication actuellement en cours de rédaction :

Monchaud C, Marin B, Estenne M, Marquet P, and the eDelphi-lung transplant group. Consensus conference on the development of a composite endpoint for clinical trials on immunosuppressive drugs in lung transplantation. En cours de rédaction, pour soumission à Transplantation et The Journal of Heart and Lung Transplantation.

La conférence de consensus a été menée selon la méthode Delphi. A l'origine, cette méthode a été initiée par la RAND (« research and development ») corporation.^[85-87] Son objectif est de déboucher sur le consensus d'opinion d'un groupe d'experts qui soit le plus fiable possible. Cette méthode permet d'apporter l'éclairage des experts sur des zones d'incertitude en vue d'une aide à la décision. L'interrogation individuelle des participants se fait par des questionnaires successifs, le plus souvent à réponses fermées, rédigés par les organisateurs de l'étude (groupe pilote). Les caractéristiques fondamentales de la méthode Delphi sont :

- l'anonymat : les participants n'ont pas connaissance de l'identité des autres, afin d'éviter les phénomènes de dominance, d'autorité ou d'affiliation.
- l'itération avec retours successifs : les experts sont sollicités à plusieurs reprises ; avant chaque tour, ils reçoivent les résultats obtenus au tour précédent, afin de confronter leur avis à celui des autres participants.
- l'analyse quantifiée des réponses du groupe : les membres ayant des avis correspondant aux extrêmes sont invités à donner une justification de leur opinion aux autres membres du groupe.

Une conférence de consensus selon la méthode Delphi se déroule selon les étapes suivantes :

1. Formulation du problème : dans ce travail, l'objectif a été formulé par le groupe de pilotage composé de 4 personnes (Caroline Monchaud, Benoît Marin, Marc Estenne, Pierre Marquet).
2. Choix des experts : pour éviter la mise en question future du processus, les experts sont choisis pour leur connaissance de l'objet et pour couvrir la variété des avis. Un nombre de 10 à 15 experts est souvent choisi. Les experts sollicités dans le cadre de cette conférence de consensus ont été initialement contactés par les sociétés savantes « The Transplantation Society » (TTS) et ISHLT, afin de faciliter les contacts, et d'asseoir la légitimité du résultat.
3. Elaboration et administration des questionnaires : les questionnaires proposés aux experts ont tous été préparés par le comité de pilotage, puis diffusés par le biais d'un site Internet développé spécifiquement pour l'organisation de la conférence de consensus (<https://pharmaco.chu-limoges.fr/lungtx-delphi.htm>).
4. Analyse des questionnaires et retour aux experts : les réponses des experts sont analysées après chaque tour. Au tour suivant, un nouveau questionnaire est proposé aux experts, accompagné de la synthèse des réponses collectées au tour précédent. D'un tour à l'autre, les questionnaires peuvent évoluer afin de prendre en compte les remarques des experts et de les adapter aux avis du groupe.

La méthode Delphi permet de répondre à un problème de la recherche actuelle : dans le cas de notre travail, elle a permis d'élaborer des outils d'évaluation des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire, par des experts du domaine. Ainsi, les experts eux-mêmes pourront s'approprier les recommandations, auxquelles une légitimité certaine devrait être accordée par les acteurs du domaine.

Dans cette conférence, un consensus a été obtenu après 4 tours. Sur les 40 experts initialement sollicités par TTS et l'ISHLT, 20 ont participé à la totalité de la conférence, et provenaient de 10 pays (Allemagne, Australie, Belgique, Canada, Etats-Unis, France, Italie, Pays-Bas, Royaume-Uni, Suisse). Ils ont élaboré les propositions suivantes :

- Proposition de 2 CEP : le premier pour l'évaluation de l'efficacité d'une stratégie ou d'un traitement immunosuppresseur, et le second pour l'évaluation de la toxicité et des effets indésirables.
- Items composant les CEP :
 - CEP d'efficacité : décès lié à la perte du greffon, perte du greffon, épisodes de rejet aigu prouvés par biopsie (selon la classification de l'ISHLT^[88]), épisodes de rejet aigu traités, développement d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur, rejet humoral, syndrome de bronchiolite oblitérante (grade fonctionnel^[89]).
 - CEP de toxicité : décès liés à la toxicité du traitement immunosuppresseur, arrêt du traitement immunosuppresseur en raison de sa toxicité ou de ses effets indésirables, maladie pulmonaire à cytomégalovirus (CMV), aspergillose pulmonaire, infections pulmonaires fongiques autres qu'aspergillose ou candidose, aspergillose extra-pulmonaire, cancer d'organe solide dérivé du receveur, lymphomes post-transplantation (post-transplant lymphoproliferative disorders, PTLD), dialyse chronique, transplantation rénale, toxicité neurologique, apparition d'un diabète insulino-requérant.
- Détermination des CEP :
 - Chaque CEP est un score, calculé en additionnant le poids de chaque événement le composant.
 - Un poids maximum de 100 est attribué au décès lié à la perte du greffon ou à la toxicité du traitement immunosuppresseur.
 - Tant que le patient est vivant, le score est capé à un maximum de 90.
 - Les poids attribués aux items d'efficacité sont compris entre 10 et 80.
 - Les poids attribués aux items de toxicité sont compris entre 30 et 70.
- L'analyse des CEP devrait être basée sur leur comparaison entre plusieurs groupes, à un temps donné post-transplantation (comparaison de moyennes).

En conclusion, cette conférence de consensus a permis d'élaborer des recommandations d'experts pour la mise au point de deux CEP cliniquement pertinents pour l'évaluation des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. Une fois validés, ces outils pourront être utilisés dans le cadre d'essais cliniques, qui pourront être menés dans des populations réduites et sur des durées plus courtes. Par ailleurs, ils contribueront à l'amélioration de l'évaluation des interventions testées, à la fois en termes d'efficacité, de toxicité, et de rapport bénéfice/risque.

CONSENSUS CONFERENCE ON THE DEVELOPMENT OF A COMPOSITE ENDPOINT FOR CLINICAL TRIALS ON IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS IN LUNG TRANSPLANTATION.

Caroline Monchaud (1,2), Benoît Marin (3), Marc Estenne (4), Pierre-Marie Preux (3), Pierre Marquet (1,2), and the eDelphi-lung transplant group(*)

(1) INSERM UMR-S850, CHU Limoges, Université de Limoges, France

(2) Service de Pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance, CHU Limoges, France

(3) Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistiques, CHU Limoges, Limoges, France

(4) Service de Pneumologie, Hôpital Universitaire Erasme, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgium

(*) John-David Aubert, Service de Pneumologie et Centre de Transplantation d'Organes, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Switzerland; Jason Christie, Division of Pulmonary, Allergy & Critical Care, University of Pennsylvania Medical Center, Philadelphia, USA; Duane Davis, Department of Surgery, Division of Cardiovascular and Thoracic Surgery, Duke University Medical Center, Durham, USA; Tobias Deuse, Department of Cardiovascular Surgery, University Hospital Hamburg, Germany; John Dunning, Cardiothoracic Surgery and cardiopulmonary transplantation, Papworth Hospital, Cambridge, United Kingdom; Andrew Fisher, Institute of Cellular Medicine, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom; Allan Glanville, Department of Thoracic Medicine, Saint Vincent's Hospital, Sydney, Australia; Peter Hopkins, Queensland Heart-Lung Transplant Unit, Prince Charles Hospital, Brisbane, Australia; Christiane Knoop, Service de Pneumologie, Hôpital Universitaire Erasme, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgium; Dale Lien, Division of Pulmonary Medicine, University of Alberta Hospital, Edmonton, Canada; Keith Mc Neil, Queensland Heart & Lung Transplant Unit, The Prince Charles Hospital, Brisbane, Australia; Federica Meloni, Malattie Apparato Respiratorio, Policlinico San Matteo, Italy; Steven Meyer, Division of Cardiac Surgery, University of Alberta Hospital, Edmonton, Canada; Roland Nador,

Division of Pulmonary Medicine, University of Alberta Hospital, Edmonton, Canada; Scott Palmer, Department of Medicine, Division of Pulmonary, Allergy, and Critical Care Medicine, Duke University Medical Center, Durham, USA; Christophe Pison, Clinique de Pneumologie, CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier, INSERM 884, Grenoble, France; Lianne Singer, Toronto Lung Transplant Program, Department of Medicine, University Health Network, University of Toronto, Toronto, Canada; Greg Snell, Lung Transplant Service, Department of Allergy, Immunology & Respiratory Medicine, Alfred Hospital, Melbourne, Australia; Marc Stern, Service de Pneumologie, Hôpital Foch, Suresnes, France; Stuart Sweet, Department of Pediatrics, Washington University, St. Louis, USA; Geert Verleden, Department of Pneumology, University Hospital Gasthuisberg, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgium; Erik Vershuuren, Lung Transplant Team Groningen, Department of Pulmonary Diseases, University Medical Centre Groningen, Groningen, The Netherlands; Glen Westall, Lung Transplant Service, The Alfred Hospital, Melbourne, Australia; Martin Zamora, Division of Pulmonary Sciences and Critical Care Medicine, Lung Transplant Program, University of Colorado, Colorado Center for Transplantation Care, Research and Education, Denver, USA.

Name and address for correspondence

Pierre Marquet

INSERM UMR-S850, Faculty of Medicine, University of Limoges

2 rue du Dr Marcland

87025, Limoges Cedex, FRANCE

Tel: +33.555.05.60.17. Fax: +33.555.05.61.62.

E-mail: pierre.marquet@unilim.fr

Abstract

Background: In lung transplantation, diverse clinical events may impact patients' outcome. In clinical trials comparing intervention strategies, single primary endpoints require large populations or large study durations, while most composite endpoints (CEP) do not take into account the actual, respective impact of their components on patient survival, and do not allow evaluating the benefit/risk ratio. Therefore, the objective of this study under the auspices of the ISHLT and TTS, was to propose consensus recommendations on endpoints for clinical trials on immunosuppressive (IS) drugs in lung transplantation.

Methods: The consensus process was managed through the Internet using the Delphi method, which is based on a series of questionnaires interspersed with controlled opinion feedback. Forty experts were invited by the pilot group with the help of the ISHLT and TTS, on the basis of their recognized knowledge of lung transplantation. In a first round, a questionnaire was made available to the experts to complete, and the responses were analyzed. In each following round, a new questionnaire was developed from the previous responses, and then sent to the panel members.

Results: Consensus between 20 experts was achieved after 4 rounds. Two score-type CEPs were defined, one for IS drug efficacy, including 7 items, and one for toxicity, including 12 items. Death related to graft loss or immunosuppressive drug toxicity was attributed a maximum weight of 100. The weights of the other items included in the efficacy and toxicity CEPs ranged between 10 and 80 and between 30 and 70, respectively. The CEP scores are calculated by adding the weights of all the items composing them, without exceeding 90 as long as the patient is alive.

Conclusion: This consensus conference proposed 2 score-type CEPs including relevant endpoints or surrogate markers. After validation, they will allow clinical trials with higher statistical power, and will improve the evaluation of the interventions tested in terms of efficacy, toxicity and benefit/risk ratio.

5 Etude « preuve de concept » de STP en transplantation pulmonaire : l'étude BASALT

5.1 Le protocole

5.1.1 Contexte de l'étude : rappels

La plupart des études cliniques sur le STP du tacrolimus en transplantation rénale et hépatique suggèrent que le C_0 est un bon prédicteur de l'efficacité et de la toxicité de la molécule.^[41] En conséquence, le STP et l'individualisation de posologie du tacrolimus reposent essentiellement sur le suivi de sa concentration résiduelle. Toutefois, l'estimation la plus fiable de l'exposition au tacrolimus est basée sur une mesure de l' AUC_{0-12h} . Bien que la relation entre exposition au tacrolimus et devenir du patient n'ait pas encore été précisément définie, la dernière conférence de consensus sur le tacrolimus a retenu l' AUC_{0-12h} comme le meilleur marqueur de l'exposition à la molécule en transplantation rénale.^[42]

A notre connaissance, aucune étude n'a à ce jour comparé l'individualisation thérapeutique du tacrolimus sur la base du C_0 et de l'AUC chez des patients transplantés, tous organes confondus. En transplantation rénale, les seules études publiées, sur lesquelles s'est basée la conférence de consensus, ont tenté de définir une exposition cible, en évaluant la relation entre C_0 ou AUC_{0-12h} et les épisodes de rejet aigu. Une étude rétrospective chez 66 transplantés rénaux adultes avec des profils complets de concentration du tacrolimus à J2, S2 et M3 post-greffe a trouvé une AUC_{0-12h} moyenne de 157 h.µg/L chez les patients ayant présenté un rejet aigu et de 215 h.µg/L chez ceux n'en ayant pas présenté ($p = 0,007$).^[90] Une étude de cohorte de 100 greffés rénaux sous tacrolimus et MMF pendant la première année post-greffe^[91] a trouvé que chez les patients qui avaient encore une AUC_{0-12h} de tacrolimus < 150 h.µg/L et une AUC_{0-12h} de MPA < 45 h.mg/L au 7^{ème} jour post-greffe, l'incidence de rejet aigu pendant la première année tendait à être plus élevée (26,3%) que chez les patients qui atteignaient ces deux valeurs cibles (7,7%) ($p = 0,07$) (figure 2). Or, dans l'étude Stimmugrep, à la période J7-J15, l' AUC_{0-12h} de MPA était > 45 h.mg/L dans seulement 2/15 cas et l' AUC_{0-12h} de tacrolimus était > 150 h.µg/L dans 10/23 cas.

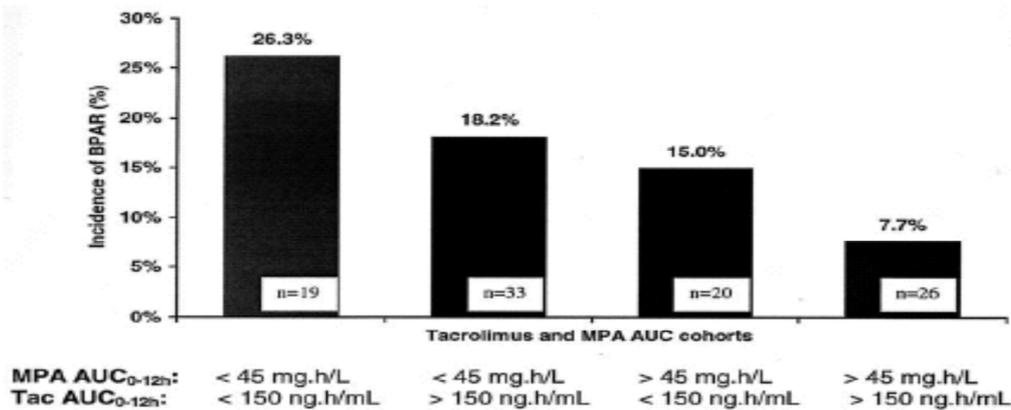


Figure 3. Incidence du rejet aigu de greffon rénal prouvé par biopsie en fonction des AUC_{0-12h} combinées de tacrolimus et de MPA.^[91]

Scholten et col.^[92] ont conduit une étude prospective dans un petit groupe de 15 transplantés rénaux *de novo* avec adaptation de la dose de tacrolimus basée sur l'AUC_{0-12h} pendant la première année post-greffe, utilisant une stratégie d'estimation Bayésienne basée sur deux points de prélèvements. Ils ont montré la faisabilité d'atteindre une cible d'AUC_{0-12h}, avec une variabilité acceptable, avec un CV sur l'AUC_{0-12h} d'environ 15% (sauf pendant les 6 premières semaines). Par ailleurs, la clairance apparente du tacrolimus diminuait graduellement avec le temps, même entre le 3^{ème} et le 6^{ème} mois post-greffe, ce que l'AUC_{0-12h} était capable de refléter mais pas le C₀. Dans une étude récente en transplantation rénale, notre équipe a montré que la variation de la clairance apparente du tacrolimus était partiellement due à la variation de l'hématocrite.^[64]

Contrairement aux anticalcineurines, le STP du mycophénolate n'est pas obligatoire, et l'adaptation de la posologie du MMF est généralement basée sur des critères cliniques d'inefficacité ou de toxicité. En conséquence, malgré une variabilité pharmacocinétique au moins comparable à celle de la ciclosporine ou du tacrolimus, dans la plupart des centres de transplantation, les concentrations de MPA ne sont pas suivies régulièrement.^[27] L'intérêt du STP du mycophénolate fait encore l'objet de controverses, en raison de résultats contradictoires des différentes études cliniques menées dans ce domaine. Notamment, deux études concentration-contrôlées menées en transplantation rénale, FDCC et OPERA, n'ont pas permis de démontrer la supériorité du STP du MPA basé sur l'AUC par rapport à l'administration de doses fixes de MMF, adaptées sur des critères cliniques d'inefficacité ou de toxicité, sur la prévention des rejets aigus du greffon.^[83,93] Toutefois, une relation significative entre AUC et effets, et le bénéfice clinique du STP et de l'individualisation de

posologie du MMF, ont été démontrés dans un nombre croissant d'études, y compris des études concentration-contrôlées, en transplantation rénale mais aussi en transplantation cardiaque.^[28,43,74,94-96]

En transplantation rénale adulte, une étude a montré que l'adaptation des doses de MMF en fonction de l'AUC de MPA permettait de modifier l'efficacité et les effets secondaires de la molécule. Une première « zone thérapeutique » de 30 à 60 h.mg/L pour l'AUC_{0-12h} du MPA a été proposée chez ces patients.^[73,74]

Par ailleurs, l'UMR-S850 INSERM a démontré chez des transplantés rénaux, traités par l'association ciclosporine – MMF, que l'adaptation de posologie du MMF basée sur l'estimation Bayésienne de l'AUC_{0-12h} du MPA (avec une cible à 40 h.mg/L), à plusieurs reprises au cours de la première année post-transplantation, permettait de réduire significativement les échecs du traitement, en particulier les rejets aigus prouvés par biopsie.^[43] De plus, aucun épisode de rejet aigu du greffon n'a été rapporté pour les patients dont l'AUC_{0-12h} de MPA était supérieure à 45 h.mg/L. En outre, l'étude pharmaco-économique menée en parallèle a conclu que les coûts de santé n'étaient pas significativement plus élevés dans le bras avec adaptation de posologie et que le rapport incrémentiel coût-efficacité (ICER) correspondant au coût pour un rejet aigu évité était d'environ 5000 €.^[97]

Dans la dernière conférence de consensus sur le MPA, il est rapporté qu'en raison de l'importante variabilité inter-individuelle de la pharmacocinétique du MPA, le STP pourrait contribuer à améliorer la survie des greffons et des patients. Contrôler l'exposition au MPA semble donc fondamental pour en maximiser les effets immunosuppresseurs et en minimiser les effets toxiques.^[98] Malgré cela, aucun consensus n'a à ce jour été établi sur le meilleur outil de STP pour une prise en charge optimale du rejet de greffe et des effets indésirables,^[20] bien que la supériorité des outils faisant appel à la modélisation pharmacocinétique soit mise en avant.^[99] Les données en transplantation pulmonaire sont encore plus limitées.

5.1.2 Objectif principal de l'étude

L'étude Basalt a été mise en place afin d'apporter la preuve de concept, en transplantation pulmonaire, du bénéfice clinique du STP de la bithérapie tacrolimus + MMF avec double adaptation de posologie, basé sur l'AUC calculée par estimation Bayésienne vs. les stratégies de suivi « standards » (adaptation de la posologie du tacrolimus sur la base de C₀

et doses fixes de MMF, adaptées sur des signes cliniques d'inefficacité ou de rejet). Il s'agissait d'un essai multicentrique européen (France, Belgique), prospectif comparatif, randomisé, ouvert, de stratégies thérapeutiques.

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer, à l'issue de la troisième année de greffe pulmonaire, dans la population en intention de traiter (ITT), l'apport du STP « optimisé » du tacrolimus et du MMF :

- par comparaison aux stratégies actuelles : adaptation de posologie du tacrolimus sur la base de son C₀ et dose standard de MMF, pouvant être modifiée en cas d'inefficacité ou d'effets indésirables attribuables au MMF,
- en termes d'incidence des échecs du traitement : décès, perte du greffon, ERA du greffon, BOS, arrêt définitif ou interruption de plus de 7 jours du tacrolimus ou du MMF au cours des 3 années de suivi.

5.1.3 Stratégies et déroulement de la recherche

Les critères d'éligibilité des patients dans l'étude, le calcul de la taille de l'échantillon et les traitements associés autorisés et interdits dans le cadre de l'étude sont présentés en annexe.

5.1.3.1 Posologies initiales

Dans les deux bras, les posologies initiales de tacrolimus et de MMF étaient les posologies usuelles en transplantation pulmonaire (tableau 2).

Tableau 2. Posologies initiales de tacrolimus et de MMF dans l'étude Basalt

	Patients non atteints de mucoviscidose	Patients atteints de mucoviscidose
Tacrolimus	0,075 à 0,15 mg/kg/jour	0,15 à 0,30 mg/kg/jour
MMF	2 g/jour	3 g/jour

L'adaptation des posologies dépendait ensuite du bras de randomisation ; les patients répondant aux critères de sélection étaient assignés par randomisation électronique centralisée, stratifiée par centre et sur l'existence ou non d'une mucoviscidose, dans l'un des bras A (groupe « optimisé ») et B (groupe « témoin »).

5.1.3.2 Stratégie à l'étude (bras A, patients « optimisés »)

La stratégie étudiée dans cette recherche était l'adaptation de posologie reposant sur le STP « optimisé » du tacrolimus et du MMF, basé sur la détermination régulière des AUC de ces 2 médicaments pendant les 3 premières années suivant une greffe pulmonaire, chez des patients atteints ou non de mucoviscidose. L'étude de cette stratégie était fondée sur l'hypothèse selon laquelle l'adaptation de posologie basée sur les AUC du tacrolimus et du MMF suivant une greffe pulmonaire était supérieure aux stratégies thérapeutiques « standards », c'est-à-dire :

- L'adaptation de la posologie du tacrolimus sur la base du C_0 mesuré très fréquemment lors de l'hospitalisation, puis à toutes les visites.
- L'emploi d'une dose standard de MMF, éventuellement modifiée sur des critères d'inefficacité ou de toxicité.

Les patients du bras A bénéficiaient d'une adaptation individuelle de posologie du tacrolimus et du MMF, basée sur les AUC de tacrolimus et de MPA. Pour cela, à chaque période de suivi dans le bras A « optimisé », une série de prélèvements sanguins et une demande d'estimation de l'exposition globale (AUC inter-dose) devait être effectuée par le médecin investigateur. Les périodes de STP étaient hebdomadaires pendant le premier mois, puis mensuelles à partir du premier mois, et enfin semestrielles à partir du 12^{ème} mois.

En l'absence de consensus en transplantation pulmonaire, les cibles d'AUC de tacrolimus en fonction de la période post-greffe pulmonaire choisies pour cette étude étaient basées sur les études cas-témoins ou de cohorte en transplantation rénale citées ci-dessus, ainsi que sur les résultats obtenus chez les patients de l'étude Stimmugrep ayant présenté une évolution clinique favorable au cours de la première année de transplantation, soit $AUC_{0-12h} = 190 \text{ h}\cdot\mu\text{g/L}$ avant 3 mois et $160 \text{ h}\cdot\mu\text{g/L}$ au-delà de 3 mois. En aucun cas les investigateurs n'étaient autorisés à adapter la dose de tacrolimus sur la base de son C_0 , pendant ou en dehors des périodes de STP car ceci aurait conduit à l'exclusion secondaire du patient.

La zone thérapeutique recommandée par les conférences de consensus pour l' AUC_{0-12h} du MPA en transplantation rénale est de 30 à 60 mg.h/L.^[100] Du fait des doses plus fortes d'environ 30% utilisées en transplantation pulmonaire, une valeur cible unique de 50 h.mg/L

était utilisée dans cette étude pour ajuster individuellement la posologie de MMF, quelle que soit la période.

Pour les patients présentant des rejets aigus \geq A2 traités, la cible d'AUC de tacrolimus était augmentée de 20% par rapport aux valeurs ci-dessus et celle de MPA était augmentée à 70 mg.h/L. Un contrôle des AUC de tacrolimus et de MPA devait alors être effectué dans les 10 jours suivant l'augmentation des posologies.

Les investigateurs devaient également demander une AUC supplémentaire :

- En cas de suspicion de rejet.
- En cas d'effet indésirable devant entraîner une modification de posologie, si possible avant cette modification.
- Lors de l'introduction ou de l'arrêt d'inhibiteurs enzymatiques tels que les antifongiques azolés (environ 3 jours après l'introduction ou l'arrêt de l'inhibiteur enzymatique).

5.1.3.3 Stratégies de contrôle (bras B, patients « témoins »)

Les patients du bras B bénéficiaient des stratégies thérapeutiques « standards », c'est-à-dire basées d'une part sur le suivi des C_0 pour le tacrolimus, et d'autre part sur une dose standard de MMF éventuellement modifiée sur des critères cliniques ou biologiques d'inefficacité ou de toxicité.

En plus des mesures supplémentaires de C_0 de tacrolimus (à la discrétion de l'investigateur dans ce bras), les mêmes triplets de prélèvements sanguins que dans le bras A étaient effectués mensuellement chez ces patients (puis semestriellement à partir du 12^{ème} mois), mais seule la valeur de C_0 de tacrolimus était rendue à l'investigateur. Les autres concentrations sanguines de tacrolimus, ainsi que les concentrations plasmatiques de MPA, connues du pharmacologue du centre, n'étaient pas rendues au clinicien. Les AUC étaient calculées mais n'étaient rendues ni aux cliniciens ni aux pharmacologues des centres et aucun conseil d'adaptation de posologie prodigué, sauf sur demande expresse motivée par une nécessité clinique exceptionnelle. Dans un tel cas, le patient devait être exclu secondairement de l'étude.

Faute de recommandations consensuelles concernant les cibles thérapeutiques pour le C_0 du tacrolimus au moment de la rédaction du protocole, les cibles recommandées dans l'étude Basalt étaient un compromis entre les recommandations en transplantation cardiaque et les habitudes des centres, soit $C_0 = 13$ (11-15) $\mu\text{g/L}$ avant M3 et 10 (8-12) $\mu\text{g/L}$ au-delà de M3.

Chez les patients présentant des rejets aigus $\geq A2$ traités, il était possible d'augmenter la posologie de MMF (sans dépasser 4 g/j) et la cible de C_0 de tacrolimus, à la discrétion de l'investigateur.

Comme pour les patients du bras A, les investigateurs devaient également demander une AUC supplémentaire en cas de suspicion de rejet ou d'effet indésirable devant entraîner une modification de posologie, si possible avant cette modification.

5.1.3.4 Traitement des échantillons et calcul des AUC

Les concentrations sanguines de tacrolimus et plasmatiques de MMF devaient être mesurées dans le laboratoire de chaque centre par toute technique ayant fait la preuve de sa spécificité et régulièrement soumise au contrôle de qualité international (Proficiency Testing Scheme, Dr. Holt, Londres, UK).

Le calcul des AUC de tacrolimus et de MPA était centralisé sur une page spéciale (« BASALT ») du site internet ABIS développé par le service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance du CHU de Limoges (<https://pharmaco.chu-limoges.fr/abis.htm>). Ces AUC étaient calculées à partir de 3 prélèvements sanguins, en utilisant des modèles de pharmacocinétique et des estimateurs Bayésiens développés à partir des résultats de l'étude Stimmugrep.

5.1.4 Critère de jugement principal

Le critère de jugement principal était un critère composite dénommé « échec du traitement immunosuppresseur », défini par la survenue de l'un des événements suivants pendant la durée de l'étude :

- **Episode de rejet aigu du greffon** prouvé histologiquement selon la classification internationale de l'ISHLT^[88] ou défini selon les critères cliniques décrits au point

2 : toute suspicion d'ERA pouvait être confirmée, selon les habitudes du centre investigateur, par une bronchoscopie avec biopsie transbronchique et lavage broncho-alvéolaire (LBA). Le diagnostic de rejet aigu du greffon était retenu :

1. Si les résultats de la biopsie ou du LBA étaient positifs (grade \geq A1 ou \geq B1) : il s'agissait des rejets aigus prouvés histologiquement.

2. Dans les cas où la bronchoscopie n'avait pas été réalisée ou les résultats de la biopsie ou du LBA étaient négatifs, mais où :

– Le patient avait reçu des bolus IV de prednisone pendant au moins 3 jours consécutifs (ou équivalent) et/ou un quelconque traitement antilymphocytaire.

– Les autres étiologies de dysfonction pulmonaire avaient été écartées.

3. Dans les cas où la biopsie ou le LBA n'étaient pas exploitables (association avec une infection ou matériel insuffisant), si la symptomatologie était évocatrice (symptômes cliniques, perte fonctionnelle).

– **Syndrome de bronchiolite oblitérante** : la classification internationale de l'ISHLT^[88] était utilisée pour le diagnostic et l'évaluation du BOS, défini par un processus inflammatoire rapidement progressif touchant les petites voies aériennes des poumons transplantés et à l'origine d'un syndrome obstructif sévère et irréversible. Toute suspicion de BOS devait être documentée par des épreuves fonctionnelles respiratoires ; les patients étaient considérés comme atteints de BOS s'il survenait une chute du VEMS d'au moins 10% comparé aux VEMS de référence (2 meilleurs VEMS post-greffe stable), à au moins 4 semaines d'intervalle) et persistante à 30 jours d'intervalle. Les autres étiologies de dysfonction du greffon (infections, complications bronchiques) devaient être éliminées.

– **Perte du greffon** (hors dysfonction primaire du greffon).

– **Décès du patient imputable à la pathologie,**

– **Arrêt définitif ou interruption de plus de 7 jours** du tacrolimus ou du MMF du fait d'effets indésirables ou d'un manque d'efficacité.

5.2 Bilan pratique – Problèmes et solutions

Les inclusions devaient débuter au cours du 1^{er} trimestre 2009. La période d'inclusion était de 2 ans, avec une durée de participation de chaque patient de 3 ans, soit une durée totale de la recherche de 5 ans.

5.2.1 Rédaction du protocole

L'objectif était de rédiger un protocole consensuel qui reflète les pratiques cliniques et suscite l'adhésion de tous les investigateurs. Faute de recommandations consensuelles en transplantation pulmonaire, un état des lieux des pratiques a été nécessaire afin que le design de l'étude corresponde le plus possible aux stratégies locales de prise en charge des patients transplantés pulmonaires. Cette étape a fait l'objet de 2 réunions d'investigateurs en raison de la diversité de leurs pratiques et de la difficulté à obtenir un consensus entre les différentes équipes de transplantation pulmonaire :

- 1^{ère} réunion organisée en marge de la 4^{ème} rencontre « transplantation & mucoviscidose » le 29 mai 2008 à Paris (Hôpital Européen Georges Pompidou, HEGP)
- 2^{ème} réunion organisée le 12 septembre 2008 à l'occasion du congrès international sur la transplantation pulmonaire, à Paris

A l'issue de ces réunions, 3 points d'achoppement majeurs ont été totalement ou partiellement levés :

- Augmentation à 3 ans de la durée de suivi des patients, initialement fixée à 1 an, afin d'être en mesure de détecter les BOS.
- Biopsies transbronchiques : aucune biopsie systématique n'a été prévue au protocole, contrairement au projet initial, en raison de pratiques diverses d'un centre à l'autre. Il a été décidé que les protocoles de biopsies seraient conformes aux habitudes des centres. La définition du rejet a donc été établie en conséquence (recueil des rejets « prouvés histologiquement » et des rejets « cliniques »).
- La posologie initiale de MMF a fait l'objet de multiples débats entre les investigateurs, les pratiques étant extrêmement différentes d'un centre à l'autre (les posologies allant de 1 à 3 g par jour selon les centres). A l'issue des débats, la

posologie initiale de MMF a été fixée à 2 et 3 g par jour chez les patients sans et avec mucoviscidose, respectivement. Toutefois, ce « consensus » n'a pas obtenu l'adhésion de tous les investigateurs, l'un des investigateurs ayant annoncé qu'il n'était pas prêt à prescrire des posologies de 3 g par jour aux patients souffrant de mucoviscidose.

5.2.2 Soumission aux autorités réglementaires

Une attestation d'engagement à la méthodologie de référence MR001 (n°107038) a été signée le 06 Novembre 2008 et retournée à la CNIL.

En France, l'autorisation de l'AFSSAPS (n°A90077-62) a été obtenue le 6 février 2009, et un avis favorable a été émise par le CPP Sud-Ouest et Outre-Mer IV (n°CPP09-002/2008-008137-11) le 12 février 2009. En Belgique, l'autorisation de l'AFMPS (Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé ; n°AFMPS/R&D/CED/asa/100607) a été obtenue le 17 juin 2010.

L'étude a été enregistrée dans EudraCT sous le numéro 2008-008137-11 et dans Clinicaltrials.gov sous le numéro NCT00975663.

5.2.3 Approvisionnement en MMF : la spécificité belge

Le MMF n'ayant pas d'indication en transplantation pulmonaire, le Cellcept® n'est pas pris en charge par le système de sécurité sociale Belge. Le budget correspondant à la fourniture du Cellcept® était estimé à 240 000 euros pour 20 patients suivis pendant 3 ans. Devant l'importance de la participation de l'hôpital Erasme de Bruxelles (excellente collaboration et fort potentiel d'inclusion), le promoteur (CHU de Limoges), a accepté de prendre en charge les frais liés à l'achat du produit pendant la 1^{ère} année, à une hauteur maximum de 40 000€. L'investigateur coordonnateur avait la charge de trouver des solutions financières acceptables, sous la forme de co-financements, afin de permettre la poursuite de l'étude dans ce centre au-delà de la 1^{ère} année.

Le laboratoire Roche (international et filiale belge) a accepté un abattement de 50% sur le prix du médicament pour le centre de Bruxelles. Dans le même temps, une demande de remboursement du Cellcept® en transplantation pulmonaire avait été déposée par Roche

auprès des autorités Belges de santé. Malheureusement, cette demande a été refusée dans le courant de l'année 2010.

5.2.4 La concurrence avec l'étude COLT

L'étude Basalt a été mise en place de manière concomitante à une étude de cohorte menée par le CHU de Nantes, l'étude COLT (Cohort in Lung Transplantation). L'objectif de cette étude est de rechercher de nouveaux biomarqueurs spécifiques et prédictifs du développement de bronchiolite oblitérante sur une cohorte de 500 patients nouvellement transplantés pulmonaires (recrutés dans 10 centres de transplantation pulmonaire français). Dans ce cadre, un nombre important d'échantillons doit être prélevé chez chaque patient. Une convention avec l'étude COLT a été envisagée en mai 2010, dans le but de mettre en commun une partie des échantillons nécessaires à chaque étude. Le seul échantillon pouvant être mutualisé était un échantillon de sang prélevé pour les études de pharmacogénétique. Finalement, le volume important d'échantillons prélevés chez les patients inclus dans COLT a constitué un frein aux inclusions dans Basalt. Il est vraisemblable que les inclusions dans COLT aient été favorisées par les investigateurs au détriment des inclusions dans Basalt, car COLT ne modifie pas les pratiques « habituelles » de prise en charge des patients.

5.2.5 Mise en œuvre de l'étude

5.2.5.1 Les problèmes

Bien que le protocole ait été rédigé de manière concertée avec l'ensemble des investigateurs, la mise en œuvre pratique de l'étude a rencontré des problèmes liés au manque d'adhésion de la plupart des investigateurs. Ces problèmes ont motivé l'organisation de nouvelles réunions, dont une réunion investigateurs qui s'est tenue le 10 mars 2010 à Paris. Au cours de cette réunion, les points suivants ont été soulevés :

1. Le suivi des AUC imposait des contraintes mal acceptées par certains investigateurs :
 - Remplacer le suivi des C_0 par un suivi des AUC était perçu comme bien trop contraignant et trop lourd pour les patients.
 - Le suivi des AUC impliquait un changement des pratiques médicales que certains investigateurs n'étaient pas prêts à accepter. Certains investigateurs n'étaient pas

- prêts à abandonner, en particulier, le suivi du C_0 de tacrolimus (avec la possibilité de modifier la posologie par téléphone) pour les patients du groupe « optimisé ».
- Pour les patients vivant en province et suivis en région parisienne, les prélèvements devaient pouvoir être réalisés en laboratoire d'analyse médicale de ville. Le groupe coordonnateur a proposé de rédiger une procédure de prélèvements à l'intention de ces laboratoires et de fournir du matériel pour l'envoi des prélèvements.
2. Les posologies de MMF prévues au protocole n'étaient pas acceptées par certains investigateurs :
- Posologies initiales considérées comme trop élevées, en particulier pour les patients souffrant de mucoviscidose.
 - Crainte des posologies pouvant atteindre 4 g/jour dans le bras optimisé, ce qui ne correspondait pas du tout aux pratiques des cliniciens. Le groupe de coordination a souligné qu'il était essentiel de raisonner en concentrations et en exposition plutôt qu'en posologies (si l'absorption est faible –ou la clairance forte, des posologies élevées ne peuvent pas engendrer des expositions fortes et donc des risques de surdosage), mais ce concept a semblé difficile à accepter par certains investigateurs.
3. Problème posé par le calendrier de suivi : la fréquence des visites était inférieure à celle prévue au calendrier de visite de certains centres investigateurs.

5.2.5.2 Tentative de solution : amendement au protocole

Devant les problèmes de mise en œuvre de l'étude, le groupe coordonnateur a proposé un amendement au protocole.

Cet amendement a apporté une modification méthodologique à l'étude, en autorisant le suivi des patients du bras A « optimisé » sur la base des C_0 de tacrolimus (réalisés dans le centre investigateur ou en laboratoire de ville) entre les visites, en complément des AUC prévues au protocole.

En pratique, à chaque visite, un C_0 cible « période » était calculé pour chaque patient en fonction de l'AUC mesurée chez ce patient et de l'AUC cible pour la période ($C_0[\text{période}] = C_0[\text{mesuré}] \times \text{AUC}[\text{cible}] / \text{AUC}[\text{calculée}]$). Le C_0 cible pour la période courant jusqu'à la visite suivante correspondait alors à la moyenne flottante des C_0 « période » calculés lors des

3 visites précédentes et était rendu aux investigateurs. La posologie de tacrolimus devait alors être adaptée sur la base de ce C_0 cible calculé.

Le calcul de cibles individualisées (donc optimisées) de C_0 sur la base des valeurs d'AUC précédentes devait permettre de maintenir un bénéfice théorique dans le bras ajusté par rapport au bras témoin, où les « valeurs cibles » sont en réalité des intervalles statistiques définis par la pratique ou par quelques essais cliniques observationnels dans des populations de transplantés, essentiellement rénaux. L'avantage pour les cliniciens était de minimiser le changement d'habitudes engendré par un STP basé sur le suivi de l'AUC, et celui pour les patients revenus à domicile après la transplantation, était la possibilité de faire ce suivi intermédiaire en laboratoire d'analyses de ville, sans avoir à revenir dans le centre investigateur.

L'amendement a reçu un avis favorable du CPP SOOM IV le 23 juin 2010 et a été autorisé par l'AFSSAPS le 29 juillet 2010. Le 18 novembre 2010, le comité d'éthique de l'hôpital Erasme a autorisé l'étude en Belgique, sur la base du protocole amendé (n°P2010/234).

5.2.6 Centres investigateurs et inclusions

5.2.6.1 Bilan des ouvertures de centres

Initialement, 11 centres étaient pressentis pour participer à l'étude Basalt. La diversité des pratiques a conduit à la rédaction d'un protocole qui, malgré la volonté du centre coordonnateur de l'étude de susciter le consensus, n'a pas su emporter l'adhésion de tous les investigateurs. Au total, 4 centres ont finalement retiré leur engagement dans l'étude, portant le nombre de centres à 7. La première mise en place a eu lieu le 8 septembre 2009 (centre de Grenoble), et 3 centres ont été ouverts entre octobre 2009 et février 2010 (centres de Nantes, Strasbourg, Paris-HEGP). Toutefois, à la date du 5 janvier 2011, 3 centres n'étaient toujours pas ouverts, dont 2 par refus d'organiser une visite de mise en place. Le centre de Bruxelles n'était toujours pas ouvert en raison des difficultés posées par l'approvisionnement en Cellcept®.

5.2.6.2 Bilan des inclusions

Le premier patient a été inclus le 15 décembre 2009. Au 5 janvier 2011, seuls 12 patients avaient été inclus (dont 10 dans le centre de Grenoble), sur une centaine de patients attendus en théorie (le nombre d'inclusions prévues était de 180 patients en 2 ans). La courbe d'inclusions dans l'étude est représentée dans la figure 4.

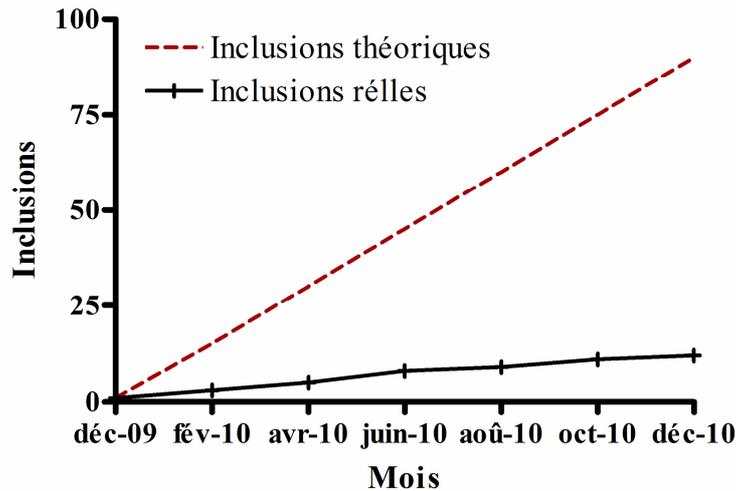


Figure 4. Courbe d'inclusions de l'étude Basalt.

5.2.6.3 Ouverture de l'essai à l'international

Devant le défaut d'inclusions et les réticences des centres malgré les tentatives de consensus et l'amendement au protocole, l'équipe coordinatrice a souhaité ouvrir l'étude à d'autres centres en Europe. Ainsi, le centre de transplantation pulmonaire de Vienne (Pr. W Klepteko) a été contacté mais n'a pas donné suite à la proposition. Le Pr. JD Aubert (centre de transplantation pulmonaire de Genève/Lausanne) a également été contacté et a émis un avis de principe favorable en septembre 2010. Malheureusement, les contraintes liées à l'organisation de l'étude et les contraintes locales (suivi des patients sur 2 sites, Lausanne et Genève) l'ont conduit à décliner la proposition.

5.2.7 Décision finale : arrêt de l'étude

Les multiples difficultés de mise en œuvre de cette étude, le manque d'adhésion de la plupart des centres et le très faible nombre d'inclusion ont conduit l'équipe coordinatrice et le promoteur à arrêter définitivement l'étude, lors du comité de suivi organisé le 5 janvier 2011.

5.2.8 Bilan

5.2.8.1 Adaptations de posologie : site internet « BASALT »

Un site d'adaptation de posologie spécifique à l'étude avait été développé dans le service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance et mis en ligne dans le courant de l'été 2009. Au 5 janvier 2011, le site regroupait 194 dossiers d'adaptation de posologie (117 pour les 6 patients du bras A et 77 pour les 6 patients du bras B). La répartition par centre et par molécule est présentée dans le tableau 3. Parmi les patients du bras A « optimisé », la posologie proposée de tacrolimus et de MMF n'a pas été respectée dans 79% des cas.

Tableau 3. Dossiers d'adaptation de posologie postés sur le site « BASALT »

Centre	Dossiers « tacrolimus »	Dossiers « mycophénolate »
Grenoble	73	79
Nantes	4	4
Strasbourg	18	16

5.2.8.2 Pharmacovigilance

Le deuxième rapport annuel de sécurité de l'étude a été établi le 1er avril 2011, sur les données de sécurité extraites à la date du 14 février 2011. La conclusion de ce rapport était la suivante :

Huit événements indésirables graves (EIG) ont été déclarés depuis le début de l'étude : 7 dans le bras A « optimisé » et 1 dans le bras B « témoin ». Un patient du bras A a eu à lui seul 4 EIG (patient n°801). Trois EIG ont été imputés par le promoteur comme pouvant être reliés aux médicaments immunosuppresseurs à l'étude, 2 EIG ont été imputés par le promoteur et/ou l'investigateur comme pouvant être liés à la procédure à l'étude.

Trois décès sont survenus durant l'étude : 2 dans le bras A et 1 dans le bras B. Ces décès sont survenus à la suite d'une défaillance multiviscérale, accompagnée d'un sepsis pour un patient, et n'ont été reliés ni aux traitements à l'étude ni au protocole. La mortalité « attendue » à un an en transplantation pulmonaire est de 30 %, ce qui correspond à la mortalité retrouvée dans l'étude.

Il est à noter que dans le bras A seulement 21 % des adaptations de posologies proposées ont été suivies par les investigateurs. La majorité des patients du bras A se trouvaient finalement dans une situation comparable à celle retrouvée dans le bras témoin.

L'étude laisse apparaître des effets indésirables graves attendus pour les médicaments à l'étude.

Cependant en raison d'un problème de dynamique de recrutement, le promoteur et l'investigateur principal ont décidé d'arrêter les inclusions. La fin de l'étude a été déclarée à l'AFSSAPS le 31/03/2011. Conformément au protocole, le comité de surveillance indépendant doit se réunir afin de statuer sur un éventuel suivi des patients ayant participé à l'étude.

6 Discussion générale

La finalité de ce travail de thèse était de mettre au point et de valider des outils d'individualisation du traitement immunosuppresseur en greffe pulmonaire qui contribueraient à l'amélioration de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires.

Pour cela, 3 axes complémentaires ont été développés. Le premier s'est intéressé au développement d'outils permettant l'estimation de l'exposition des patients aux deux immunosuppresseurs majoritairement utilisés en greffe pulmonaire, le tacrolimus et le mycophénolate, et l'ajustement individualisés des posologies de ces deux médicaments. Le deuxième axe s'est intéressé à la mise en place d'outils d'évaluation de l'efficacité et de la toxicité des médicaments immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. Dans le dernier axe, enfin, nous avons tenté de mettre en place une étude clinique de type « preuve de concept » évaluant l'intérêt du STP et de l'individualisation de la posologie du tacrolimus et du mycophénolate basés sur la détermination de leur AUC, en utilisant les outils développés dans les deux premiers axes.

Dans ce travail, deux modèles de pharmacocinétique de population ont été mis au point, le premier pour le MPA chez les patients transplantés pulmonaires et rénaux, le second pour le tacrolimus chez les patients transplantés pulmonaires. A ce jour, aucune étude de pharmacocinétique de population sur le tacrolimus ou le mycophénolate n'a été conduite chez des patients transplantés pulmonaires. Ainsi, pour la première fois, des modèles de pharmacocinétique de population ont été développés pour des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire, et des facteurs influençant la pharmacocinétique du tacrolimus et du MPA dans cette population ont été mis en évidence. L'étude de la pharmacocinétique du MPA a permis de confirmer que celle-ci ne pouvait être simplement extrapolée à la transplantation pulmonaire à partir des observations en transplantation rénale.^[54] En effet, dans ce travail, nous avons pu montrer que l'absorption du MPA était plus lente et la clairance apparente plus élevée chez les patients transplantés pulmonaires que chez les patients transplantés rénaux. Ces différences pourraient être expliquées par des procédures chirurgicales différentes et par une physiologie rénale différente. En effet, la gastroparésie, fréquemment observée chez les patients transplantés pulmonaires, pourrait expliquer une absorption plus lente.^[49,50] Par ailleurs, il est très probable que les patients transplantés rénaux aient une physiologie et une fonction rénale particulières, non comparable à la fonction rénale

« normale » des patients transplantés pulmonaires, ce qui pourrait expliquer une élimination de la molécule plus rapide chez les patients transplantés pulmonaires. Par ailleurs, les études de la pharmacocinétique du MPA et du tacrolimus ont permis de confirmer que la biodisponibilité de ces molécules était diminuée chez les patients souffrant de mucoviscidose, par rapport aux patients qui en étaient exempts, malgré l'administration d'enzymes pancréatiques et de sels biliaires. La plus faible biodisponibilité du tacrolimus et du mycophénolate chez les patients souffrant de mucoviscidose, précédemment rapportée dans la littérature,^[61,63,69] mais jamais quantifiée, pourrait être expliquée par les troubles pancréatiques et gastro-intestinaux chroniques dont souffrent les patients atteints de mucoviscidose, comprenant l'altération du pH gastro-intestinal et les troubles d'absorption des lipides, liés à l'insuffisance pancréatique exocrine. Enfin, l'influence du polymorphisme génétique du *CYP3A5* sur la clairance apparente du tacrolimus, décrite précédemment en transplantation rénale^[64] et chez des patients sur liste d'attente de greffe rénale,^[65] a été retrouvée dans cette population de patients transplantés pulmonaires.

Ce travail a également permis de développer et valider des estimateurs Bayésiens permettant d'estimer l'exposition au tacrolimus et au MPA, à partir de seulement 3 prélèvements sanguins, chez les patients transplantés pulmonaires. Les performances prédictives de l'estimateur Bayésien développé pour le MPA étaient moins bonnes que celles rapportées par notre équipe dans des travaux antérieurs pour d'autres types de pathologies (greffe rénale, maladies auto-immunes).^[101-103] En effet, le biais sur l'estimation de l'AUC était >25% pour 10/35 profils pharmacocinétiques, dont 9 pour des patients co-traités par tacrolimus. Toutefois, cet estimateur Bayésien semble suffisamment performant pour discriminer les patients présentant une AUC dans la cible définie en transplantation rénale (30 à 60 h.mg/L^[100]) des patients sous-exposés en MPA, ce qui est le cas de nombreux patients en transplantation pulmonaire : dans l'étude Stimmugrep, l'AUC_{0-12h} médiane de MPA calculée par la méthode des trapèzes linéaires variait entre 18,8 et 25,7 h.mg/L selon les périodes (min, 2,3 h.mg/L ; max, 79,5 h.mg/L), pour des doses administrées allant de 250 à 1500 mg, avec AUC_{0-12h}<30 h.mg/L dans près de 2/3 des cas. De plus, la dose proposée en utilisant l'estimateur Bayésien était identique, à ±250 mg près, à celle calculée en se servant de l'AUC déterminée par la méthode des trapèzes, dans 33/35 cas (dose proposée strictement identique dans 26 cas). Malgré ses limites, cet outil permet donc de fournir aux cliniciens des informations sur l'exposition au MPA et de les guider dans l'individualisation des posologies *a priori*, plutôt que de procéder à des ajustements empiriques de la posologie, sur des critères

cliniques d'inefficacité ou de toxicité. L'estimateur Bayésien développé pour le tacrolimus permet quant à lui d'estimer de manière précise l'exposition des patients transplantés pulmonaires au tacrolimus. Dans l'étude Stimmugrep, selon la période, entre 30 et 50% des patients présentaient une AUC_{0-12h} de tacrolimus inférieure à la cible proposée dans la dernière conférence de consensus pour la transplantation rénale (150 h. μ g/L avant M3, 120 h. μ g/L après M3).^[42] Notre estimateur Bayésien, permettant de calculer l' AUC_{0-12h} chez les patients transplantés pulmonaires de manière performante, pourrait donc contribuer à diminuer la proportion de patients sous-exposés au tacrolimus, en permettant le calcul de la dose nécessaire à chaque patient pour atteindre l'exposition cible. Seuls deux estimateurs Bayésiens pour le tacrolimus en transplantation pulmonaire ou cardio-pulmonaire ont été précédemment développés, d'ailleurs dans notre équipe, pour les patients avec ou sans mucoviscidose.^[63] Ces estimateurs Bayésiens étaient basés sur la méthode IT2B. Cette méthode nécessite des groupes homogènes de patients, contrairement à l'analyse de population où les patients inclus doivent être représentatifs de la population générale, afin de décrire et d'expliquer la variabilité pharmacocinétique. Regrouper tous les patients dans une population unique permet d'augmenter la puissance de l'analyse et d'estimer l'influence de covariables telles que la mucoviscidose ou le polymorphisme génétique du *CYP3A5*. Par ailleurs, l'intérêt du travail présenté dans cette thèse réside dans la mise au point d'un estimateur Bayésien commun pour les patients avec et sans mucoviscidose, probablement plus facile à utiliser en pratique de routine que si les stratégies d'échantillonnage limité sont différentes en fonction du sous-groupe de patients. Au total, les outils de STP développés dans ce travail pourraient donc tous deux contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires. Leur intérêt est d'autant plus grand pour la prise en charge des patients souffrant de mucoviscidose, chez lesquels les doses nécessaires d'immunosuppresseurs sont probablement plus élevées et la thérapie immunosuppressive particulièrement difficile à optimiser. Enfin, ces outils pourraient être utilisés dans le cadre d'essais cliniques étudiant les relations entre exposition et effets (efficacité ou toxicité), permettant de définir des cibles d'exposition au tacrolimus et au MPA en transplantation pulmonaire, ainsi que dans des essais cliniques comparant différents index d'exposition et/ou outils de STP pour ces molécules et dans cette population.

Le travail effectué dans le cadre du deuxième axe a permis de construire un outil d'évaluation de l'efficacité et de la toxicité des médicaments immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. En effet, une conférence de consensus internationale, menée sous

l'égide des sociétés savantes ISHLT et TTS, a permis de proposer des critères de jugement composites (CEP) pouvant être utilisés dans les essais cliniques sur les immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. A notre connaissance, c'est la première fois qu'une telle conférence de consensus est menée en transplantation. La conférence de consensus a proposé 2 CEP, un pour l'évaluation de l'efficacité, constitué de 7 items, et un pour l'évaluation de la toxicité, constitué de 12 items. Ces critères de jugement composites ont le format de deux scores, calculés pour chaque patient en additionnant les poids de chaque événement les constituant et se produisant au cours du suivi du patient. La conférence de consensus a permis de mettre en lumière les problèmes diagnostiques posés par le suivi des patients transplantés pulmonaires. En effet, les commentaires des experts font apparaître une grande variabilité de l'interprétation des biopsies transbronchiques, pourtant réputées être un critère « dur » pour le diagnostic du rejet de greffe. Par ailleurs, certains items inclus dans les CEP ne font pas l'objet de consensus entre des experts internationaux. C'est le cas, par exemple, des anticorps spécifiques dirigés contre le donneur : leur impact sur la survie à long terme semble faire l'objet d'une controverse et sa valeur prédictive positive mise en cause par certains experts. De même, il n'existe aucune définition consensuelle du rejet humoral, alors que celui-ci a été intégré dans le CEP d'efficacité. Une limite des CEP proposés à l'occasion de cette conférence de consensus réside dans les poids attribués aux items les constituant. En effet, malgré le cadre fixé pour l'attribution des poids (100 pour tout décès imputable à la perte du greffon ou à la toxicité du traitement immunosuppresseur, et score capé à 90 tant que le patient est encore en vie) et bien que les experts aient été avertis que l'attribution d'un poids trop élevé aux critères de jugement inclus dans les CEP présentait le risque d'aboutir à des CEP non discriminants, les poids déterminés à l'issue de la conférence de consensus sont élevés. Par ailleurs, le mode de calcul du score, en particulier pour le CEP d'efficacité, pourrait être amélioré. En effet, la conférence de consensus a retenu l'option d'additionner les poids des items constitutifs du CEP au cours de la période de suivi. Toutefois, ceci n'est probablement pas très approprié pour ce qui concerne le rejet aigu et le BOS. Le risque d'occurrence d'un premier épisode de rejet aigu n'est probablement pas le même que le risque d'occurrence d'un deuxième (ou n^{ième}) épisode de rejet aigu. De plus, l'impact sur la survie du patient lié à l'occurrence de 2 épisodes de rejet aigu de niveau A2, par exemple, n'est probablement pas simplement égal à 2 fois l'impact lié à l'occurrence d'un épisode de rejet aigu de niveau A2 unique. De même, le grade d'un deuxième ou d'un troisième rejet est probablement conditionné par les antécédents de rejet aigu. Les risques de rejet aigu ne sont donc vraisemblablement pas indépendants. Par ailleurs, le risque de rejet chronique est

conditionné par l'occurrence des épisodes de rejet aigu^[6,104] : la prise en compte du BOS dans le score devrait donc être conditionnée sur les antécédents de rejet aigu. Enfin, il ne semble pas pertinent d'additionner les poids des niveaux successifs de BOS. En effet, le BOS est un syndrome évolutif, ce qui signifie qu'un BOS2 est consécutif à un BOS1, et dans ce cas leur impact sur la survie du patient ne devrait pas être pris en compte de manière simplement « additive ». Il aurait probablement été plus judicieux, pour le BOS, de prendre en compte dans un score uniquement le poids correspondant au degré de BOS le plus élevé. Cela dit, prendre en compte tous ces éléments aurait abouti à un questionnaire extrêmement compliqué et peut-être non adapté à la méthode Delphi. Malgré leurs limites, les CEP proposés dans cette conférence de consensus présentent l'avantage indéniable de proposer un outil simple à utiliser dans le cadre d'essais cliniques sur les immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire, à la condition que ceux-ci soient validés. Cette conférence de consensus a permis également de définir des critères de jugement pertinents dont l'impact sur la survie des patients devrait être étudié, et qui pourraient être intégrés dans des modèles statistiques tels que les modèles de progression de la maladie. De tels modèles permettraient également de prendre en compte l'impact de leur évolution (et de l'évolution des scores) au cours du temps sur la survie des patients.

Le dernier axe développé dans ce travail s'est intéressé à la mise en place d'un essai clinique randomisé (Basalt) évaluant l'intérêt du STP et de l'individualisation de la posologie du tacrolimus et du mycophénolate basés sur la détermination de leur AUC. Dans l'étude Basalt, l'estimation de l'AUC de tacrolimus et de MPA devait être réalisée avec des estimateurs Bayésiens développés par la méthode IT2B, parallèlement à l'analyse de pharmacocinétique de population présentée dans ce travail. Quatre estimateurs Bayésiens basés sur cette méthode ont été développés pour le tacrolimus et pour le mycophénolate (pour les patients avec et sans mucoviscidose, et en fonction de la période post-greffe, <M3 ou >M3). Les estimateurs Bayésiens dédiés au calcul de l'AUC du MPA ne sont applicables qu'aux patients recevant également du tacrolimus (la ciclosporine interagissant avec la pharmacocinétique du MPA, des estimateurs Bayésiens différents sont nécessaires selon l'anti-calcineurine associé). Le développement d'estimateurs Bayésiens par la méthode IT2B a pu être réalisé plus rapidement que l'analyse de pharmacocinétique de population, car cette méthode tolère des populations de plus faible effectif. Ainsi, les estimateurs Bayésiens basés sur la méthode IT2B ont pu être utilisés dès la mise en place de l'étude Basalt, alors que ceux basés sur l'analyse pharmacocinétique de population n'étaient pas encore disponibles. Ces

estimateurs Bayésiens devaient être utilisés tout au long de l'étude Basalt, dans un souci d'uniformité dans les méthodes de calcul utilisées pour l'étude. Outre l'objectif principal, l'intérêt de l'étude Basalt était également d'appliquer les CEP proposés par la conférence de consensus. Les problèmes rencontrés pour la mise en œuvre d'un tel essai clinique ont mis en évidence les difficultés de prise en charge des patients transplantés pulmonaires, dont le suivi est extrêmement complexe. Avec environ 200 greffes par an, le nombre de transplantations pulmonaires en France est faible. En ce sens, la transplantation pulmonaire pourrait être assimilée à une maladie orpheline. De plus, près d'un tiers des patients greffés sont atteints de mucoviscidose et souffrent donc de multiples co-morbidités qui complexifient d'autant leur prise en charge. Les cliniciens qui suivent ces patients souvent jeunes sont donc prudents et il est parfois difficile de mettre en place des essais interventionnels, qui les obligent à changer leurs habitudes de prescription. La difficulté provient également du manque de standardisation des pratiques, et d'un manque de consensus entre les différents experts de la transplantation en France (voire à l'étranger). Ce manque de consensus a été mis en évidence lors de la rédaction du protocole de l'étude Basalt. Par exemple, les doses d'immunosuppresseurs habituellement prescrites (en particulier, pour le mycophénolate) varient du simple au double d'un centre à l'autre. De même, les protocoles de suivi des patients ne sont pas standardisés, et si certains centres sont extrêmement interventionnels en ce qui concerne la pratique des biopsies transbronchiques, d'autres sont bien plus conservateurs, en raison notamment du risque lié à l'acte (en particulier, risque d'hémorragie). Le manque de standardisation a également bien été souligné par les experts internationaux qui ont participé à la conférence de consensus Delphi, particulièrement sur les outils et les techniques diagnostiques (lecture des lames de biopsie, définition du rejet humoral, impact des anticorps spécifiques du donneur). La conduite d'un essai interventionnel tel que Basalt était donc peut-être un peu prématurée. Avec le recul, une étude de cohorte de type pharmacoépidémiologique, s'intéressant aux outils diagnostiques, aux stratégies thérapeutiques et de suivi des patients transplantés pulmonaires, et à leur devenir à long terme semble plus pertinente dans un premier temps.

7 Conclusion et perspectives

Les travaux réalisés au cours de cette thèse ont permis d'améliorer les connaissances sur la pharmacologie des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire et de proposer des outils qui contribueront à l'amélioration de la prise en charge des patients.

Ces travaux ont tout d'abord permis d'améliorer la connaissance de la pharmacocinétique du tacrolimus et du mycophénolate chez les patients transplantés pulmonaires. En effet, nous avons pu confirmer les spécificités de la transplantation pulmonaire par rapport à la transplantation rénale, et, parmi les patients transplantés pulmonaires, les particularités liées à la mucoviscidose. Des stratégies immunosuppressives adaptées à la transplantation pulmonaire, et en particulier à la mucoviscidose, semblent donc justifiées et permettraient de contribuer à l'amélioration de la prise en charge de tels patients. Des études de pharmacocinétique sur de plus grands nombres de patients permettraient probablement d'améliorer la connaissance de la pharmacocinétique de ces immunosuppresseurs, et en particulier d'identifier de nouveaux facteurs qui pourraient l'influencer (en particulier, d'autres polymorphismes génétiques). De plus, l'étude de la pharmacocinétique de la ciclosporine en transplantation pulmonaire permettrait d'augmenter les connaissances sur la pharmacocinétique des immunosuppresseurs dans cette population. Ce travail est en cours et a fait l'objet d'un Master 2 Recherche dans l'UMR-S850 INSERM. Enfin, des études basées sur le suivi de l'exposition aux immunosuppresseurs des patients transplantés pulmonaires permettraient une analyse fine des relations entre pharmacocinétique et effets, et de déterminer des AUC cibles adaptées à cette population.

Les travaux réalisés au cours de cette thèse ont également permis de développer des estimateurs Bayésiens permettant de prédire avec précision l'AUC_{0-12h} du tacrolimus et du MPA, à partir de trois prélèvements sanguins. Des études comparant différents index d'exposition des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire sont désormais nécessaires pour valider, le cas échéant, l'intérêt du STP du tacrolimus basé sur le suivi de l'AUC plutôt que sur le suivi du C₀. L'objectif de l'étude Basalt, présentée dans ce travail, était de répondre à cette question. Malheureusement, cette étude n'a pas pu être menée à bien par notre équipe, notamment en raison d'un manque de standardisation des pratiques en greffe pulmonaire en France et en Belgique, et de la crainte des investigateurs de modifier leurs habitudes de suivi de ces patients difficiles. Une autre difficulté résidait dans le fait que cette

étude s'adressait à une population restreinte (environ 200 patients transplantés pulmonaires par an en France), et les patients inclus devaient recevoir une bithérapie tacrolimus – MMF, puisque elle proposait deux interventions en parallèle (AUC de tacrolimus et de mycophénolate), réduisant le potentiel d'inclusions qui était déjà faible. De telles études pourront peut-être être mises en place au niveau international, à l'initiative et sous l'égide de sociétés savantes telles que l'ISHLT ou l'American Transplant Society, ce qui permettrait d'accroître le potentiel d'inclusions et les chances de succès. Des recommandations consensuelles, émanant de telles sociétés savantes, sur la prise en charge et le suivi des patients transplantés pulmonaires, semblent également nécessaires. Toutefois, même non validés dans des essais cliniques de STP, nos estimateurs Bayésiens ont été validés sur leur capacité à prédire l'AUC et donc à estimer l'exposition au tacrolimus et au MPA. L'ensemble des estimateurs Bayésiens, basés sur l'analyse pharmacocinétique de population et sur la méthode IT2B, sont dorénavant à la disposition des cliniciens en charge du suivi des patients transplantés pulmonaires, via le site Internet ABIS, pour le STP de ces patients en routine. L'utilisation de ces deux approches pharmacocinétiques indépendantes permet ainsi de sécuriser l'estimation des paramètres pharmacocinétiques individuels et adaptations de posologie recommandées. Compatibles avec les pratiques cliniques de routine, ils permettront d'individualiser la posologie de ces molécules chez les patients transplantés pulmonaires, dès les premiers jours post-greffe. A l'avenir, l'utilisation de ces outils en routine pourrait être facilitée par l'utilisation de « dried blood spots », pour lesquels les prélèvements peuvent être effectués à domicile par les patients eux-mêmes, sur un système de buvard qui peut ensuite être envoyé par voie postale au laboratoire, pour analyse.

Enfin, les travaux réalisés au cours de cette thèse ont permis de mettre en place des outils d'évaluation de l'efficacité et de la toxicité des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. A notre connaissance, aucune conférence de consensus de ce type n'a jamais été conduite pour les essais cliniques en transplantation, quel que soit l'organe. Le caractère innovant de ce travail a permis d'obtenir l'adhésion et le soutien actif de deux sociétés savantes internationales, TTS et l'ISHLT, et la participation fidèle, pendant une année complète, de 20 experts internationaux dans le domaine de la transplantation pulmonaire. Une fois validés, les critères de jugement composites d'efficacité et de toxicité proposés par la conférence de consensus pourront être utilisés pour la conduite d'essais cliniques sur les immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. Leur validation sera réalisée par l'UMR-S850 INSERM, dans la cohorte des patients qui ont participé à l'étude Stimmugrep. Ce projet

a obtenu le soutien financier de l'association Vaincre La Mucoviscidose. La cohorte BELT (Benefits and risks Evaluation after Lung Transplantation) regroupera tous les patients de l'étude Stimmugrep, chez lesquels le recueil des données de suivi sera effectué pour une période correspondant à leurs 5 premières années post-greffe. Les critères de jugement identifiés dans la conférence de consensus pourront par ailleurs être testés dans des modèles statistiques de progression de la maladie, permettant ainsi de tendre vers un niveau de preuve plus élevé que celui d'une conférence de consensus d'experts.^[105] L'utilisation des critères d'évaluation composites proposés dans ce travail permettra d'améliorer la méthodologie de l'évaluation des stratégies immunosuppressives et donc contribuera à une amélioration de la prise en charge des patients transplantés pulmonaires.

Bibliographie

1. Agence de la Biomédecine. Principaux chiffres nationaux 2010. Disponible sur: <http://www.agence-biomedecine.fr/agence/nationaux.html> (consulté le 27-4-2011)
2. Christie JD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-seventh official adult lung and heart-lung transplant report--2010. *J Heart Lung Transplant* 2010 Oct; 29 (10): 1104-1118
3. Agence de la Biomédecine. Rapport de l'Agence de Biomédecine 2009. Disponible sur: http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2009/donnees/prelevement/01-organes/04greffe_poumon/synthese.php (consulté le 21-6-2011)
4. Agence de la Biomédecine. Rapport de l'Agence de Biomédecine 2009. Disponible sur: http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2009/donnees/prelevement/01-organes/04greffe_poumon/tableaux_figures.php (consulté le 21-6-2011)
5. Jaksch P, Kocher A, Neuhauser P, et al. Monitoring C2 level predicts exposure in maintenance lung transplant patients receiving the microemulsion formulation of cyclosporine (Neoral). *J Heart Lung Transplant* 2005 Aug; 24 (8): 1076-1080
6. Estenne M, Maurer JR, Boehler A, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. *J Heart Lung Transplant* 2002 Mar; 21 (3): 297-310
7. McNeil K, Glanville AR, Wahlers T, et al. Comparison of mycophenolate mofetil and azathioprine for prevention of bronchiolitis obliterans syndrome in de novo lung transplant recipients. *Transplantation* 2006 Apr 15; 81 (7): 998-1003
8. Galiwango PJ, Delgado DH, Yan R, et al. Mycophenolate mofetil dose reduction for gastrointestinal intolerance is associated with increased rates of rejection in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 2008 Jan; 27 (1): 72-77
9. Snell GI, Westall GP. Immunosuppression for lung transplantation: evidence to date. *Drugs* 2007; 67 (11): 1531-1539
10. Wallemacq PE, Reding R. FK506 (tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects. *Clin Chem* 1993 Nov; 39 (11 Pt 1): 2219-2228
11. Ho S, Clipstone N, Timmermann L, et al. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol Immunopathol* 1996 Sep; 80 (3 Pt 2): S40-S45
12. Treede H, Klepetko W, Reichenspurner H, et al. Tacrolimus versus cyclosporine after lung transplantation: a prospective, open, randomized two-center trial comparing two different immunosuppressive protocols. *J Heart Lung Transplant* 2001 May; 20 (5): 511-517
13. Hachem RR, Yusef RD, Chakinala MM, et al. A randomized controlled trial of tacrolimus versus cyclosporine after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2007 Oct; 26 (10): 1012-1018
14. Keenan RJ, Konishi H, Kawai A, et al. Clinical trial of tacrolimus versus cyclosporine in lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1995 Sep; 60 (3): 580-584
15. Aurora P, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirteenth official pediatric lung and heart-lung transplantation report--2010. *J Heart Lung Transplant* 2010 Oct; 29 (10): 1129-1141

16. Allison AC, Eugui EM. The design and development of an immunosuppressive drug, mycophenolate mofetil. *Springer Semin Immunopathol* 1993; 14 (4): 353-380
17. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation* 1995 Aug 15; 60 (3): 225-232
18. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet* 1995 May 27; 345 (8961): 1321-1325
19. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1996 Apr 15; 61 (7): 1029-1037
20. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007; 46 (1): 13-58
21. Ensom MH, Partovi N, Decarie D, et al. Pharmacokinetics and protein binding of mycophenolic acid in stable lung transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2002 Apr; 24 (2): 310-314
22. Bullingham RE, Nicholls AJ, Kamm BR. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet* 1998 Jun; 34 (6): 429-455
23. Ransom JT. Mechanism of action of mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit* 1995 Dec; 17 (6): 681-684
24. Baraldo M, Isola M, Feruglio MT, et al. Therapeutic mycophenolic acid monitoring by means of limited sampling strategy in orthotopic heart transplant patients. *Transplant Proc* 2005 Jun; 37 (5): 2240-2243
25. Armstrong VW, Tenderich G, Shipkova M, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of mycophenolic acid after intravenous administration and oral administration of mycophenolate mofetil to heart transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2005 Jun; 27 (3): 315-321
26. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology* 2000 May; 47 (2-3): 85-118
27. Vidal E, Cantarell C, Capdevila L, et al. Mycophenolate mofetil pharmacokinetics in transplant patients receiving cyclosporine or tacrolimus in combination therapy. *Pharmacol Toxicol* 2000 Oct; 87 (4): 182-184
28. Ensom MH, Partovi N, Decarie D, et al. Mycophenolate pharmacokinetics in early period following lung or heart transplantation. *Ann Pharmacother* 2003 Dec; 37 (12): 1761-1767
29. European Medicine Agency. European Public Assessment Report : CellCept. EMEA/H/C/082. 2008 Feb
30. Pou L, Brunet M, Cantarell C, et al. Mycophenolic acid plasma concentrations: influence of comedication. *Ther Drug Monit* 2001 Feb; 23 (1): 35-38
31. Palmer SM, Baz MA, Sanders L, et al. Results of a randomized, prospective, multicenter trial of mycophenolate mofetil versus azathioprine in the prevention of acute lung allograft rejection. *Transplantation* 2001 Jun 27; 71 (12): 1772-1776
32. Wiesner R, Rabkin J, Klintmalm G, et al. A randomized double-blind comparative study of mycophenolate mofetil and azathioprine in combination with cyclosporine

- and corticosteroids in primary liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2001 May; 7 (5): 442-450
33. Kobashigawa J, Miller L, Renlund D, et al. A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. *Mycophenolate Mofetil Investigators. Transplantation* 1998 Aug 27; 66 (4): 507-515
 34. Kobashigawa JA, Meiser BM. Review of major clinical trials with mycophenolate mofetil in cardiac transplantation. *Transplantation* 2005 Oct 15; 80 (2 Suppl): S235-S243
 35. Marquet P. Proposition for a new definition of therapeutic drug monitoring. *Communication personnelle* 2003
 36. Oellerich M, Armstrong VW. The role of therapeutic drug monitoring in individualizing immunosuppressive drug therapy: recent developments. *Ther Drug Monit* 2006 Dec; 28 (6): 720-725
 37. 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 Jul 15; 68 (1): 55-62
 38. Lindholm A, Kahan BD. Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations, and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 1993 Aug; 54 (2): 205-218
 39. Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group. Absorption profiling of cyclosporine microemulsion (Neoral) during the first 2 weeks after renal transplantation. *Transplantation* 2001 Sep 27; 72 (6): 1024-1032
 40. Levy GA. C2 monitoring strategy for optimising cyclosporin immunosuppression from the Neoral formulation. *BioDrugs* 2001; 15 (5): 279-290
 41. Kahan BD, Keown P, Levy GA, et al. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther* 2002 Mar; 24 (3): 330-350
 42. Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit* 2009 Apr; 31 (2): 139-152
 43. Le Meur Y, Buchler M, Thierry A, et al. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant* 2007 Nov; 7 (11): 2496-2503
 44. Urien S. Approches de population et modélisation en pharmacologie. *La Lettre du pharmacologue* 2002; 16 (3): 79-81
 45. Sheiner LB, Rosenberg B, Melmon KL. Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput Biomed Res* 1972 Oct; 5 (5): 411-459
 46. Beal SL, Sheiner LB. *NONMEM User's Guide*. NONMEM Project Group, University of California. San Francisco, CA. 1992
 47. Beal SL, Sheiner LB. The NONMEM System. *Amer Statist* 1980; 34: 118-119
 48. Holford, N. H. The Visual Predictive Check - Superiority to Standard Diagnostic (Rorschach) Plots. Abstracts of the Annual Meeting of the Population Groupe in Europe. 14th PAGE Meeting. Pamplona, Spain. 2005: 14
 49. Shafi MA, Pasricha PJ. Post-surgical and obstructive gastroparesis. *Curr Gastroenterol Rep* 2007 Aug; 9 (4): 280-285

50. Sodhi SS, Guo JP, Maurer AH, et al. Gastroparesis after combined heart and lung transplantation. *J Clin Gastroenterol* 2002 Jan; 34 (1): 34-39
51. Leschziner GD, Andrew T, Pirmohamed M, et al. ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research. *Pharmacogenomics J* 2007 Jun; 7 (3): 154-179
52. Kreutz R, Zurcher H, Kain S, et al. The effect of variable CYP3A5 expression on cyclosporine dosing, blood pressure and long-term graft survival in renal transplant patients. *Pharmacogenetics* 2004 Oct; 14 (10): 665-671
53. Anglicheau D, Thervet E, Etienne I, et al. CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphisms and cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75 (5): 422-33
54. Monchaud C, Marquet P. Pharmacokinetic optimization of immunosuppressive therapy in thoracic transplantation: part II. *Clin Pharmacokinet* 2009; 48 (8): 489-516
55. Monchaud C, Marquet P. Pharmacokinetic optimization of immunosuppressive therapy in thoracic transplantation: part I. *Clin Pharmacokinet* 2009; 48 (7): 419-462
56. Laskow DA, Vincenti F, Neylan JF, et al. An open-label, concentration-ranging trial of FK506 in primary kidney transplantation: a report of the United States Multicenter FK506 Kidney Transplant Group. *Transplantation* 1996 Oct 15; 62 (7): 900-905
57. Tsunoda SM, Aweeka FT. The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996 Feb; 30 (2): 107-140
58. Wang CH, Ko WJ, Chou NK, et al. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus in cardiac transplant recipients: a comparison with cyclosporine neoral. *Transplant Proc* 2004 Oct; 36 (8): 2386-2387
59. Aidong W, Zhenjie C, Tong L, et al. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus in early stage after heart transplantation. *Transplant Proc* 2004 Oct; 36 (8): 2388-2389
60. Aumente Rubio MD, rizon del Prado JM, Lopez Malo de Molina MD, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus in heart transplantation: new strategies of monitoring. *Transplant Proc* 2003 Aug; 35 (5): 1988-1991
61. Knoop C, Thiry P, Saint-Marcoux F, et al. Tacrolimus pharmacokinetics and dose monitoring after lung transplantation for cystic fibrosis and other conditions. *Am J Transplant* 2005 Jun; 5 (6): 1477-1482
62. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43 (10): 623-53
63. Saint-Marcoux F, Knoop C, Debord J, et al. Pharmacokinetic study of tacrolimus in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis lung transplant patients and design of Bayesian estimators using limited sampling strategies. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44 (12): 1317-1328
64. Benkali K, Premaud A, Picard N, et al. Tacrolimus population pharmacokinetic-pharmacogenetic analysis and Bayesian estimation in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2009; 48 (12): 805-816
65. Musuamba FT, Mourad M, Haufroid V, et al. Time of drug administration, CYP3A5 and ABCB1 genotypes, and analytical method influence tacrolimus pharmacokinetics: a population pharmacokinetic study. *Ther Drug Monit* 2009 Dec; 31 (6): 734-742

66. Thervet E, Anglicheau D, King B, et al. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation* 2003 Oct 27; 76 (8): 1233-1235
67. Benabdeslam H, Garcia I, Bellon G, et al. Biochemical assessment of the nutritional status of cystic fibrosis patients treated with pancreatic enzyme extracts. *Am J Clin Nutr* 1998 May; 67 (5): 912-918
68. de Winter BC, van GT, Sombogaard F, et al. Pharmacokinetic role of protein binding of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite in renal transplant recipients. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2009 Dec; 36 (6): 541-564
69. Gerbase MW, Fathi M, Spiliopoulos A, et al. Pharmacokinetics of mycophenolic acid associated with calcineurin inhibitors: long-term monitoring in stable lung recipients with and without cystic fibrosis. *J Heart Lung Transplant* 2003 May; 22 (5): 587-590
70. US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. Mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 1999 Aug; 34 (2): 296-303
71. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. Mycophenolate mofetil in renal transplantation: 3-year results from the placebo-controlled trial. *Transplantation* 1999 Aug 15; 68 (3): 391-396
72. Shaw LM, Korecka M, Venkataramanan R, et al. Mycophenolic acid pharmacodynamics and pharmacokinetics provide a basis for rational monitoring strategies. *Am J Transplant* 2003 May; 3 (5): 534-542
73. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, et al. The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 1998 Dec; 64 (6): 672-683
74. van Gelder T., Hilbrands LB, Vaurenterghem Y, et al. A randomized double-blind, multicenter plasma concentration controlled study of the safety and efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 1999 Jul 27; 68 (2): 261-266
75. Shaw LM, Sollinger HW, Halloran P, et al. Mycophenolate mofetil: a report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995 Dec; 17 (6): 690-699
76. Fulton B, Markham A. Mycophenolate mofetil. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and clinical efficacy in renal transplantation. *Drugs* 1996 Feb; 51 (2): 278-298
77. Pirsch JD, Sollinger HW. Mycophenolate mofetil--clinical and experimental experience. *Ther Drug Monit* 1996 Aug; 18 (4): 357-361
78. Weber LT, Lamersdorf T, Shipkova M, et al. Area under the plasma concentration-time curve for total, but not for free, mycophenolic acid increases in the stable phase after renal transplantation: a longitudinal study in pediatric patients. German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Ther Drug Monit* 1999 Oct; 21 (5): 498-506
79. Ting LS, Partovi N, Levy RD, et al. Limited sampling strategy for predicting area under the concentration-time curve of mycophenolic acid in adult lung transplant recipients. *Pharmacotherapy* 2006 Sep; 26 (9): 1232-1240
80. de Winter BC, Mathot RA, van Hest RM, et al. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: does it improve patient outcome? *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007 Apr; 3 (2): 251-261
81. Lee PI. Design and power of a population pharmacokinetic study. *Pharm Res* 2001 Jan; 18 (1): 75-82

82. Etienne I, Toupance O, Thierry A, et al. Benefit of a 50% Reduction of Cyclosporine Exposure in Stable Kidney Transplant Recipients Treated with MMF without Corticosteroids. The DICAM Randomized Study. *Am J Transplant* 2007 May; 7 (52): 207
83. van Gelder T, Silva HT, de Fijter JW, et al. Comparing mycophenolate mofetil regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial. *Transplantation* 2008 Oct 27; 86 (8): 1043-1051
84. Snell GI, Valentine VG, Vitulo P, et al. Everolimus versus azathioprine in maintenance lung transplant recipients: an international, randomized, double-blind clinical trial. *Am J Transplant* 2006 Jan; 6 (1): 169-177
85. Mullen PM. Delphi: myths and reality. *J Health Organ Manag* 2003; 17 (1): 37-52
86. Bourree F, Michel P, Salmi LR. [Consensus methods: review of original methods and their main alternatives used in public health]. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2008 Dec; 56 (6): 415-423
87. Linstone HA, Turoff M. *The Delphi Method: Techniques and Applications*. Addison-Wesley Pub. Co., Advanced Book Program. 1975
88. Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, et al. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant* 2007 Dec; 26 (12): 1229-1242
89. Cooper JD, Billingham M, Egan T, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature and for clinical staging of chronic dysfunction in lung allografts. International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1993 Sep; 12 (5): 713-716
90. Undre NA, van HJ, Christiaans M, et al. Low systemic exposure to tacrolimus correlates with acute rejection. *Transplant Proc* 1999 Feb; 31 (1-2): 296-298
91. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, et al. Clinical efficacy and toxicity profile of tacrolimus and mycophenolic acid in relation to combined long-term pharmacokinetics in de novo renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2004 May; 75 (5): 434-447
92. Scholten EM, Cremers SC, Schoemaker RC, et al. AUC-guided dosing of tacrolimus prevents progressive systemic overexposure in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2005 Jun; 67 (6): 2440-2447
93. Le Meur Y, Touchard G, Glowacki F, et al. Optimisation of Mycophenolic Acid (MPA) Exposure for Early Steroid Withdrawal in Kidney Graft Recipients: The OPERA Trial. *Am J Transplant* 2009; 9 (82): 341
94. DeNofrio D, Loh E, Kao A, et al. Mycophenolic acid concentrations are associated with cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 2000 Nov; 19 (11): 1071-1076
95. Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, et al. Current target ranges of mycophenolic acid exposure and drug-related adverse events: A 5-year, open-label, prospective, clinical follow-up study in renal allograft recipients. *Clin Ther* 2008 Apr; 30 (4): 673-683
96. Meiser BM, Pfeiffer M, Schmidt D, et al. The efficacy of the combination of tacrolimus and mycophenolate mofetil for prevention of acute myocardial rejection is dependent on routine monitoring of mycophenolic acid trough acid levels. *Transplant Proc* 1999 Feb; 31 (1-2): 84-87

97. Rousseau A, Laroche ML, Venisse N, et al. Cost-effectiveness analysis of individualized mycophenolate mofetil dosing in kidney transplant patients in the APOMYGRE trial. *Transplantation* 2010 May 27; 89 (10): 1255-1262
98. van Gelder T, Le Meur Y, Shaw LM, et al. Therapeutic drug monitoring of mycophenolate mofetil in transplantation. *Ther Drug Monit* 2006 Apr; 28 (2): 145-154
99. Tett SE, Saint-Marcoux F, Staatz CE, et al. Mycophenolate, clinical pharmacokinetics, formulations, and methods for assessing drug exposure. *Transplant Rev (Orlando)* 2011 Apr; 25 (2): 47-57
100. Shaw LM, Holt DW, Oellerich M, et al. Current issues in therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: report of a roundtable discussion. *Ther Drug Monit* 2001 Aug; 23 (4): 305-315
101. Premaud A, Le Meur Y., Debord J, et al. Maximum a posteriori bayesian estimation of mycophenolic acid pharmacokinetics in renal transplant recipients at different postgrafting periods. *Ther Drug Monit* 2005 Jun; 27 (3): 354-361
102. Musuamba FT, Rousseau A, Bosmans JL, et al. Limited sampling models and Bayesian estimation for mycophenolic acid area under the curve prediction in stable renal transplant patients co-medicated with ciclosporin or sirolimus. *Clin Pharmacokinet* 2009; 48 (11): 745-758
103. Zahr N, Amoura Z, Debord J, et al. Pharmacokinetic study of mycophenolate mofetil in patients with systemic lupus erythematosus and design of Bayesian estimator using limited sampling strategies. *Clin Pharmacokinet* 2008; 47 (4): 277-284
104. Hangler HB, Ruttman E, Geltner C, et al. Single time point measurement by C2 or C3 is highly predictive in cyclosporine area under the curve estimation immediately after lung transplantation. *Clin Transplant* 2008 Jan; 22 (1): 35-40
105. Fisher CG, Wood KB. Introduction to and techniques of evidence-based medicine. *Spine (Phila Pa 1976)* 2007 Sep 1; 32 (19 Suppl): S66-S72

Annexe : l'étude Basalt

Critères d'éligibilité des patients dans l'étude

Pouvaient être inclus dans l'étude Basalt des patients des deux sexes, âgés d'au moins 18 ans, atteints ou non de mucoviscidose, ayant bénéficié d'une première greffe monopulmonaire, bipulmonaire ou cœur-poumons (la randomisation était planifiée lors de la visite d'inclusion, entre J5 et J7 post-greffe). Les patients inclus devaient être traités par tacrolimus et MMF *per os* depuis 48 heures minimum à l'inclusion. Les patients ne devaient pas présenter de maladie intercurrente évolutive, mettant en jeu à court terme le pronostic vital ou le pronostic du greffon. Pour pouvoir participer à l'étude, les patients devaient accepter de revenir au centre investigateur au minimum pour les évaluations prévues au protocole pendant les 3 premières années post-greffe, avoir donné leur consentement libre et éclairé par écrit, et être affiliés à un régime de sécurité sociale.

En revanche, les patients mineurs et les patients majeurs protégés, ainsi que les patients en désaccord avec le protocole, ne pouvaient pas être inclus. De même, les patients ayant bénéficié d'une re-transplantation pulmonaire ou d'une greffe d'organe antérieure, ainsi que ceux présentant une contre-indication au tacrolimus ou au MMF ou traités par ciclosporine, sirolimus, ou évérolimus ne pouvaient pas être inclus dans l'étude. L'infection à *Burkholderia cenocepacia* (*Burkholderia cepacia genomovar III*) constituait également un critère de non-inclusion. Les patients traités par inhibiteurs de protéase du VIH (interaction pharmacocinétique majeure avec le tacrolimus), les femmes enceintes ou allaitant, ainsi que les femmes en âge de procréer sans moyen contraceptif efficace, et les patients présentant une toxicomanie ou souffrant de troubles neuro-psychiques ne permettant pas une compréhension correcte du protocole ou un consentement fiable, ne pouvaient pas participer à l'étude. Enfin, la participation à une autre étude de recherche clinique d'évaluation de médicaments ou de stratégies thérapeutiques constituait un critère de non-inclusion dans l'étude. Les patients participant à l'étude Basalt pouvaient toutefois participer aux études sans intervention thérapeutique.

Une diminution de la posologie de tacrolimus consécutive à l'introduction d'une thérapeutique immunosuppressive autre que celles mentionnées au protocole, l'introduction

d'un traitement figurant dans la liste des traitements interdits au cours de la recherche, ainsi que la survenue d'une grossesse au cours de la recherche, constituaient des motifs de sortie d'essai.

Traitements associés

Traitements associés autorisés

Stratégie immunosuppressive

Tous les patients inclus dans la recherche recevaient une immunothérapie comportant du tacrolimus et du MMF administrés à 12 heures d'intervalle, une demi-heure avant les repas. La dose de MMF pouvait éventuellement être répartie en trois prises égales, à 8 heures d'intervalle (en cas de mauvaise tolérance digestive).

L'administration de ciclosporine par voie IV était autorisée en période post-greffe immédiate, sous réserve que les patients aient ensuite été switchés sous tacrolimus, au minimum 48 heures avant l'inclusion (prévue entre J5 et J7).

Par ailleurs, l'immunothérapie devait également comporter :

- Une induction par anticorps anti-thymocytes humains ou par anticorps anti-récepteur à l'IL-2 (schéma thérapeutique selon les centres, qui devait rester le même tout au long de la recherche).
- L'administration de corticoïdes dans le cadre du traitement d'entretien. La durée, la nature et les doses du corticoïde employé étaient laissées à la discrétion des investigateurs, selon les habitudes des centres.

Traitement des rejets

En dehors du MMF et du tacrolimus, chaque centre devait utiliser la même stratégie thérapeutique (selon les habitudes) chez tous les patients. La comparabilité des deux groupes parallèles était assurée par la randomisation stratifiée sur les centres.

Le traitement des rejets aigus devait faire appel en priorité à des bolus de corticoïdes, selon les habitudes des centres. En cas d'échec de la corticothérapie, les médecins investigateurs pouvaient avoir recours à l'administration de sérum anti-lymphocytaire.

En cas de rejets aigus \geq **A2 traités**, le traitement d'entretien était intensifié, quel que soit le bras de randomisation (cf. chapitre 5.4).

Enzymes pancréatiques

Conformément aux habitudes de prescription dans la plupart des centres, chez les patients atteints de mucoviscidose présentant une insuffisance pancréatique, des enzymes pancréatiques pouvaient être administrées au moment de chaque repas, à des doses variables d'un patient à l'autre selon leur insuffisance pancréatique, et en fonction du type de repas.

De plus, une gélule d'enzymes pancréatiques pouvait être administrée en même temps que la prise de tacrolimus, molécule très lipophile et en suspension dans des excipients lipophiles. Cette modalité d'administration ne concernait pas le MMF, qui ne présente pas ces caractéristiques physico-chimiques et galéniques.

Dans tous les cas, toutes les doses administrées et heures d'administration à l'occasion de chaque cinétique devaient être notées dans le cahier d'observation.

Traitements anti-infectieux

Un traitement préemptif ou prophylactique des infections à CMV par acyclovir, ganciclovir, valacyclovir ou valganciclovir pouvait également être administré.

Le traitement prophylactique ou curatif des infections fongiques par antifongiques azolés était autorisé. L'utilisation de ces traitements pouvait être individualisée, selon les pratiques de chaque centre.

Traitements associés interdits

Pour le tacrolimus et le MMF, les voies IV et sublinguale étaient interdites au-delà de J5 post-greffe.

Par ailleurs, les médicaments immunosuppresseurs suivants ne devaient pas être administrés aux patients de l'étude : ciclosporine, sirolimus et évérolimus, autres immunosuppresseurs en phase d'investigation clinique (tels que le belatacept).

En dehors de ces médicaments immunosuppresseurs et des inhibiteurs de la protéase du VIH (possédant une interaction pharmacocinétique majeure avec le tacrolimus), aucun autre médicament n'était interdit dans cette étude.

Aspects statistiques : calcul de la taille de l'échantillon

Le calcul du nombre de sujets nécessaires a été effectué, avec l'aide de l'UFRCB (Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistiques) du CHU de Limoges, sur la base de l'objectif principal de l'essai, à savoir évaluer l'efficacité du bras « optimisé » (bras A) par rapport au bras « témoin » (bras B) sur le critère principal (critère composite dénommé « échec du traitement immunosuppresseur » survenant pendant la durée de l'étude).

Hypothèses :

- 50% d'échecs du traitement immunosuppresseur dans le groupe témoin (bras B)
- 29% d'échecs du traitement immunosuppresseur dans le groupe optimisé (bras A)
- Risque de première espèce alpha : 5% (formulation bilatérale)
- Puissance : 80% (risque de deuxième espèce : 20%)

Le nombre total de patients à randomiser par groupe dans l'analyse en ITT était de 84 patients. En supposant un taux d'environ 5% de patients perdus de vue ou sortis d'essai, le nombre total de patients à randomiser était de $(84 \times 2) / 0,95 = 177$, soit environ 89 patients par groupe, et un nombre total prévu de patients à inclure de 180.

Résumé :

Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) et l'individualisation des traitements immunosuppresseurs peuvent contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients greffés pulmonaires. Dans cette optique, les principaux objectifs de cette thèse étaient : (i) l'analyse pharmacocinétique (PK) de population du tacrolimus et du mycophénolate mofétil (MMF) chez des patients transplantés pulmonaires et le développement d'estimateurs Bayésiens (EB) permettant l'estimation des paramètres PK individuels à partir d'un nombre limité de prélèvements sanguins ; (ii) l'élaboration de critères de jugement pour les essais cliniques sur les immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire ; (iii) l'évaluation du bénéfice clinique du STP avec adaptation de posologie, basés sur l'AUC, du tacrolimus et du MMF.

L'absorption de l'acide mycophénolique (MPA) était plus lente et sa clairance apparente augmentée chez les patients transplantés pulmonaires par rapport aux transplantés rénaux. La biodisponibilité du tacrolimus et du MPA était diminuée et l'absorption du tacrolimus ralentie chez les patients avec par rapport aux patients sans de mucoviscidose. Des EB capables d'estimer l'AUC de tacrolimus et de MPA, au moyen de trois échantillons sanguins prélevés pendant les 4 premières heures suivant l'administration du médicament, ont été mis au point et validés. Par ailleurs, une conférence de consensus internationale a proposé 2 critères de jugement composites pour l'évaluation de l'efficacité et de la toxicité des immunosuppresseurs en transplantation pulmonaire. Enfin, la tentative de mise en place d'une étude clinique sur le STP du tacrolimus et du MMF basé sur le suivi de l'AUC a mis en évidence le manque de standardisation dans la prise en charge des patients transplantés pulmonaires et les difficultés de mise en œuvre d'essais cliniques interventionnels dans cette population.

Au total, ces travaux apportent des outils de PK qui aideront à l'individualisation des posologies du tacrolimus et du MMF, et d'évaluation des immunosuppresseurs dans les essais cliniques en transplantation pulmonaire, qui devraient contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients.

Mots clés : transplantation pulmonaire, immunosuppresseurs, pharmacocinétique, suivi thérapeutique pharmacologique, critère de jugement composite, conférence de consensus

Elaboration and validation of tools for the individualization of immunosuppressive regimens in pulmonary transplantation

Abstract :

Therapeutic drug monitoring (TDM) and immunosuppressive treatment individualization can improve the outcomes of pulmonary transplantation. Therefore, the main objectives of this thesis were : (i) to perform population pharmacokinetic (PK) analysis of tacrolimus and mycophenolate mofetil (MMF) in pulmonary transplant recipients and to develop Bayesian estimators (BEs) for the estimation of individual PK parameters, using a sparse sampling strategy; (ii) to elaborate endpoints for clinical trials on immunosuppressive drugs in pulmonary transplantation; (iii) to evaluate the clinical benefits of TDM and dose adjustment based on the AUC, for tacrolimus and MMF.

Mycophenolic acid (MPA) absorption was slower and its apparent clearance higher in pulmonary vs. renal transplant recipients. Tacrolimus and MPA bioavailability was decreased and tacrolimus absorption slower patients with vs. patients without cystic fibrosis. BEs dedicated to the calculation of tacrolimus and MPA AUC using 3 samples within 4 hours following drug administration were built. Moreover, a consensus conference proposed 2 composite endpoints for the evaluation of efficacy and toxicity of immunosuppressive drugs in pulmonary transplantation. Finally, the attempt to conduct a clinical trial on the TDM of tacrolimus and MMF based on the AUC unveiled a lack of standardization in the management of pulmonary transplant recipients and the difficulties related to the organization of interventional clinical trials in this population.

Overall, this work brings PK tools, which will be useful for tacrolimus and MMF dose individualization, and evaluation tools for clinical trials on immunosuppressive drugs in pulmonary transplantation. These tools should contribute to improve the management of pulmonary transplant recipients.

Keywords: pulmonary transplantation, immunosuppressive drugs, pharmacokinetics, therapeutic drug monitoring, composite endpoint, consensus conference