

Faculté de Pharmacie

Année 2019

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 6 décembre 2019

Par

Patrick NOLAIN

Né(e) le 11 juin 1988 à Rennes (35)

Développement d'un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique semi-mécanistique de l'alirocumab et de son effet hypolipémiant

Thèse dirigée par le Dr Sonia KHIER

Examineurs :

M. le Professeur Franck SAINT-MARCOUX

Mme le Docteur Sonia KHIER

M. le Docteur Vincent LEBRETON

M. le Docteur Jean-Baptiste WOILLARD

Président

Juge

Juge

Juge



Faculté de Pharmacie

Année 2019

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 6 décembre 2019

Par Patrick NOLAIN

Né(e) le 11 juin 1988 à Rennes (35)

Développement d'un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique semi-mécanistique de l'alirocumab et de son effet hypolipémiant

Thèse dirigée par le Dr Sonia KHIER

Examineurs :

M. le Professeur Franck SAINT-MARCOUX

Mme le Docteur Sonia KHIER

M. le Docteur Vincent LEBRETON

M. le Docteur Jean-Baptiste WOILLARD

Président

Juge

Juge

Juge

Liste des enseignants

Le 1^{er} septembre 2019

PROFESSEURS :

BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
DESMOULIERE Alexis	PHYSIOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
FAGNERE Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE ORGANIQUE
LIAGRE Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MAMBU Lengo	PHARMACOGNOSIE
ROUSSEAU Annick	BIOSTATISTIQUE
TROUILLAS Patrick	CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE
VIANA Marylène	PHARMACOTECHNIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

PICARD Nicolas	PHARMACOLOGIE
ROGEZ Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE
SAINT-MARCOUX Franck	TOXICOLOGIE

MCU-P DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

CHAUZEIX Jasmine	HÉMATOLOGIE
JOST Jérémy	PHARMACIE CLINIQUE

MAITRES DE CONFERENCES :

BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BEAUBRUN-GIRY Karine	PHARMACOTECHNIE
BÉGAUD Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET CONTRÔLE DU MÉDICAMENT
BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE

CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
CLÉDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
COMBY Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
COURTIOUX Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
DELEBASSÉE Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
DEMIOT Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
FABRE Gabin	CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
JAMBUT Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
LAVERDET Betty	PHARMACIE GALÉNIQUE
LEGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
MERCIER Aurélien	PARASITOLOGIE
MILLOT Marion	PHARMACOGNOSIE
MOREAU Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
PASCAUD-MATHIEU Patricia	PHARMACIE GALENIQUE – BIOMATÉRIAUX CERAMIQUES
POUGET Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
VIGNOLES Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :

BOUDOT Clotilde	MICROBIOLOGIE (du 01.09.2018 au 31.08.2020)
MARCHAND Guillaume	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE (du 01.09.2019 au 31.08.2020)

PROFESSEURS EMERITES :

DREYFUSS Gilles	(jusqu'au 31/03/2020)
------------------------	-----------------------

Remerciements

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Table des matières

Liste des abréviations	13
Introduction.....	15
I. Pharmacocinétique des anticorps monoclonaux.....	16
I.1. Anticorps monoclonaux thérapeutiques.....	16
I.2. Relation structure activité	17
I.3. Propriétés pharmacocinétiques.....	19
I.3.1. Absorption.....	19
I.3.2. Distribution	20
I.3.3. Rôle du récepteur FcRn	20
I.3.4. Élimination	21
II. Le modèle « Target-Mediated Drug Disposition ».....	23
II.1. Méthodes de dosages	25
II.2. Les profils de concentrations en fonction du temps	28
II.3. Approximations du modèle TMDD	29
II.3.1. Approximations “Quasi-Steady-State” et “Rapid Binding”	30
II.3.2. Approximation Michaelis-Menten	33
II.3.3. Équation de Wagner	34
II.3.4. Approximation Irreversible Binding.....	34
II.3.5. Hiérarchie des approximations du modèle TMDD	35
II.3.6. Relations entre l’approximation QSS et les modèles indirects de réponse.....	36
II.4. Identifiabilité des paramètres du modèle	37
III. L’alirocumab	39
III.1. Mécanisme d’action.....	39
III.1.1. Le récepteur aux LDL	39
III.1.2. La PCSK9	39
III.1.3. L’alirocumab.....	40
III.2. Indications et posologie.....	41
III.3. Propriétés pharmacocinétiques.....	42
III.3.1. Absorption.....	42
III.3.2. Distribution	42
III.3.3. Élimination	42
III.3.4. Populations particulières	42
III.3.5. Relation pharmacocinétique/pharmacodynamique.....	42
III.4. Modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique	43
III.5. Immunogénicité	44
III.6. Données cliniques	44
IV. Travaux personnels : modélisation PK-TMDD/PD de l’alirocumab et de son rôle hypolipémiant	45
IV.1. Objectif	45
IV.2. Matériels et méthodes.....	45
IV.2.1. Études cliniques	45
IV.2.2. Méthodes bioanalytiques	46
IV.2.2.1. Alirocumab	46
IV.2.2.2. PCSK9	46

IV.2.2.3. LDL-C.....	46
IV.2.3. Critères d'exclusion de données.....	47
IV.2.4. Développement du modèle de population.....	47
IV.2.4.1. Modèle pharmaco-statistique.....	48
IV.2.4.2. Modèle de covariables.....	48
IV.2.4.3. Validation du modèle.....	50
IV.3. Résultats.....	50
IV.3.1. Données disponibles.....	50
IV.3.2. Modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique.....	51
IV.3.2.1. Modèle pharmaco-statistique.....	51
IV.3.2.2. Modèle de covariables.....	59
IV.3.2.3. Modèle final.....	61
IV.3.3. Validation.....	64
IV.4. Discussion.....	67
Conclusion.....	70
Références bibliographiques.....	71
Annexes.....	75
Serment De Galien.....	82

Table des illustrations

Figure 1 – Différents types de protéines thérapeutiques autorisées par la FDA (2011-2016)	16
Figure 2 – Protéines thérapeutiques autorisées par la FDA (2011-2016), par aires thérapeutiques.....	16
Figure 3 – Structure d'une immunoglobuline G (IgG).....	17
Figure 4 – Représentation schématique du mécanisme d'action d'un anticorps monoclonal neutralisant ou agoniste	18
Figure 5 – Représentation schématique du mécanisme d'action d'un anticorps monoclonal cytolytique.....	19
Figure 6 – Recyclage d'immunoglobuline G médié par le récepteur FcRn	21
Figure 7 – Principales voies cataboliques des anticorps monoclonaux.....	22
Figure 8 – Représentation schématique du modèle TMDD	23
Figure 9 – Principes de différentes méthodes ELISA	26
Figure 10 – Représentations schématiques des dosages des formes libres et totales d'anticorps et de cibles par méthode ELISA.....	27
Figure 11 – Profil pharmacocinétique typique d'une protéine thérapeutique sujette au TMDD (échelle logarithmique).....	29
Figure 12 – Comparaison des modèles TMDD complet et approximation QSS par la simulation de profils pharmacocinétiques typiques après administration IV bolus.....	32
Figure 13 – Diagramme de la hiérarchie des approximations du modèle TMDD.....	36
Figure 14 – Dégradation du LDL-R médiée par la PCSK9	40
Figure 15 – Mécanisme d'action de l'alirocumab, inhibiteur de PCSK9	40
Figure 16 – Modèle pharmacodynamique de l'alirocumab	43
Figure 17 – Illustration de l'examen des relations covariable-paramètre par méthode FFEM	49
Figure 18 – Représentation schématique du modèle PK-TMDD/PD décrivant l'alirocumab, la PCSK9 et le LDL-C	52
Figure 19 – Comparaison des observations et des prédictions d'alirocumab total (PSM) (échelle logarithmique).....	56
Figure 20 – Comparaison des observations et des prédictions de PCSK9 totale (PSM) (échelle logarithmique).....	56
Figure 21 – Comparaison des observations et des prédictions de LDL-C (PSM) (échelle logarithmique).....	57
Figure 22 – Graphique des résidus (total alirocumab) en fonction du temps et des prédictions (PSM)	57
Figure 23 – Graphique des résidus (PCSK9 totale) en fonction du temps et des prédictions (PSM)	58

Figure 24 – Graphique des résidus (LDL-C) en fonction tu temps et des prédictions (PSM)	58
Figure 25 – Effets de la prise en compte des relations covariable-paramètre du modèle FFEM sur l'exposition à l'alirocumab et sur la réduction du taux de LDL-C	60
Figure 26 – Comparaison des observations et des prédictions individuelles d'alirocumab total avec le modèle final appliqué au jeu de données de validation (échelle logarithmique).....	64
Figure 27 – Comparaison des observations et des prédictions individuelles de PCSK9 totale avec le modèle final appliqué au jeu de données de validation (échelle logarithmique).....	65
Figure 28 – Comparaison des observations et des prédictions individuelles de PCSK9 totale avec le modèle final appliqué au jeu de données de validation (échelle logarithmique).....	65
Figure 29 – Comparaison des observations et des prédictions d'alirocumab total (modèle final) (échelle logarithmique).....	76
Figure 30 – Comparaison des observations et des prédictions de PCSK9 totale (modèle final) (échelle logarithmique).....	76
Figure 31 – Comparaison des observations et des prédictions de LDL-C (modèle final) (échelle logarithmique).....	77

Table des tableaux

Tableau 1 - Valeurs usuelles de paramètres pharmacocinétiques pour les anticorps monoclonaux thérapeutiques	28
Tableau 2 – Principales caractéristiques des études cliniques incluses dans le jeu de données de modélisation	46
Tableau 3 – Principales caractéristiques des études cliniques constituant le jeu de données de validation	50
Tableau 4 – Statistiques descriptives des données démographiques et biologiques des sujets inclus dans les jeux de données de modélisation et de validation	51
Tableau 5 – Paramètres de population du PSM	55
Tableau 6 – Biais et précision de la prédiction du jeu de données avec le PSM	55
Tableau 7 - Classification des relations covariable-paramètre par la méthode FFEM.....	61
Tableau 8 – Paramètres de population du modèle final.....	63
Tableau 9 – Biais et précision de la prédiction du jeu de données avec le modèle final	63
Tableau 10 – Biais et précision de la prédiction du jeu de données de validation avec le modèle final.....	66

Liste des abréviations

ADA	<i>Anti-Drug Antibody</i>
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
CV	Coefficient de variation
CWRES	<i>Conditional weighted residuals</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
FcRn	Récepteur Fc néonatal
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FFEM	<i>Full Fixed Effects Modeling</i>
HF	Hypercholestérolémie familiale
HMG-CoA	Hydroxy-Méthyl-Glutaryl-Coenzyme A
IC95	Intervalle de confiance à 95 %
Ig	Immunoglobuline
IgG	Immunoglobuline G
IM	Intramusculaire
IPRED	Prédictions individuelles
IV	Intraveineuse
K_d	Constante d'affinité
k_{deg}	Constante de vitesse de dégradation
k_{int}	Constante de vitesse d'internalisation
K_m	Constante de Michaelis-Menten
k_{off}	Constante de vitesse de dissociation
k_{on}	Constante de vitesse de liaison
K_{ss}	Constante d'affinité à l'équilibre
k_{syn}	Constante de vitesse de synthèse
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
LDL-C	Cholestérol lié aux LDL
LDL-R	Récepteur des LDL
LLOQ	<i>Lower limit of quantification</i>
mAb	Anticorps monoclonal
MM	Michaelis-Menten
MPE	<i>Mean Prediction Error</i>
NA	Non applicable

NONMEM	<i>NON-linear Mixed Effects Modeling</i>
PCSK9	Proprotéine Convertase Subtilisine Kexine de type 9
PD	Pharmacodynamie
PK	Pharmacocinétique
PK/PD	Pharmacocinétique/pharmacodynamie
PRED	Prédictions de population
PSM	Modèle pharmaco-statistique
Q2W	Toutes les 2 semaines
Q4W	Toutes les 4 semaines
QE	Quasi-equilibrium
QSS	Quasi-steady-state
RMSE	<i>Root Mean Square Error</i>
RSE	<i>Relative standard error</i>
SAEM	<i>Stochastic Approximation Expectation-Maximization</i>
SC	Sous-cutanée
SCM	<i>Stepwise Covariate Modeling</i>
SE	Erreur standard
SREBP2	Sterol-Responsive Element-Binding Protein 2
t_{max}	Temps du pic plasmatique
TMDD	<i>Target-Mediated Drug Disposition</i>
ULOQ	<i>Upper limit of quantification</i>
V_d	Volume de distribution
V_m	Vitesse maximale de la réaction de Michaelis-Menten

Introduction

À partir des années 2000, les protéines thérapeutiques ont émergé en tant que classe majeure de médicaments pour traiter un large éventail d'affections chroniques, graves et/ou mettant la vie en danger, en dermatologie, immunologie, troubles musculo-squelettiques, oncologie, maladies respiratoires, maladies métaboliques, rhumatologie ou encore urologie. L'agence américaine de régulation du médicament (Food and Drug Administration, FDA) a approuvé plus de 80 protéines thérapeutiques entre Janvier 2011 et Octobre 2019 (1,2). Depuis de nombreuses années, la part des médicaments d'origine biologique parmi les médicaments en développement dans l'industrie pharmaceutique ne cesse de croître pour atteindre près de 45 % en 2017 (3). En 2019, ils concernent plus de 500 produits à divers stades de recherche et développement dont plus de 60 sont à un stade de développement clinique tardif.

Les protéines thérapeutiques – dont la grande majorité constitue des anticorps monoclonaux – sont conçues pour interagir de manière hautement spécifique avec une cible biologique précise. En raison de cette spécificité et de la forte affinité pour leurs cibles, leurs propriétés pharmacocinétiques (PK) et pharmacodynamiques (PD) diffèrent considérablement de celles des petites molécules issues classiquement du développement chimique. Pour exemple, leur pharmacocinétique est généralement non linéaire, c'est-à-dire que l'exposition au traitement n'est pas proportionnelle aux doses administrées. Afin de décrire l'évolution de leurs concentrations dans l'organisme, ces « biomédicaments » nécessitent l'emploi de modèles quantitatifs qui vont permettre de caractériser le comportement de processus biologiques complexes. La pharmacométrie, qui regroupe différentes approches de modélisation quantitative appliquée à la pharmacologie, tient aujourd'hui un rôle majeur dans le développement pharmaceutique. Parmi ces méthodes, la modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique de population est particulièrement intéressante grâce à ses capacités prédictives du devenir de principes actifs dans l'organisme et de leurs effets thérapeutiques. Elle permet également de caractériser la variabilité d'exposition et de réponse au traitement chez les patients. Elle participe ainsi à la définition des protocoles de futures études cliniques, à la sélection des doses efficaces ou à l'optimisation des posologies dans certaines populations.

Cette étude présente un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD) de population développé pour l'alirocumab, un anticorps thérapeutique développé dans la prévention du risque cardiovasculaire. À partir de données d'études cliniques de phases 1 à 3, l'objectif de ce travail de modélisation était de caractériser l'interaction d'alirocumab avec sa cible (la proprotéine convertase subtilisine kexine de type 9) et décrire la diminution du cholestérol qui en résultait.

Dans une première partie, nous présenterons les particularités de la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux. Nous développerons dans une deuxième partie le modèle de « *Target-Mediated Drug Disposition* », largement utilisé pour décrire de manière quantitative la pharmacocinétique des anticorps. Nous présenterons ensuite l'alirocumab, son profil pharmacologique et pharmacocinétique. Enfin, nous exposerons le modèle PK/PD développé pour ce médicament.

I. Pharmacocinétique des anticorps monoclonaux

I.1. Anticorps monoclonaux thérapeutiques

Les protéines thérapeutiques – anticorps monoclonaux (mAb), protéines recombinantes, cytokines, facteurs de croissance, protéines transgéniques, vaccins... (Figure 1) – ont la caractéristique d'être produits à partir d'organismes vivants ou de leurs composants cellulaires. Ils font ainsi partie des biothérapies (ou biomédicaments), par opposition aux médicaments classiques issus de la synthèse chimique.

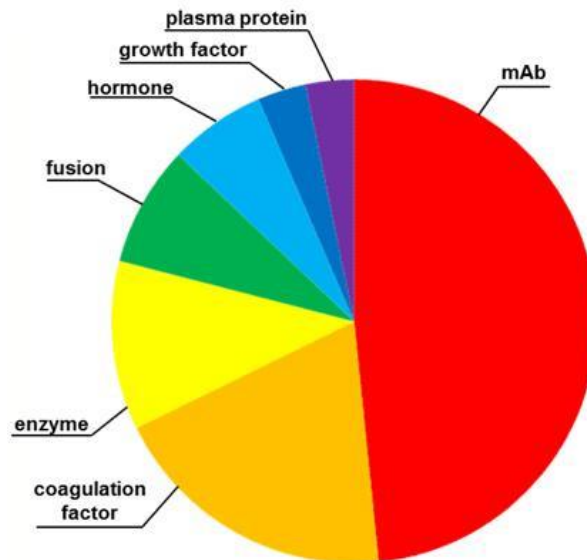


Figure 1 – Différents types de protéines thérapeutiques autorisées par la FDA (2011-2016) (Lagassé et al. (1))

Les mAbs représentent la moitié des protéines thérapeutiques actuellement sur le marché. Elles sont indiquées dans de nombreuses aires thérapeutiques (Figure 2) : oncologie, hématologie, immunologie et inflammation, dermatologie, endocrinologie, maladies génétiques rares, etc...

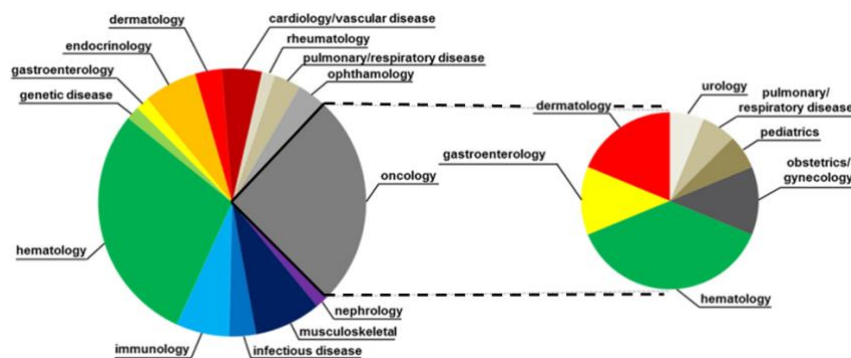


Figure 2 – Protéines thérapeutiques autorisées par la FDA (2011-2016), par aires thérapeutiques (Lagassé et al. (1))

Les mAbs sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire. Leurs propriétés structurales, biochimiques et pharmacologiques sont distinctes des autres protéines thérapeutiques ou des composés de synthèse chimique.

Leurs caractéristiques structurales et fonctionnelles leur confèrent :

- Une forte affinité et une très grande spécificité pour l'antigène ciblé. De nombreuses protéines thérapeutiques sont conçues pour se lier de manière hautement spécifique à leur cible biologique. Ainsi, la liaison à la cible peut fortement influencer, voire dominer, les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de ces médicaments notamment lorsque ceux-ci se trouvent présent à de faibles concentrations dans l'organisme.
- Divers mécanismes d'action (neutralisation, induction d'apoptose, fonctions effectrices cytotoxiques, etc...).
- Un faible risque de toxicité intrinsèque grâce à leur similitude de structure avec les immunoglobulines (Ig) endogènes et leur métabolisation en acides aminés naturels.
- Une pharmacocinétique modulable selon leur format (demi-vie d'élimination de quelques heures à plusieurs semaines).

I.2. Relation structure activité

La plupart des mAbs actuellement sur le marché sont des immunoglobulines de type G (IgG).

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines possédant une unité structurale de base commune : un hétérodimère d'environ 150 kDa constitué de deux chaînes lourdes (H) (50 kDa) et de deux chaînes légères (L) (25 kDa), identiques deux à deux.

Ce sont des molécules bivalentes composées de deux fragments Fab (« antigen binding ») capables de se lier à un antigène et d'un fragment Fc (« crystallisable ») responsable des propriétés immunologiques effectrices et des propriétés pharmacocinétiques des mAbs (4).

À l'extrémité des portions Fab se trouvent les domaines variables (VH et VL), qui portent chacun 3 boucles CDR (« complementarity determining region »), dont l'association constitue le site de reconnaissance (ou paratope) de l'épitope sur l'antigène. La portion constante (dont la séquence est identique à l'intérieur d'une sous-classe d'Ig chez un individu) est composée des domaines CH1 et CL (sur la portion Fab) et des domaines CH2 et CH3 (sur la portion Fc). La région charnière comprend des ponts disulfures reliant les chaînes lourdes entre elles (Figure 3).

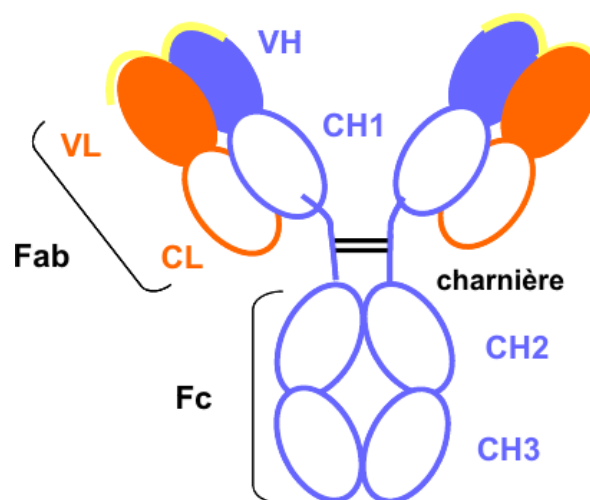


Figure 3 – Structure d'une immunoglobuline G (IgG)
(Paintaud et al. (4))

La force d'interaction paratope/épitope pour sa cible se mesure par un paramètre appelé affinité ou constante de dissociation (K_d). K_d représente la concentration molaire d'antigène nécessaire pour occuper 50 % des paratopes et correspond au ratio entre la vitesse de dissociation (k_{off}) et la vitesse d'association (k_{on}) d'un paratope pour un épitope lorsque cette interaction a atteint un état d'équilibre :

$$K_d = \frac{k_{off}}{k_{on}}$$

La région Fc est responsable de propriétés immunologiques et pharmacocinétiques des mAbs telles que :

- L'activation et/ou l'inhibition de fonctions effectrices du complément ou de cellules de l'immunité.
- La protection du mAb contre la dégradation lysosomale par la liaison au FcRn (« neonatal Fc receptor »).
- Le transport à travers les tissus et de la mère à l'enfant.

Concernant les mécanismes d'action thérapeutique, on distingue deux principaux types de mAb :

- Les mAbs neutralisants ou agonistes :

L'anticorps se fixe à un ligand soluble ou à un récepteur membranaire. Il peut alors soit le bloquer et l'empêcher d'exercer son action biologique soit avoir un effet agoniste si cette fixation entraîne des phénomènes post-récepteur. Le fragment Fab, responsable de l'affinité pour la cible, joue un rôle primordial dans l'efficacité pharmacologique du mAb (Figure 4).

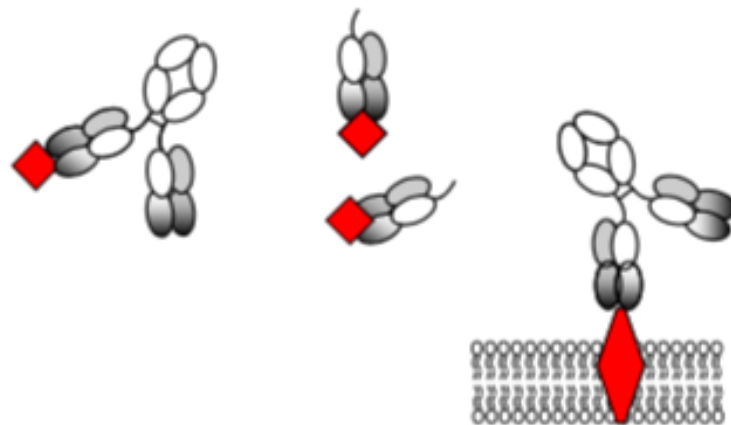


Figure 4 – Représentation schématique du mécanisme d'action d'un anticorps monoclonal neutralisant ou agoniste
(*Paintaud et al. (4)*)

- Les mAbs cytolytiques :

L'anticorps reconnaît sa cible (un ligand soluble ou récepteur membranaire) par son fragment Fab puis le fragment Fc joue un rôle de recruteur d'effecteurs immunitaires (Figure 5) :

- La fraction C1q du complément recrutée déclenche une lyse cellulaire de type CDC (cytotoxicité dépendante du complément, ou « complement dependent cytotoxicity »).

- Les cellules effectrices porteuses du récepteur Fc γ RIIIA/CD16 (cellules natural killers, macrophages) sont responsables d'une lyse cellulaire de type ADCC (cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps ou « antibody dependent cellular cytotoxicity »).

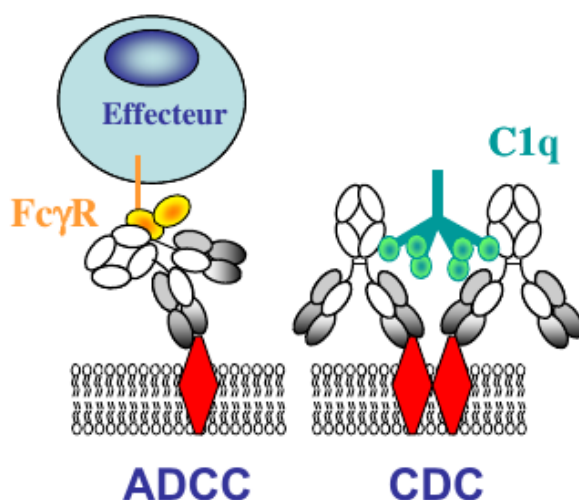


Figure 5 – Représentation schématique du mécanisme d'action d'un anticorps monoclonal cytolytique (Paintaud et al. (4))

I.3. Propriétés pharmacocinétiques

I.3.1. Absorption

Les mAbs sont administrés uniquement par voie parentérale : intraveineuse (IV pour 70 % d'entre eux), sous-cutanée (SC) ou encore intramusculaire (IM). En effet, le poids moléculaire élevé, la polarité des molécules ainsi que leur susceptibilité à la dénaturation et à la dégradation protéolytique dans le tractus digestif empêchent leur administration par voie orale.

Par les voies SC ou IM, l'absorption des mAbs est très lente en comparaison aux petites molécules. La vitesse d'absorption y étant dépendante de la taille de la molécule, le temps pour atteindre le pic de concentration systémique (t_{max}) est généralement de plusieurs jours pour les mAbs contre quelques heures pour des peptides de taille plus réduite.

Les principaux facteurs influençant l'absorption des mAbs sont :

- Le mode d'administration (site, durée et profondeur d'injection, statut d'anesthésie).
- Les caractéristiques du produit (charge, formulation, dose totale administrée).
- Les caractéristiques intrinsèques du sujet (âge, sexe, poids corporel, morphologie de la peau).

La concentration de produit injecté peut, lorsqu'elle est élevée, entraîner la formation d'un dépôt au niveau du site d'injection et ainsi ralentir la vitesse d'absorption.

La biodisponibilité, correspondant à la fraction de la dose administrée qui atteint la circulation systémique, des mAbs après administration SC ou IM varie de 50 à 100 % avec pour principaux facteurs limitants : la dégradation par protéolyse au niveau cutané et le recyclage via le récepteur FcRn présent à la surface de certaines cellules du système réticulo-histiocytaire.

I.3.2. Distribution

La capacité des mAbs à traverser les membranes cellulaires est particulièrement limitée par leur poids moléculaire (environ 150 kDa) et par leur caractère hydrophile. C'est pourquoi leur volume de distribution (V_d) est faible et correspond généralement au volume plasmatique. Cependant, cela ne signifie pas que leur distribution se limite au plasma : on peut les retrouver dans de nombreux tissus mais à des concentrations souvent plus faibles que celles observées dans la circulation systémique.

Le passage des mAbs à travers les membranes cellulaires peut se produire par des mécanismes transcellulaire (endocytose) et paracellulaire (convection). La convection est le mécanisme principal du mouvement des mAbs à partir de l'espace vasculaire vers l'espace interstitiel (5).

La distribution des mAbs dépend de facteurs dépendant du traitement et de facteurs intrinsèques au sujet (6) :

- Facteurs liés au traitement :
 - Propriétés physico-chimiques (taille, charge)
 - Propriétés de liaison (capture via des récepteurs)
 - Voies d'administration (SC et IM vs IV)
 - Modifications par génie biologique (e.g. modulation de l'affinité pour FcRn)
- Facteurs liés au sujet :
 - Distribution et densité de la cible : en fonction de la quantité et de la répartition de la cible, la distribution peut présenter une non-linéarité qui aura pour conséquence la diminution du V_d avec l'augmentation de la dose et du rapport « concentration libre sur concentration liée à la cible »
 - Morphologie des capillaires vasculaires (continus, fenêtrés ou sinusoïdes)

I.3.3. Rôle du récepteur FcRn

Le récepteur FcRn (« neonatal Fc receptor ») est une glycoprotéine hétérodimérique membranaire de 52 kDa composée d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère. Il est localisé dans les endosomes des cellules endothéliales et se lie au domaine Fc des IgG de façon pH-dépendante. Une fois que l'IgG se retrouve à l'intérieur des cellules endothéliales (par un mécanisme passif de type endocytose non spécifique), il se lie au FcRn au niveau des endosomes acides (pH 6,0-6,5), puis le complexe IgG-FcRn est transporté à la surface cellulaire et se dissocie à pH physiologique (pH 7,0-7,5) pour relarguer l'IgG intacte dans la circulation systémique.

La liaison du fragment Fc au FcRn permet donc de protéger les mAbs et de prévenir leur dégradation par les enzymes lysosomales. À l'inverse, les mAbs dont le fragment Fc ne se lie pas (ou faiblement) au FcRn seront dégradés plus rapidement. Ainsi, grâce à leur affinité pour le FcRn, les mAbs ont une demi-vie relativement longue (7-21 jours). De plus, les avancées récentes en matière de génie biologique pour la production des mAbs permettent de moduler la demi-vie des molécules par l'ajustement de leur affinité pour FcRn (7).

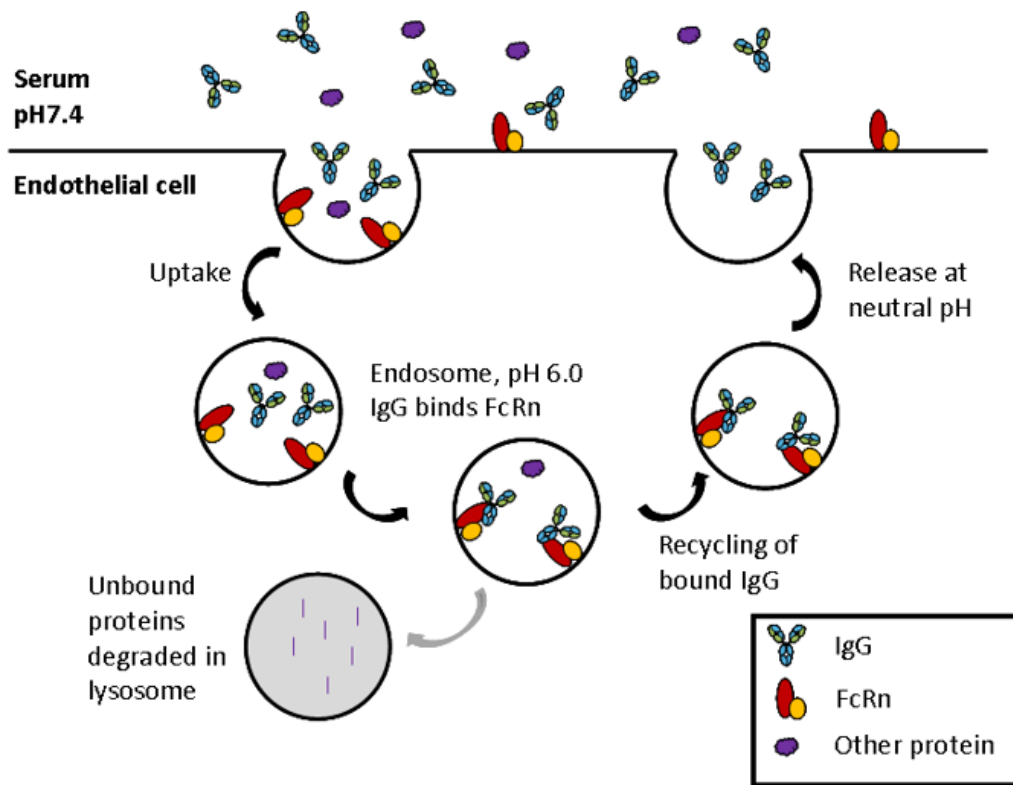


Figure 6 – Recyclage d'immunoglobuline G médié par le récepteur FcRn
(d'après (8))

I.3.4. Élimination

Les mAbs sont éliminés par deux types de voies cataboliques (9) :

- Une voie non-spécifique : processus linéaire et non saturable due à la pinocytose (indépendant de la cible)
- Une voie spécifique : processus non-linéaire lié à l'interaction entre l'anticorps et sa cible (dépendant de la cible)

La dégradation protéolytique, faisant suite à la capture cellulaire et à la pinocytose, représente la voie principale d'élimination des mAbs. Ce phénomène a lieu dans toutes les cellules de l'organisme et peut être régulé par le récepteur FcRn dans les cellules qui l'expriment. Les anticorps sont alors dégradés en peptides et acides aminés qui sont ensuite réutilisés pour la synthèse de nouvelles protéines ou excrétés par voie rénale.

La clairance par l'intermédiaire de la fixation à la cible, est une des principales causes de cinétique d'élimination non-linéaire des mAbs. Dans le cas d'un antigène circulant, la formation puis l'élimination par le système immunitaire (grâce aux cellules phagocytaires circulantes) du complexe antigène-anticorps entraîne l'élimination de la cible et de l'anticorps. Dans le cas d'un antigène membranaire, la fixation de l'anticorps peut provoquer l'endocytose du complexe et sa dégradation dans les lysosomes. La vitesse d'élimination par cette voie est le plus souvent limitée par la quantité de cible (6).

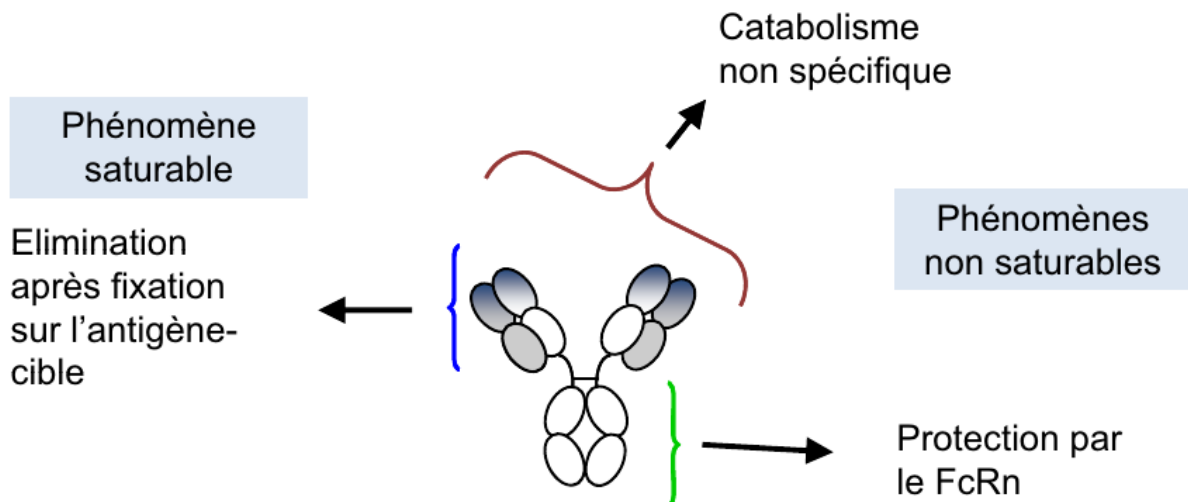


Figure 7 – Principales voies cataboliques des anticorps monoclonaux
(Paintaud et al. (4))

Une troisième voie peut intervenir dans l'élimination des mAbs, lorsque des anticorps anti-médicament (« anti-drug antibodies », ADA) sont produits. La production d'ADAs, suivie par la formation de complexes immuns, est aussi une cause de cinétique d'élimination non-linéaire. La formation d'ADAs peut augmenter de façon significative la clairance du médicament et expliquer la chute brutale des concentrations dans l'organisme. Bien que théoriquement de moins en moins probable grâce à l'augmentation du degré d'humanisation des anticorps aujourd'hui en développement, la production d'ADA reste une complication majeure qui est particulièrement surveillée lors des programmes d'essais cliniques pour les protéines thérapeutiques.

II. Le modèle « Target-Mediated Drug Disposition »

Le terme « Target-Mediated Drug Disposition » (TMDD) (ou élimination du médicament médiée par sa liaison à sa cible) a été introduit par Levy (10). Un modèle du mécanisme TMDD, permettant une description mathématique des processus du TMDD, a été proposée par Mager et Jusko (6). Conceptuellement, le modèle TMDD est une combinaison de l'approche compartimentale – qui rassemble tous les systèmes de l'organisme en un nombre limité de compartiments suffisant à décrire les données observées – et l'approche de modélisation basée sur la physiologie dont l'objectif est de décrire les processus biologiques le plus précisément possible.

La partie linéaire du modèle TMDD représente un modèle compartimental (généralement un modèle à deux compartiments), auquel se superpose la description physiologique de l'interaction médicament-cible.

L'objectif de cette section est d'introduire et de décrire les modèles et les méthodes nécessaires à la description des processus de TMDD. Nous examinerons les équations de TMDD, leurs approximations et applications, en se concentrant particulièrement sur les hypothèses sous-jacentes aux modèles, la stabilité des modèles et l'identifiabilité des paramètres. Des revues d'applications de TMDD en modélisation PK et PK/PD par approche de population ont été publiées par Gibiansky (11) et Mager (12).

Les équations du modèle TMDD fournissent une base utile à la description quantitative des processus biologiques sous-jacents.

La Figure 8 représente schématiquement le modèle TMDD.

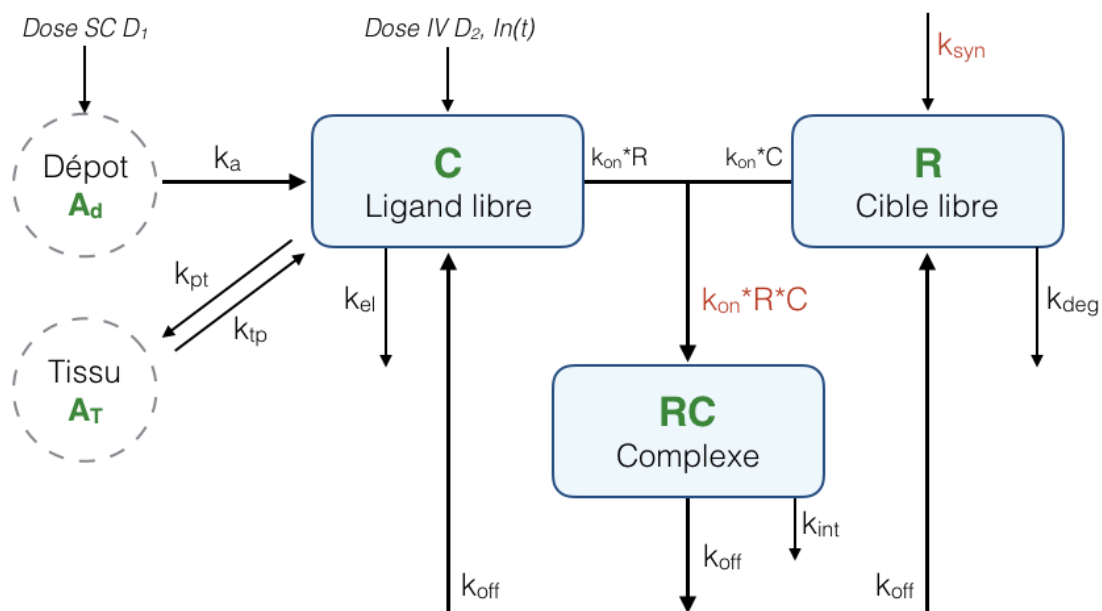


Figure 8 – Représentation schématique du modèle TMDD
adapté de Dua et al. (13)

A_d : quantité de drogue dans le compartiment dépôt ; A_T : quantité de drogue dans le compartiment périphérique ;
 C : concentration de drogue libre ; R : concentration de cible libre ; RC concentration du complexe drogue-cible ;
 D_1 : dose administrée par voie sous-cutanée ; D_2 : dose administrée par voie intraveineuse ; $In(t)$: vitesse de perfusion ; k_a : constante de vitesse d'absorption ; k_{tp}/k_{pt} : constantes de diffusion de drogue libre entre les compartiments central et périphérique ; k_{el} : constante d'élimination linéaire de la drogue ; k_{syn} : constante de

synthèse de cible ; k_{deg} : constante d'élimination linéaire de la cible ; k_{on} : constante de liaison ; k_{off} : constante de dissociation du complexe ; k_{int} : constante d'internalisation du complexe

Le compartiment de dépôt (*i.e.* la peau) et le compartiment périphérique (*i.e.* les tissus) sont représentés en cercles pointillés (Figure 8) avec A_d et A_T correspondant respectivement aux quantités de produit libre (*i.e.* non lié à la cible) dans le dépôt et les tissus.

Le compartiment central (de volume V) est représenté par trois boîtes (en bleu, Figure 8) parce qu'il contient trois entités différentes :

- l'anticorps (ou ligand) libre (de concentration C)
- la cible libre (de concentration R)
- le complexe mAb-cible (de concentration RC).

L'anticorps est administré soit par voie sous-cutanée (dose D_1 dans le compartiment de dépôt) soit par voie intraveineuse (par bolus IV d'une dose D_2 et/ou perfusion à une vitesse $In(t)$ dans le compartiment central).

En plus des échanges de diffusion avec le compartiment périphérique (décrit par les constantes de transfert k_{pt} et k_{tp}) et d'élimination (décrit par la constante de vitesse d'élimination k_{el}), l'anticorps peut se lier à sa cible (avec une liaison proportionnelle aux concentrations de mAb et de cible selon une constante de liaison de second ordre k_{on}). La cible R est produite dans le compartiment central selon une vitesse de synthèse d'ordre zéro (*i.e.* à vitesse constante) k_{syn} et éliminée selon une vitesse de dégradation de premier ordre k_{deg} .

Le complexe RC se forme à une vitesse de production $k_{on} \cdot R \cdot C$ et est éliminé selon un processus d'internalisation de premier ordre k_{int} . Il peut aussi se dissocier en ligand et cible libres selon une vitesse de dissociation k_{off} . Ainsi, le modèle consiste en un système de cinq équations différentielles :

$$\frac{dA_d}{dt} = -k_a \cdot A_d \quad [1]$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C - k_{on} \cdot C \cdot R + k_{off} \cdot RC + k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} \quad [2]$$

$$\frac{dA_T}{dt} = k_{pt} \cdot C \cdot V - k_{tp} \cdot A_T \quad [3]$$

$$\frac{dR}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot R - k_{on} \cdot C \cdot R + k_{off} \cdot RC \quad [4]$$

$$\frac{dRC}{dt} = k_{on} \cdot C \cdot R - (k_{int} + k_{off}) \cdot RC \quad [5]$$

$$A_d(0) = D_1; C(0) = \frac{D_2}{V}; A_T(0) = 0; R(0) = \frac{k_{syn}}{k_{deg}}; RC(0) = 0 \quad [6]$$

Ces équations doivent être considérées comme un cadre général plutôt que comme la seule description possible d'une dynamique de TMDD. Bien que généralement suffisantes, ces équations sont basées sur un nombre important d'hypothèses qui peuvent, ou non, être valides pour un produit en particulier. Notamment, il est considéré que :

- la liaison drogue-cible est un processus équimolaire ne produisant qu'un seul type de complexe,
- la drogue est hautement spécifique et ne se lie à aucune autre cible,
- la liaison drogue-cible n'a lieu que dans le compartiment central et non dans les compartiments de dépôt et de tissus,
- la cible est produite uniquement dans le compartiment central,
- la cible et le complexe drogue-cible ne se distribue pas en dehors du compartiment central,
- la distribution de la drogue libre vers les tissus est linéaire et est décrite par des constantes de transfert inter-compartmentales,
- le recyclage de la cible et de la drogue n'a pas lieu au cours du processus d'élimination du complexe,
- la compétition de la drogue avec un ligand endogène pour la même cible peut être ignorée,
- l'influence de la réponse immunitaire, telle que l'apparition d'anticorps neutralisant, est négligeable,
- les vitesses de production et de dégradation de la cible sont constantes et ne dépendent pas des concentrations de la drogue et de la cible.

L'analyse de n'importe quelle molécule doit toujours démarrer par l'étude des processus biologiques sous-jacents. Lorsque les hypothèses mentionnées ne sont pas valides, les équations doivent être modifiées pour refléter la compréhension mécanistique du système. Quelques généralisations des équations de TMDD seront détaillées plus loin.

II.1. Méthodes de dosages

Le système TMDD décrit l'interaction de trois entités différentes : l'anticorps (*i.e.* le ligand), le récepteur (*i.e.* la cible) et le complexe ligand-cible. Afin de développer un modèle, les concentrations d'une ou plus de ces entités doivent être mesurées. Le développement de méthodes de dosage fiables pour les protéines thérapeutiques et leurs cibles est une problématique importante (6,14–16).

La méthode de bioanalyse la plus répandue est la méthode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). C'est une technique immunoenzymatique qui permet la mesure des concentrations d'anticorps grâce à un mécanisme d'interaction antigène-anticorps. Il existe plusieurs déclinaisons de la méthode ELISA, parmi lesquelles (Figure 9) :

- ELISA directe :

Un antigène est fixé sur une plaque puis va être reconnu par un anticorps marqué ou couplé à une enzyme. Cette technique ne permet pas de quantifier l'anticorps mais est utilisée pour la coloration immuno-histochimique de tissus ou de cellules.

- ELISA indirecte :

L'antigène fixé est reconnu par l'anticorps primaire que l'on veut quantifier, puis un anticorps secondaire marqué ou couplé à une enzyme va ensuite reconnaître spécifiquement l'anticorps primaire. C'est la méthode la plus utilisée pour le dosage des anticorps monoclonaux.

- ELISA en sandwich :

Cette technique permet le dosage d'un antigène. Dans ce cas, un anticorps de capture est fixé sur une plaque. L'antigène à doser est reconnu par l'anticorps puis un deuxième anticorps, marqué ou couplé à une enzyme, reconnaît un autre épitope de l'antigène pour le prendre « en sandwich » permettant ainsi de le quantifier.

- ELISA compétitive :

Autre technique permettant le dosage d'un antigène par un mécanisme de compétition de liaison. Des anticorps sont fixés puis un mélange d'antigènes marqués et d'antigènes à doser sont ajoutés. La compétition se fait entre les antigènes marqués (en quantité connue) et non marqués (en quantité à déterminer) pour leur liaison aux anticorps.

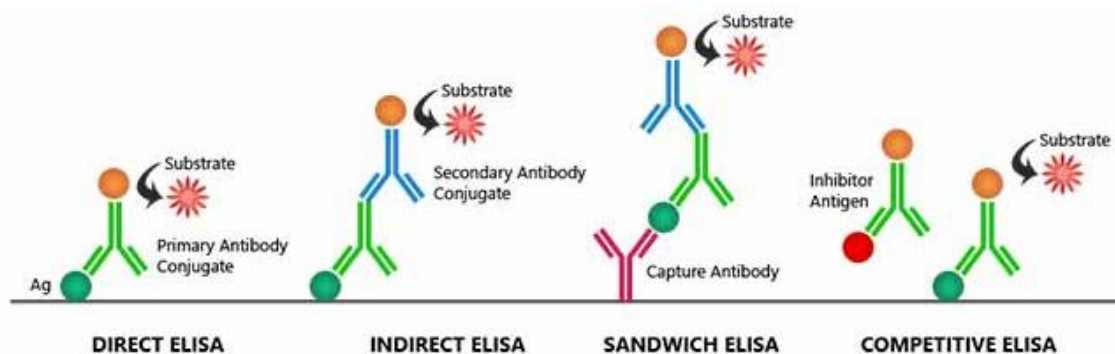


Figure 9 – Principes de différentes méthodes ELISA

Si le revêtement de la plaque se lie à l'anticorps au niveau d'un site qui ne peut être occupé par la cible, la procédure mesure la concentration totale, $C_{tot} = C + RC$, qui est la somme des concentrations de drogue libre et de complexe drogue-cible. Si le revêtement se fixe à l'anticorps au niveau d'un site qui peut être occupé par la cible, la procédure mesure uniquement la concentration libre C . De la même manière, la méthode peut mesurer la concentration totale de récepteur $R_{tot} = R + RC$ (lorsque le revêtement se lie à un site de la cible ne pouvant être occupé par la drogue) ou la concentration de cible libre (lorsque le revêtement se lie au site de la cible qui peut être occupé par la drogue) (Figure 10).

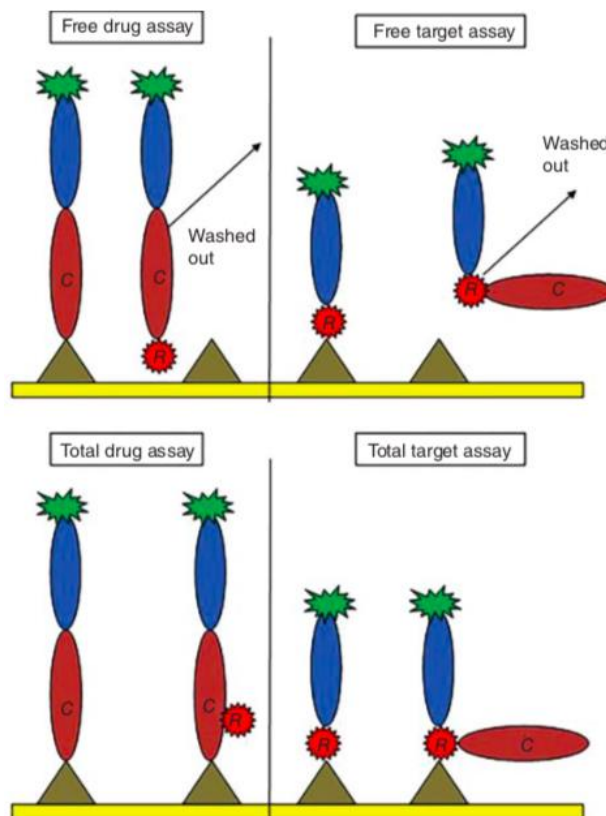


Figure 10 – Représentations schématiques des dosages des formes libres et totales d'anticorps et de cibles par méthode ELISA

(Triangles : revêtement du support ; Ovale rouge : anticorps ; Cercle rouge : cibles ; Ovale bleu et cercle vert : anticorps radiomarqués)

Bien que la description de la méthode semble simple, sa mise en pratique n'est pas toujours évidente, particulièrement dans des cas où la drogue présente plusieurs sites qui peuvent se fixer sur la cible. Plusieurs revues de ces problématiques bioanalytiques ont été publiées (14–16). Pour chaque cas, il est important de bien comprendre les propriétés de la méthode de dosage pour connaître exactement ce qui est mesuré.

Les données qui sont disponibles pour la modélisation dépendent souvent du type de cible. Pour les cibles solubles, la concentration libre de drogue C , la concentration totale de drogue C_{tot} , et la concentration totale de cible R_{tot} peuvent être disponibles. En revanche, la concentration libre de cible est rarement disponible. Même s'il est possible de développer une méthode pour doser la concentration de cible soluble libre, elle ne pourrait mesurer que la concentration initiale (avant administration de drogue) puisqu'une fois mise en présence de la drogue, la concentration de cible libre diminue rapidement pour se retrouver en dessous des limites de quantification. Pour les cibles membranaires, seulement la concentration libre de drogue est généralement disponible.

Les unités des équations de TMDD sont en moles (e.g. nmol pour les doses et nmol.l^{-1} pour les concentrations, où le nombre de molécules impliquées dans chaque processus est comptabilisé) alors que les résultats de dosages sont habituellement rapportés en unités de concentrations massiques (e.g. mg pour les doses et mg.l^{-1} pour les concentrations, où la masse des entités impliquées est prise en compte). Une conversion d'unités appropriée doit être appliquée soit en convertissant les unités de dose et de concentration en forme molaire,

soit en convertissant les paramètres du modèle des unités molaires en unités basées sur la masse.

Les vitesses caractéristiques des processus décrits dans les équations de TMDD varient considérablement en fonction de la taille et du type de molécule, des paramètres de renouvellement (« turnover ») de la cible et des propriétés de l'interaction médicament-cible.

Le Tableau 1 présente des intervalles typiques de paramètres pour les mAbs ainsi que les exemples de conversion des unités massiques en unités molaires pour un mAb de poids moléculaire de 150 kDa, retrouvés dans la littérature.

Tableau 1 - Valeurs usuelles de paramètres pharmacocinétiques pour les anticorps monoclonaux thérapeutiques

Paramètre	Unités usuelles	Unités adaptées	Facteur de conversion	Valeurs utilisées dans les simulations
Dose	1 – 500 mg	10 – 3000 nmol	1 mg = 6,7 nmol	
CL	10 – 100 mL.h ⁻¹	0,24 – 2,4 L.j ⁻¹	1 mL.h ⁻¹ = 0,024 L.j ⁻¹	0,3 L.j ⁻¹
Q	10 – 100 mL.h ⁻¹	0,24 – 2,4 L.j ⁻¹	1 mL.h ⁻¹ = 0,024 L.j ⁻¹	0,4 L.j ⁻¹
V _c		3 – 6 L		3 L
V _p		3 – 6 L		3 L
F _{sc}		0,3 – 1		0,7
k _a		0,2 – 1,5 j ⁻¹		0,5 j ⁻¹
t _{max SC}		1 – 8 d		
k _{on}	10 ⁴ – 10 ⁶ (M.s) ⁻¹	1 – 100 (nM.j) ⁻¹	10 ⁵ (M.s) ⁻¹ = 8,64 (nM.j) ⁻¹	10 (nM.j) ⁻¹
k _{off}	10 ⁻⁶ – 10 ⁻³ s ⁻¹	0,1 – 100 j ⁻¹	10 ⁻³ s ⁻¹ = 86,4 j ⁻¹	10 j ⁻¹
K _D =k _{off} /k _{on}		1 – 100 nM		
k _{int}	soluble	Identique à k _{el}	0,01 – 0,2 j ⁻¹	0,05 j ⁻¹
	membranaire	Identique à k _{deg}	5 – 100 j ⁻¹	15 j ⁻¹
k _{syn}		1 – 2 nM.j ⁻¹		1 – 2 nM.j ⁻¹
k _{deg}		1 – 150 j ⁻¹		10 j ⁻¹
R(0)=k _{syn} /k _{deg}	1 – 10 ⁴ pM	10 ⁻³ – 10 nM		

II.2. Les profils de concentrations en fonction du temps

Le profil concentration-temps typique d'une protéine thérapeutique sujette au TMDD, sous sa forme libre, tel que décrit par Peletier et Gabrielsson (17) est représenté sur la Figure 11.

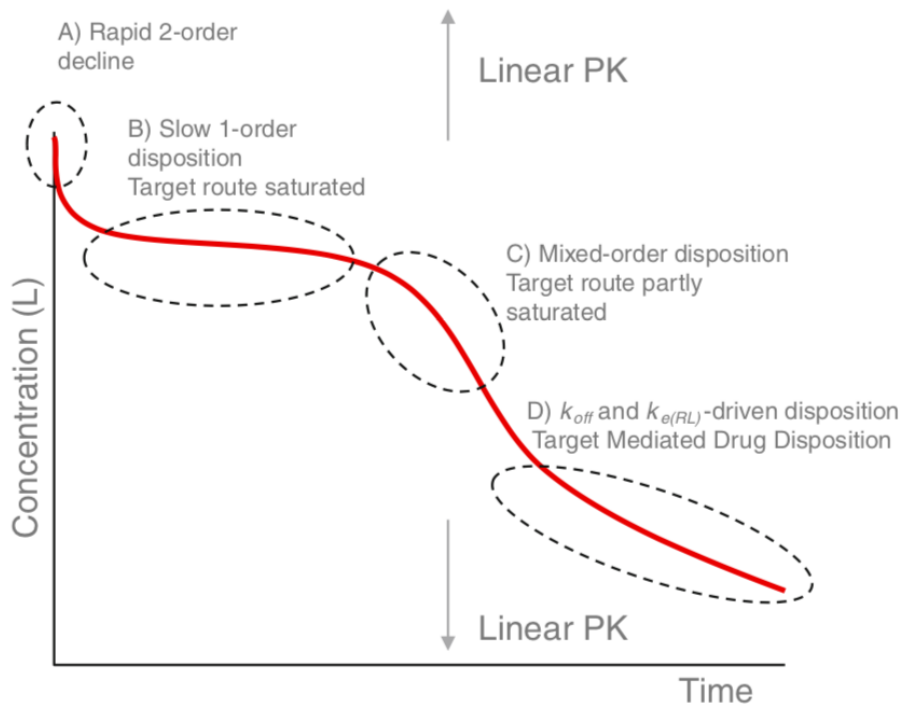


Figure 11 – Profil pharmacocinétique typique d'une protéine thérapeutique sujette au TMDD (échelle logarithmique)

On distingue clairement plusieurs phases distinctes :

1. Tout d'abord, on observe une chute rapide des concentrations libres de ligand (*i.e.* la drogue) et de récepteur (*i.e.* la cible) correspondant à la liaison de la drogue avec la cible disponible.
2. Une fois que tous les sites de cible libre sont occupés, la forme de la courbe concentration-temps de la drogue libre correspond à une élimination linéaire : la voie d'élimination médiée par la cible est saturée.
3. Le changement de pente de la courbe en fonction de la dose correspond à différentes contributions des voies d'élimination linéaire et médiée par la cible : plus la dose est faible, plus la contribution de la voie liée à la cible dans l'élimination totale est importante.
4. La dernière phase des courbes concentration-temps correspond à une dissociation lente du ligand du complexe ligand-récepteur et/ou au retour du ligand depuis deuxième compartiment.

La principale différence entre les paramètres des systèmes à cibles solubles et celles liées à la membrane réside dans le taux d'internalisation du complexe médicament-cible. Ce paramètre est souvent similaire au faible taux d'élimination du médicament pour les systèmes à cibles solubles et est beaucoup plus rapide, proche du taux de dégradation de la cible, pour les systèmes à cibles liées à la membrane. Cela se voit dans les profils simulés qui montrent l'accumulation de la cible totale pour le système avec la cible soluble et une faible concentration de la cible totale pour le système avec la cible liée à la membrane.

II.3. Approximations du modèle TMDD

Comme mentionné précédemment, la liaison drogue-cible est un processus bien plus rapide que les mécanismes de dissociation du complexe, de distribution/élimination de la drogue et

que l'élimination de la cible ou du complexe drogue-cible. Ainsi, pour des valeurs typiques de k_{on} d'anticorps monoclonaux (10 à 100 nM⁻¹.j⁻¹), les schémas de prélèvement ne permettent généralement pas d'apporter suffisamment d'information pour estimer les paramètres de liaison et donc posent des problèmes d'identifiabilité. De plus, les propriétés numériques liées aux équations différentielles dites « stiff » (ou « raides ») – souvent rencontrés pour modéliser plusieurs phénomènes évoluant à des vitesses très différentes – augmentent considérablement les temps de calcul. Ces facteurs font que le modèle TMDD complet est difficile, voire impossible, à utiliser en pratique.

Plusieurs moyens de surmonter ces difficultés ont été proposés. Une possibilité est de fixer quelques paramètres du système sur la base de données provenant d'expérimentation *in vitro*. Notamment, la constante de vitesse d'association k_{on} peut être mesurée expérimentalement. Fixer cette constante à sa valeur *in vitro* résout le problème d'identifiabilité des paramètres de liaison. Une autre possibilité consiste à dériver des approximations du système qui décrivent les processus les plus importants.

II.3.1. Approximations “Quasi-Steady-State” et “Rapid Binding”

Les équations de TMDD [2], [4] et [5] contiennent le même terme $k_{on} \cdot C \cdot R$, qui est le seul grand terme à droite de l'égalité. Cependant, les sommes des équations [2]+[5] et [4]+[5] ne contiennent pas ce terme, soit :

$$\frac{dC_{tot}}{dt} = \frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C - k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} - k_{int} \cdot RC \quad [7]$$

$$\frac{dR_{tot}}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot R - k_{int} \cdot RC \quad [8]$$

Avec :

- $C_{tot} = C + RC$: concentrations totales (libre + liée) de drogue dans le compartiment central
- $R_{tot} = R + RC$: concentrations totales (libre + liée) de cible dans le compartiment central

Les équations [7] et [8] contiennent trois entités (C , R et RC) qui nécessitent d'être exprimées par C_{tot} et R_{tot} . Deux relations proviennent des définitions de C_{tot} et R_{tot} mais une équation supplémentaire est nécessaire pour exprimer C , R et RC .

En supposant que la cible libre se trouve dans un état de quasi-équilibre (ou « quasi-steady-state », QSS), on a [4] = 0 soit :

$$0 = k_{syn} - k_{deg} \cdot R - k_{on} \cdot C \cdot R + k_{off} \cdot RC \quad [9]$$

Lorsque les deux premiers termes de cette équation sont beaucoup plus petits que les deux derniers, l'état du système est défini par une condition de quasi-équilibre (ou « quasi-equilibrium », QE), [9] devient alors :

$$0 = -k_{on} \cdot C \cdot R + k_{off} \cdot RC; \frac{C \cdot R}{RC} = \frac{k_{off}}{k_{on}} = K_D \quad [10]$$

Qui fournit la troisième équation nécessaire.

Alternativement, si l'on considère que le complexe drogue-cible est en QSS, la condition de QSS est :

$$0 = k_{on} \cdot C \cdot R - (k_{int} + k_{off}) \cdot RC; \frac{C \cdot R}{RC} = \frac{k_{off} + k_{int}}{k_{on}} = K_{SS} \quad [11]$$

Notons que dans les deux cas, les conditions QE et QSS sont bien connues de la théorie de cinétique enzymatique (18). Les équations [10] et [11] sont proches mais diffèrent dans l'interprétation de leurs constantes. Pour la suite, nous considérerons l'approximation QSS.

L'équation [11] peut être réécrite telle que :

$$C \cdot (R_{tot} - RC) = K_{SS} \cdot RC$$

Ou :

$$RC = R_{tot} \cdot C / (K_{SS} + C)$$

d'où :

$$R = R_{tot} - RC = R_{tot} \cdot K_{SS} / (K_{SS} + C)$$

Puis, en remplaçant RC dans la définition de la concentration totale de drogue $C_{tot} = C + RC$ et en résolvant l'équation quadratique pour C, on peut dériver :

$$C = \frac{C_{tot} - R_{tot} - K_{SS} + \sqrt{(C_{tot} - R_{tot} - K_{SS})^2 + 4 \cdot K_{SS} \cdot C_{tot}}}{2}$$

$$R = \frac{R_{tot} \cdot K_{SS}}{K_{SS} + C} \quad [12]$$

$$RC = \frac{R_{tot} \cdot C}{K_{SS} + C}$$

Ces expressions peuvent être utilisées dans les équations [7] et [8] :

$$k_{int} \cdot RC = k_{int} \cdot \frac{R_{tot} \cdot C}{K_{SS} + C}$$

$$k_{deg} \cdot R + k_{int} \cdot RC = k_{deg} \cdot (R_{tot} - RC) + k_{int} \cdot RC = k_{deg} \cdot R_{tot} + (k_{int} - k_{deg}) \cdot \frac{R_{tot} \cdot C}{K_{SS} + C}$$

Conduisant à l'approximation QSS du système TMDD (19) :

$$\frac{dA_d}{dt} = -k_a \cdot A_d \quad [13]$$

$$\frac{dC_{tot}}{dt} = \frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C + k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} - k_{int} \cdot \frac{R_{tot} \cdot C}{K_{SS} + C} \quad [14]$$

$$\frac{dA_T}{dt} = k_{pt} \cdot C \cdot V - k_{tp} \cdot A_T \quad [15]$$

$$\frac{dR_{tot}}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot R_{tot} - (k_{int} - k_{deg}) \cdot \frac{R_{tot} \cdot C}{K_{SS} + C} \quad [16]$$

$$A_d(0) = D_1; C_{tot}(0) = \frac{D_2}{V}; A_T(0) = 0; R_{tot}(0) = \frac{k_{syn}}{k_{deg}} \quad [17]$$

Ce système peut être simplifié si nécessaire. Par exemple, si la vitesse d'internalisation du complexe est semblable à la vitesse de dégradation de la cible libre ($k_{int} = k_{deg}$), la concentration totale de cible R_{tot} est constante ($R_{tot} = R(0) = k_{syn}/k_{deg}$) et peut être considérée comme un paramètre du système et ainsi l'équation [16] est alors redondante.

La dérivation des équations de quasi-équilibre est identique à celle présentée ci-dessus à la seule différence de l'utilisation de la constante de dissociation de quasi-équilibre K_D plutôt que K_{SS} (constante d'affinité à l'équilibre). Historiquement, QE a été la première approximation proposée pour le système TMDD par Mager et Krzyzanski (20). Cette approximation est également appelée approximation « rapid binding » (RB). Une dérivation similaire a également été proposée par Hayashi et al (21). Le modèle de quasi-équilibre est applicable lorsque les vitesses d'association et de dissociation sont rapides en comparaison des autres processus, la relation entre les concentrations du médicament libre, de la cible libre et du complexe médicament-cible est donc déterminée par la dissociation à l'équilibre. Les approximations QE et QSS coïncident lorsque la constante de vitesse d'internalisation k_{int} est négligeable par rapport à la constante de vitesse de dissociation k_{off} . Dans ce cas, K_{SS} est approximativement égal à K_D .

Les différences dans les prédictions des modèles TMDD complet et de l'approximation QSS sont illustrées par la Figure 12. Comme on peut le constater, l'approximation QSS ne décrit pas la rapide baisse initiale des concentrations de médicament libre (b) (échelle de temps de 0 à 0,05 jours soit 0 à 72 min), mais permet une excellente approximation de la solution vraie dans l'intervalle des temps et des concentrations présentant un intérêt clinique (a) (plusieurs semaines).

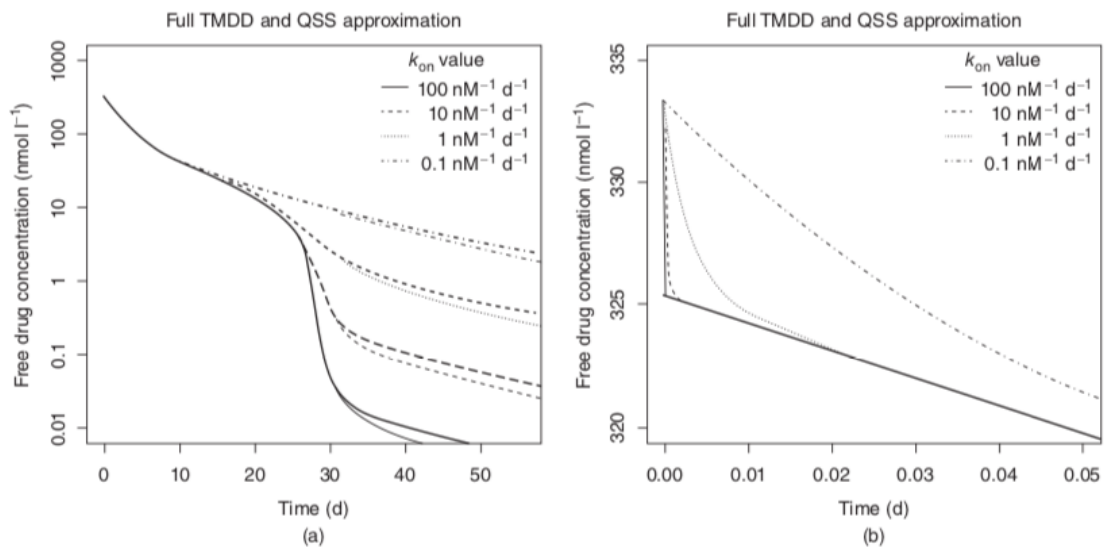


Figure 12 – Comparaison des modèles TMDD complet et approximation QSS par la simulation de profils pharmacocinétiques typiques après administration IV bolus

Traits fins : TMDD complet ; traits épais : approximation QSS

II.3.2. Approximation Michaelis-Menten

L'équation [14] est similaire à l'équation décrivant l'élimination de Michaelis-Menten (MM) (22) où $V_{max} = R_{tot} \cdot k_{int}$ et $K_m = K_{SS}$. La différence par rapport à l'équation standard de MM est que le côté gauche de la dérivée correspond à la dérivée des concentrations totales et non des concentrations libres. Lorsque la concentration du complexe drogue-cible est faible, les dérivées des concentrations de drogue libre et totale sont similaires et l'équation [14] est similaire à l'équation de MM :

$$\frac{dC}{dt} = \frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C + k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} - \frac{R_{tot} \cdot k_{int} \cdot C}{K_{SS} + C} \quad [18]$$

Notons que cet argument n'est pas une dérivation, mais plutôt une explication pour l'approximation de MM proposée. Même lorsque la dérivée de la concentration du complexe médicament-cible est égale à zéro sur l'échelle de temps des observations, des changements rapides de la concentration du complexe pourraient entraîner des modifications de la concentration totale (liée et libre) du médicament qui ne sont qu'approximativement décrits par le système MM. Le système complet d'équations décrivant l'approximation MM du modèle TMDD (19) est le suivant :

$$\frac{dA_d}{dt} = -k_a \cdot A_d \quad [19]$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C + k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} - \frac{V_{max} \cdot C}{K_m + C} \quad [20]$$

$$\frac{dA_T}{dt} = k_{pt} \cdot C \cdot V - k_{tp} \cdot A_T \quad [21]$$

$$\frac{dR_{tot}}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot R_{tot} - (k_{int} - k_{deg}) \cdot \frac{R_{tot} \cdot C}{K_m + C} \quad [22]$$

$$A_d(0) = D_1; C(0) = \frac{D_2}{V}; A_T(0) = 0; R_{tot}(0) = \frac{k_{syn}}{k_{deg}} \quad [23]$$

À la différence du paramètre V_{max} dans l'équation usuelle de Michaelis-Menten, la vitesse maximale d'élimination médiée par la cible $V_{max} = R_{tot} \cdot k_{int}$ qui entre dans l'équation [20] peut varier avec le temps et la variation de R_{tot} décrite par l'équation [22]. Comme précédemment, si la concentration totale de cible R_{tot} peut être considérée constante, alors l'équation [22] peut être retirée du système et ainsi V_{max} est un paramètre constant dans le système.

L'approximation MM permet de décrire le système lorsque la concentration en cible est faible par rapport à la concentration en médicament libre. Dans ce cas, la concentration du complexe médicament-cible et sa dérivée sont faibles. L'approximation MM est utile pour les systèmes où le taux d'internalisation est suffisamment élevé pour que l'élimination du médicament par le complexe médicament-cible joue un rôle important dans le bilan de masse global, même lorsque la concentration de cible est faible. Il n'est en revanche pas approprié pour la description de systèmes où les concentrations libres et totales de médicament diffèrent de manière significative, par exemple en raison de l'accumulation du complexe médicament-cible.

La relation entre l'approximation QE et le modèle MM a également été étudiée par Yan et al (23).

II.3.3. Équation de Wagner

Si la concentration totale de cible est constante dans le système, la dérivée de la concentration totale de drogue en fonction du temps $C_{tot} = C + RC$ peut être exprimée comme :

$$\frac{dC_{tot}}{dt} = \frac{dC}{dt} \cdot \left(1 + \frac{R_{tot} \cdot K_{SS}}{(K_{SS} + C)^2}\right) \quad [24]$$

Dans ce cas, le système TMDD se réduit aux équations suivantes :

$$\frac{dA_d}{dt} = -k_a \cdot A_d \quad [25]$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{\frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C + k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} - \frac{R_{tot} \cdot k_{int} \cdot C}{K_{SS} + C}}{1 + \frac{R_{tot} \cdot K_{SS}}{(K_{SS} + C)^2}} \quad [26]$$

$$\frac{dA_T}{dt} = k_{pt} \cdot C \cdot V - k_{tp} \cdot A_T \quad [27]$$

$$A_d(0) = D_1; A_T(0) = 0 \quad [28]$$

$$C(0) = \frac{1}{2} \cdot \left[\left(\frac{D_2}{V} - R_{tot} - K_{SS} \right) + \sqrt{\left(\frac{D_2}{V} - R_{tot} - K_{SS} \right)^2 + 4 \cdot K_{SS} \cdot \frac{D_2}{V}} \right] \quad [29]$$

Ces équations représentent une forme différente de l'approximation QSS pour la situation où la concentration totale de cible dans le système est constante. Des équations similaires ont été introduites par Wagner (24) pour décrire un système d'équilibre avec liaison non linéaire et vitesse d'internalisation négligeable. Les équations de Wagner correspondent au système décrit par les équations [25] à [29] lorsque $k_{int}=0$. Cette relation entre le système TMDD et les équations de Wagner a été dérivée par Mager et Krzyzanski (20). Notons la forme inhabituelle de la condition initiale dans l'équation [29]. La dose D_2 est considérée comme instantanément distribuée entre le médicament libre et le médicament lié en accord avec les conditions de QSS de l'équation [12]. Cela rend difficile l'implémentation de ces équations, en particulier dans les cas d'administration de multiples doses en bolus.

II.3.4. Approximation Irreversible Binding

De nombreuses protéines thérapeutiques, dont des anticorps monoclonaux, sont conçus pour avoir une haute affinité pour leur cible (soit un faible k_{off}). Cependant, la vitesse d'internalisation du complexe médicament-cible k_{int} peut être élevé, notamment pour les cibles exprimées sur la membrane des cellules. Dans cette situation, la constante de vitesse d'internalisation k_{int} est très supérieure à la constante de vitesse de dissociation ($k_{off} \ll k_{int}$), et il n'y a pas d'accumulation significative du complexe. De plus, la dissociation du complexe a une influence négligeable sur les profils concentration-temps et peut être ignorée.

Le système TMDD peut alors être réduit à un ensemble d'équations qui décrivent les concentrations libres de drogue et de cible :

$$\frac{dA_d}{dt} = -k_a \cdot A_d \quad [30]$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C - k_{on} \cdot C \cdot R + k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} \quad [31]$$

$$\frac{dA_T}{dt} = k_{pt} \cdot C \cdot V - k_{tp} \cdot A_T \quad [32]$$

$$\frac{dR}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot R - k_{on} \cdot C \cdot R \quad [33]$$

$$A_d(0) = D_1; C(0) = \frac{D_2}{V}; A_T(0) = 0; R(0) = \frac{k_{syn}}{k_{deg}} \quad [34]$$

Ce système d'équations correspond à l'approximation de liaison irréversible ou « irreversible binding » (IB).

Les hypothèses de QSS pour la concentration libre ($k_{syn} - k_{deg} \cdot R - k_{on} \cdot C \cdot R = 0$) peuvent être utilisées pour dériver la relation $R = \frac{k_{syn}/k_{on}}{k_{deg}/k_{on} + C}$ et les équations :

$$\frac{dA_d}{dt} = -k_a \cdot A_d \quad [35]$$

$$\frac{dC}{dt} = \frac{In(t) + k_a \cdot A_d}{V} - (k_{el} + k_{pt}) \cdot C - \frac{k_{syn} \cdot C}{k_{deg}/k_{on} + C} + k_{tp} \cdot \frac{A_T}{V} \quad [36]$$

$$\frac{dA_T}{dt} = k_{pt} \cdot C \cdot V - k_{tp} \cdot A_T \quad [37]$$

$$A_d(0) = D_1; C(0) = \frac{D_2}{V}; A_T(0) = 0 \quad [38]$$

Les équations [35] à [38] sont valides dans le cas où la concentration de cible libre est négligeable par rapport à la concentration libre de médicament ($R \ll C$). Ce système d'équations peut aussi être appelé « quasi-steady-state-irreversible binding » (QSS-IB) dans la mesure où il combine les hypothèses de liaison irréversible et de quasi-steady state. Nous pouvons également noter que les équations [35] à [38] représentent le système avec en parallèle une élimination linéaire et une élimination type Michaelis-Menten où $V_{max} = k_{syn}$ et $K_m = k_{deg}/k_{on}$.

II.3.5. Hiérarchie des approximations du modèle TMDD

La Figure 13 illustre la hiérarchie des différentes approximations du modèle TMDD.

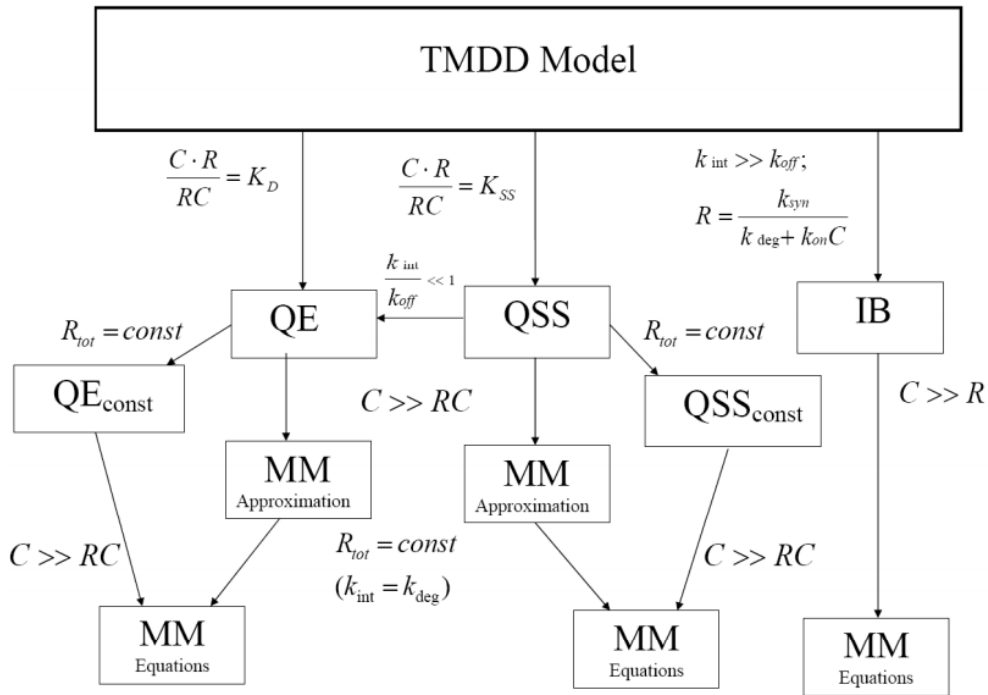


Figure 13 – Diagramme de la hiérarchie des approximations du modèle TMDD adapté de Gibiansky et al. (18)

Le haut du diagramme correspond au modèle TMDD complet décrit par les équations [1] à [6]. Avec chaque hypothèse supplémentaire, le système est simplifié. Le bas du diagramme correspond aux systèmes avec éliminations linéaire et non-linéaire type Michaelis-Menten en parallèle. Différentes cases du même nom correspondent à des modèles structurellement similaires qui diffèrent par l'interprétation des paramètres du modèle en termes de constantes TMDD d'origine.

II.3.6. Relations entre l'approximation QSS et les modèles indirects de réponse

L'équation [8] de QSS pour la concentration totale de cible peut être réécrite selon deux formes équivalentes :

$$\frac{dR_{tot}}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot R_{tot} \cdot \left(1 + E_{max} \cdot \frac{C}{K_{SS} + C}\right); E_{max} = \frac{k_{int}}{k_{deg}} - 1 \quad [39]$$

$$\frac{dR_{tot}}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot R_{tot} \cdot \left(1 - E_{max} \cdot \frac{C}{K_{SS} + C}\right); E_{max} = 1 - \frac{k_{int}}{k_{deg}} \quad [40]$$

À partir des équations ci-dessus, il apparaît clair que d'après l'approximation QSS du modèle TMDD, la concentration totale de cible peut être décrite par un modèle de réponse indirecte avec stimulation (équation [39]) ou inhibition (équation [40]) de l'élimination, selon que la vitesse d'internalisation k_{int} est plus grande ou plus faible que la vitesse de dégradation de la cible k_{deg} . La stimulation ou l'inhibition sont décrites par la fonction E_{max} de la concentration libre du médicament.

Les implications importantes de cette analogie sont que :

- la concentration libre de cible peut être exprimée avec l'équation [12] à travers les paramètres du modèle de réponse indirecte pour la concentration cible totale

- l'estimation des paramètres du modèle de réponse indirecte permet d'obtenir tous les paramètres de l'approximation QSS reliés à la cible libre et au complexe médicament-cible (k_{syn} , k_{deg} , k_{int} , K_{SS}).

Dans de nombreux cas, le profil pharmacocinétique des médicaments sujets au TMDD peut être décrit par des modèles compartimentaux avec des processus d'élimination linéaire et Michaelis-Menten (non-linéaire) en parallèle (22,25). Ainsi, la procédure de modélisation simultanée PK/PD basée sur le modèle TMDD ou ses approximations peut être remplacée par une approche séquentielle plus simple. Tout d'abord, le modèle PK est décrit. Ensuite, le modèle PD de réponse indirecte des équations [39] ou [40] est utilisé pour décrire les concentrations totales de cibles observées. Les paramètres de ce modèle sont ensuite utilisés pour obtenir les paramètres du modèle TMDD et pour décrire les concentrations de cibles libres non observables. Un exemple d'application décrivant l'inhibition du récepteur à l'interleukine 6 par le tocilizumab et leurs implications hématologiques a été publié par Gibiansky et Frey (26).

II.4. Identifiabilité des paramètres du modèle

Bien que le système TMDD soit identifiable *a priori* (c'est-à-dire que tous les paramètres du système peuvent être identifiés sous réserve de disposer d'une quantité suffisante de données précises), en pratique, l'identifiabilité des paramètres du modèle en fonction des données disponibles (limitées par des considérations cliniques, logistiques et bioanalytiques) est un problème important qui doit être résolu pour une application réussie du modèle TMDD.

Cette problématique a d'abord été remarquée et discutée par Mager et Krzyzanski (20), où l'approximation QE a été introduite et où la sensibilité de ce modèle QE aux hypothèses sous-jacentes a été étudiée. Il a été montré par des simulations que l'approximation QE intègre les caractéristiques essentielles du modèle complet, bien qu'elle puisse ne pas être valable lorsque les concentrations de cible dépassent de manière significative les concentrations du médicament, à faibles doses, et lorsque la concentration du médicament change très rapidement. Une étude plus approfondie des propriétés du modèle TMDD a été menée par Abraham et al (27).

L'identifiabilité des paramètres du modèle TMDD a également été étudiée par Gibiansky et al (19) qui ont proposé un algorithme heuristique pour étudier l'identifiabilité des paramètres selon le type de données disponibles. L'idée principale de cet algorithme est d'utiliser la correspondance entre les paramètres du modèle TMDD et ses approximations. Le profil concentration-temps d'un sujet typique est simulé simultanément à l'aide du modèle TMDD complet et de ses approximations de différentes complexités, selon un schéma posologique typique du jeu de données à analyser. Les prédictions de ces modèles sont ensuite comparées et le modèle le plus simple qui fournit des prédictions suffisamment similaires aux prédictions du modèle complet dans la plage de doses/concentrations d'intérêt est sélectionné.

Les simulations ont montré que les équations de Michaelis-Menten sont identifiables et fournissent une description adéquate des données lorsque la vitesse d'internalisation du complexe est rapide et qu'aucune accumulation du complexe n'est observée.

L'approximation QSS est identifiable et permet une description adéquate des données en cas d'accumulation importante du complexe. La disponibilité de la concentration totale de cible (en plus des concentrations libres ou totales du médicament) augmente considérablement la précision des estimations des paramètres dans ce cas.

Par ailleurs, le système TMDD complet est rarement identifiable, voire jamais, compte tenu des données cliniques disponibles.

Marathe et al (28) ont également montré l'importance de la disponibilité de données suivant l'administration d'une large gamme de doses pour une meilleure identification des paramètres du modèle TMDD et pour la précision de leur estimation.

III. L'alirocumab

L'alirocumab est un anticorps monoclonal neutralisant de type IgG1 humanisé ayant un effet hypolipémiant développé en collaboration par les laboratoires Sanofi et Regeneron Pharmaceuticals. Il a reçu une autorisation de mise sur le marché par la FDA et l'EMA en 2015 et est aujourd'hui commercialisé sous le nom de Praluent®.

L'activité hypolipémiante de l'alirocumab résulte de son action préventive de l'endocytose récepteur-dépendante de certaines lipoprotéines, essentiellement les lipoprotéines de faible densité (« low density lipoprotein », LDL).

III.1. Mécanisme d'action

III.1.1. Le récepteur aux LDL

Le récepteur aux lipoprotéines de faible densité (« low density lipoprotein receptor », LDL-R) est une glycoprotéine transmembranaire exprimée majoritairement dans les hépatocytes (29). Sa fonction principale est l'élimination de certaines lipoprotéines (principalement les LDL) de la circulation sanguine ce qui en fait un acteur majeur de l'homéostasie du cholestérol.

La liaison des lipoprotéines au LDL-R entraîne l'internalisation du complexe ligand-récepteur. L'endosome alors formé va subir alors une acidification progressive, par le biais de pompes à protons situées sur sa membrane, permettant la dissociation du complexe. La lipoprotéine reste dans l'endosome qui fusionne avec un lysosome, ce qui conduit à sa dégradation enzymatique. Le LDL-R va ensuite être recyclé vers la membrane de l'hépatocyte pour se lier à de nouvelles lipoprotéines. Notons que l'endocytose des LDL-R a lieu de façon constante, qu'ils soient liés à des lipoprotéines ou non (30).

III.1.2. La PCSK9

La Protéine Convertase Subtilisine Kexine de type 9 (PCSK9) a été mise en lumière en 2003 lorsque le gène codant pour cette protéine a été identifié comme pouvant être impliqué dans la survenue d'hypercholestérolémie familiale (31). Les mutations concernées, de type « gain de fonction », étaient responsables d'un renforcement de l'effet de la PCSK9 et étaient associées à des taux de LDL-cholestérol (LDL-C) élevés. Par la suite, des mutations de type « perte de fonction » ont été mises en évidence comme associées à des taux diminués de LDL-C et une moindre incidence de maladies cardiovasculaires (32), confirmant ainsi le rôle de la PCSK9 dans le métabolisme du cholestérol.

La PCSK9 est une protéine, de la famille des proprotéines convertases, impliquée dans le métabolisme du cholestérol par une action sur le cycle de vie du LDL-R au niveau des hépatocytes. La PCSK9 circulante se lie au domaine extracellulaire du LDL-R et lui reste solidaire tout au long du processus d'endocytose. À la différence de l'endocytose du LDL-R seul, l'acidification de l'endosome va augmenter l'affinité de la PCSK9 pour le LDL-R, empêchant le changement de conformation nécessaire du LDL-R pour son recyclage vers la membrane plasmique. Le complexe PCSK9 et le LDL-R restent ainsi lié jusqu'à la dégradation lysosomale de l'ensemble (33). Le mécanisme de dégradation du LDL-R médié par la PCSK9 est représenté sur la Figure 14.

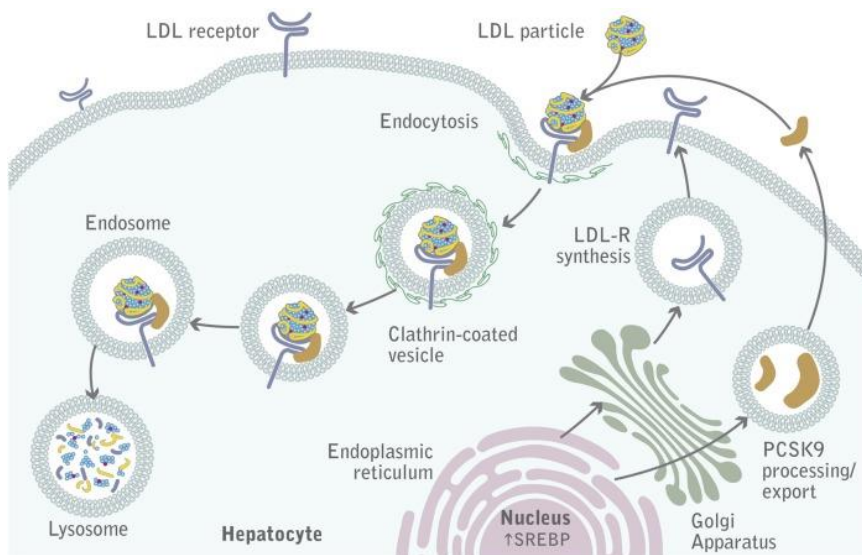


Figure 14 – Dégradation du LDL-R médiée par la PCSK9
d'après Lambert et al. (34)

En résumé, la PCSK9, en promouvant la dégradation lysosomale des LDL-R réduit la quantité disponible de récepteurs à la surface cellulaire ce qui a pour conséquence de diminuer la captation du LDL circulant. Il en résulte une augmentation des taux sanguins de LDL-C.

III.1.3. L'alirocumab

L'alirocumab a été conçu pour se lier avec une forte affinité et une haute spécificité à la PCSK9 circulante (35) pour empêcher sa fixation au LDL-R (voir Figure 15). Il prévient ainsi la dégradation lysosomale des récepteurs aux lipoprotéines et préserve leur capacité de recyclage. Les LDL-R sont ainsi disponibles pour la prise en charge des LDL et provoquer une baisse des taux de LDL-C.

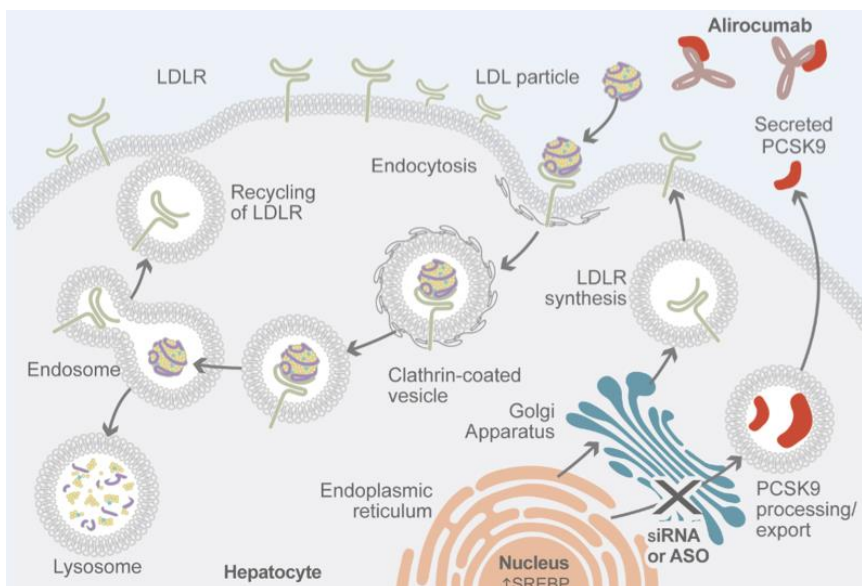


Figure 15 – Mécanisme d'action de l'alirocumab, inhibiteur de PCSK9
d'après Lambert et al. (34)

(ASO, antisense oligonucleotides, *LDL* low-density lipoprotein, *LDLR* LDL receptor, *PCSK9* proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, *siRNA* small interfering RNA, *SREBP2* sterol-responsive element-binding protein 2)

III.2. Indications et posologie

L'alirocumab est indiqué chez l'adulte présentant une hypercholestérolémie primaire (hétérozygote familiale et non familiale) ou une dyslipidémie mixte, en complément d'un régime alimentaire :

- en association avec une statine seule ou une statine avec d'autres thérapies hypolipémiantes chez les patients ne pouvant atteindre leur objectif de LDL-C, sous statine à dose maximale tolérée

ou

- seul ou en association avec d'autres thérapies hypolipémiantes chez les patients intolérants aux statines, ou chez qui les statines sont contre-indiquées.

Il est également indiqué en prévention secondaire des maladies cardiovasculaires athéroscléreuses établies chez l'adulte pour réduire le risque cardiovasculaire par la réduction du taux de LDL-C, en complément de la correction d'autres facteurs de risque. Il est alors prescrit :

- en association avec la dose maximale tolérée d'une statine avec ou sans autres thérapies hypolipémiantes
- seul ou en association avec d'autres thérapies hypolipémiantes chez les patients intolérants aux statines, ou chez qui les statines sont contre-indiquées.

Il se présente sous la forme d'une solution injectable (stylo pré-rempli ou seringue pré-remplie) aux doses de 75 et 150 mg. Le produit s'administre par voie sous-cutanée, préférentiellement dans la cuisse, l'abdomen ou le haut du bras.

La posologie d'initiation de traitement est de 75 mg toutes les 2 semaines. Les patients qui nécessitent une diminution plus importante du taux de LDL-C (supérieure à 60 %) peuvent démarrer le traitement à la dose de 150 mg une fois toutes les 2 semaines ou 300 mg une fois toutes les 4 semaines (mensuellement). La dose sera ensuite ajustée individuellement en fonction des caractéristiques du patient telles que son taux de LDL-C avant traitement, son objectif thérapeutique et sa réponse au traitement.

Les paramètres lipidiques peuvent être évalués 4 à 8 semaines après l'instauration ou l'ajustement posologique du traitement, la posologie pouvant alors être ajustée en fonction de ces résultats (augmentation ou diminution de la dose selon le cas). Si une réduction supplémentaire du LDL-cholestérol est nécessaire chez les patients traités avec 75 mg toutes les 2 semaines ou 300 mg toutes les 4 semaines, la posologie peut être ajustée à la dose maximale de 150 mg toutes les 2 semaines.

III.3. Propriétés pharmacocinétiques

III.3.1. Absorption

Après administration sous-cutanée de 50 à 300 mg d'alirocumab, le t_{max} est de 3 à 7 jours (35). Le profil d'absorption du produit est similaire quel que soit le site d'absorption (abdomen, cuisse ou haut du bras). La biodisponibilité absolue est de l'ordre de 60 à 80 %.

III.3.2. Distribution

Le volume de distribution est de l'ordre de 0,04 à 0,05 L/kg, ce qui indique que l'alirocumab est principalement distribué dans le système circulatoire.

III.3.3. Élimination

L'alirocumab présente une pharmacocinétique non linéaire. On observe deux phases d'élimination qui mettent en évidence un mécanisme de type TMDD : aux faibles concentrations, l'élimination s'effectue principalement par liaison saturable à la PCSK9, alors qu'aux concentrations plus élevées, l'élimination de l'alirocumab s'effectue en grande partie par la voie protéolytique non saturable.

À l'état d'équilibre, la demi-vie apparente d'élimination est de 17 à 20 jours chez les patients recevant l'alirocumab en monothérapie contre 12 jours chez les patients traités en association avec une statine.

III.3.4. Populations particulières

Des analyses de pharmacocinétique de population ont mis en évidence un effet du poids corporel sur l'exposition à l'alirocumab : à l'état d'équilibre, l'aire sous la courbe des concentrations (AUC) entre deux administrations est environ 30 % inférieure chez les patients de plus de 100 kg par rapport aux patients de 50 à 100 kg. Cependant, lors des études cliniques, cette différence d'exposition ne s'est pas traduite par une différence cliniquement significative dans la réduction du taux de LDL-C. L'âge a également été associé à une petite différence dans l'exposition à l'alirocumab à l'état d'équilibre, sans conséquence sur l'efficacité ou la sécurité.

Les anticorps monoclonaux n'étant pas connus pour être éliminés par voie rénale, il n'est pas attendu que la fonction rénale ait un impact sur la pharmacocinétique de l'alirocumab.

Dans une étude de phase 1, après l'administration d'une dose unique de 75 mg par voie sous-cutanée, les profils pharmacocinétiques de l'alirocumab chez des sujets présentant une insuffisance hépatique légère à modérée étaient similaires à ceux de sujets dont la fonction hépatique était normale. Aucune donnée n'est disponible pour les patients présentant une insuffisance hépatique sévère.

III.3.5. Relation pharmacocinétique/pharmacodynamique

L'effet pharmacodynamique de l'alirocumab sur la réduction du taux de LDL-C est indirect et est médié par la liaison à la PCSK9. Une réduction dépendante de la concentration de la PCSK9 libre et du LDL-C est observée jusqu'à ce que la saturation de la cible soit atteinte. Dès saturation de la liaison à PCSK9, une augmentation supplémentaire de la concentration de l'alirocumab n'entraîne pas de réduction supplémentaire du taux de LDL-C. Cependant, on peut observer une prolongation de la durée de l'effet.

III.4. Modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique

Dans le cadre du développement clinique de l'alirocumab en vue de sa mise sur le marché, plusieurs modèles PK et PK/PD de population ont été développés et soumis aux autorités de régulation du médicament (FDA, EMA) dans le cadre de la Biologics License Application du Praluent®.

Initialement, un modèle de PK de population « empirique » (36) considérant la clairance comme une approximation du modèle TMDD de type « Michaelis-Menten » pour décrire les processus d'élimination linéaire et non linéaire de la molécule a été développé. Pour cette analyse, des données de 2799 individus provenant de 13 études cliniques ont été utilisées.

Dans un second temps, un modèle PK/PD a été développé selon une approche séquentielle. Ainsi, à partir des résultats du modèle PK initial, les paramètres PK individuels des sujets du jeu de données ont été utilisés pour simuler leurs propres profils concentration-temps permettant de modéliser l'évolution de leurs taux de LDL-C en fonction des concentrations d'alirocumab (37). La diminution des taux de LDL-C a alors été décrite à l'aide d'un modèle pharmacodynamique indirect de type stimulation de dégradation de réponse (*i.e.* la concentration de LDL-C) (ou modèle de « type IV ») comme décrit par Sharma et Jusko (38). La Figure 16 représente le lien entre les concentrations d'alirocumab et l'accélération de l'élimination du LDL-C selon ce modèle :

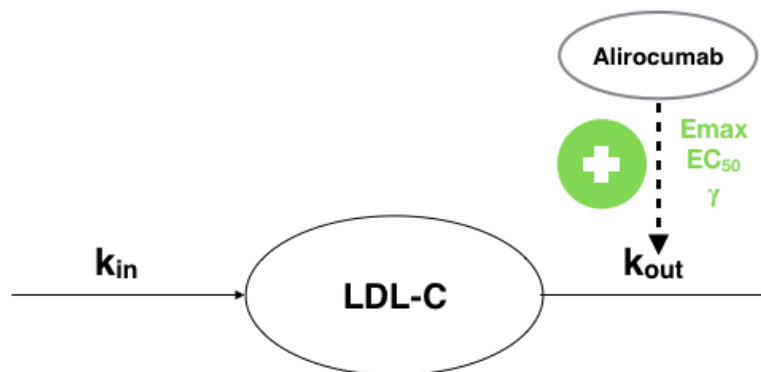


Figure 16 – Modèle pharmacodynamique de l'alirocumab
selon Nicolas et al. (37)

Avec :

- k_{in} : vitesse de synthèse du LDL-C, constante d'ordre zéro décrivant un taux de production à vitesse constante (unité : $mg.dL^{-1}.h^{-1}$)
- k_{out} : vitesse de dégradation du LDL-C, constante de premier ordre décrivant une vitesse proportionnelle à sa concentration (unité : h^{-1})
- E_{max} : effet maximal de stimulation de la dégradation du LDL-C (sans unité)
- EC_{50} : concentration d'alirocumab nécessaire pour atteindre la moitié de E_{max} (unité : $mg.L^{-1}$)
- γ : Coefficient de Hill (sans unité)

En absence d'alirocumab (avant traitement ou lorsque les concentrations redeviennent négligeables) la production et la dégradation de LDL-C décrivent un état stationnaire tel que le taux de LDL-C est constant :

$$\frac{d[LDLC]}{dt} = k_{in} - k_{out} \cdot [LDLC] = 0 \quad [41]$$

Soit :

$$[LDLC]_0 = \frac{k_{in}}{k_{out}} \quad [42]$$

Dans ce modèle PK/PD, les concentrations d'alirocumab interviennent pour augmenter k_{out} et ainsi stimuler la dégradation de LDL-C :

$$\frac{d[LDLC]}{dt} = k_{in} - k_{out} \cdot \left(1 + \frac{E_{max} \cdot [Alirocumab]^\gamma}{EC_{50}^\gamma + [Alirocumab]^\gamma} \right) \cdot [LDLC] \quad [43]$$

Parallèlement, un modèle PK « mécanistique » permettant de modéliser simultanément les concentrations d'alirocumab et de PCSK9 a été mis au point. Ce modèle utilise l'approximation QSS du modèle TMDD, présentée précédemment, pour décrire la non linéarité de la PK liée à l'interaction entre le médicament et sa cible (39).

III.5. Immunogénicité

Dans les études de phase 3, 4,8 % des patients traités par alirocumab 75 mg et/ou 150 mg toutes les 2 semaines ont présenté des anticorps anti-alirocumab après le début du traitement contre 0,6 % dans le groupe contrôle (placebo ou ézétimibe). La majorité de ces patients ont présenté des taux faibles et transitoires d'anticorps anti-alirocumab, sans activité neutralisante. Chez ces patients, aucune différence sur l'efficacité, la sécurité et la durée d'exposition à l'alirocumab n'a été observée, comparativement aux patients n'ayant pas présenté d'anticorps anti-alirocumab, à l'exception d'un taux plus élevé de réactions au site d'injection.

III.6. Données cliniques

L'efficacité de l'alirocumab a été démontrée sur la base de nombreux essais cliniques cherchant à étudier l'effet de l'alirocumab dans différentes populations en termes de pathologie (hypercholestérolémie familiale, dyslipidémies mixtes), de risque cardiovasculaire (de modéré à très élevé) et de co-médications (monothérapie ou association à d'autres traitements hypocholestérolémiants).

L'étude de phase 3 ODYSSEY OUTCOMES (NCT01663402) réalisée chez 18924 patients atteints d'un syndrome coronarien aigu dans les 12 mois précédents l'inclusion, avec un taux de LDL-C ≥ 70 mg/dL et traités par statine à forte dose ou à la dose maximum tolérée a démontré la supériorité de l'alirocumab par rapport au placebo dans la prévention secondaire du risque d'événements cardiovasculaires ischémiques récurrents (40). Dans cette étude, les patients étaient randomisés dans deux groupes : un groupe traité par alirocumab 75 mg et un groupe traité par placebo toutes les 2 semaines, en association avec une statine. La diminution du taux moyen de LDL-C à 4 mois, 12 mois et 48 mois après l'initiation du traitement était respectivement de 62,7 %, 61,0 % et 54,7 % plus importante dans le groupe traité par alirocumab que dans le groupe placebo.

IV. Travaux personnels : modélisation PK-TMDD/PD de l'alirocumab et de son rôle hypolipémiant

IV.1. Objectif

Sur la base des connaissances accumulées sur la pharmacocinétique de l'alirocumab et sur son mécanisme d'action, l'objectif de ce travail était de développer un modèle PK/PD semi-mécanistique permettant de décrire, de manière simultanée, l'interaction entre l'alirocumab et sa cible et relier les concentrations de PCSK9 à la baisse du LDL-cholestérol.

IV.2. Matériels et méthodes

IV.2.1. Études cliniques

Le modèle PK-TMDD/PD a été développé à l'aide de données issues de 9 essais cliniques :

- cinq études de phase 1 (NCT01026597, NCT01074372, NCT01161082 (41), NCT01448317 et NCT01723735)
- trois études de phase 2 (NCT01288443, NCT01288469 et NCT01266876)
- une étude de phase 3 (ODYSSEY MONO, NCT01644474)

Ces études ont été réalisées conformément aux principes de la Déclaration d'Helsinki pour les recherches médicales sur les sujets humains. Les protocoles ont été approuvés par les comités d'éthique concernés et tous les patients ont signé un consentement écrit.

Le jeu de données établi grâce à ces études était composé de sujets volontaires sains ainsi que de patients, atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote (HF) ou non (non-HF).

Au cours de ces études, l'alirocumab était administré par voie sous-cutanée soit en dose unique soit en doses répétées. Seule une étude de phase 1 (NCT01026597) concernait une administration par voie intraveineuse (IV) en dose unique. Les doses d'alirocumab allaient de 0,3 à 12 mg/kg pour l'étude IV et de 50 à 300 mg pour les études SC. Dans le cas des études en doses répétées, les administrations étaient espacées de 2 ou 4 semaines sur une période allant jusqu'à 104 semaines (2 ans). Les principales caractéristiques de ces études cliniques en termes de populations d'études, d'effectifs, de doses, de schémas d'administration ou encore de co-médications sont décrites dans le Tableau 2.

Tableau 2 – Principales caractéristiques des études cliniques incluses dans le jeu de données de modélisation

Étude*	Phase	N	Schéma d'administration	Voie d'abord	Population	Co-médications
NCT01026597	1	30	0,3, 1, 3, 6, 12 mg/kg Dose unique	IV	Volontaires sains ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Aucune
NCT01074372	1	24	50,100,150, 250 mg Dose unique	SC	Volontaires sains ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Aucune
NCT01161082	1	55	50,100,150 mg Q2W–Q4W 250 mg Q4W	SC	HF (n=47) Non-HF (n=8) ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Statine (n=47) Pas de statine (n=8)
NCT01448317	1	24	100,150, 250, 300 mg Dose unique	SC	Volontaires sains ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Aucune
NCT01723735	1	72	150 mg Q4W	SC	Volontaires sains ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Aucune (n=24) Ezetimibe (n=24) Fibrate (n = 24)
NCT01288443	2	149	50,100,150 mg Q2W 200, 300 mg Q4W	SC	Non-HF ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Statine
NCT01288469	2	60	150 mg Q2W	SC	Non-FH ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Statine
NCT01266876	2	61	150 mg Q2W 150, 200, 300 mg Q4W	SC	HF ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Statine ± Ezetimibe
NCT01644474	3	52	75 mg Q2W, adaptation possible à 150 mg Q2W	SC	Non-HF ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Statine

* Références : *ClinicalTrials.gov* ; N : effectif ; Q2W : toutes les 2 semaines ; Q4W : toutes les 4 semaines ; HF : hypercholestérolémie familiale hétérozygote

IV.2.2. Méthodes bioanalytiques

Des échantillons de sérum ont été collectés dans le but de mesurer les concentrations d'alirocumab total (alirocumab libre + complexe alirocumab-PCSK9), de PCSK9 totale (PCSK9 libre + complexe alirocumab-PCSK9) ainsi que les taux de LDL-C circulants.

IV.2.2.1. Alirocumab

Les concentrations en alirocumab total dans le sérum humain ont été déterminées à l'aide d'une technique ELISA. Les limites inférieure (LLOQ) et supérieure (ULOQ) de quantification étaient respectivement de 0,078 µg/mL et de 5 µg/mL, dans du sérum humain non dilué.

IV.2.2.2. PCSK9

Les concentrations de PCSK9 totale dans le sérum ont été évaluées par méthode ELISA. La LLOQ était de 0,156 µg/mL et la ULOQ était de 10 µg/mL, dans du sérum humain non dilué.

IV.2.2.3. LDL-C

Les taux sériques de LDL-C ont été calculés selon la formule de Friedewald (42) :

$$LDL\ Cholesterol = Cholesterol\ Total - HDL\ Cholesterol - \frac{Triglycérides}{5}$$

(Unités : mg/dL)

IV.2.3. Critères d'exclusion de données

Les sujets des études cliniques ayant reçu un placebo n'ont pas été intégrés à l'analyse. Concernant les sujets ayant été traités par alirocumab, les mesures de concentrations manquantes (alirocumab, PCSK9 et LDL-C) ou de valeur inférieure à la LLOQ ont été exclues du jeu de données.

Les données de covariables manquantes ont été remplacées par les dernières valeurs connues pour le même individu ou interpolées pour les covariables continues évoluant avec le temps. Dans le cas de valeurs basales (*i.e.* avant la première administration), la moyenne calculée sur l'ensemble du jeu de données a été utilisée en substitution.

IV.2.4. Développement du modèle de population

En pharmacométrie, un modèle de population se définit par plusieurs entités interdépendantes : un modèle de structure et un modèle de variabilité, constituant d'un modèle « pharmaco-statistique » (PSM) (43), éventuellement complété par un modèle de covariables. Ces modèles sont associés à deux types de paramètres nommés « effets fixes » (notés Θ), correspondant aux valeurs typiques pour la population, et « effets aléatoires », quantifiant les variabilités interindividuelle (Ω) et résiduelle (Σ). On parle de modèle à « effets mixtes ».

Le travail de modélisation de cette étude a été réalisé à l'aide du logiciel NONMEM® version 7.4 (Icon Development Solutions) pour développer un modèle non-linéaire à effets mixtes. L'algorithme Stochastic Approximation Expectation-Maximization (SAEM), adapté aux problèmes PK/PD complexes décrits par des équations différentielles avec beaucoup de paramètres (44), a été utilisé pour estimer les paramètres de population.

Les logiciels R (45) et RStudio® (RStudio, Inc) ont été utilisés dans le cadre de la préparation des analyses (exploration des données, création du jeu de données) et pour le traitement des résultats de modélisation (graphiques, tableaux). À chaque étape du développement, les modèles étaient évalués selon différents critères diagnostiques graphiques (« goodness-of-fit » : comparaison des prédictions aux observations, distribution des résidus, etc...) et numériques des paramètres (plausibilité biologique des valeurs de paramètres estimées, précision d'estimation) et de l'ajustement des données (biais, précision).

La précision d'estimation d'un paramètre est évaluée par son erreur standard relative (« relative standard error », RSE) obtenue par la méthode des écart-types asymptotiques implémentée dans NONMEM (ou « \$COVARIANCE step »).

Le biais (ou « mean prediction error », MPE) et la précision (ou « root mean square error », RMSE) sont calculés, relativement à la moyenne des observations, selon les formules :

$$MPE (\%) = \frac{\frac{\sum_{i=1}^N (pred_i - obs_i)}{N}}{\overline{obs}}$$
$$RMSE (\%) = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (pred_i - obs_i)^2}{N}}}{\overline{obs}}$$

IV.2.4.1. Modèle pharmaco-statistique

Le modèle de structure PK/PD consiste en l'assemblage de deux sous-modèles distincts : un modèle PK (TMDD) pour décrire les concentrations d'alirocumab et de PCSK9 en fonction du temps et d'un sous-modèle PD pour décrire l'effet du médicament en fonction des concentrations en PCSK9 libre. Le modèle TMDD-QSS développé antérieurement pour l'alirocumab a servi de base pour le sous-modèle PK. Différentes hypothèses ont été testées pour représenter la PD et modéliser l'impact des concentrations de PCSK9 sur la baisse du taux de LDL-C.

L'analyse a été effectuée selon une approche en une étape permettant l'estimation simultanée des paramètres PK et PD du modèle.

Différents modèles d'erreur résiduelle ont été testés :

- Additive (ou homoscédastique) : $\text{observation} = \text{prédiction} + \text{erreur}_{\text{add}}$
- Proportionnelle (ou hétéroscédastique) : $\text{observation} = \text{prédiction} * (1 + \text{erreur}_{\text{prop}})$
- Combinée : $\text{observation} = \text{prédiction} * (1 + \text{erreur}_{\text{prop}}) + \text{erreur}_{\text{add}}$

IV.2.4.2. Modèle de covariables

Un modèle de covariables a pour objectif d'expliquer la variabilité interindividuelle mise en évidence par le modèle pharmaco-statistique grâce à l'inclusion de variables explicatives.

Pour cette analyse, la recherche du modèle de covariables a été effectuée selon une approche dite « Full Fixed Effect Model » (FFEM) ou modèle entier à effets fixes (46). À partir du PSM, les potentielles relations covariable-paramètre sont ajoutées au modèle – à l'aide d'effets fixes – sur la base des connaissances préalables sur la pathologie et le traitement, de leur intérêt clinique ou encore de la plausibilité mécanistique.

La sélection des relations covariable-paramètre se fonde sur des critères de pertinence clinique qui doivent être définis à l'avance. L'inférence statistique peut ensuite être établie : à partir des effets fixes (θ) estimés et de leurs intervalles de confiance (*i.e.* de l'incertitude/précision de leur estimation), il est possible de quantifier l'impact de ces relations sur les paramètres du modèle, la PK (*e.g.* aire sous la courbe des concentrations, concentration maximale, concentration résiduelle) et la PD (*e.g.* niveau d'un biomarqueur d'intérêt).

Les intervalles de confiance à 95 % (IC95) sont obtenus par dérivation du SE pour caractériser la précision d'estimation des paramètres (équation [44]).

$$IC(95 \%) = [\theta - 1,96 \times SE ; \theta + 1,96 \times SE] \quad [44]$$

(SE : erreur type de la moyenne)

À partir de la matrice de variance-covariance obtenue par le calcul de l'incertitude d'estimation des paramètres (« \$COVARIANCE step »), 1000 vecteurs de paramètres (contenant tous les effets fixes du modèle) sont tirés au sort selon une loi multinormale, puis sont utilisés pour faire des simulations et dériver les paramètres PK et PD d'intérêt clinique.

Les simulations ont été effectuées à la posologie d'initiation de 75 mg toutes les 2 semaines pour évaluer l'AUC entre les semaines 10 et 12 (à l'état d'équilibre) et la baisse du taux de LDL-C à la semaine 12.

Une relation covariable-paramètre peut alors être catégorisée (Figure 17) comme :

- Cliniquement importante (en bleu sur la figure) : la covariable entraîne un changement du paramètre (PK ou PD). Ce changement est qualifié de « cliniquement important » grâce à des limites préalablement définies (e.g. variation de $\pm 20\%$ de l'AUC).
- Non cliniquement importante (en orange) : la covariable entraîne un changement de paramètre (PK ou PD) jugé « cliniquement non important » (e.g. variation inférieure à $\pm 20\%$ de l'AUC).
- N'apportant pas suffisamment d'information (en violet) : l'impact est large (souvent mal estimé, avec peu de précision) et s'étend sur des valeurs cliniquement importantes et non importantes.

Par cette approche, il est également possible de quantifier pour la covariable, la probabilité d'avoir un effet cliniquement important. Sur la Figure 17, l'effet annoté « 36/64 » indique une probabilité de 64 % d'être « cliniquement important ». En effet, 64 % de la distribution postérieure est hors de la zone de « non-importance clinique ».

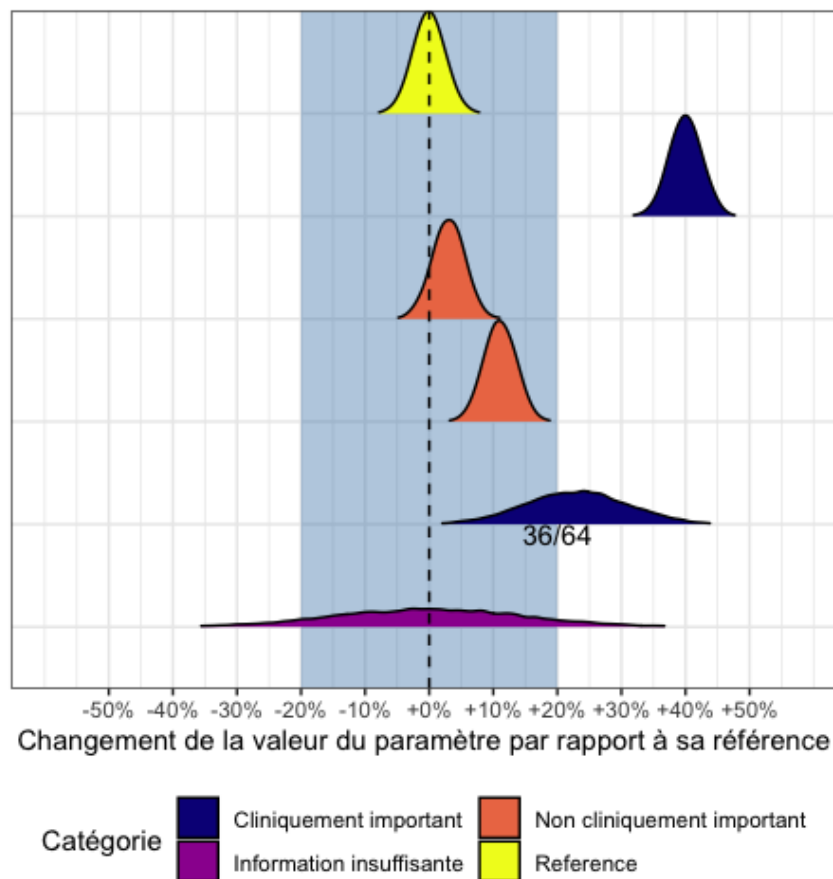


Figure 17 – Illustration de l'examen des relations covariable-paramètre par méthode FFEM

Zone en bleu clair : intervalle cliniquement important de la relation covariable-paramètre (e.g. changement de $\pm 20\%$) par rapport à la référence (en jaune : pas de relation covariable-paramètre) ; « 36/64 » : dans les cas d'importance clinique intermédiaire, probabilité pour l'effet d'être cliniquement important

Dans cette étude, les relations covariable-paramètre qualifiées de cliniquement importantes c'est à dire :

- impactant l'exposition à l'alirocumab (changement de $\pm 20\%$ de l'AUC)

ou

- impactant l'efficacité du traitement (baisse du taux de LDL-C modifiée de $\pm 20\%$)

ont été ajoutées au modèle.

Selon le principe de parcimonie, on procède ensuite à une étape de réduction du modèle de covariables qui a pour but d'exclure les effets qui ne sont à la fois pas statistiquement significatifs (intervalle de confiance incluant l'hypothèse nulle : pas de variation du paramètre d'intérêt) et pas cliniquement importants (intervalle de confiance entièrement inclus dans l'intervalle prédéfini comme « non important cliniquement ») – en orange sur la Figure 17. On obtient ainsi le modèle final.

IV.2.4.3. Validation du modèle

Le modèle développé a ensuite été validé à l'aide d'un jeu de données externe contenant des mesures d'alirocumab, de PCSK9 et de LDL-C provenant de quatre autres études cliniques (Tableau 3) :

- une étude de phase 2 (NCT01812707)
- trois études de phase 3 (NCT01623115, NCT01644188, NCT01507831)

Sur ce jeu de données, les profils individuels des sujets ont été estimés par méthode bayésienne à l'aide du modèle final et ses performances prédictives ont été évaluées à l'aide des méthodes diagnostiques usuelles (« goodness-of-fit », biais et précision).

Tableau 3 – Principales caractéristiques des études cliniques constituant le jeu de données de validation

Étude*	Phase	N	Schéma d'administration	Voie d'abord	Population	Co-médications
NCT01623115	3	309	75 mg Q2W, adaptation possible à 150 mg Q2W	SC	HF ; LDL-C ≥ 70 mg/dL	Statine
NCT01644188	3	447	75 mg Q2W, adaptation possible à 150 mg Q2W	SC	Non-HF ; LDL-C ≥ 70 mg/dL	Statine \pm Ezetimibe
NCT01812707	2	75	50, 75, 150 mg Q2W	SC	Non-HF ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Statine
NCT01507831	3	1512	150 mg Q2W	SC	HF et non-HF ; LDL-C ≥ 100 mg/dL	Statine

* Références : *ClinicalTrials.gov* ; N : effectif ; Q2W : toutes les 2 semaines ; Q4W : toutes les 4 semaines ; HF : hypercholestérolémie familiale hétérozygote

IV.3. Résultats

IV.3.1. Données disponibles

Le jeu de données de modélisation initial était composé de 13835 observations dont 4408 concentrations d'alirocumab total, 4983 mesures de PCSK9 totale et 4444 de LDL-C. 104 mesures (27 d'alirocumab, 3 de PCSK9 et 74 de LDL-C) avaient une valeur inférieure à la LLOQ et ont été exclues de l'analyse.

Le jeu de données final comprenait 13731 observations dont 4381 concentrations d'alirocumab total, 4980 mesures de PCSK9 totale et 4370 de LDL-C provenant de 527 individus.

Le jeu de données de validation comprenait 29015 observations dont 9458 d'alirocumab total, 9643 de PCSK9 totale et 9914 de LDL-C provenant de 2273 patients.

Les statistiques descriptives des caractéristiques démographiques et biologiques des sujets disponibles sont résumées dans le Tableau 4.

Tableau 4 – Statistiques descriptives des données démographiques et biologiques des sujets inclus dans les jeux de données de modélisation et de validation

Caractéristiques des sujets	Jeu de données de modélisation (N = 527)	Jeu de données de validation (N = 2273)
Âge en années ; moyenne (écart-type)	52,5 (13,0)	59,5 (11,0)
Sexe (homme/femme) ; N (%)	280 (53,1) / 247 (46,9)	1463 (64,4) / 810 (35,6)
Hypercholestérolémie familiale hétérozygote (oui/non) ; N (%)	158 (30,0) / 369 (70,0)	1629 (71,7) / 644 (28,3)
Statut (patient/volontaire sain) ; N (%)	377 (71,5) / 150 (28,5)	0 (0,00) / 2273 (100,0)
Poids corporel ; moyenne (écart-type)	80,6 (16,4)	86,1 (18,6)
Clairance de la créatinine (mL/min) ; moyenne (écart-type)	109 (30,4)	98,8 (34,2)
Taux de PCSK9 totale initial (nM) ; moyenne (écart-type)	7,66 (3,06)	8,63 (3,30)
Taux de LDL-C initial (mg/dL) ; moyenne (écart-type)	140 (33,1)	126 (41,8)
Co-médications (oui/non) ; N (%)		
Monothérapie	157 (29,8) / 370 (70,2)	0 (0,00) / 2273 (100,0)
Ezetimibe	68 (12,9) / 459 (87,1)	387 (17,0) / 1886 (83,0)
Fibrate	25 (4,74) / 502 (95,3)	105 (4,62) / 2168 (95,4)
Statine	321 (60,9) / 206 (39,1)	2271 (99,9) / 2 (0,001)
Statine faible dose	203 (38,5) / 324 (61,5)	1174 (51,7) / 1099 (48,3)
Statine forte dose	118 (22,4) / 409 (77,6)	1069 (47,0) / 1204 (53,0)

IV.3.2. Modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique

IV.3.2.1. Modèle pharmaco-statistique

Sur la base des informations connues sur la pharmacocinétique non-linéaire de l'alirocumab et du rôle de la PCSK9 dans le métabolisme du LDL-cholestérol, le modèle PK/PD développé pour décrire l'interaction pharmacocinétique alirocumab/PCSK9 et son effet hypolipémiant combine :

- Un modèle PK de type TMDD considérant l'approximation quasi-steady-state, permettant de décrire la formation quasi-instantanée de complexe entre l'alirocumab et la PCSK9.
- Un modèle PD indirect qui décrit l'action de PCSK9 libre, sa concentration étant directement liée à la concentration de LDL-C. Ainsi, le modèle décrit un mécanisme d'inhibition de la dégradation de la réponse (*i.e.* le taux de LDL-C) (ou de « type II »)

selon la classification précédemment citée (38)) en fonction de la concentration de PCSK9 (Figure 18).

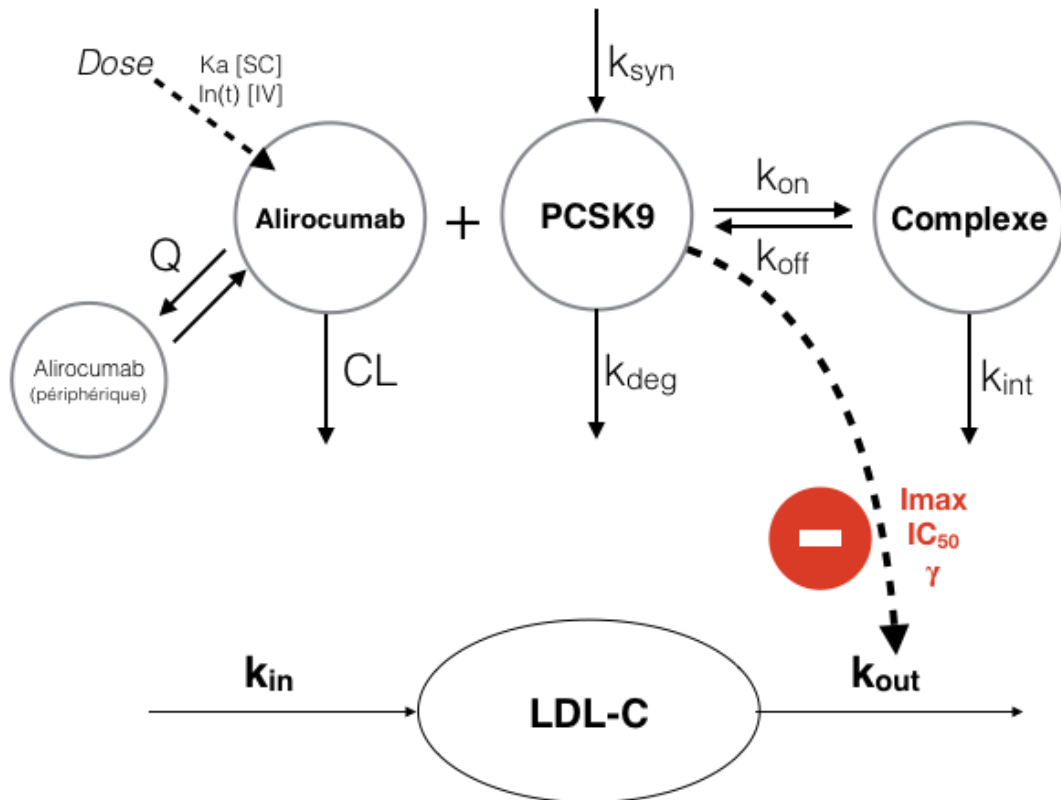


Figure 18 – Représentation schématique du modèle PK-TMDD/PD décrivant l'alirocumab, la PCSK9 et le LDL-C

Le modèle est décrit mathématiquement par le système d'équations différentielles suivant :

$$\frac{dA_d}{dt} = -k_a \cdot A_d \quad [45]$$

$$\frac{dA_T}{dt} = k_{pt} \cdot [A_{libre}] \cdot V - k_{tp} \cdot A_T \quad [46]$$

$$\frac{dA_{tot}}{dt} = In(t) + k_a \cdot A_d - (k_{el} + k_{pt}) \cdot [A_{libre}] \cdot V + k_{tp} \cdot A_T - k_{int} \cdot \frac{P_{tot} \cdot [A_{libre}]}{K_{SS} + [A_{libre}]} \quad [47]$$

$$\frac{dP_{tot}}{dt} = k_{syn} - k_{deg} \cdot P_{tot} - (k_{int} - k_{deg}) \cdot \frac{P_{tot} \cdot [A_{libre}]}{K_{SS} + [A_{libre}]} \quad [48]$$

$$\frac{d[LDLC]}{dt} = k_{in} - k_{out} \cdot \left(1 - \frac{I_{max} \cdot [P_{libre}]^\gamma}{IC_{50}^\gamma + [P_{libre}]^\gamma} \right) \cdot [LDLC] \quad [49]$$

$$[A_{libre}] = \frac{[A_{tot}] - [P_{tot}] - K_{SS} + \sqrt{([A_{tot}] - [P_{tot}] - K_{SS})^2 + 4 \cdot K_{SS} \cdot [A_{tot}]}}{2} \quad [50]$$

$$[Complexe] = [P_{tot}] \cdot \frac{[A_{libre}]}{K_{SS} + [A_{libre}]} \quad [51]$$

$$[P_{libre}] = [P_{tot}] - [Complexe] \quad [52]$$

$$k_{out}(0) = k_{out} \cdot \left(1 - \frac{I_{max} \cdot [P_{tot}]_{baseline}^{\gamma}}{IC_{50}^{\gamma} + [P_{tot}]_{baseline}^{\gamma}} \right) \quad [53]$$

$$A_d(0) = Dose$$

$$A_T(0) = 0$$

$$A_{tot}(0) = 0$$

$$P_{tot}(0) = [P_{tot}]_{baseline} ; k_{syn} = k_{deg} \cdot [P_{tot}]_{baseline}$$

$$[LDLC](0) = [LDLC]_{baseline} ; k_{in} = k_{out}(0) \cdot [LDLC]_{baseline}$$

[54]

Avec les entités :

- A_d : quantité d'alirocumab dans le compartiment dépôt (nmol)
- A_T : quantité d'alirocumab total (libre + lié) dans le compartiment périphérique (nmol)
- A_{tot} : quantité d'alirocumab total dans le compartiment central (nmol)
- P_{tot} : quantité de PCSK9 totale (libre + liée) dans le compartiment central (nmol)
 - $[P_{tot}]_{baseline}$: Taux de PCSK9 totale initial (nM)
- $[LDLC]$: taux de LDL-C (mg.dL⁻¹)
 - $[LDLC]_{baseline}$: Taux de LDL-C initial (mg.dL⁻¹)
- $[A_{libre}]$: concentration d'alirocumab libre dans le compartiment central (nM)
- $[P_{libre}]$: concentration de PCSK9 libre dans le compartiment central (nM)

Et les paramètres :

- k_a : constante de vitesse d'absorption, en cas d'administration sous-cutanée (j⁻¹)
- $ln(t)$: vitesse de perfusion, en cas d'administration intraveineuse (nmol.j⁻¹)
- V_c : volume du compartiment central (L)
- V_p : volume du compartiment périphérique (L)
- CL : clairance linéaire d'alirocumab depuis le compartiment central (L.j⁻¹)
 - k_{el} : constante de vitesse d'élimination (j⁻¹) ; $k_{el} = CL/V_c$
- Q : clairance inter-compartimentale d'alirocumab (L.j⁻¹)
 - k_{tp}/k_{pt} : constantes de diffusion entre les compartiments central et périphérique (j⁻¹) ; $k_{pt} = Q/V_c$; $k_{tp} = Q/V_p$
- k_{syn} : constante de vitesse de production de PCSK9 (nmol.j⁻¹)
- k_{deg} : constante d'élimination linéaire de PCSK9 (j⁻¹)
- k_{int} : constante de vitesse d'internalisation du complexe alirocumab-PCSK9 (j⁻¹)
- k_{on} : constante de vitesse formation du complexe (nmol⁻¹.j⁻¹)
- k_{off} : constante de vitesse de dissociation du complexe (j⁻¹)
- k_{in} : vitesse de synthèse de LDL-C (mg.dL⁻¹.j⁻¹)

- k_{out} : vitesse de dégradation de LDL-C (j^{-1})
 - $k_{out}(0)$: vitesse de dégradation de LDL-C initiale (avant administration) (j^{-1})
- I_{max} : capacité d'inhibition maximale de la dégradation du LDL-C (%)
- IC_{50} : concentration de PCSK9 libre nécessaire pour atteindre la moitié de I_{max} (unité : nM)
- γ : Coefficient de Hill (sans unité)

Pour décrire le processus d'absorption extravasculaire d'alirocumab, deux paramètres supplémentaires étaient nécessaires :

- F : biodisponibilité absolue (%)
- LAG : lag-time (décalage) entre le temps d'administration et l'apparition des concentrations (j)

Tous les paramètres du modèle de structure ont été estimés, à l'exception du volume périphérique V_p et de la constante de vitesse de formation du complexe k_{on} . Ces paramètres ont été fixés par analyses de sensibilité, à des valeurs respectives de 2,61 L – correspondant à une valeur usuelle de volume de distribution périphérique pour un anticorps monoclonal (5) – et de k_{on} a été fixé à une valeur 559 $nM^{-1}.jour^{-1}$ – correspondant à une liaison très rapide.

Tous les paramètres suivent des distributions log-normales sauf F (biodisponibilité absolue) et I_{max} (inhibition maximale) qui représentent des pourcentages de 0 à 100 % et nécessitent des distributions logit-normales pour contraindre leur estimation dans cet intervalle.

La variabilité inter-individuelle a été estimée pour les paramètres CL , k_{int} , k_{deg} , V , k_a , F , k_{out} , IC_{50} et I_{max} .

Pour modéliser de manière simultanée les 3 entités (alirocumab, PCSK9 et LDL-C), 3 modèles d'erreur indépendants ont été utilisés : des modèles de type erreur combinée (erreur additive et erreur proportionnelle) ont permis une meilleure description de la variabilité résiduelle.

Les paramètres de population caractérisant ce PSM sont présentés dans le Tableau 5. La précision de l'estimation – évaluée par les RSE – est inférieure à 30 % pour tous les paramètres, démontrant une bonne précision de leur estimation.

Les comparaisons graphiques des observations et des prédictions (Figure 19, Figure 20 et Figure 21) montrent une bonne qualité d'ajustement du modèle et une absence de déviation systématique majeure, confirmées par les graphes des résidus (Figure 22, Figure 23 et Figure 24).

Les biais (MPE) et précisions (RMSE) de l'ajustement entre les observations et les prédictions de population (PRED) ou les prédictions individuelles (IPRED) présentées dans le Tableau 6 confirment les bonnes capacités prédictives du PSM.

Tableau 5 – Paramètres de population du PSM

Paramètre	Estimation	RSE (%)	[CI 95 %]
Θ_{CL} (L.j-1)	0,192	11,3%	[0,149 ; 0,235]
Θ_{KINT} (j-1)	0,143	2,21%	[0,137 ; 0,149]
Θ_{KDEG} (j-1)	1,32	2,53%	[1,25 ; 1,38]
Θ_Q (L.j-1)	0,431	4,24%	[0,395 ; 0,468]
Θ_{VC} (L)	3,48	5,37%	[3,10 ; 3,85]
Θ_{KA} (j-1)	0,345	6,30%	[0,302 ; 0,389]
Θ_F (%)	0,592	4,16%	[0,542 ; 0,641]
Θ_{KON} (nM-1.j-1)	559	-	-
Θ_{VP} (L)	2,61	-	-
Θ_{LAG} (j)	0,0282	3,32%	[0,0263 ; 0,0301]
Θ_{KOUT} (j-1)	0,248	3,57%	[0,230 ; 0,266]
Θ_{IMAX} (%)	0,839	1,10%	[0,821 ; 0,858]
Θ_{IC50} (nM)	4,33	2,77%	[4,09 ; 4,57]
Θ_{HILL} (sans unité)	5,38	7,89%	[4,53 ; 6,23]
Variabilité résiduelle			
$\Theta_{ALIROCUMAB_ADD}$	0,45	5,97%	[0,396 ; 0,503]
$\Theta_{ALIROCUMAB_PROP}$	0,266	0,98%	[0,261 ; 0,271]
Θ_{TPCSK9_ADD}	1,17	5,15%	[1,05 ; 1,30]
Θ_{TPCSK9_PROP}	0,268	1,57%	[0,259 ; 0,276]
Θ_{LDLC_ADD}	5,66	4,47%	[5,16 ; 6,17]
Θ_{LDLC_PROP}	0,143	1,59%	[0,138 ; 0,148]
Variabilité interindividuelle			
	Estimation (CV %)	RSE (%)	[IC 95 %] (Shrinkage %)
ω^2_{CL}	0,524 (83,0%)	27,2%	[0,245 ; 0,804] (53,4%)
ω^2_{KINT}	0,0598 (24,8%)	10,0%	[0,0480 ; 0,0715] (22,5%)
ω^2_{KDEG}	0,0942 (31,4%)	10,4%	[0,0751 ; 0,113] (22,3%)
ω^2_V	0,0913 (30,9%)	20,7%	[0,0542 ; 0,128] (38,5%)
ω^2_{KA}	0,401 (70,3%)	11,1%	[0,314 ; 0,488] (43,6%)
ω^2_F	0,276 (NA)	25,7%	[0,137 ; 0,415] (45,2%)
ω^2_{KOUT}	0,225 (50,2%)	11,5%	[0,174 ; 0,275] (28,5%)
ω^2_{IMAX}	0,241 (NA)	16,3%	[0,164 ; 0,318] (44,7%)
ω^2_{IC50}	0,0927 (31,2%)	11,8%	[0,0712 ; 0,114] (29,0%)
RSE (%) : erreur standard relative			
IC 95 % : intervalle de confiance à 95 %			
Θ et ω : paramètres de structure (Θ) et variance de la variabilité interindividuelle associée (ω^2)			
CV (%) : coefficient de variation, $CV = \sqrt{e^{\omega^2} - 1}$ (paramètre suivant une distribution log-normale)			
NA : Non applicable, coefficient de variation non applicable aux distributions logit-normales (F et IMAX)			

Tableau 6 – Biais et précision de la prédiction du jeu de données avec le PSM

	Biais – MPE (%)		Précision – RMSE (%)	
	PRED	IPRED	PRED	IPRED
Alirocumab total	-7,31	-1,92	79,3	33,9
PCSK9 totale	-6,59	-10,0	43,7	24,3
LDL-C	-3,87	-1,45	32,9	15,7

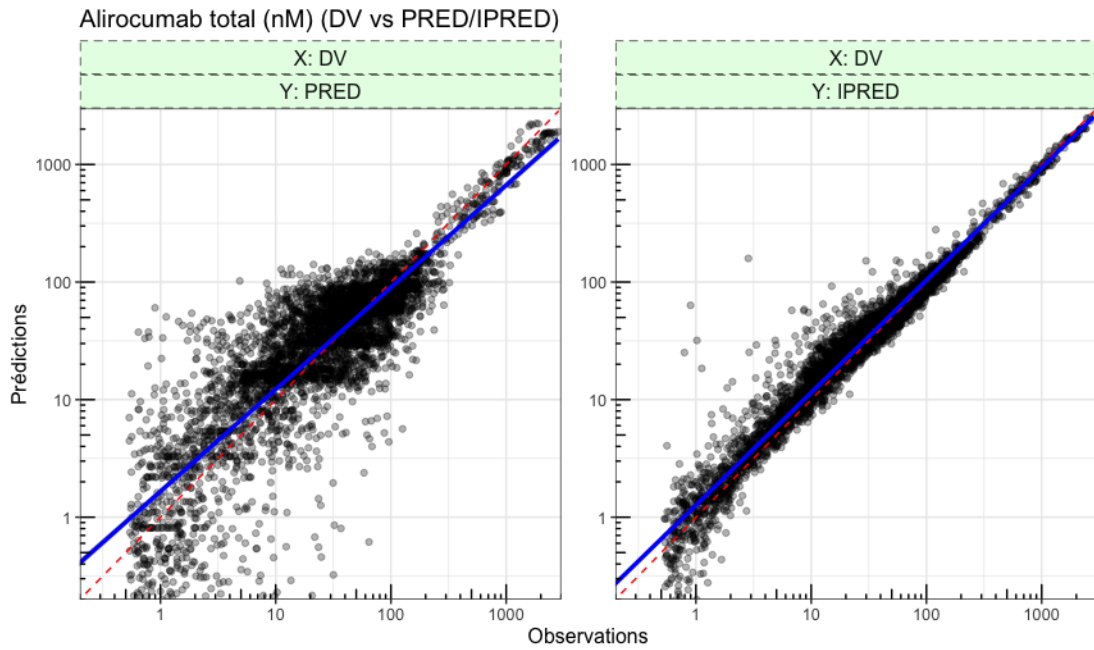


Figure 19 – Comparaison des observations et des prédictions d'alirocumab total (PSM) (échelle logarithmique)

DV : observation ; PRED : prédiction de population ; IPRED : prédiction individuelle

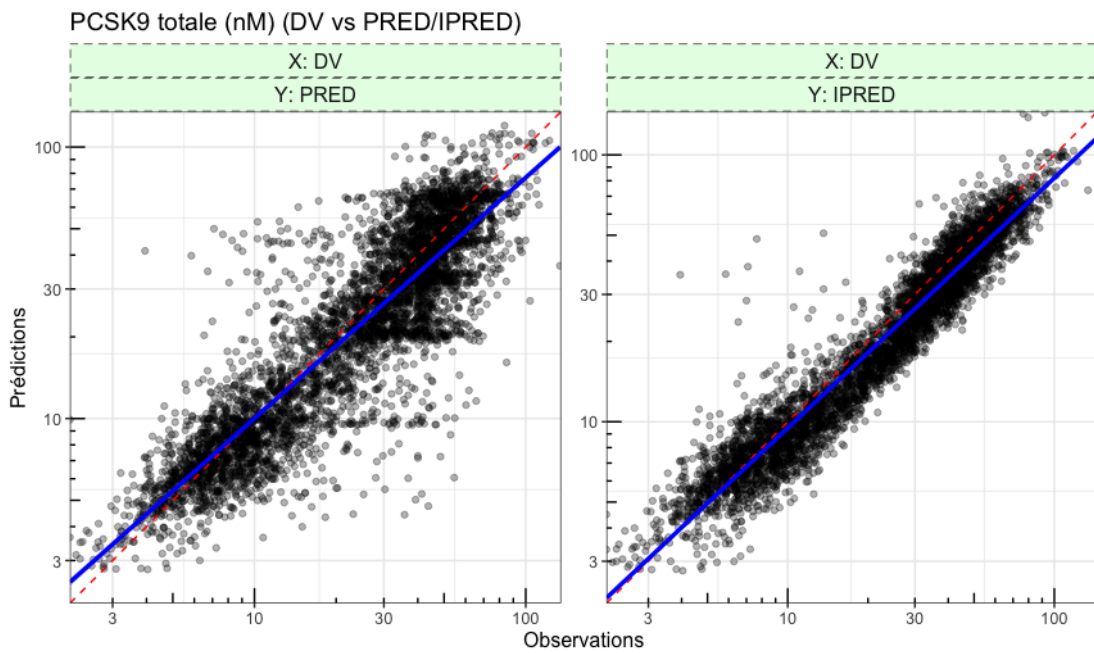


Figure 20 – Comparaison des observations et des prédictions de PCSK9 totale (PSM) (échelle logarithmique)

DV : observation ; PRED : prédiction de population ; IPRED : prédiction individuelle

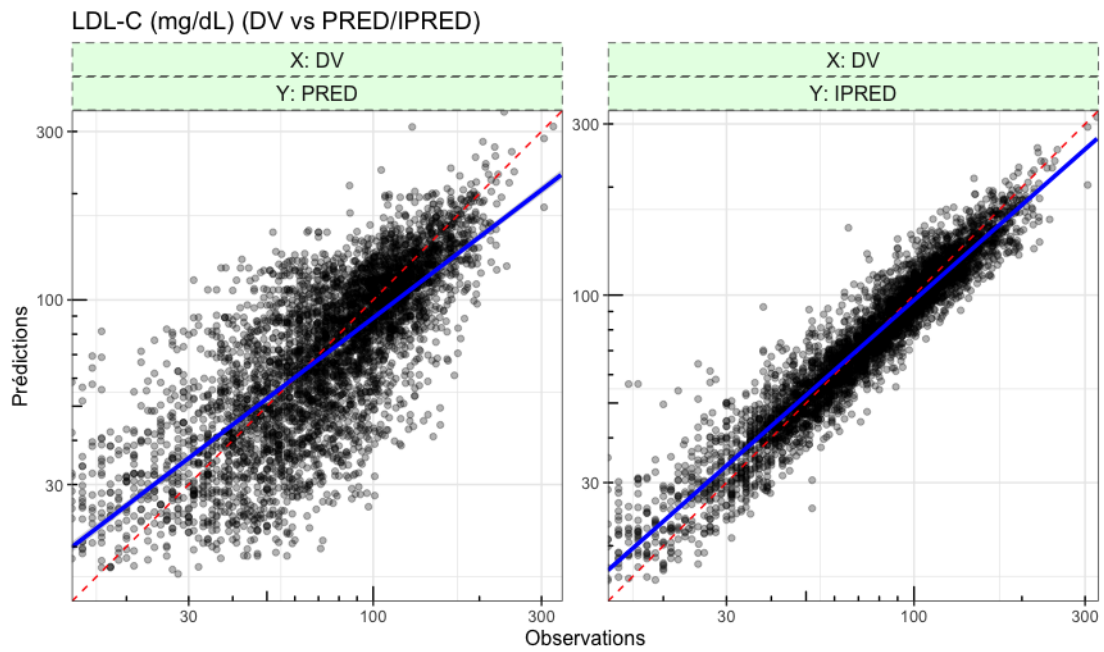


Figure 21 – Comparaison des observations et des prédictions de LDL-C (PSM) (échelle logarithmique)

PRED : prédiction de population ; IPRED : prédiction individuelle

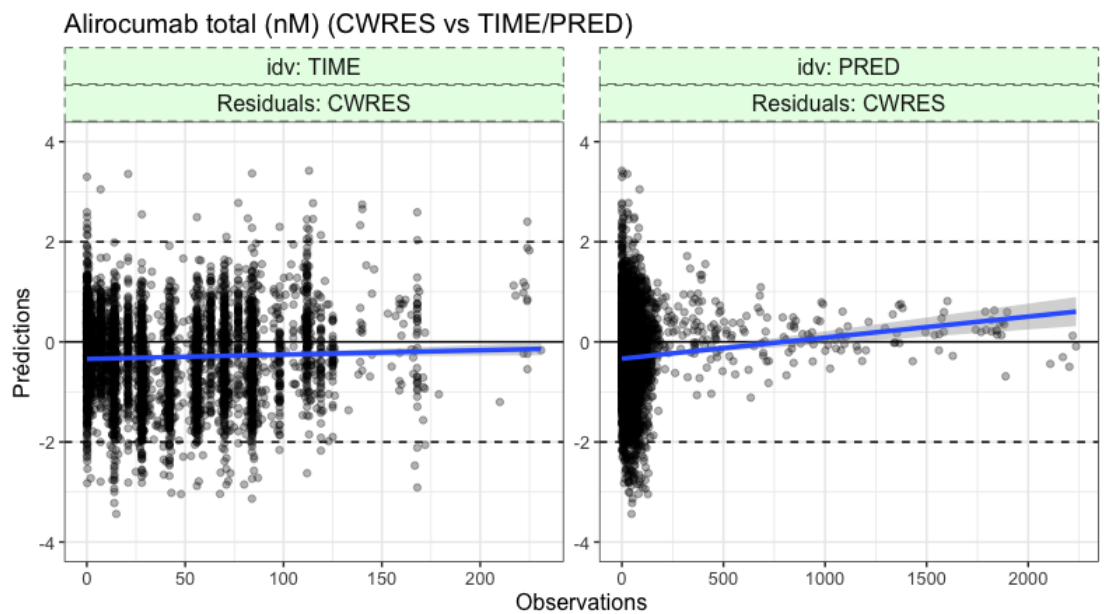


Figure 22 – Graphique des résidus (total alirocumab) en fonction tu temps et des prédictions (PSM)

TIME : temps depuis le début du traitement ; CWRES : Conditional weighted residuals ; PRED : prédiction de population ; idv : Variable indépendante

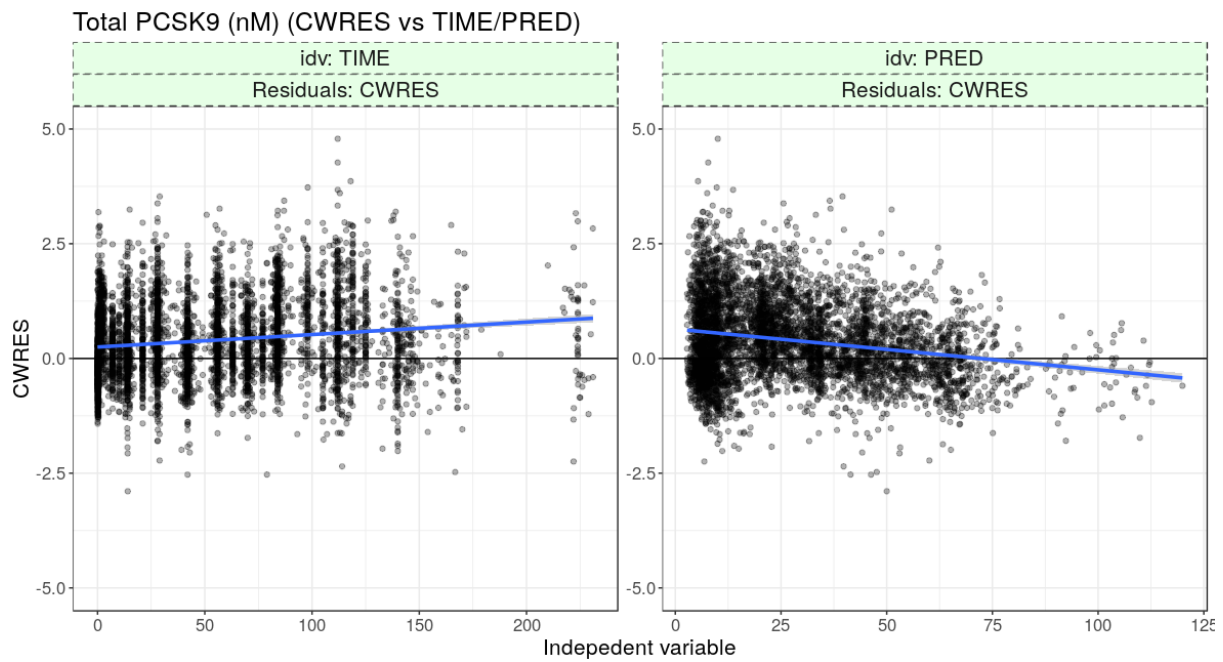


Figure 23 – Graphique des résidus (PCSK9 totale) en fonction tu temps et des prédictions (PSM)

TIME : temps depuis le début du traitement ; *CWRES* : Conditional weighted residuals ; *PRED* : prédiction de population ; *idv* : Variable indépendante

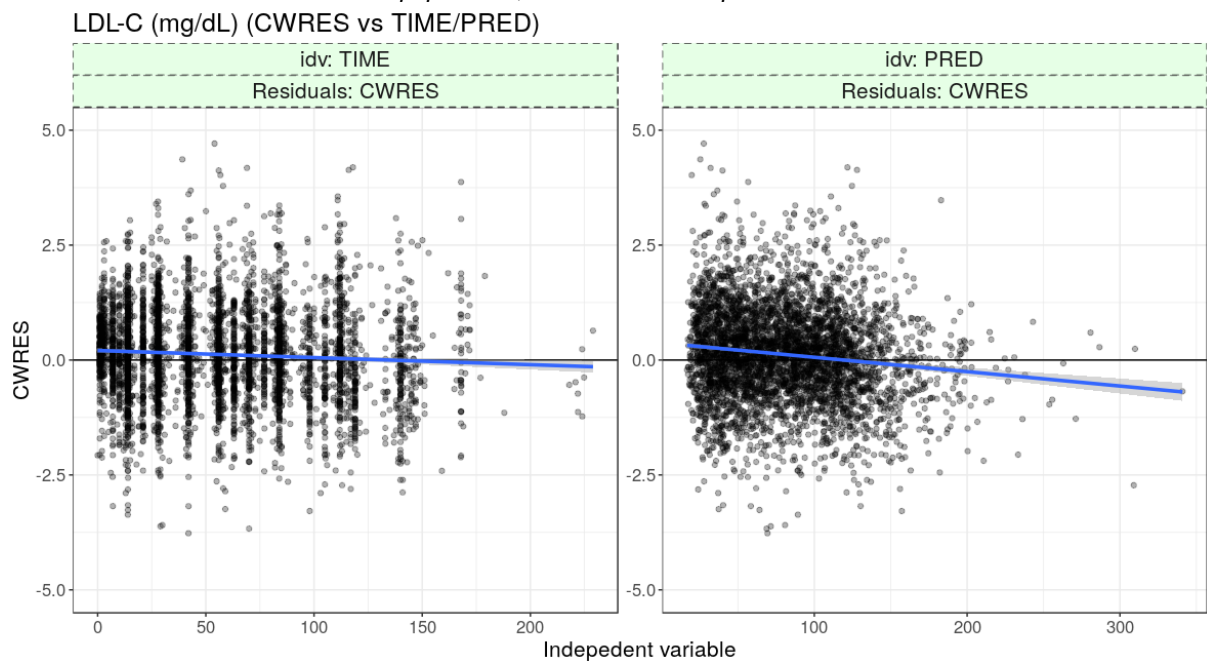


Figure 24 – Graphique des résidus (LDL-C) en fonction tu temps et des prédictions (PSM)

TIME : temps depuis le début du traitement ; *CWRES* : Conditional weighted residuals ; *PRED* : prédiction de population ; *idv* : Variable indépendante

IV.3.2.2. Modèle de covariables

Sur la base du mécanisme d'action de l'alirocumab, du rôle PCSK9 dans le métabolisme du cholestérol et des modèles précédemment développés pour l'alirocumab (36,37,39), les relations covariable-paramètre suivantes ont été intégrées au modèle :

- Effet des statines sur le volume de distribution (V_c) :

$$V_c = \theta_{V_c} \cdot \theta_{V_c_STATIN}^{STATIN}$$

Où $\theta_{V_c_STATIN}$ est la valeur typique de l'effet, STATIN=1 en cas de co-administration de statine, STATIN=0 sinon.

- Effet des statines sur la vitesse de dégradation du LDL-C (k_{out}) :

$$K_{out} = \theta_{K_{out}} \cdot \theta_{K_{out}_STATIN}^{STATIN}$$

Où $\theta_{K_{out}_STATIN}$ est la valeur typique de l'effet, STATIN=1 en cas de co-administration de statine, STATIN=0 sinon.

- Effets des statines et du sexe sur la capacité d'inhibition maximale de dégradation du LDL-C (I_{max}) :

$$I_{max} = \theta_{I_{max}} + \theta_{I_{max}_STATIN} \cdot STATIN + \theta_{I_{max}_SEX} \cdot SEX$$

Où $\theta_{I_{max}_STATIN}$ est la valeur typique de l'effet de la co-administration de statine (STATIN=1 en cas de statine, STATIN=0 sinon), $\theta_{I_{max}_SEX}$ est la valeur typique de l'effet du sexe féminin (SEX=1 pour les femmes, SEX=0 pour les hommes).

- Effet du taux initial de « PCSK9 totale » sur l'IC₅₀ ou concentration de « PCSK9 libre » nécessaire pour atteindre la moitié de I_{max} :

$$IC_{50} = \theta_{IC_{50}} \cdot \left(\frac{TBSPCSK}{6,99} \right)^{\theta_{IC_{50}_TBSPCSK}}$$

Où $\theta_{IC_{50}_TBSPCSK}$ est la valeur typique de l'effet et TBSPCSK9 est taux initial de PCSK9 totale (rapporté à la valeur médiane du jeu de données : 6,99 nM).

- Effet du taux initial de « PCSK9 totale » sur la vitesse de dégradation de la PCSK9 :

$$K_{deg} = \theta_{K_{deg}} \cdot \left(\frac{TBSPCSK}{6,99} \right)^{\theta_{K_{deg}_TBSPCSK}}$$

Où $\theta_{K_{deg}_TBSPCSK}$ est la valeur typique de l'effet et TBSPCSK9 est le taux initial de PCSK9 totale (rapporté à la valeur médiane du jeu de données : 6,99 nM).

L'analyse des effets de l'inclusion des relations covariable-paramètre sur l'exposition à l'alirocumab (effet sur la PK) et sur la diminution du taux de LDL-C (effet sur la PD) est résumée par la Figure 25 et le Tableau 7. Trois relations ont été mises en évidence comme potentiellement importantes cliniquement.

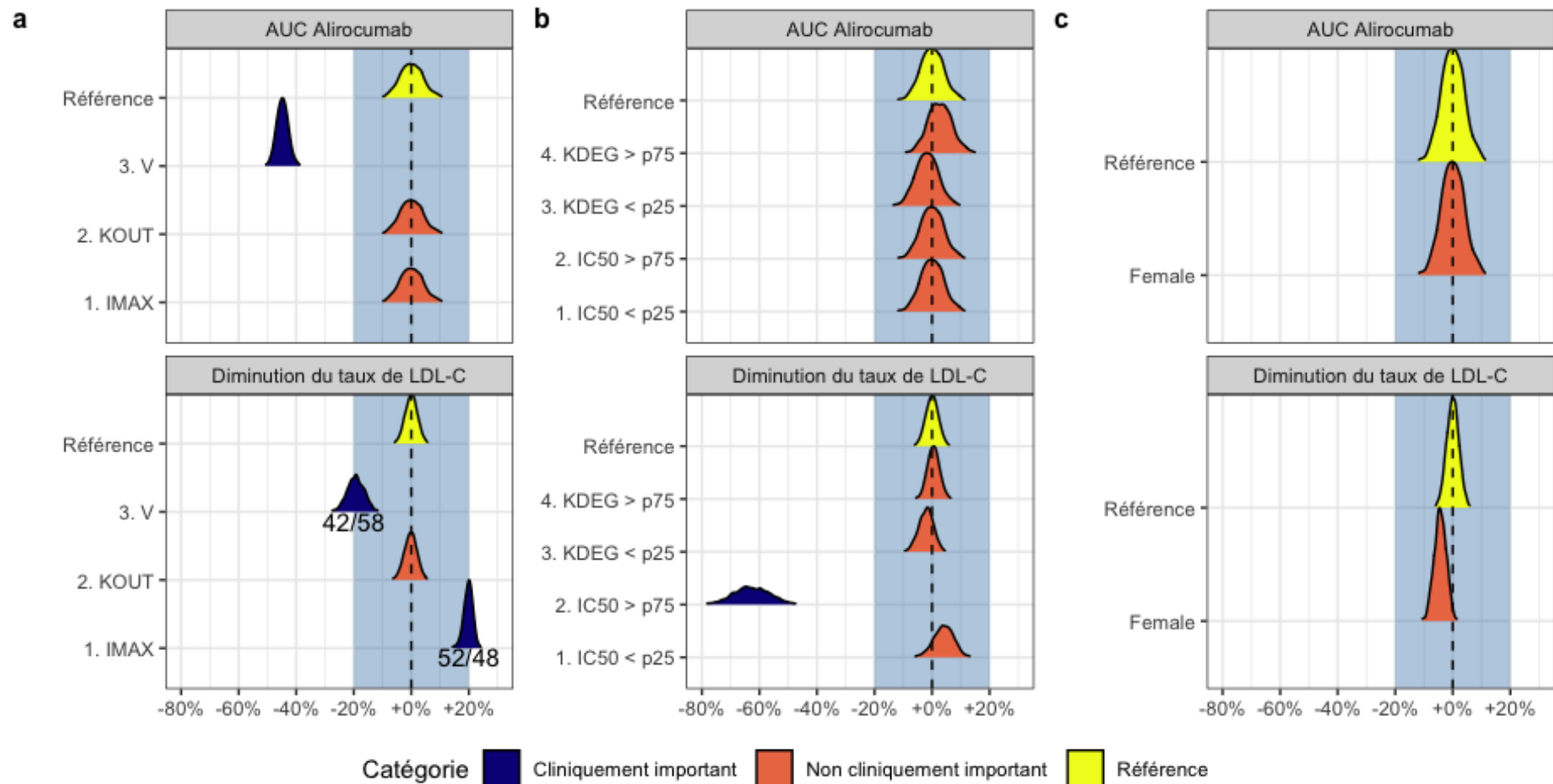


Figure 25 – Effets de la prise en compte des relations covariable-paramètre du modèle FFEM sur l'exposition à l'alirocumab et sur la réduction du taux de LDL-C

(a) Effets de la co-administration de statines sur les paramètres I_{max} , k_{out} et V_c ; (b) Effet du taux initial des PCSK9 totale – inférieur au 25^{ème} percentile (p25) ou supérieur au 75^{ème} percentile (p75) – sur les paramètres IC_{50} et k_{deg} ; (c) Effet du sexe sur le paramètre I_{max}

Tableau 7 - Classification des relations covariable-paramètre par la méthode FFEM

Relation covariable-paramètre	Impact sur l'exposition à l'alirocumab	Impact sur la diminution du taux de LDL-C
Θ_{V_STATIN}	Cliniquement significatif	Cliniquement significatif
Θ_{KOUT_STATIN}	Non cliniquement significatif	Non cliniquement significatif
Θ_{IMAX_STATIN}	Non cliniquement significatif	Cliniquement significatif
$\Theta_{IC50_TBSPCSK}$	Non cliniquement significatif	Cliniquement significatif
$\Theta_{KDEG_TBSPCSK}$	Non cliniquement significatif	Non cliniquement significatif
Θ_{IMAX_SEX}	Non cliniquement significatif	Non cliniquement significatif

La relation entre la co-administration de statines et le volume de distribution met en évidence une diminution significative de l'exposition à l'alirocumab (environ -45 % d'AUC) ainsi qu'une probabilité de 42 % d'observer une diminution de l'effet hypolipémiant de plus de 20 %.

La relation entre la co-administration de statines et l'inhibition de la dégradation du LDL-C par la PCSK9 (I_{max}) met en évidence une probabilité de 48 % d'observer une augmentation de l'effet hypolipémiant de plus de 20 %.

La relation entre le taux initial de PCSK9 et la concentration de PCSK9 libre permettant d'atteindre 50 % de I_{max} (soit IC_{50}) indique que les patients ayant un taux initial supérieur ou égal à 9,10 nM (équivalant au 75^{ème} percentile dans la population) auront, en moyenne, un effet hypolipémiant diminué d'environ 60 % par rapport aux patients ayant un taux médian (6,99 nM).

Les relations entre le sexe et I_{max} , la co-administration de statines et le taux initial de PCSK9 et k_{deg} n'ont pas permis de mettre en évidence des changements significatifs en termes de PK ou de PD.

Ainsi, seuls les effets de la co-administration de statines sur V_c et I_{max} et l'effet du taux initial de « PCSK9 totale » sur l' IC_{50} ont été retenus dans le modèle final.

IV.3.2.3. Modèle final

Les paramètres de population du modèle final sont rapportés dans le Tableau 8.

Le modèle final intègre deux covariables :

- la co-administration de statines intervenant à la fois sur le volume de distribution et sur la capacité d'inhibition maximale de dégradation du LDL-C (I_{max}),
- le taux initial de « PCSK9 totale » intervenant sur la concentration de « PCSK9 libre » permettant d'atteindre la moitié de l'effet maximal (IC_{50}).

Le volume de distribution (V_c) est estimé à 3,2 L chez les sujets traités par alirocumab seul et à 5,6 L en cas d'association à une statine.

La capacité maximale d'inhibition de la dégradation du LDL-C par la PCSK9 (I_{max}) est estimée à 74 % en monothérapie d'alirocumab et à 88 % en association avec une statine.

La concentration de « PCSK9 libre » permettant d'atteindre la moitié de I_{\max} (IC_{50}) augmente en fonction du taux initial de « PCSK9 totale ».

L'ajout de ces covariables a permis de réduire la variabilité interindividuelle des paramètres V_c et IC_{50} respectivement de 31 % à 26 % et de 31 % à 7 %.

Les RSE des paramètres étaient tous inférieures à 30 %, démontrant une bonne confiance dans leur estimation.

Les parts additives de variabilité résiduelle étaient de 0,426 nM pour alirocumab, 1,07 nM pour PCSK9 et 5,71 mg.dL⁻¹ pour le LDL-C, correspondant à des valeurs très faibles en comparaison de leurs concentrations moyennes respectives de 82,7 nM, 29,7 nM et 84,4 mg.dL⁻¹. Les parts proportionnelles étaient respectivement de 25,5 %, 27,9 % et 14,2 %.

Les biais et précisions de l'ajustement entre les observations et les prédictions du modèle présentées dans le Tableau 9 confirment ses bonnes capacités prédictives du jeu de données.

Les graphes diagnostiques du modèle sont rapportés en Annexe 1.

Le fichier de code NONMEM du modèle est rapporté en Annexe 2.

Tableau 8 – Paramètres de population du modèle final

Paramètre	Estimation	RSE (%)	[IC 95 %]
Θ_{CL} (L.j-1)	0,221	9,49%	[0,179 ; 0,263]
Θ_{KINT} (j-1)	0,127	1,87%	[0,122 ; 0,132]
Θ_{KDEG} (j-1)	1,34	2,58%	[1,27 ; 1,41]
Θ_Q (L.j-1)	0,557	5,84%	[0,492 ; 0,622]
Θ_{VC} (L)	3,2	5,10%	[2,88 ; 3,53]
Θ_{KA} (j-1)	0,346	5,79%	[0,306 ; 0,387]
Θ_F (%)	0,681	4,23%	[0,624 ; 0,739]
Θ_{KON} (nM-1.j-1)	559	-	-
Θ_{VP} (L)	2,61	-	-
Θ_{LAG} (j)	0,0283	3,00%	[0,0266 ; 0,0300]
Θ_{KOUT} (j-1)	0,26	3,86%	[0,240 ; 0,280]
Θ_{IMAX} (%)	0,741	3,03%	[0,696 ; 0,786]
Θ_{IC50} (nM)	6,03	1,27%	[5,88 ; 6,19]
Θ_{HILL} (sans unité)	11,6	9,30%	[9,43 ; 13,7]
Θ_{V_STATIN} (sans unité)	1,75	4,85%	[1,58 ; 1,92]
Θ_{IMAX_STATIN} (sans unité)	0,14	9,82%	[0,112 ; 0,167]
$\Theta_{IC50_TBSPCSK}$ (sans unité)	0,93	1,86%	[0,895 ; 0,964]
Variabilité résiduelle			
$\Theta_{ALIROCUMAB_ADD}$	0,426	5,88%	[0,376 ; 0,476]
$\Theta_{ALIROCUMAB_PROP}$	0,255	0,92%	[0,250 ; 0,260]
Θ_{TPCSK9_ADD}	1,07	6,20%	[0,939 ; 1,21]
Θ_{TPPCS9_PROP}	0,279	1,41%	[0,271 ; 0,287]
Θ_{LDLC_ADD}	5,71	4,50%	[5,20 ; 6,23]
Θ_{LDLC_PROP}	0,142	1,68%	[0,137 ; 0,147]
Variabilité interindividuelle			
	Estimation (CV %)	RSE (%)	[IC 95 %] (Shrinkage %)
ω^2_{CL}	0,270 (55,7%)	27,20%	[0,126 ; 0,414] (60,4%)
ω^2_{KINT}	0,0554 (23,9%)	7,26%	[0,0476 ; 0,0633] (19,4%)
ω^2_{KDEG}	0,124 (36,4%)	9,84%	[0,100 ; 0,148] (21,3%)
ω^2_V	0,0648 (25,9%)	23,20%	[0,0353 ; 0,0944] (43,3%)
ω^2_{KA}	0,344 (64,1%)	9,44%	[0,281 ; 0,408] (44,9%)
ω^2_F	0,626 (NA)	18,20%	[0,403 ; 0,849] (35,0%)
ω^2_{KOUT}	0,256 (54,0%)	12,30%	[0,194 ; 0,318] (29,4%)
ω^2_{IMAX}	0,146 (NA)	27,70%	[0,0664 ; 0,225] (54,6%)
ω^2_{IC50}	0,00578 (7,61%)	17,80%	[0,00375 ; 0,00780] (26,9%)
RSE (%) : erreur standard relative			
IC 95 % : intervalle de confiance à 95 %			
Θ et ω : paramètres de structure (Θ) et variance de la variabilité interindividuelle associée (ω^2)			
CV (%) : coefficient de variation, $CV = \sqrt{e^{\omega^2} - 1}$ (paramètre suivant une distribution log-normale)			
NA : Non applicable, coefficient de variation non applicable aux distributions logit-normales (F et IMAX)			

Tableau 9 – Biais et précision de la prédiction du jeu de données avec le modèle final

	Biais – MPE (%)		Précision – RMSE (%)	
	PRED	IPRED	PRED	IPRED
Alirocumab total	-6,36	-2,77	72,1	31,6
PCSK9 totale	-6,04	-9,45	42,0	25,6
LDL-C	-6,35	-1,54	29,4	15,7

IV.3.3. Validation

Le modèle final a ensuite été appliqué au jeu de données de validation pour prédire les concentrations par méthode bayésienne.

Les diagnostics graphiques (DV vs IPRED) (Figure 26, Figure 27 et Figure 28) montrent une bonne correspondance entre les données observées et prédites.

Les critères de qualité numériques (MPE, RMSE) (Tableau 10), proches des valeurs calculées avec le jeu de données de validation, témoignent également d'une bonne prédiction des données observées.

Le modèle est donc capable de prédire les concentrations d'alirocumab, de PCSK9 et de LDL-C issues d'un jeu de données externe.

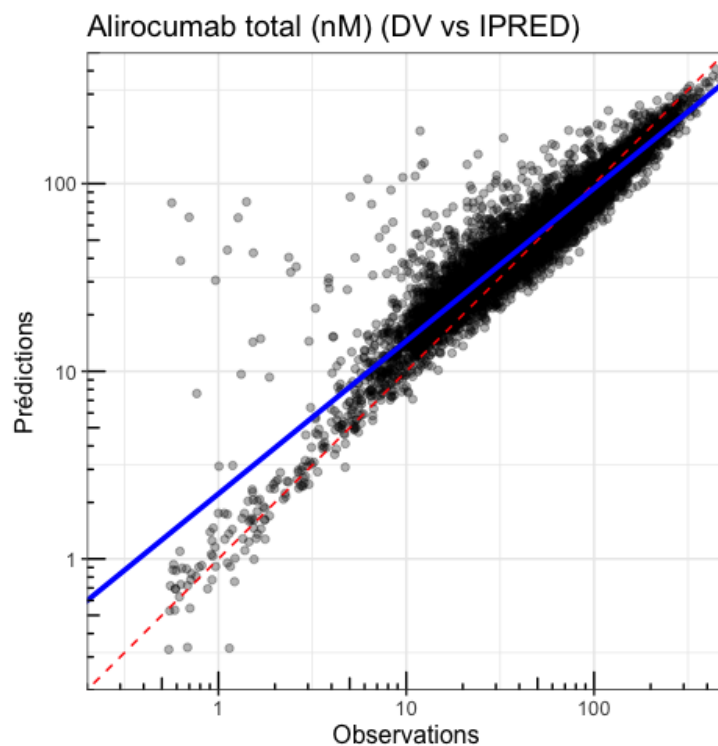


Figure 26 – Comparaison des observations et des prédictions individuelles d'alirocumab total avec le modèle final appliqué au jeu de données de validation (échelle logarithmique)

DV : observation ; IPRED : prédiction individuelle

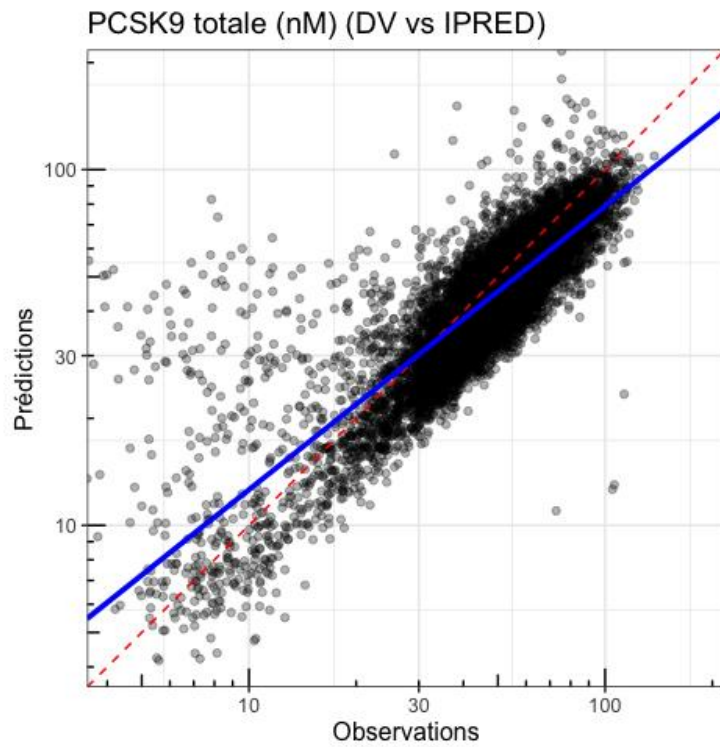


Figure 27 – Comparaison des observations et des prédictions individuelles de PCSK9 totale avec le modèle final appliqué au jeu de données de validation (échelle logarithmique)
DV : observation ; IPRED : prédiction individuelle

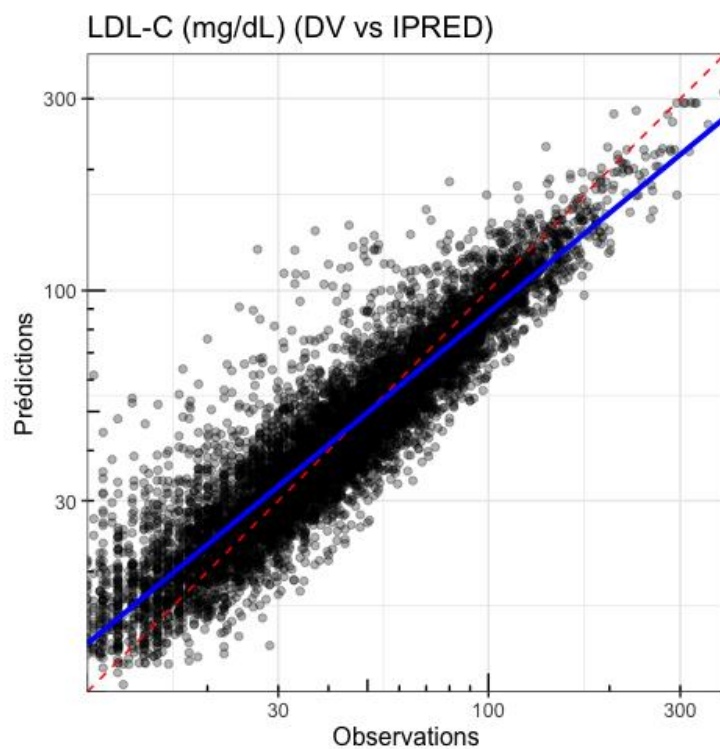


Figure 28 – Comparaison des observations et des prédictions individuelles de PCSK9 totale avec le modèle final appliqué au jeu de données de validation (échelle logarithmique)
DV : observation ; IPRED : prédiction individuelle

Tableau 10 – Biais et précision de la prédiction du jeu de données de validation avec le modèle final

	Biais – MPE (%)	Précision – RMSE (%)
	IPRED	IPRED
Alirocumab total	-0,34	27,6
PCSK9 totale	-7,89	23,5
LDL-C	-1,45	26,5

IV.4. Discussion

Un modèle PK/PD semi-mécanistique de l'alirocumab, de son interaction avec la PCSK9 et de son effet hypolipémiant a été développé par approche de population. Celui-ci combine un modèle PK de type TMDD-QSS pour caractériser l'interaction alirocumab-PCSK9 avec un modèle PD indirect de type inhibition de dégradation de la réponse pour décrire l'impact des taux de PCSK9 circulantes sur la baisse du LDL-C.

Le modèle a été construit avec 527 sujets (volontaires sains ou patients atteints d'hypercholestérolémie) inclus dans 9 études cliniques, puis validé avec 2273 sujets (atteints d'hypercholestérolémie) de 4 autres études, du programme de développement de l'alirocumab en vue de sa mise sur le marché.

L'approximation « quasi-steady-state » du modèle « Target-Mediated Drug Disposition » a permis une description fidèle des concentrations d'alirocumab et de PCSK9. La liaison anticorps-cible a lieu dans le compartiment central – le plasma où circule la PCSK9 – d'un modèle à deux compartiments (de volumes V_c et V_p) reliés par une diffusion intercompartimentale (Q). L'approximation QSS a été paramétrée par k_{on} , k_{deg} et k_{int} pour décrire la voie non-linéaire d'élimination de l'alirocumab. La voie d'élimination linéaire est décrite par la clairance catabolique CL . L'absorption suit un processus de premier ordre (*i.e.* vitesse fonction de la quantité administrée) de constante de vitesse k_a avec lag-time(LAG) et biodisponibilité absolue (F) pour l'administration sous-cutanée.

L'avantage majeur du modèle TMDD-QSS par rapport au modèle TMDD Michaelis-Menten est qu'il permet de prédire la PK d'un anticorps monoclonal en tenant compte des informations quantitatives de sa cible en les intégrant dans un même système dynamique décrivant le mécanisme de leurs interactions : liaison, dissociation et internalisation de complexe.

L'effet hypolipémiant de l'administration d'alirocumab a été décrit par un modèle PD indirect où la concentration de PCSK9 libre, dynamiquement décrite par le TMDD, vient inhiber la dégradation du LDL-C. Cette dynamique s'apparente à un modèle de « type II » selon la classification de Sharma et Jusko (38) pour décrire une inhibition de dégradation de réponse. Ce modèle est défini par la vitesse d'élimination du LDL-C (k_{out}), l'effet inhibiteur maximal de la dégradation de LDL-C par PCSK9 (I_{max}), la concentration de PCSK9 libre permettant d'atteindre la moitié de I_{max} (IC_{50}) et un coefficient de Hill (γ) ajustant la pente des variations (baisse et remontée) de LDL-C.

À la différence des modèles PK/PD indirects « classiques » qui utilisent la concentration du principe actif administré pour influencer le système PD, ce modèle emploie un effecteur endogène (PCSK9) dont la concentration initiale (*i.e.* pré-traitement) n'est pas nulle. Ainsi, la condition d'équilibre décrite par les équations [41] et [42] n'est plus valable et doit être modifiée pour prendre en compte le taux initial de PCSK9 totale sur k_{out} (équations [53] puis [49]).

Pour analyser conjointement des observations PK et PD, il est possible de modéliser toutes les données de manière simultanée ou de modéliser chaque type d'observation de façon séquentielle : d'abord les concentrations de médicament avec un modèle PK puis les mesures de réponse avec un modèle PD après avoir fixé les paramètres PK (paramètres de population et paramètres individuels) obtenus à la première étape. L'approche simultanée, généralement considérée comme le « gold standard », prend en compte l'incertitude de toutes les données et permet aux données d'effet du principe actif (la PD) d'influer sur sa PK. L'approche séquentielle, qui néglige l'incertitude d'estimation des paramètres PK lors de l'estimation de la PD, est plus rapide et permet d'obtenir des résultats proches de la méthode simultanée. Elle

est ainsi la plus fréquemment utilisée pour la modélisation PK/PD. Cependant, il a été démontré qu'elle présentait le risque de faussement minimiser l'incertitude d'estimation des paramètres PD (47). Pour cette étude, afin d'éviter un biais d'estimation des paramètres de la réponse lié à un préconditionnement du modèle par un ajustement de la PK seule, l'approche simultanée a été appliquée.

Ce modèle a aussi permis d'identifier des covariables expliquant une part de la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique et de la réponse au produit avec un impact potentiellement important sur le plan clinique. La co-administration de statines a été reliée à une augmentation du volume de distribution V_c et à une augmentation de l'effet inhibiteur de la PCSK9 sur la dégradation du LDL-C.

Le taux initial de PCSK9 totale a été relié à une augmentation d' IC_{50} . Ces relations covariable-paramètre peuvent s'expliquer par un mécanisme biologique bien documenté : la stimulation de la synthèse de PCSK9 en réponse au traitement par statines. Les statines, inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase intervenant dans la synthèse du cholestérol, diminuent la production hépatique de cholestérol ce qui active la protéine SREBP2 (sterol regulatory element-binding protein 2) et a pour conséquence d'augmenter la synthèse de PCSK9 et de LDL-R (48). Ainsi, le traitement par statines peut influencer la réponse aux anti-PCSK9 et mener à une synergie entre les deux médicaments : l'alirocumab neutralise la hausse d'expression de PCSK9 induite par les statines et potentialise l'action de ces dernières.

L'augmentation de V_c (5,6 L avec statines contre 3,2 L sans) peut ainsi s'expliquer par une plus grande concentration de cibles disponibles chez les patients traités par statines. En effet, la moyenne des taux initiaux de PCSK9 dans le jeu de données était de 8,9 nM avec statines et 5,8 nM sans. Cette augmentation du volume de distribution de l'alirocumab avait déjà été décrite par le précédent modèle PK TMDD de l'alirocumab (Djebli et al (39)). Des observations similaires ont été rapportées pour l'evolocumab, un autre anticorps monoclonal anti-PCSK9, où les statines ont considérablement augmenté la clairance du produit (49).

Par ailleurs, les paramètres PK estimés (CL , k_{deg} , k_{int} , k_{deg} , Q , V_c , k_a , F et LAG) étaient très proches des valeurs obtenues avec le modèle précédent (39) et confirment que l'approche de modélisation simultanée PK/PD n'a pas introduit de biais d'estimation des paramètres PK de l'alirocumab en ajustant les données PD. Ce résultat a été également favorisé par l'emploi de modèles d'erreurs résiduelles indépendants pour chacune des trois entités et ainsi éviter les biais d'estimation liés aux différences d'ordres de grandeur (0,5-3000 nM pour alirocumab total, 2-130 nM pour PCSK9 totale et 10-330 mg/dL pour LDL-C).

Dans le modèle pharmacodynamique, c'est la variation des concentrations de PCSK9 qui fait varier le taux de LDL-C : plus la PCSK9 est basse et plus le LDL-C diminue et inversement. I_{max} et IC_{50} sont deux paramètres PD qui expriment l'amplitude des variations de LDL-C. Les effets positifs de la co-administration de statines sur I_{max} (88 % contre 74 % sans statines) et du taux initial de PCSK9 sur IC_{50} (relation linéaire croissante) peuvent s'expliquer par la surexpression de PCSK9 induite par le traitement par statines : l'activité d'internalisation de LDL-R est renforcée, il y a moins de LDL-R disponible à la surface des hépatocytes et le taux de LDL-C remonte. Ainsi l'effet inhibiteur de la dégradation du LDL-C (I_{max}) est plus important. De même, l'activation de la synthèse de PCSK9 en réponse à l'effet des statines augmente mécaniquement la concentration nécessaire pour atteindre la moitié de I_{max} (IC_{50}). Bien que la dynamique modèle PD développé précédemment pour l'alirocumab soit différente (*i.e.* stimulation de la dégradation de LDL-C par les concentrations d'alirocumab), les paramètres décrivant l'amplitude de l'effet hypolipémiant E_{max} et EC_{50} (Nicolas et al. (37))

augmentaient avec le taux initial de PCSK9 et la prise concomitante de statines. Ce modèle faisait également état d'un lien entre les paramètres k_{out} (vitesse de dégradation du LDL-C) et du sexe sur l'effet hypolipémiant maximal (E_{max}). La recherche de covariables par approche FFEM de cette étude a permis d'établir que les effets de statines sur k_{out} et du sexe sur I_{max} (de signification proche de E_{max} dans ce modèle) n'étaient pas suffisants pour détecter un impact sur l'efficacité du traitement, évalué par la baisse du LDL-C au bout de 12 semaines.

L'approche « full fixed effect modeling » (FFEM) a été choisie pour la recherche du modèle de covariables plutôt que l'approche conventionnelle pas-à-pas (ou « stepwise covariate modeling », SCM). Le principe de cette dernière est d'ajouter (« forward stepwise ») puis de retirer (« backward stepwise ») les covariables sur la base de critères de significativité statistique de la baisse de la fonction objective. Elle est particulièrement efficace lorsque l'objectif du modèle est de prédire des données mais elle présente fréquemment des inconvénients rendant difficile la généralisation des résultats au-delà du jeu de données : surestimation des effets de covariables (biais de sélection, faux-positifs), difficultés d'interprétation avec les covariables corrélées/colinéaires (e.g. poids et indice de masse corporel) ou encore sélection de covariables sans justification biologique (46,50). De plus, elle requiert de tester de nombreux modèles et donc nécessite des temps de calcul et de retraitement des résultats conséquents. La méthode FFEM ne nécessite que deux étapes de modélisation : une première pour le modèle complet et une seconde pour le modèle réduit. Elle est donc beaucoup plus rapide et présente un avantage pour les modèles qui comptent de nombreux paramètres à estimer et/ou qui sont longs à converger vers la solution, comme pour ce travail (20 effets fixes de structure, 6 effets fixes de covariables et 9 effets aléatoires et environ 8 heures de calcul avec 4 processeurs). En se basant sur les connaissances *a priori*, la plausibilité mécanistique et la pertinence clinique, la méthode FFEM fournit une inférence plus précise et plus utile à partir des relations covariable-paramètre. C'est donc une méthode de choix lors des stades de développement avancés qui aide à préciser les applications pratiques des traitements : recommandation de dose, ajustement de posologie ou précision d'indication pour des sous-populations. Il est à noter cependant que l'estimation des relations covariable-paramètre est aussi sensible aux biais de sélection lorsque d'autres relations importantes ne sont pas prises en compte dans le modèle.

Dans cette étude, le seuil de pertinence clinique correspondant à une variation de $\pm 20\%$ de l'AUC d'alirocumab ou de la baisse du taux de LDL-C a été défini de manière arbitraire. Il n'existe en effet pas, à ce jour, de relation établie entre l'AUC de l'alirocumab et l'efficacité ou à la toxicité du traitement. Les objectifs thérapeutiques de baisse du LDL-C sont donc individualisés en fonction des pathologies et des antécédents cardiovasculaires des patients. Bien que le profil de tolérance de l'alirocumab soit satisfaisant, ce produit entraîne la persistance de concentrations très faibles de LDL-C dont le retentissement à long terme n'est pas encore connu. La relation entre le taux initial de PCSK9 et le paramètre IC_{50} , reliant les taux initiaux élevés à une potentielle baisse d'efficacité du traitement, pourrait aider à adapter la posologie d'alirocumab chez les patients qui surexpriment la PCSK9.

Enfin il est à noter qu'en terme de capacités prédictives, évaluées par le biais et la précision de l'ajustement des données, le modèle sans covariable (PSM) est aussi performant que le modèle final et que les modèles TMDD-QSS (39) et PK/PD (37) développés antérieurement. En effet, la modélisation mécanistique des processus biologiques apporte l'avantage de nécessiter de moins de covariables explicatives que les approches plus empiriques.

Conclusion

Ce travail de modélisation par approche de population a conduit au développement d'un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique permettant de décrire, simultanément, de manière quantitative le mécanisme de neutralisation de la PCSK9 par l'alirocumab et les fluctuations de LDL-cholestérol qui en découlent. Ce modèle a permis de mettre en évidence les interactions pharmacocinétique (volume de distribution) et pharmacodynamique (baisse du LDL-C) avec les statines. Ceci démontre la synergie d'action de ces classes thérapeutiques. Ce modèle souligne également que la description des phénomènes biologiques de manière mécanistique peut permettre de rationaliser l'inclusion de covariables explicatives pour ajuster les données.

Références bibliographiques

1. Lagassé HAD, Alexaki A, Simhadri VL, Katagiri NH, Jankowski W, Sauna ZE, et al. Recent advances in (therapeutic protein) drug development. *F1000Res* [Internet]. 2017 Feb 7 [cited 2019 Oct 8];6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5302153/>
2. CenterWatch [Internet]. FDA; Available from: <https://www.centerwatch.com//drug-information/FDA-approved-drugs/>
3. Kaplon H, Reichert JM. Antibodies to watch in 2019. *mAbs*. 2019 Feb 17;11(2):219–38.
4. Paintaud G, Diviné M, Lechat P. Anticorps monoclonaux à usage thérapeutique : spécificités du développement clinique, évaluation par les agences, suivi de la tolérance à long terme. *Thérapie*. 2012 Jul 1;67(4):319–27.
5. Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clinical pharmacokinetics*. 2010 Sep 13;49(10):633–59.
6. Mager DE, Jusko WJ. General Pharmacokinetic Model for Drugs Exhibiting Target-Mediated Drug Disposition. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2001 Dec 1;28(6):507–32.
7. Andersen JT, Pehrson R, Tolmachev V, Daba MB, Abrahmsén L, Ekblad C. Extending Half-life by Indirect Targeting of the Neonatal Fc Receptor (FcRn) Using a Minimal Albumin Binding Domain. *J Biol Chem*. 2011 Feb 18;286(7):5234–41.
8. Other Antibody Interactions [Internet]. Absolute Antibody. [cited 2019 Oct 10]. Available from: <https://absoluteantibody.com/antibody-resources/antibody-overview/other-antibody-interactions/>
9. Tabrizi MA, Tseng C-ML, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discovery Today*. 2006 Jan 1;11(1):81–8.
10. Levy G. Pharmacologic target-mediated drug disposition. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1994;56(3):248–52.
11. Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model: approximations, identifiability of model parameters and applications to the population pharmacokinetic–pharmacodynamic modeling of biologics. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2009 Jul 1;5(7):803–12.
12. Mager DE. Target-mediated drug disposition and dynamics. *Biochemical Pharmacology*. 2006 Jun 28;72(1):1–10.
13. Dua P, Hawkins E, Graaf P van der. A Tutorial on Target-Mediated Drug Disposition (TMDD) Models. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2015 Jun;4(6):324.
14. Yang J, Quarumby V. Free versus total ligand-binding assays: points to consider in biotherapeutic drug development. *Bioanalysis*. 2011 Jun 1;3(11):1163–5.
15. Kuang B, King L, Wang HF. Therapeutic monoclonal antibody concentration monitoring: free or total? *Bioanalysis*. 2010 Jun 1;2(6):1125–40.
16. Ahene AB. Application and interpretation of free and total drug measurements in the development of biologics. *Bioanalysis*. 2011 Jun 1;3(11):1287–95.

17. Peletier LA, Gabrielsson J. Dynamics of target-mediated drug disposition: characteristic profiles and parameter identification. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2012 Oct 1;39(5):429–51.
18. Gabrielsson J, Peletier LA. Pharmacokinetic Steady-States Highlight Interesting Target-Mediated Disposition Properties. *AAPS J.* 2017 May 1;19(3):772–86.
19. Gibiansky L, Gibiansky E, Kakkar T, Ma P. Approximations of the target-mediated drug disposition model and identifiability of model parameters. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2008 Oct 1;35(5):573–91.
20. Mager DE, Krzyzanski W. Quasi-Equilibrium Pharmacokinetic Model for Drugs Exhibiting Target-Mediated Drug Disposition. *Pharm Res.* 2005 Oct 1;22(10):1589–96.
21. Hayashi N, Tsukamoto Y, Sallas WM, Lowe PJ. A mechanism-based binding model for the population pharmacokinetics and pharmacodynamics of omalizumab. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 May;63(5):548–61.
22. Mould DR, Sweeney KD. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies—mechanistic modeling applied to drug development. *Current opinion in drug discovery & development.* 2007;10(1):84–96.
23. Yan X, Mager DE, Krzyzanski W. Selection between Michaelis–Menten and target-mediated drug disposition pharmacokinetic models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2010 Feb 1;37(1):25–47.
24. Wagner JG. *Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics.* First Edition Stated edition. Hamilton, Ill.: Drug Intelligence Pubns; 1971.
25. Meibohm B. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs: Principles and Case Studies in Drug Development* [Internet]. Wiley.com. [cited 2019 Jul 14]. Available from: <https://www.wiley.com/en-us/Pharmacokinetics+and+Pharmacodynamics+of+Biotech+Drugs%3A+Principles+and+Case+Studies+in+Drug+Development-p-9783527314089>
26. Gibiansky L, Frey N. Linking interleukin-6 receptor blockade with tocilizumab and its hematological effects using a modeling approach. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2012 Feb 1;39(1):5–16.
27. Abraham AK, Krzyzanski W, Mager DE. Partial derivative—Based sensitivity analysis of models describing target-mediated drug disposition. *AAPS J.* 2007 Jun;9(2):E181–9.
28. Marathe A, Van Wart S, Mager DE. Impact of dose selection on parameter estimation using a rapid binding approximation model of target-mediated drug disposition. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2011 Apr;38(2):223–35.
29. Masson E. *Métabolisme des lipides et des lipoprotéines chez l'homme* [Internet]. EM-Consulte. [cited 2019 Oct 22]. Available from: <https://www.em-consulte.com/article/237743/metabolisme-des-lipides-et-des-lipoproteines-chez->
30. Wijers M, Kuivenhoven J, Sluis B van de. The life cycle of the low-density lipoprotein receptor: insights from cellular and in-vivo studies. *Current Opinion in Lipidology.* 2015 Apr;26(2):82–7.

31. Abifadel M, Varret M, Rabès J-P, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003 Jun;34(2):154–6.
32. Bergeron Nathalie, Phan Binh An P., Ding Yunchen, Fong Aleyna, Krauss Ronald M. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Inhibition. *Circulation.* 2015 Oct 27;132(17):1648–66.
33. Ramasamy I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM).* 2013;52(12):1695–1727.
34. Lambert G, Sjouke B, Choque B, Kastelein JJP, Hovingh GK. The PCSK9 decade. *J Lipid Res.* 2012 Dec;53(12):2515–24.
35. Anonymous. Praluent - EMA [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [cited 2019 Oct 22]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/praluent>
36. Martinez J-M, Brunet A, Hurbin F, DiCioccio AT, Rauch C, Fabre D. Population Pharmacokinetic Analysis of Alirocumab in Healthy Volunteers or Hypercholesterolemic Subjects Using a Michaelis–Menten Approximation of a Target-Mediated Drug Disposition Model—Support for a Biologics License Application Submission: Part I. *Clin Pharmacokinet.* 2019 Jan 17;58(1):101–13.
37. Nicolas X, Djebli N, Rauch C, Brunet A, Hurbin F, Martinez J-M, et al. Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Analysis of Alirocumab in Healthy Volunteers or Hypercholesterolemic Subjects Using an Indirect Response Model to Predict Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering: Support for a Biologics License Application Submission: Part II. *Clin Pharmacokinet.* 2019 Jan 17;58(1):115–30.
38. Sharma A, Jusko WJ. Characteristics of indirect pharmacodynamic models and applications to clinical drug responses. *Br J Clin Pharmacol.* 1998 Mar;45(3):229–39.
39. Djebli N, Martinez J-M, Lohan L, Khier S, Brunet A, Hurbin F, et al. Target-Mediated Drug Disposition Population Pharmacokinetics Model of Alirocumab in Healthy Volunteers and Patients: Pooled Analysis of Randomized Phase I/II/III Studies. *Clin Pharmacokinet.* 2017 Oct 1;56(10):1155–71.
40. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, Bhatt DL, Bittner VA, Diaz R, et al. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *New England Journal of Medicine.* 2018 Nov 29;379(22):2097–107.
41. Stein EA, Mellis S, Yancopoulos GD, Stahl N, Logan D, Smith WB, et al. Effect of a Monoclonal Antibody to PCSK9 on LDL Cholesterol. *New England Journal of Medicine.* 2012 Mar 22;366(12):1108–18.
42. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry.* 1972 Jun 1;18(6):499–502.
43. Pharmacostatistical modeling for observational data | SpringerLink [Internet]. [cited 2019 Oct 18]. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01371006>
44. Bauer RJ. NONMEM Tutorial Part II: Estimation Methods and Advanced Examples. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology* [Internet]. [cited 2019 Jun 24];0(0). Available from: <https://ascpt.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/psp4.12422>

45. R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2009. Available from: <http://www.R-project.org>
46. Gastonguay MR. A Full Model Estimation Approach For Covariate Effects: Inference Based On Clinical Importance And Estimation Precision. 2004 [cited 2019 Oct 18];6. Available from: <https://www.page-meeting.org/?abstract=2229>
47. Zhang L, Beal SL, Sheiner LB. Simultaneous vs. Sequential Analysis for Population PK/PD Data I: Best-Case Performance. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2003 Dec 1;30(6):387–404.
48. Guo Y-L, Zhang W, Li J-J. PCSK9 and lipid lowering drugs. *Clinica Chimica Acta*. 2014 Nov 1;437:66–71.
49. Gibbs JP, Doshi S, Kuchimanchi M, Grover A, Emery MG, Dodds MG, et al. Impact of Target-Mediated Elimination on the Dose and Regimen of Evolocumab, a Human Monoclonal Antibody Against Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9). *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2017;57(5):616–26.
50. Wählby U, Jonsson EN, Karlsson MO. Comparison of stepwise covariate model building strategies in population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis. *AAPS PharmSci*. 2002 Dec;4(4):68–79.

Annexes

Annexes.....	75
Annexe 1. Graphes diagnostiques du modèle final	76
Annexe 2. Control stream NONMEM du modèle final	78
Serment De Galien.....	82

Annexe 1. Graphes diagnostiques du modèle final

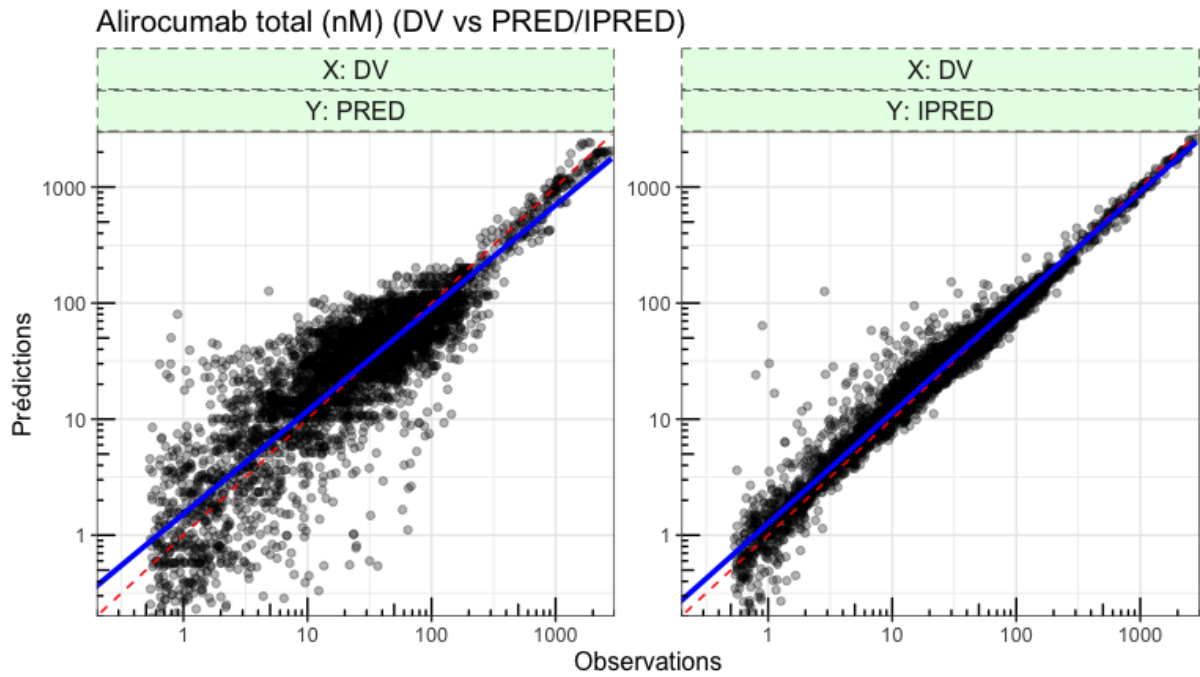


Figure 29 – Comparaison des observations et des prédictions d'alirocumab total (modèle final) (échelle logarithmique)

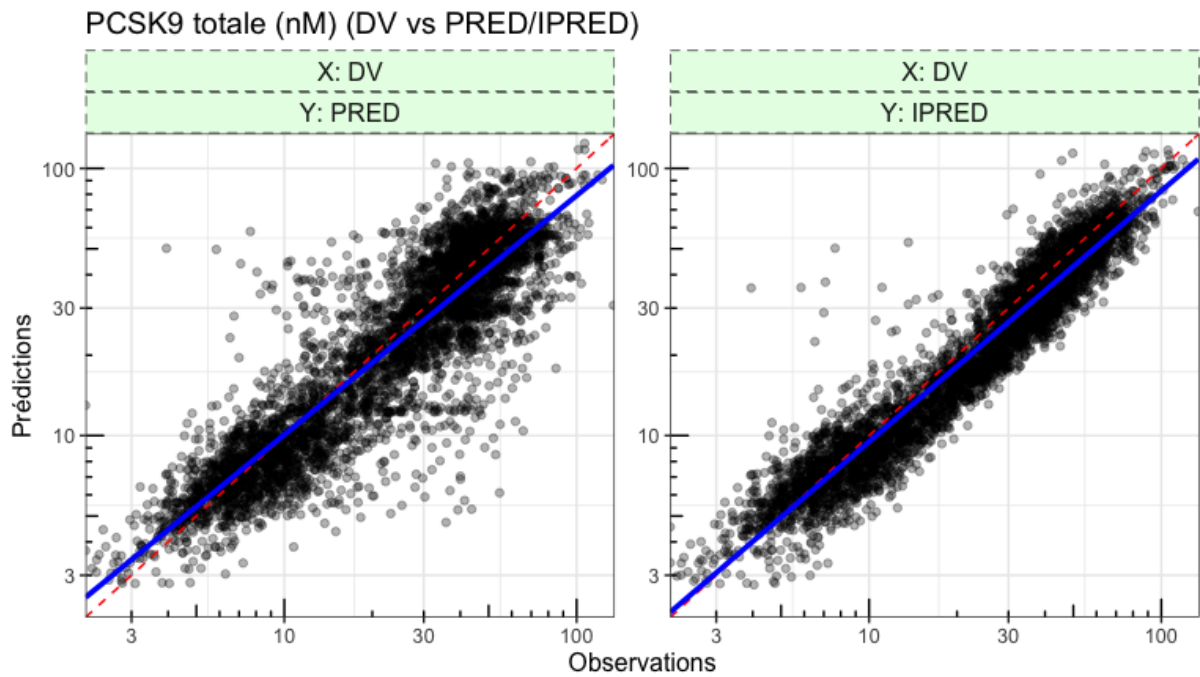


Figure 30 – Comparaison des observations et des prédictions de PCSK9 totale (modèle final) (échelle logarithmique)

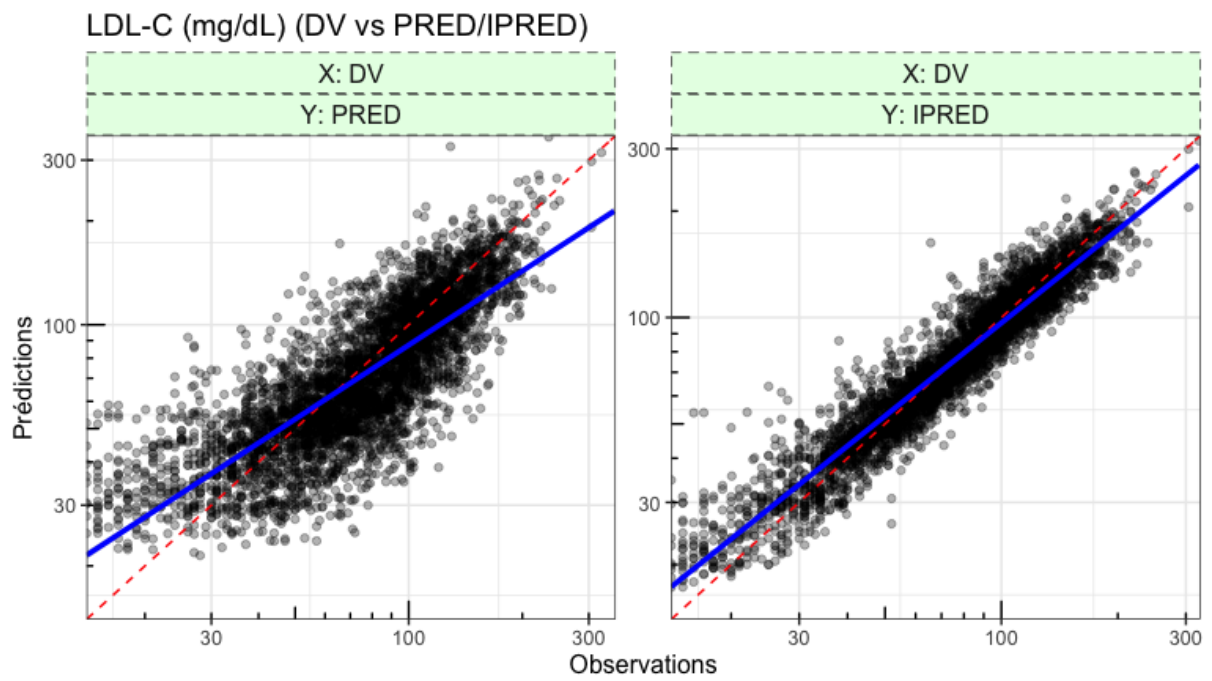


Figure 31 – Comparaison des observations et des prédictions de LDL-C (modèle final) (échelle logarithmique)

Annexe 2. Control stream NONMEM du modèle final

```
$PROBLEM      Mechanistic TMDD-PD
$INPUT        ID TIME TAD AMT RATE IDUR DV MDV EVID CMT ISC DISST TYPED
AGE SEX WT BMI RACE RAC1 RAC2 RAC3 RAC4 CLCR GFR ALB
BSLDLC FIBR EZE STATIN LWSTATIN HDSTATIN TBSPCSK FBSPCSK
TPCSK FPCSK INJE ARM ABDO THIGH STUD BSWT BSBMI
$DATA         dataset.csv IGNORE=@
$SUBROUTINE   ADVAN13 TOL=5
$MODEL        NCOMP=5 COMP=(DEPOT) COMP=(SARTOT) COMP=(TPCSK9)
COMP=(PERIPH) COMP=(LDLC)
$PK

;;; V1STATIN-DEFINITION START
V1STATIN =THETA(23)**STATIN
;;; V1STATIN-DEFINITION END

;;; V1-RELATION START
V1COV=V1STATIN
;;; V1-RELATION END

;;; IMAXSTATIN-DEFINITION START
IF(STATIN.EQ.0) IMAXSTATIN = 0 ; Most common
IF(STATIN.EQ.1) IMAXSTATIN = THETA(22)
;;; IMAXSTATIN-DEFINITION END

;;; IMAX-RELATION START
IMAXCOV=IMAXSTATIN
;;; IMAX-RELATION END

;;; IC50TBSPCSK-DEFINITION START
IC50TBSPCSK = ((TBSPCSK/6.99)**THETA(21))
;;; IC50TBSPCSK-DEFINITION END

;;; IC50-RELATION START
IC50COV=IC50TBSPCSK
;;; IC50-RELATION END

; PD
TVKOUT = THETA(1)
TVIC50 = THETA(2)
TVIC50 = IC50COV*TVIC50
TVGAM = THETA(3)
TVIMAX = THETA(4)
TVIMAX = IMAXCOV+TVIMAX

EKOUT = ETA(1)
EIC50 = ETA(2)
EGAM = ETA(3)
EIMAX = ETA(4)

MU_1 = LOG(TVKOUT)
MU_2 = LOG(TVIC50)
MU_3 = LOG(TVGAM)

KOUT = EXP(MU_1 + EKOUT)
IC50 = EXP(MU_2 + EIC50)
GAM = EXP(MU_3 + EGAM)
```

```

MU_4 = LOG(TVIMAX / (1 - TVIMAX))
LGIMAX = MU_4 + EIMAX
IMAX = 1 / (EXP(-LGIMAX) + 1)

KOUTp = KOUT * (1 - (IMAX * TBSPCSK**GAM) / (IC50**GAM + TBSPCSK**GAM))
KIN = KOUTp * BSLDLC

; PK - IIV
TVCL      = THETA(5)
TVKINT    = THETA(6)
TVKDEG    = THETA(7)
TVQ       = THETA(8)
TVV1      = THETA(9)
TVV1 = V1COV*TVV1
TVKA      = THETA(10)
TVF       = THETA(11)

ECL       = ETA(5)
EKINT     = ETA(6)
EKDEG     = ETA(7)
EQ        = ETA(8)
EV1       = ETA(9)
EKA       = ETA(10)
EF        = ETA(11)

; PK - NO IIV
TVKON     = THETA(12)
TVV2      = THETA(13)
TVALAG1   = THETA(14)

MU_5      = LOG(TVCL)
MU_6      = LOG(TVKINT)
MU_7      = LOG(TVKDEG)
MU_8      = LOG(TVQ)
MU_9      = LOG(TVV1)
MU_10     = LOG(TVKA)

CL        = EXP(MU_5 + ECL)
KINT      = EXP(MU_6 + EKINT)
KDEG     = EXP(MU_7 + EKDEG)
Q         = EXP(MU_8 + EQ)
V1        = EXP(MU_9 + EV1)
KA        = EXP(MU_10 + EKA)

KON       = TVKON
V2        = TVV2
ALAG1     = TVALAG1

MU_11     = LOG(TVF / (1 - TVF))
LGF       = MU_11 + EF
BIO       = 1 / (EXP(-LGF) + 1)

IF (ISC.EQ.0) BIO = 1
F1        = BIO

KEL       = CL / V1
KPT       = Q / V1
KTP       = Q / V2

```

```

KSS = 0.58 + KINT/KON
KSYN = TBSPCSK * KDEG

A_0(2) = 0
A_0(3) = TBSPCSK * V1

S2=V1
S3=V1

$DES
C2=A(2)/V1
C3=A(3)/V1
C4=A(4)/V2
DADT(1) = -KA * A(1)

K1 = C2 - C3 - KSS
SARF = 0.5*(K1+ SQRT(K1*K1 + 4*KSS*C2))

DADT(2) = KA*A(1) - (KEL+KPT)*SARF*V1 - KINT*A(3)*SARF / (KSS+SARF) + KTP*C4*V2

DADT(3) = KSYN * V1 - KDEG * A(3) - (KINT - KDEG) * SARF * A(3) / (KSS + SARF)

DADT(4) = KPT* SARF * V1 - KTP * A(4)

; SAR-PCSK9 Complex
PCSK9SAR = C3 * SARF / (KSS + SARF)

; Free PCSK9
FREEPCSK9 = C3 - PCSK9SAR

; Indirect PK Model II : Inhibition of loss of response
I = IMAX * FREEPCSK9**GAM / (IC50**GAM + FREEPCSK9**GAM)

DADT(5) = KIN - KOUT * (1-I) * A(5)

$ERROR
Add_SAR = THETA(15) ; proportional error term
Prop_SAR = THETA(16) ; additive error term
Add_PCSK = THETA(17) ; proportional error term
Prop_PCSK = THETA(18) ; additive error term
Add_LDLc = THETA(19) ; proportional error term
Prop_LDLc = THETA(20) ; additive error term

IF(CMT.EQ.2) THEN
EA = Add_SAR
EP = Prop_SAR
END IF
IF(CMT.EQ.3) THEN
EA = Add_PCSK
EP = Prop_PCSK
END IF
IF(CMT.EQ.5) THEN
EA = Add_LDLc
EP = Prop_LDLc
END IF

```



```

IPRED=F
W=SQRT(EA*EA + EP*EP*F*F)
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W

Y = F + W * EPS(1)

$THETA (0,0.177) ; KOUT
(0,0.982) ; IC50
(0,5) ; GAM
(0,0.841) ; IMAX
(0,0.265) ; CL
(0,0.123) ; KINT
(0,1.298) ; KDEG
(0,0.650) ; Q
(0,3.197) ; V1
(0,0.330) ; KA
(0,0.541) ; F1
559 FIX ; KON
2.612 FIX ; V2
(0,0.028) ; ALAG1
(0,0.340) ; Add_SAR
(0,0.284) ; Prop_SAR
(0,1.232) ; Add_PCSK
(0,0.250) ; Prop_PCSK
(0,5.898) ; Add_LDL
(0,0.151) ; Prop_LDL
; Residual error terms
$THETA (-100,0.9,100000) ; IC50TBSPCSK1
$THETA (-20,0.13,20) ; IMAXSTATIN1
$THETA (-100,0.5,100000) ; V1STATIN1
$OMEGA 0.1932
0.0081
0 FIX ; 0.0906
0.5973
; PD
$OMEGA 1.0215 ; CL_
0.0526 ; KINT_
0.1164 ; KDEG_
0 FIX ; 1.4240 ; Q_
0.0886 ; V1_
0.2333 ; KA_
0.3978 ; F1_
; PK
$SIGMA 1 FIX
$ESTIMATION METHOD=SAEM INTERACTION NBURN=4000 NITER=1000 PRINT=50
NOABORT CTYPE=3
$COVARIANCE MATRIX=R PRINT=E

```

Serment De Galien

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

Développement d'un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique semi-mécanistique de l'alirocumab et de son effet hypolipémiant

Le devenir *in vivo* des anticorps monoclonaux (mAbs) est influencé par l'interaction avec leur cible biologique thérapeutique. En conséquence, leur pharmacocinétique est fréquemment non-linéaire en raison de l'intervention de deux voies cataboliques : une voie non spécifique et non saturable, et une voie spécifique liée à la fixation avec leur cible et donc saturable. Le modèle « Target-Mediated Drug Disposition » (TMDD) est particulièrement adapté pour décrire l'évolution des concentrations des mAbs dans l'organisme. L'alirocumab est un anticorps monoclonal hypocholestérolémiant, dirigé contre la proprotéine convertase subtilisine kexine de type 9 (PCSK9), indiqué dans la prévention du risque cardiovasculaire. Nous présentons ici un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique de population développé pour décrire simultanément l'interaction de l'alirocumab avec la PCSK9 et son impact sur l'évolution des taux de LDL-cholestérol (LDL-C). Ce modèle a été construit à partir de données issues de 527 sujets inclus dans neuf études cliniques de phase 1 à 3. Il s'agit d'un modèle TMDD, considérant l'approximation quasi-steady-state pour caractériser la dynamique d'interaction de l'alirocumab et de la PCSK9, combiné à un modèle pharmacodynamique indirect décrivant l'inhibition de l'élimination du LDL-C par la PCSK9. Il souligne également la synergie d'action hypolipémiante entre les anticorps anti-PCSK9 et les statines.

Mots-clés : pharmacocinétique, pharmacodynamie, modélisation, population, anticorps, alirocumab, PCSK9, cholestérol, NONMEM

Development of a semi-mechanistic pharmacokinetic/pharmacodynamic model of alirocumab and its lipid-lowering effect

In vivo becoming of monoclonal antibodies (mAbs) is influenced by the interaction with their biological target. As a result, their pharmacokinetics is frequently non-linear due to the intervention of two catabolic pathways: a non-specific and non-saturable pathway, and a specific path related to fixation with their target and therefore saturable. The "Target-Mediated Drug Disposition" (TMDD) model is particularly suitable for describing the evolution of mAbs concentrations in the body. Alirocumab is a cholesterol-lowering monoclonal antibody targeting proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) indicated in the prevention of cardiovascular risk. We present here a population pharmacokinetic / pharmacodynamic model developed to simultaneously describe the interaction of alirocumab with PCSK9 and its impact on the evolution of LDL-cholesterol (LDL-C) levels. This model was constructed with data from 527 subjects enrolled in nine phase 1 to 3 clinical studies. It is a TMDD model, considering the quasi-steady-state approximation to characterize the interaction dynamics of alirocumab and PCSK9, combined with an indirect pharmacodynamic model describing the inhibition of LDL-C by PCSK9. It also highlights the hypolipidemic synergy of action between anti-PCSK9 antibodies and statins.

Keywords: pharmacokinetics, pharmacodynamics, modeling, population, antibody, alirocumab, PCSK9, cholesterol, NONMEM

