

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS

UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe MAUPAS »

Année 2020

N° 54

MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES

Spécialité Biologie Médicale

TENANT LIEU DE THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

M. Olivier LE TILLY, né le 13/09/1993 à CAEN (14)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 16 OCTOBRE 2020

« ETUDE DU DEVENIR DU TRASTUZUMAB APRES ADMINISTRATION PAR VOIE
INTRATHECALE CHEZ L'HOMME »

JURY

Président : Pr Véronique MAUPOIL, pharmacien, PU, Faculté de Pharmacie – TOURS

Membres : Pr Gilles PAINAUD, médecin, PU-PH, Faculté de Médecine – TOURS

Pr Claude LINASSIER, médecin, PU-PH, Faculté de Médecine – Tours

Pr Christophe DESTRIEUX, médecin, PU-PH, Faculté de Médecine – Tours

Dr David TERNANT, pharmacien, MCU-PH, Faculté de Médecine – Tours

*« Peut-être me dira-t-on, sont-ce là de pauvres ressources : elles le sont, j'en conviens ;
Mais si isolées elles sont impuissantes, réunies elles seront efficaces »*

Publius Ovidius Naso, *Remedia Amoris*

ANNEE : 2020 - 2021

Directrice : Pr Véronique MAUPOIL

Directeur Adjoint : M. Hervé MARCHAIS

Assesseurs : Pr Daniel ANTIER, M. Matthieu JUSTE, Pr Karine MAHEO, Mme Audrey OUDIN

ENSEIGNANTS

16 PROFESSEURS

ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	PHARMACOGNOSIE
GIRAUDEAU	Bruno	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE
THIBAULT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

3 PROFESSEURS EMERITES

AGAFONOV	Viatcheslav	CHIMIE PHYSIQUE
GUILLOTEAU	Denis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

38 MAITRES DE CONFERENCES

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BAKRI	Françoise	HYGIENE SANTE PUBLIQUE & TOXICOLOGIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BOUVIN-PLY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE

DELAYE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DENEVAULT	Caroline	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DOUZIECH-EYROLLES	Laurence	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
DUMAS	Jean-François	BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
GERMON	Stéphanie	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
GLEVAREC	Gaëlle	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
HERVE-AUBERT	Katel	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
JUSTE	Matthieu	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
LAJOIE	Laurie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
LANOUE	Arnaud	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
MARC	Jillian	BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
MARCHAIS	Hervé	PHARMACIE GALENIQUE
MAVEL	Sylvie	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MUNNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
OMBETTA-GOKA	Jean-Edouard	CHIMIE ORGANIQUE
LOUDIN	Audrey	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PASQUALIN	Côme	PHARMACOLOGIE
PRIE	Gildas	CHIMIE ORGANIQUE
RESPAUD	Renaud	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
SOUCE	Martin	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
TAUBER	Clovis	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VELGE-ROUSSEL	Florence	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
VERCOUILLIE	Johnny	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
VERGOTE	Jackie	AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
VIERRON	Emilie	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
ZHANG	Bei-Li	PHARMACOLOGIE

1 CONTRAT D'ENSEIGNEMENT

VANIER	Antoine	BIOPHYSIQUE & MATHEMATIQUES
--------	---------	-----------------------------

1 DIRECTEUR DE RECHERCHE

CHALON	Sylvie	INSERM
--------	--------	--------

2 CHARGES DE RECHERCHE

MEVELEC	Marie-Noëlle	INRA
MOIRE	Nathalie	INRA

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN	Susan	ANGLAIS
-----------------	-------	---------

1 PAST

JOYEUX	VINCENT	Filière Pharmacie
--------	---------	-------------------

3 AHU

FOUCAULT	Amélie	HEMATOLOGIE
FOUCAULT-FRUCHARD	Laura	PHARMACIE CLINIQUE
MARLET	Julien	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;

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 Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;

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

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;

De coopérer avec les autres professionnels de santé ;

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date : 16/10/2020

L'étudiant

M. OLIVIER LE TILLY

Le Doyen de la Faculté

Professeur Véronique Maupoil

Remerciements

Le piège de l'aspect conventionnel des remerciements des thèses et mémoires est qu'il constitue une banalité à laquelle se conforme l'auteur en y citant un maximum de connaissances tout en oubliant d'exprimer l'étendue de ses sentiments. Pour échapper, sans doute en vain, à cet état de fait, je m'adresse en premier lieu à vous, lecteur, en vous remerciant par avance de l'attention que vous porterez à la lecture du travail présenté et des critiques que vous en ferez.

*

Je témoigne toute ma reconnaissance à Mme le Professeur Véronique MAUPOIL, pour me faire l'honneur de présider mon jury et de juger ce travail. Je ne peux oublier de mentionner la présence et l'écoute vis-à-vis des étudiants dont vous aviez su faire preuve lors de ma formation initiale sur les bancs de la faculté de pharmacie et de votre pédagogie lors des cours de pharmacologie.

J'adresse tous mes remerciements à M. le Professeur Claude LINASSIER pour avoir accepté de juger ce travail. Bien que nous n'ayons pas eu l'occasion d'en discuter, j'ose espérer que ce travail puisse retenir votre attention pour le critiquer.

Je remercie également M. le Professeur Christophe DESTRIEUX pour avoir accepté de juger ce travail en apportant son expertise clinique et scientifique. Puisse ce travail répondre à vos attentes.

Je remercie vivement M. le Dr David TERNANT, les discussions avec toi s'avèrent toujours passionnantes et enrichissantes scientifiquement et humainement. Merci pour ton accompagnement et ton amitié. J'ai hâte de continuer à travailler à tes côtés !

Enfin, et surtout, je manifeste mon plus profond respect pour M. le Professeur Gilles PAINAUD, pour m'avoir encadré au cours de ce travail et me guider tout au long de ma spécialisation en pharmacologie avec bienveillance et conseils. Je vous remercie infiniment de m'avoir permis d'intégrer votre équipe, à l'hôpital comme dans la recherche.

**

L'internat a été pour moi une grande aventure faite notamment de rencontres. Je remercie tous les biologistes et techniciens côtoyés dans l'ensemble des laboratoires d'avoir partagé avec moi leurs connaissances et leurs astuces, parfois indispensables à la paillasse.

Mes remerciements vont aussi à mes amis et collègues biologistes, à commencer par mes compagnons de stage : Anne, José, Parastou, Marie, Clément, Jean-Baptiste, Luc, Clémence, Ronan, Charles et Gauvin. Un petit aparté (forcément) pour Anne, avec qui j'ai partagé nombre de fous-rires et de coups de grogne au cours de ses quatre années d'internat, je te souhaite le meilleur professionnellement et personnellement ! Je remercie évidemment aussi Clément, avec qui j'espère continuer à travailler le plus longtemps possible, je te souhaite également le meilleur avec ta petite famille.

Un grand merci à l'ensemble des internes que j'ai pu côtoyer même sans partager la routine à leurs côtés : Victor, Sébastien, Claire, Pierre, Hugo, Coralie, Camille, Juliette, Anaïs, Joévin, Sylvain, Wayne, Brice, Lisa, Romane, Noémie, Victoria, le gang des Thomas, la fine équipe nantaise (promis, je m'entraînerai au baby-foot !), et les plus jeunes qui semblent bien partis pour prendre la relève en beauté (Pierre, Victoria, Emeline, Hadjer, Elodie, Justine, Natacha, Pauline, Mathilde, Elise, Romane)... et tous ceux que j'oublie mais qui sauront se reconnaître !

Je salue également l'ensemble de mes camarades de promotion de la faculté de pharmacie, en particulier Aurélien, Bérenger, Vincent, Camille, Alexandre, Marie, Kénizé, Lucie, Nina, Elsa, Karine, Pierre et Philippe.

J'adresse par ailleurs une pensée à tous les externes que j'ai eu l'occasion d'accompagner au cours de leur parcours, notamment ceux ayant préparé le concours de l'internat.

Je profite également de ces pages pour remercier l'ensemble des membres du service de Pharmacologie Médicale et du GICC pour leur bonne humeur au quotidien, en particulier Nicolas pour m'avoir formé à la modélisation pharmacocinétique et au codage sur R, ainsi que pour tous ses conseils avisés. Je salue donc François, Theodora, Nadège, Céline, Sophie, Michelle, Yves, Alison, Christophe, Laurie, Claudine, Anne-Claire, Caroline et Valérie, ainsi qu'Amina, Anne, Sandrine, Agnès, Marc, William, Maxime, Guillaume, Quentin, Diana et Claire.

Et enfin, merci à ma famille pour son soutien infaillible depuis toujours. Vous m'avez toujours soutenu et fait confiance quelles que soient mes décisions sur mon avenir tout en me motivant toujours à aller plus loin... Et avec un peu d'humour, je m'octroie un très petit merci.

Table des matières

Introduction	1
1. Cancer du sein et carcinomatose leptoméningée	1
a. Physiopathologie	1
b. Traitement par trastuzumab	3
c. Diffusion méningée des anticorps administrés par voie intraveineuse	4
2. Principes de modélisation pharmacocinétique	7
a. Pharmacocinétique compartimentale et approche de population	7
b. Elimination médiée par la cible	9
c. Validation d'un modèle pharmacocinétique	11
Objectifs	13
Matériel et Méthodes	14
1. Description de l'essai clinique	14
2. Mise au point du modèle pharmacocinétique	15
a. Modèle structural	15
b. Modèle d'erreur résiduelle	18
c. Modèle de covariables	18
3. Evaluation de l'exposition au traitement et de la réponse clinico-biologique	18
a. Evaluation de l'exposition au traitement	18
b. Etude de l'efficacité du traitement	19
c. Analyse statistique	19
Résultats	20
1. Caractéristiques de la population étudiée	20
2. Analyse pharmacocinétique	21
3. Validation interne du modèle pharmacocinétique	26
4. Etude de la relation exposition-effet	28

Discussion	31
1. Hypothèses semi-mécanistiques	31
2. Influence de la masse antigénique sur la pharmacocinétique du trastuzumab	32
3. Absence de relation exposition-efficacité	33
4. Influence de la stratégie de prélèvement	34
Conclusion	35
Bibliographie	36

Liste des figures

Figure 1 : Production et circulation du liquide cébrospinal.	3
Figure 2 : Structure des barrières cérébrales	5
Figure 3 : Représentation d'un réservoir d'Ommaya et de son placement	6
Figure 4 : Représentation schématique de l'approche de population	8
Figure 5 : Représentation schématique d'un modèle TMDD après approximation de liaison irréversible	10
Figure 6 : Représentation schématique du modèle de Friberg adapté à la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux	11
Figure 7 : Représentation schématique du modèle bicompartimental avec élimination médiée par la cible (« L »), trois compartiments de transit et un rétrocontrôle négatif (modèle de Friberg).	17
Figure 8 : Temps de résidence moyen dans le liquide cébrospinal et le sérum, calculés pour une dose unique de 150 mg intrathécale de trastuzumab.	23
Figure 9 : Exemples de profils pharmacocinétiques présentant une forte non-linéarité des concentrations dans le liquide cébrospinal.	24
Figure 10 : Simulations des profils pharmacocinétiques typiques de trastuzumab	25
Figure 11 : Concentrations observées vs prédites dans le liquide cébrospinal (gauche) et le sérum (droite)	26
Figure 12 : Résidus individuels pondérés (IWRES) dans le sérum et le liquide cébrospinal (CSF) en fonction des concentrations prédites (IPRED)	27
Figure 13 : Distribution normalisée des résidus (NPDE) dans le liquide cébrospinal (CSF) et le sérum	28
Figure 14 : Courbe de Kaplan-Meyer de la survie sans progression neurologique sous trastuzumab intrathécal	29
Figure 15 : Evolution des examens cytologiques dans le LCS au cours des semaines de traitement IT.	30

Liste des tableaux

Tableau I : Données recueillies chez les patientes incluses, stratifiées par palier de dose.	20
Tableau II : comparaison des principaux modèles testés à l'aide de la fonction objective ($-2 \log$ vraisemblance, $-2 LL$) et du critère d'information d'Akaike (AIC)	21
Tableau III : Valeurs des paramètres estimés pour le modèle retenu	22
Tableau IV : Comparaisons des valeurs d'exposition aux données de réponse clinique et biologique	29

Liste des abréviations

-2LL	$-2 \times \ln$ vraisemblance (<i>-2 Log-Likelihood</i>)
AcMo	Anticorps Monoclonal
AIC	Critère d'information d'Akaike (<i>Akaike Information Criterion</i>)
AUC	Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps (<i>Area Under the Curve</i>)
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
BHM	Barrière Hémato-Méningée
CLM	Carcinomatose Leptoméningée
ELISA	Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>)
HAS	Haute Autorité de Santé
HER2	Récepteur pour les facteurs de croissance épidermiques humains 2 (<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i>)
Ig	Immunoglobuline
IWRES	Résidus individuels pondérés (<i>Individual Weighted Residuals</i>)
IT	Intrathécal
IV	Intravasculaire
LCS	Liquide Cérébrospinal
LLOQ	Limite inférieure de quantification (<i>Lower Limit of Quantification</i>)
MRT	Temps de résidence moyen (<i>Mean Residence Time</i>)
MTT	Temps moyen de transit (<i>Mean Transit Time</i>)
PFS	Survie sans progression (<i>Progression Free Survival</i>)
PK	Pharmacocinétique (<i>Pharmacokinetics</i>)
NPDE	Distribution normalisée des résidus (<i>Normalized Prediction Distribution Errors</i>)
r.s.e.	Erreur-type relative (<i>Relative Standard Error</i>)

Introduction

1. Cancer du sein et carcinomatose leptoméningée

a. Physiopathologie

Le cancer du sein est actuellement le cancer le plus fréquent chez la femme, déclaré généralement entre 45 et 65 ans. Son incidence est d'environ 59 000 nouveaux cas par an en France pour une mortalité de 12 000 décès par an. (Jéhannin-Ligier 2017) Histologiquement, ces cancers sont quasiment toujours des adénocarcinomes, c'est-à-dire des tumeurs malignes d'un épithélium glandulaire.

Le tissu conjonctif sous-cutané du sein renferme un réseau de canaux galactophores, constituant la glande mammaire. En arrière du mamelon, ces canaux se divisent pour devenir de plus en plus étroits, jusqu'à l'unité terminale ducto-lobulaire, comportant les canalicules extra- et intralobulaires qui s'abouchent à des lobules ou acini (cavités bordées de cellules sécrétrices), fonctionnels lors de la lactation. Les sous-types histologiques les plus fréquents des adénocarcinomes mammaires sont le carcinome canalaire infiltrant puis le carcinome lobulaire infiltrant. (CoPath 2019)

L'histoire naturelle d'un carcinome (tumeur maligne épithéliale) comprend globalement l'expansion clonale d'une cellule cancéreuse à l'origine d'un carcinome *in situ* (non invasif, prolifération épithéliale sans atteinte de la membrane basale), suivie d'une invasion tumorale, initialement localisée, avant de disséminer dans l'organisme pour générer secondairement des métastases, indépendantes de la tumeur initiale. L'envahissement métastatique survient essentiellement par voie lymphatique ou hématogène ; cette dernière pouvant survenir par franchissement direct de la paroi vasculaire ou secondairement à l'extension lymphatique, par le canal thoracique (rejoignant la circulation générale par la veine sous-clavière gauche). Les carcinomes comme le cancer du sein disséminent principalement par voie lymphatique.

Le potentiel métastatique d'une tumeur et son tropisme tissulaire dépend de nombreux facteurs, notamment de sa localisation et de ses capacités à dégrader la matrice extracellulaire (à l'aide de protéases) et à résister aux cellules immunitaires. Par extension lymphatique, les métastases occuperont principalement les nœuds lymphatiques (avec présence d'un ganglion sentinelle drainant la tumeur primitive), pouvant nécessiter un curage ganglionnaire. Par voie hématogène, les cellules métastatiques s'agrègent initialement sous forme d'embolus

néoplasiques dans la circulation, retenus dans les vaisseaux de faible diamètre d'où elles proliféreront si le nouveau territoire leur est favorable : ancrage à l'aide de molécules d'adhésion, présence de facteurs de croissance, protection vis-à-vis du système immunitaire et, pour les amas de plus de 3 mm, la mise en place d'une néovascularisation. (CoPath 2019)

La carcinomatose leptoméningée (CLM), ou méningite carcinomateuse, correspond à un envahissement de l'espace sous-arachnoïdien par des cellules métastatiques (indépendamment d'une atteinte du parenchyme cérébral). Cette complication survient dans environ 5 % des cancers du sein. Les CLM se traduisent cliniquement par des céphalées, une confusion, des troubles de la marche ou une diplopie selon l'atteinte nerveuse et cérébrale. Le diagnostic repose essentiellement sur l'examen cytologique du liquide cébrospinal (LCS) et sur l'imagerie par résonance magnétique. Malgré la mise en place d'un traitement (chimiothérapie, chirurgie, radiothérapie), la médiane de survie est généralement de 12 semaines (Chamberlain 2006; Hall Thomas et Ramirez 2017), voire une vingtaine de semaines pour les CLM secondaires à un cancer du sein. (Le Rhun, Taillibert, et Taillandier 2009)

La prise en charge est multidisciplinaire et l'administration d'une chimiothérapie par voie intrathécale (IT) peut être envisagée, parfois associée à une radiothérapie du névraxe. Les traitements cytostatiques disposant d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour être administrés par voie IT sont le méthotrexate et la cytarabine (uniquement dans les leucémies pour celle-ci). Le thiotepa est également retrouvé dans certains protocoles, hors AMM. (Le Rhun, Taillibert, et Taillandier 2009)

La **figure 1** décrit la production et la circulation du LCS. (Raper, Louveau, et Kipnis 2016) La voie IT consiste à administrer le médicament dans l'espace sous-arachnoïdien au niveau lombaire ou au niveau des ventricules latéraux.

Le risque de survenue d'une CLM est augmenté si la cellule tumorale surexprime le récepteur oncogène *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* (HER2), ce qui est le cas d'environ 20 % des cancers du sein. Par technique d'immunohistochimie, la surexpression de HER2 est évaluée par un score (0, 1+, 2+, 3+) en fonction du pourcentage de cellules marquées et de l'intensité ; un score 2+ nécessite une recherche de l'amplification du gène sur le chromosome 17 par hybridation *in situ*, au microscope à fluorescence. (CoPath 2019)

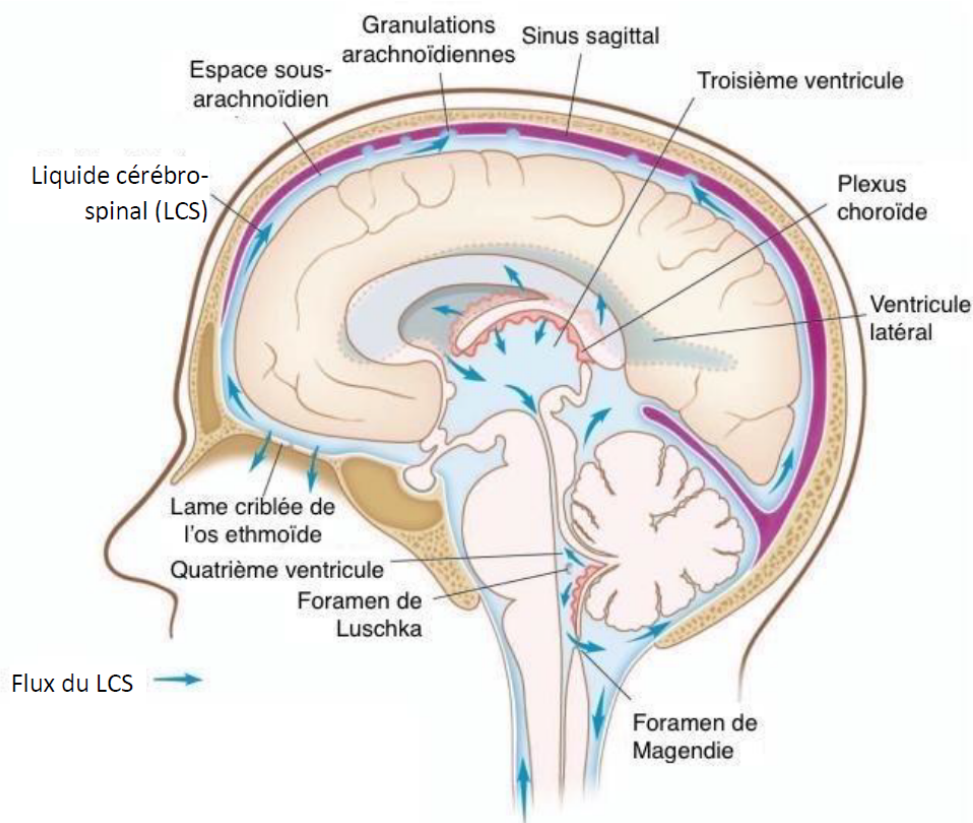


Figure 1 : Production et circulation du liquide cébrospinal.

Le LCS est produit à partir des plexus choroïdes des ventricules cérébraux, d'amont en aval : ventricules latéraux, troisième puis quatrième ventricule. Il diffuse alors dans l'espace sous-arachnoïdien aux niveaux lombaire et cérébral, pour être éliminé dans le sinus sagittal par les granulations arachnoïdiennes, majoritairement cérébrales mais également lombaires. Chaque jour, 600 mL de LCS sont produits, pour un volume circulant avoisinant 150 mL. (Raper, Louveau, et Kipnis 2016)

b. Traitement par trastuzumab

Le trastuzumab est un anticorps monoclonal (AcMo) de type immunoglobuline (Ig) G1, dirigé contre HER2. Une surexpression de HER2 constatée par un score 3+ en immunohistochimie ou une amplification génique en hybridation *in situ* permet son utilisation, au stade précoce comme au stade métastatique. En 2016, la Haute Autorité de Santé (HAS) a réévalué le service médical rendu du trastuzumab dans le cancer du sein métastatique : il s'agit d'un traitement de première intention en association à un taxane et au pertuzumab (AcMo dirigé contre le domaine de dimérisation de HER2), ou dans certains cas associé à un inhibiteur de l'aromatase. Il n'est toutefois plus recommandé en monothérapie. Dans le cancer du sein précoce HER2 positif

localement avancé, la HAS a considéré que le trastuzumab en association à la chimiothérapie est un traitement de première ligne. (Haute Autorité de Santé 2016)

Le principal effet indésirable du trastuzumab est sa cardiotoxicité, avec un risque accru d'insuffisance cardiaque (majoré en cas d'association aux anthracyclines, auxquelles il ne doit pas être associé) : sa prescription nécessite ainsi une évaluation cardiaque avant et pendant le traitement. Cette toxicité peut être diminuée en privilégiant un schéma d'administrations intraveineuses hebdomadaire, au lieu d'une injection toutes les trois semaines. (Hamdan *et al.* 2018)

Depuis quelques années, un conjugué anticorps-médicament est disponible en deuxième ligne et au-delà dans le cancer du sein métastatique HER2-positif chez les patientes préalablement exposées au trastuzumab. Il s'agit du trastuzumab emtansine, où l'anticorps est couplé à l'agent cytotoxique DM1, inhibiteur des microtubules. Le récepteur HER2 est également une des cibles du lapatinib, un inhibiteur de protéines kinases administré par voie orale et pouvant être associé au trastuzumab en troisième ligne de traitement dans le cancer du sein HER2 positif.

Depuis l'introduction du trastuzumab, on constate une augmentation de l'incidence des CLM. Ce phénomène pourrait s'expliquer à la fois par l'amélioration de la survie des patientes présentant des métastases – résultant ainsi en une augmentation du risque de développer des métastases de localisations inhabituelles – et une faible diffusion cérébrale du trastuzumab tandis que les cellules surexprimant HER2 présentent un tropisme cérébral et méningé important. (Hall Thomas et Ramirez 2017)

c. Diffusion méningée des anticorps administrés par voie intraveineuse

Plusieurs études ont montré que les AcMo administrés par voie intraveineuse (IV) passent difficilement les barrières hémato-encéphalique (BHE) et hémato-méningée (BHM), le cerveau étant un territoire « sanctuaire », protégé du système immunologique. (Painaud 2009)

La BHE est assurée par les jonctions serrées des cellules endothéliales spécialisées des capillaires cérébraux, non fenêtrés. Bien que la BHE limite le transport des molécules, il s'agit de la principale surface d'échange entre le sang et le système nerveux central : de 12 à 18 m² chez l'adulte, et le réseau de capillaires cérébraux occupe 30 % du volume cérébral avec 650 km de long, espacés en moyenne de 40 µm les uns des autres. (Abbott *et al.* 2010; Obermeier, Verma, et Ransohoff 2016)

La BHE est une entité dynamique : les cellules endothéliales interagissent étroitement avec leur environnement (péricytes, astrocytes, microglie, neurones) et forment ainsi un « complexe neurovasculaire » (**Figure 2**). Les neurones sont ainsi capables de modifier la BHE en fonction de leurs besoins métaboliques et les cellules de la microglie et les macrophages périvasculaires jouent un rôle clé dans l'immunorégulation et le recrutement des leucocytes au niveau cérébral. (Keaney et Campbell 2015; Obermeier, Verma, et Ransohoff 2016)

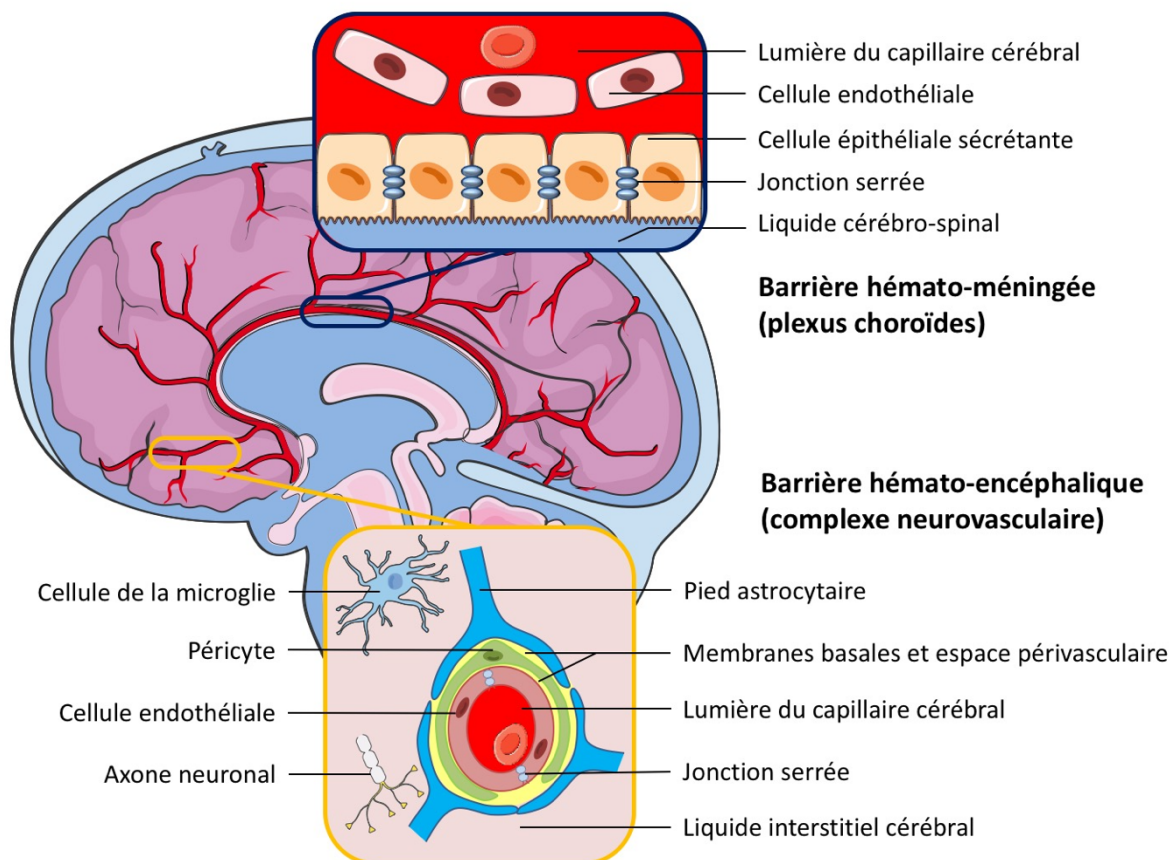


Figure 2 : Structure des barrières cérébrales

Deux barrières coexistent au niveau cérébral : (1) la barrière hémato-méningée limite les échanges entre le LCS et les capillaires cérébraux grâce aux jonctions serrées de l'épithélium des plexus choroïdes ; (2) la barrière hémato-encéphalique limite les échanges entre le parenchyme cérébral et les capillaires cérébraux grâce aux jonctions serrées de l'endothélium des capillaires, au contact de cellules réunies au sein d'un complexe neurovasculaire capable d'étroitement réguler cette barrière. (Le Tilly, Bretonnière, et Grégoire 2019)

Les péricytes des complexes neurovasculaires enserrant les membranes des capillaires, des artérioles et des veinules cérébrales. Ils contribuent à leur stabilité, à la régulation du diamètre des capillaires, du débit sanguin et contrôlent l'intégrité et la fonctionnalité de la BHE. Les astrocytes fournissent aux neurones les nutriments nécessaires à leur fonctionnement, régulent

les concentrations extracellulaires de potassium, participent à l'élimination des neurotransmetteurs et régulent la BHE. Leurs pieds enserrant les capillaires et les péricytes et contiennent de nombreux canaux potassiques. (Obermeier, Daneman, et Ransohoff 2013)

Les plexus choroïdes se composent d'un réseau de capillaires fenêtrés et de cellules épithéliales sécrétoires, reliées par des jonctions serrées au niveau de leur pôle apical, ce qui constitue la BHM. Les échanges entre le sang et le LCS sont fortement limités au niveau sous-dural par les nombreuses jonctions serrées de l'arachnoïde, jusqu'à l'élimination du LCS par les granulations arachnoïdiennes. (Abbott *et al.* 2010)

Sous l'action des différentes barrières cérébrales, on observe en moyenne des concentrations rachidiennes en IgG 429 fois plus faibles que dans le sérum. (Reiber 2016) L'efficacité de l'administration IV de trastuzumab sur les métastases du système nerveux central et la CLM semble limitée, puisque la plupart se produisent chez des patientes déjà traitées par cet AcMo. La CLM serait probablement sensible aux AcMo anti-HER2 à condition qu'ils soient capables de traverser ou de contourner la BHM. L'administration IT de trastuzumab est donc une approche prometteuse pour les patientes avec CLM et pour lesquelles les alternatives thérapeutiques sont peu efficaces. (Gutierrez *et al.* 2011)

L'administration par voie IT peut se faire au décours d'une ponction lombaire (prélèvement en L3-L4 de LCS puis administration d'un volume équivalent de médicament), ou au travers d'un dispositif médical : chambre implantable intrathécale ou réservoir d'Ommaya (administration intraventriculaire). La **figure 3** schématise l'emplacement d'un réservoir d'Ommaya.

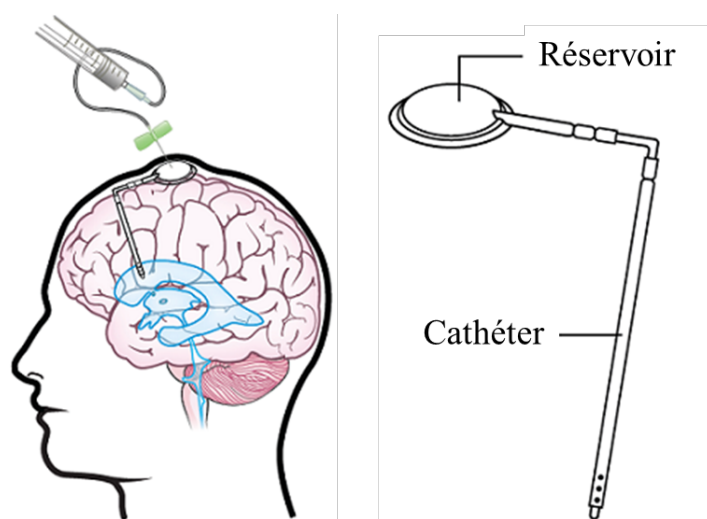


Figure 3 : Représentation d'un réservoir d'Ommaya et de son placement

Le médicament est injecté dans le réservoir sous-cutané, pour être directement administré au niveau des ventricules latéraux (Memorial Sloan Kettering Cancer Center 2019)

Selon les études précédemment publiées, la concentration de trastuzumab dans le LCS des patientes recevant des perfusions IV était de 49 à 420 fois plus faible que les concentrations sériques correspondantes, confirmant le très faible passage de la BHM. (Stemmler *et al.* 2007) On observe par ailleurs chez le rat, après administration intracérébrale ou intraventriculaire d'IgG, un efflux rapide des anticorps du LCS vers le sang. (Noguchi *et al.* 2017; Zhang et Pardridge 2001)

Dans une revue de la littérature rassemblant 17 cas d'administration IT de trastuzumab pour CLM dans le cancer du sein métastatique HER2 positif, il n'a été recensé aucun événement indésirable grave dans 88% des cas tout en observant une amélioration clinique significative dans 69% des cas. (Zagouri *et al.* 2013) Cependant, la pharmacocinétique (PK) des AcMo administrés par voie IT chez l'Homme a été très peu décrite et les posologies de trastuzumab dans ces cas cliniques étaient décidées de manière empirique. Seule une étude a décrit la pharmacocinétique d'un AcMo (le rituximab, un anti-CD20) administré par voie IT chez l'homme. (Kadoch *et al.* 2014) Il est donc indispensable d'analyser la PK du trastuzumab administré par voie IT dans le cadre d'une étude clinique prospective pour que la prise en charge de ces patients soit optimale.

2. Principes de modélisation pharmacocinétique

a. Pharmacocinétique compartimentale et approche de population

La pharmacocinétique d'un médicament correspond à la relation existant entre la dose administrée et les concentrations obtenues dans l'organisme au cours du temps. Elle est généralement résumée en différents processus : absorption, distribution et élimination (par le métabolisme ou l'excrétion sous forme inchangée). L'étude de la PK permet notamment d'optimiser l'exposition des patients au traitement et d'identifier et maîtriser des facteurs de variabilité interindividuelle (âge, poids, fonction rénale...).

A l'aide de modèles mathématiques reposant sur des systèmes d'équations différentielles, les concentrations peuvent être décrites au cours du temps : ces équations reposent sur des paramètres permettant la quantification de différents phénomènes (volume de distribution, clairance d'élimination...) ou la description de différents mécanismes (diffusion tissulaire, liaison à une protéine...).

L'approche compartimentale consiste à représenter les concentrations au cours du temps dans différents compartiments en interaction ; un compartiment correspondant à un espace virtuel ou physiologique dans lequel les molécules se distribuent de manière instantanée et homogène. Le choix du nombre de compartiments et leur enchaînement repose sur différents principes :

- Identifiabilité *a priori* : la structure du modèle permet d'obtenir une estimation unique des paramètres ;
- Identifiabilité *a posteriori* : les mesures disponibles permettent d'obtenir une estimation précise des paramètres ;
- Principe de parcimonie : le modèle doit être le plus simple possible tout en décrivant le plus justement possible les concentrations observées.

L'approche de population consiste à analyser l'ensemble des concentrations mesurées au sein de la population et non pas pour chaque individu : un profil PK global est ainsi obtenu, comprenant une valeur moyenne pour chaque paramètre (également appelée « valeur typique » : θ_{TV}) et un écart-type (ω), décrivant la variabilité interindividuelle. Chaque paramètre suit une loi statistique dans la population. Cette approche présente l'avantage de s'adapter aussi bien aux données riches et uniformes qu'aux données éparées et hétérogènes, et donc notamment aux études au cours desquelles des patients sont susceptibles d'être perdus de vue ou de présenter aléatoirement des données manquantes. La **figure 4** schématise cette approche.

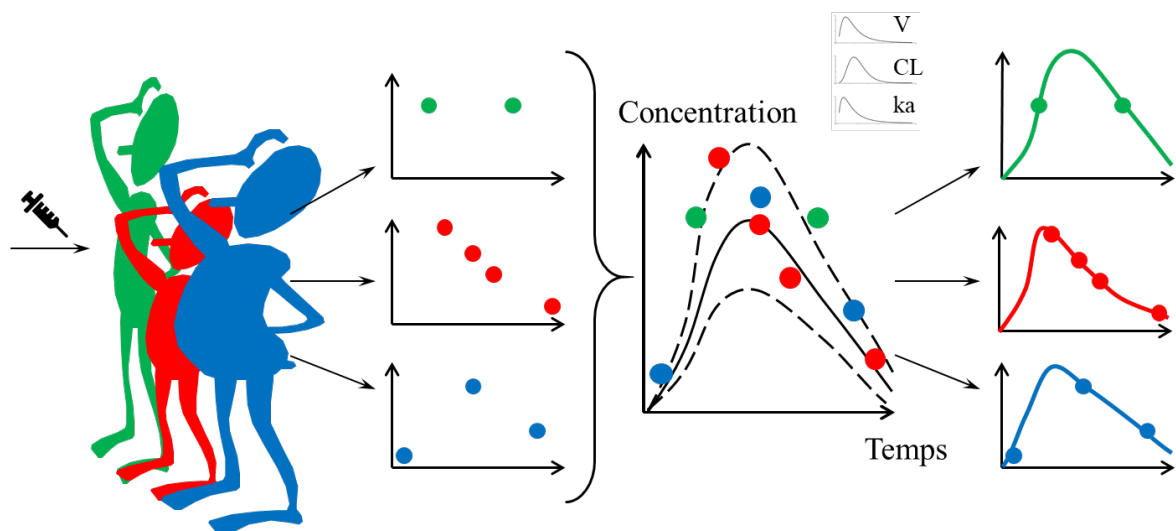


Figure 4 : Représentation schématique de l'approche de population

L'ensemble des données individuelles est pris en compte afin d'établir un profil global et étudier la distribution des différents paramètres pharmacocinétiques, avant de déterminer les valeurs individuelles

La variabilité interindividuelle des paramètres PK est généralement décrite par un modèle exponentiel (équivalent à une distribution log-normale) : $\theta_i = \theta_{TV} \times \exp(\eta_i)$, où θ_i est l'estimation du paramètre individuel et η_i est l'effet aléatoire du $i^{\text{ème}}$ patient. Les valeurs de η_i sont distribuées selon une loi normale de moyenne 0 et d'écart-type ω . Estimer la distribution d'un paramètre nécessite des informations suffisamment riches : si chaque patient présente une valeur individuelle trop proche de la valeur typique, la variance de ces valeurs sera significativement plus faible que ω^2 , qui sera mal estimé. Le rétrécissement de cette distribution (*shrinkage*) correspond ainsi à $1 - \frac{\text{Var}(\hat{\eta})}{\omega^2}$. En cas de *shrinkage* trop important (supérieur à 40 %), il doit être envisagé de supprimer la variabilité interindividuelle ($\omega = 0$), si cela ne dégrade pas les performances du modèle.

La précision des estimations repose sur la détermination des erreurs-types et des erreurs-types relatives (r.s.e.) (erreur-type/moyenne) de chaque paramètre. Plus sa r.s.e. est élevée, moins le paramètre sera estimé de façon fiable et le modèle ne sera donc pas identifiable *a posteriori*. Le paramètre sera considéré comme fiable pour une r.s.e. inférieure à 40 %.

L'approche de population permet en outre d'évaluer l'influence d'une covariable (qualitative ou quantitative) sur un paramètre PK, afin d'expliquer une partie de la variabilité interindividuelle observée.

L'écart entre les valeurs observées et celles estimées par le modèle correspond à l'effet aléatoire résiduel ε_{ij} , pour la $j^{\text{ème}}$ mesure du $i^{\text{ème}}$ individu. Sa distribution doit suivre une loi normale centrée sur zéro, d'écart-type σ . Le modèle d'erreur résiduel peut estimer une composante additive, proportionnelle aux données ou mixte.

b. Elimination médiée par la cible

Les modèles TMDD « *target-mediated drug disposition* » décrivent la PK d'un médicament en prenant en compte leur liaison à leur cible quand celle-ci influence son absorption, sa distribution ou son élimination. Dans le cas des anticorps monoclonaux, la liaison antigène-anticorps est à l'origine d'un complexe immunitaire éliminé généralement plus rapidement que l'anticorps sous forme libre.

Le modèle TMDD complet estimera différents paramètres :

- La constante de production de la cible, notée k_{in} ;
- La constante d'élimination de la cible (non liée au médicament), notée k_{out} ;
- La constante d'association du complexe cible-médicament, notée k_{on} ;
- La constante de dissociation du complexe, notée k_{off} ;
- La constante d'élimination du complexe, notée k_{deg} .

L'estimation de l'ensemble de ces paramètres nécessite des données riches et de préférence une mesure simultanée du médicament, de sa cible et des complexes formés. Différentes approximations du modèle TMDD existent, parmi lesquelles l'approximation de liaison irréversible (**Figure 5**). Deux hypothèses sont alors établies afin de ne plus estimer k_{on} et k_{off} : on suppose que le complexe ne peut se dissocier et que son élimination est simultanée à sa formation. Ce modèle a déjà été utilisé pour décrire la PK du rituximab. (Ternant *et al.* 2019; Tout *et al.* 2017)

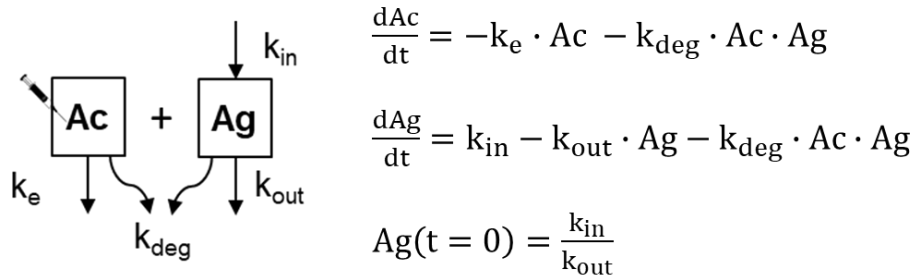


Figure 5 : Représentation schématique d'un modèle TMDD après approximation de liaison irréversible

Ac : quantité d'anticorps, Ag : quantité d'antigène, k_e : constante d'élimination de l'anticorps, k_{in} : constante de production de l'antigène, k_{out} : constante d'élimination de l'antigène, k_{deg} : constante d'élimination du complexe antigène-anticorps

La PK du médicament est susceptible de différer de celle de sa cible : une des approches possibles pour décrire ce phénomène consiste à représenter la production de la cible par un ensemble de compartiments concaténées dits « de transit » : un temps moyen de transit (MTT, *mean transit time*) correspondant au temps écoulés entre la production de la cible et sa mise à disposition de l'anticorps peut ainsi être estimé. Le MTT peut être calculé en divisant le nombre de compartiments de transit par la constante de transit. Le modèle dit « de Friberg » consiste à estimer en outre un rétrocontrôle négatif sur la constante de production, permettant de décrire certaines variations de la cible observées au cours du temps (**Figure 6**). Ce dernier modèle a été initialement utilisé pour décrire la myélotoxicité de médicaments cytotoxiques, les différents

compartiments de transit correspondant aux étapes de maturations des cellules dans la moelle osseuse avant leur passage dans la circulation générale. (Friberg *et al.* 2002)

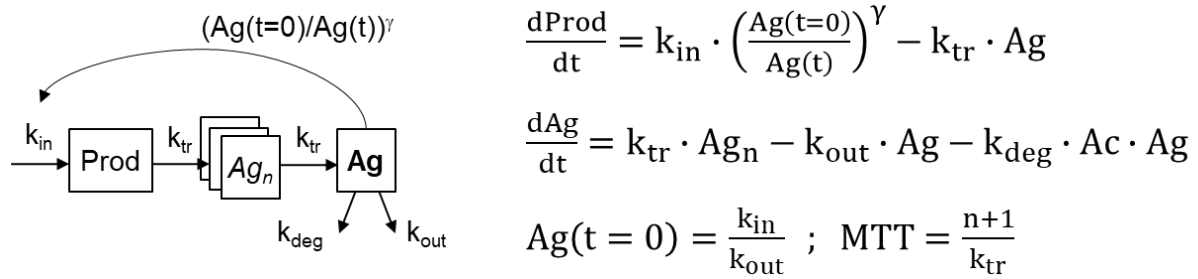


Figure 6 : Représentation schématique du modèle de Friberg adapté à la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux

Ag : quantité d'antigène, *Ag_n* : quantité d'antigène dans le *n*^{ième} compartiment de transit, *Prod* : quantité d'antigène dans le compartiment de production, *k_{in}* : constante de production de l'antigène, *k_{tr}* : constante de transit de l'antigène, *k_{deg}* : constante d'élimination du complexe antigène-anticorps, *k_{out}* : constante d'élimination de l'antigène, *MTT* : temps de transit moyen, *γ* : constante de modulation du rétrocontrôle

c. Validation d'un modèle pharmacocinétique

La validation d'un modèle pharmacocinétique repose sur une analyse graphique et statistique. Les principaux graphiques à analyser sont les suivants :

- Observations vs prédictions : l'ensemble des prédictions individuelles est comparé à l'ensemble des observations. Les données doivent être le plus proche possible de la droite d'équivalence $x = y$ et réparties uniformément de part et d'autre ;
- Profils individuels : pour chaque patient, le graphique des concentrations prédites au cours du temps est analysé pour vérifier la qualité de l'ajustement des prédictions aux concentrations observées ;
- Distribution des paramètres dans la population : vérification de la valeur du *shrinkage* ;
- Distribution des résidus : vérification de la normalité des résidus individuels pondérés (IWRES, *individual weighted residuals*) et de l'absence de tendance au cours du temps ou selon la valeur des prédictions individuelles ;
- Vérifications visuelles prédictives (VPC, *visual predictive checks*) : après simulations d'individus à partir du modèle, les intervalles de prédiction des 1^e, 5^e et 9^e déciles des simulations au cours du temps sont estimés et comparés aux observations. Le modèle est robuste si les observations et les simulations sont cohérentes. Toutefois,

l'interprétation des VPC est sujette à précautions en cas de schémas posologiques fortement hétérogènes (nécessité d'ajuster les observations) ;

- Distribution normalisée des résidus (NPDE, *normalized prediction distribution errors*) : après un grand nombre de simulations, la distribution des résidus doit se rapprocher d'une loi normale centrée réduite.

L'analyse statistique permet d'évaluer de façon objective les performances du modèle et de facilement comparer différentes options afin de retenir la plus performante en terme d'estimation des observations et de parcimonie des calculs. Les principales données analysées sont les suivantes :

- La fonction objective, correspondant à $-2 \cdot \ln(\text{vraisemblance})$ ($-2LL$, $-2 \log \text{likelihood}$). La vraisemblance correspond à la probabilité globale d'ajustement du modèle aux données (produit de l'ensemble des probabilités individuelles), elle varie donc de 0 à 1 et doit être la plus élevée possible : par conséquent la $-2LL$ varie de 0 à l'infini et doit être la plus faible possible. Le test de rapport de vraisemblance permet de comparer des modèles emboîtés sur un même jeu de données : la différence de $-2LL$ suit une loi du χ^2 à p degrés de libertés, p étant la différence du nombre de paramètres estimés entre les deux modèles.
- Le critère d'information d'Akaike (AIC) : ce paramètre permet la comparaison de différents modèles appliqués à un même jeu de données. Il doit être minimisé pour maximiser la vraisemblance du modèle tout en respectant le principe de parcimonie. Il correspond à $-2LL + 2 \cdot p$, où p correspond au nombre de paramètres estimés.
- La matrice d'information de Fisher, comportant l'ensemble des variances et covariances des différents paramètres : des paramètres trop fortement corrélés nécessiteront de revoir la rédaction du modèle et occasionneront des estimations peu précises des paramètres (r.s.e. élevées).

Objectifs

Notre objectif principal était de décrire le devenir du trastuzumab après son injection IT chez des patientes atteintes de CLM de cancer du sein HER2 positif par modélisation PK de population afin d'étudier le passage de la barrière hémato-méningée et de rechercher des facteurs individuels de variabilité.

L'objectif secondaire était d'étudier l'exposition des patientes au trastuzumab par détermination : (i) de l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps dans le sérum et le LCS entre deux administrations, (ii) du temps passé au-dessus d'une valeur seuil dans le LCS, ainsi que leur relation avec la progression de la maladie (réponse cytologique et survie sans progression neurologique).

Matériel et Méthodes

1. Description de l'essai clinique

L'étude clinique HIT (HERCEPTIN IntraThécal) est une étude prospective, ouverte, multicentrique, de phases I-II, de l'administration IT de trastuzumab chez des femmes atteintes de CLM de cancer du sein HER2 positif, avec escalade de dose puis recherche d'efficacité à la dose recommandée atteinte. Le protocole de l'essai a été approuvé par un comité d'éthique et enregistré sur *ClinicalTrials.gov* (numéro EudraCT NCT01373710). L'investigateur principal est le Dr Maya Gutierrez (Centre René Huguenin, Saint-Cloud) et le promoteur est l'Institut Curie (Paris). Les résultats de la phase I (hors analyse PK) ont été publiés. (Bonneau *et al.* 2018) Les patientes étaient éligibles au recrutement dans l'essai si elles étaient atteintes d'un adénocarcinome mammaire infiltrant métastatique HER2 positif avec un diagnostic de CLM dans les 28 jours précédant l'inclusion. Elles devaient être majeures avec une espérance de vie estimée à au moins 2 mois. Par ailleurs, un délai d'au moins 3 semaines devait s'être écoulé depuis la dernière séance de radiothérapie ou depuis la chirurgie en cas de métastases cérébrales associées, évènements susceptibles de modifier l'intégrité de la barrière hémato-méningée. Elles devaient également avoir une fonction cardiaque satisfaisante et ne pas être atteintes de pathologie cérébro-vasculaire sévère préexistante ou de trouble de la circulation du LCS.

Chaque semaine, pendant 8 semaines, les patientes ont reçu par voie intrathécale une dose de trastuzumab associée à 25 mg d'hémisuccinate d'hydrocortisone. Cette administration pouvait se faire après ponction lombaire ou au travers d'un dispositif médical implanté au niveau lombaire (chambre implantée intrathécale) ou ventriculaire (réservoir d'Ommaya).

En cas d'administration IV de trastuzumab concomitante (6 mg/kg/3 semaines), celle-ci avait lieu après l'administration IT. Les paliers de dose testés au cours de la phase I étaient de 30, 60, 100 et 150 mg et la dose de 150 mg a été retenue pour la phase II devant son profil de sécurité satisfaisant. (Bonneau *et al.* 2018)

Avant chaque administration IT, des prélèvements de LCS et de sérum ont été réalisés afin d'y doser les concentrations résiduelles en trastuzumab ainsi que différents marqueurs biologiques.

Lors de chaque visite, la présence de traitements concomitants, la cytologie du LCS (présence ou absence de cellules tumorales), la glycorachie, l'albuminorachie ou la protéinorachie (selon les centres) et les valeurs de différents paramètres biologiques sanguins réalisés en routine

(hémogramme, bilan rénal et hépatique) ont été recueillies. La réponse neurologique était évaluée à l'aide d'une grille standardisée et la rechute était définie comme l'apparition ou l'aggravation de symptômes perturbant les activités quotidiennes et persistant plus d'une semaine.

Les concentrations de trastuzumab ont été mesurées par une technique immuno-enzymatique (ELISA) indirecte, développée et validée par le laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie du Centre Hospitalier Universitaire de Tours. Celle-ci consiste à déposer du HER2 recombinant dans les puits d'une plaque d'incubation, avant d'y ajouter les échantillons à doser. Après incubation et lavage, un anticorps anti-IgG couplé à une peroxydase est déposé et se fixe au trastuzumab lié au HER2. L'ajout d'un substrat chromogène permet alors d'obtenir par spectrophotométrie d'absorbance moléculaire un signal proportionnel à la concentration en médicament. Pour cette méthode, les limites inférieures de quantification (LLOQ) du trastuzumab sont de 0,144 mg/L dans le LCS et 0,241 mg/L dans le sérum.

En cas d'administration par un dispositif médical implantable, le prélèvement de LCS se faisait au travers de celui-ci, avec un risque de pollution de l'échantillon par du trastuzumab resté dans le dispositif. Les concentrations résiduelles dans le LCS supérieures à celles mesurées dans le sérum au même moment ont donc été exclues de l'analyse, sauf si les concentrations prédites par le modèle étaient proches de celles mesurées. Les concentrations sériques étaient considérées comme fiables et non soumises à ce biais.

2. Mise au point du modèle pharmacocinétique

L'analyse pharmacocinétique a été réalisée par approche compartimentale de population, en utilisant des modèles non linéaires à effets mixtes, à l'aide du logiciel MONOLIX® 2019R1 (Lixoft®). Les différents modèles testés étaient comparés à l'aide de l'AIC. L'ajout de covariables au modèle était validé par le test du rapport de vraisemblance.

a. *Modèle structural*

Le modèle structural a été décrit par un système d'équations différentielles ordinaires en considérant deux compartiments : le sérum et le LCS :

$$\frac{d\text{Sérum}}{dt} = -k_{12} + k_{21} \cdot \text{CSF} - k_{10} \cdot \text{Sérum} \qquad \text{Sérum}(t = 0) = 0$$

$$\frac{dLCS}{dt} = k_{12} - k_{21} \cdot LCS$$

$$LCS(t = 0) = 0$$

où k_{10} correspond à la constante d'élimination d'ordre 1, k_{12} et k_{21} les constantes de transfert du sérum vers le LCS et du LCS vers le sérum, respectivement. Des résultats préliminaires ont montré que les performances du modèle étaient de meilleure qualité avec une constante k_{12} d'ordre zéro plutôt que d'ordre 1 ($\Delta AIC = 23$). L'ajout de compartiments périphériques supplémentaires aboutissait à un défaut d'identifiabilité *a posteriori* du modèle.

Les concentrations mesurée dans le LCS n'étant pas compatibles avec une élimination linéaire, nous avons suspecté une influence de l'antigène cible (HER2) sur la PK du trastuzumab. Les concentrations de HER2 dans le LCS n'ayant pas été mesurées, l'antigène a été considéré comme une variable latente, à estimer. Afin de limiter le nombre de paramètres à estimer, l'hypothèse de liaison irréversible a été formulée :

$$\frac{dLCS}{dt} = k_{12} - k_{21} \cdot LCS - k_{deg} \cdot LCS \cdot L$$

$$\frac{dL}{dt} = k_{in} - k_{out} \times L - k_{deg} \cdot LCS \cdot L$$

$$L(t = 0) = \frac{k_{in}}{k_{out}}$$

où L est la quantité de cible latente (HER2), k_{in} et k_{out} les constantes de production et dégradation de L , respectivement, et k_{deg} la constante d'élimination d'ordre 2 du complexe trastuzumab- L .

Un délai dans la production et la maturation de la cible a été testé par l'ajout de compartiments de transit :

$$\frac{dL_0}{dt} = k_{in} - k_{tr} \cdot L_0$$

$$L_0(t = 0) = \frac{k_{in}}{k_{out}}$$

$$\frac{dL_n}{dt} = k_{tr} \cdot L_{n-1} - k_{out} \cdot L$$

$$L_n(t = 0) = \frac{k_{in}}{k_{out}}$$

$$\frac{dL}{dt} = k_{tr} \cdot L_{n-1} - k_{out} \cdot L - k_{deg} \cdot L \cdot LCS$$

$$L(t = 0) = \frac{k_{in}}{k_{out}}$$

où L_0 représente la cible latente dans le compartiment de production, L_n dans le $n^{ième}$ compartiment de transit et k_{tr} la constante de transit. Pour éviter une surparamétrisation du modèle, k_{tr} et k_{out} étaient considérées comme égales.

L'ajout d'un rétrocontrôle négatif sur la production de la cible latente a ensuite été testé :

$$K_{in}(t) = k_{in} \cdot \frac{L(t=0)^Y}{L(t)}$$

La constante γ n'était pas identifiable et a été fixée à 1, après analyse de sensibilité. La **figure 7** schématise le modèle final.

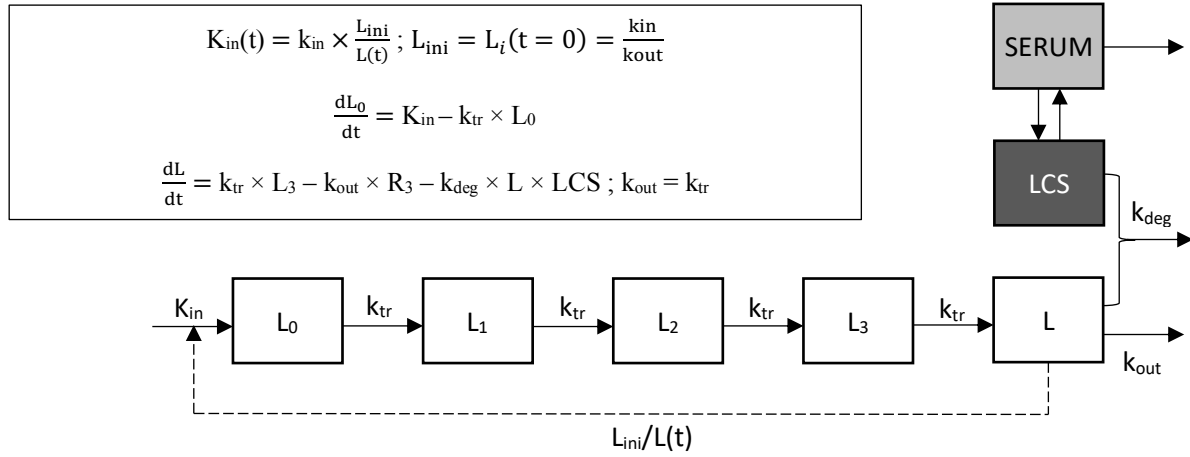


Figure 7 : Représentation schématique du modèle bicompartimental avec élimination médiée par la cible (« L »), trois compartiments de transit et un rétrocontrôle négatif (modèle de Friberg).

Le modèle pharmacocinétique comportant une élimination non-linéaire, le concept de demi-vie, c'est-à-dire le temps nécessaire pour diminuer les concentrations de moitié d'un compartiment, ne peut s'appliquer. Pour éviter cet écueil, les temps moyens de résidence (MRT, *Mean Residence Time*) du trastuzumab dans le sérum et le LCS ont été déterminés. Le MRT correspond au temps moyen passé par le médicament dans un compartiment donné. Il est égal au rapport entre l'aire sous le moment de la courbe de concentrations au cours du temps (AUMC) et l'aire sous la courbe des concentrations (AUC).

$$MRT = \frac{\int_0^{\infty} \text{Concentration} \cdot \text{temps} \, \delta \text{temps}}{\int_0^{\infty} \text{Concentration} \, \delta \text{temps}} = \frac{AUMC}{AUC}$$

Afin de comparer les patientes entre elles, indépendamment des posologies IT et IV, les valeurs de MRT ont été obtenues après simulation des profils PK pour une administration IT unique de 150 mg de trastuzumab, à partir des valeurs individuelles des paramètres PK précédemment calculées.

b. Modèle d'erreur résiduelle

L'erreur résiduelle correspond à la part d'aléatoire entre les données observées et les données prédites, que n'explique pas les modèles structural et interindividuel. Les résidus doivent donc être indépendants du temps et des concentrations modélisées.

Un modèle d'erreur mixte (additif et proportionnel) a été initialement utilisé :

$$Y_{Obs,ij} = Y_{Pred,ij} + \sqrt{a^2 + (b * Y_{Pred,ij})^2} \times \varepsilon$$
, où $Y_{Obs,ij}$ et $Y_{Pred,ij}$ sont les concentrations observées et prédites pour le $i^{ème}$ patient au $j^{ème}$ temps et a et b sont respectivement les composantes additive et proportionnelle du modèle d'erreur. Celles-ci suivent une loi normale centrée d'écarts-types σ_{add} et σ_{prop} . Si une de ces valeurs convergeait vers 0 et était mal estimée, un modèle d'erreur strictement additif ou proportionnel était retenu.

c. Modèle de covariables

Une fois le modèle sélectionné, nous avons recherché l'influence de facteurs individuels (covariables) expliquant la variabilité interindividuelle des paramètres PK.

La présence d'un réservoir d'Ommaya était considéré comme une covariable catégorielle : son influence sur un paramètre donné était implémentée comme suit : $\ln(\theta_{TV}) = \ln(\theta_0) + \beta_1$, où θ_0 correspond à la valeur de θ chez les patients de la catégorie de référence (absence de dispositif) et β_1 un paramètre modifiant la valeur typique pour l'autre catégorie. Les covariables continues (COV) étaient le poids et la glycorrhachie. Elles étaient centrées sur la médiane et implémentées comme suit : $\theta_{TV} = \theta_0 \cdot (COV/med(COV))^{\beta_{COV}}$, où θ_0 est la valeur pour un sujet médian et β_{COV} un coefficient d'allométrie.

3. Evaluation de l'exposition au traitement et de la réponse clinico-biologique

a. Evaluation de l'exposition au traitement

L'exposition au traitement était estimée par le calcul des AUC dans le sérum et le LCS la première et dernière semaine de traitement. Le temps écoulé sur 7 et 56 jours avec des concentrations dans le LCS supérieures à 10 mg/L et 60 mg/L a également été calculé. Le

premier seuil était la concentration ciblée dans les études *in vitro* au cours du développement préclinique du trastuzumab (Leyland-Jones 2001) et le second correspondait aux concentrations sériques retrouvées dans un essai clinique de phase II chez les patientes répondant au trastuzumab IV (Baselga 2001).

b. Etude de l'efficacité du traitement

Les marqueurs d'exposition au traitement étaient confrontés aux données de survie et de réponse cytologique.

La survie sans progression (PFS, *progression-free survival*) correspondait au temps écoulé de l'inclusion au décès ou jusqu'à progression neurologique. Afin de limiter un éventuel biais de confusion avec les thérapeutiques administrées à distance de l'étude, celle-ci n'était évaluée qu'au cours de la durée de traitement par trastuzumab IT (maintenu si correctement toléré une fois l'étude PK terminée).

La disparition des cellules tumorales dans le LCS a en outre été utilisé comme biomarqueur de réponse au traitement. La cytologie du LCS manquant de sensibilité (Grossman et Krabak 1999), le traitement était considéré comme efficace si aucune cellule tumorale n'était détectée sur les deux derniers prélèvements de LCS.

c. Analyse statistique

Compte tenu du faible nombre de patientes, les données quantitatives décrivant la population sont représentées par la médiane et l'étendue des valeurs.

Les effets de l'exposition au trastuzumab sur la PFS ont été évalués à l'aide d'un modèle de Cox pour chaque marqueur d'exposition et un test de rapport de vraisemblances. Les marqueurs d'exposition au trastuzumab étaient comparés entre les patientes répondeuses ou non répondeuses sur la cytologie par le test non paramétrique de Mann-Whitney et Wilcoxon. Afin de limiter l'inflation du risque α , une correction de Bonferroni a été appliquée et une différence était considérée comme significative pour une *p-value* inférieure à 0.63 % (correspondant à 8 tests avec un risque α global de 5 %).

Résultats

1. Caractéristiques de la population étudiée

Dans cette étude, 21 patientes ont été recrutées : pour les patientes de la phase I, 4 patientes ont été incluses pour chaque palier de dose : 30, 60, 100 et 150 mg puis les patientes de la phase II (n = 5 pour l'étude PK) ont toutes reçu la dose de 150 mg. Le **tableau I** présente les caractéristiques des patientes, des injections de trastuzumab et des prélèvements.

	Palier 1 (30 mg)	Palier 2 (60 mg)	Palier 3 (100 mg)	Palier 4 (150 mg)	Total
Patientes incluses	4 (19 %)	4 (19 %)	4 (19 %)	9 (43 %)	21
Age (années)	49,5 (41 – 64)	60 (33 – 66)	53 (24 – 65)	51 (34 – 61)	52 (24 – 66)
Poids (kg)	62,5 (43 – 90)	59,5 (57 – 70)	71 (38 – 86)	65 (56 – 90)	65 (38 – 90)
Administration IV concomitante	0	4	4	5	13 (62 %)
Mode d'administration IT :					
Ponction lombaire	1	3	2	1	7 (33 %)
Chambre implantée IT	2	2	2	5	11 (52 %)
Réservoir d'Ommaya	2	1	2	4	9 (43 %)
Arrêts précoces de l'étude	1	2	1	3	7 (33 %)
Jours écoulés avant l'arrêt (j)	35	15 ; 49	22	42 ; 48 ; 54	
Survie sans progression sous trastuzumab IT (semaines)	34; 9; 7 [†] ; 5	3 [†] ; 5 [†] ; 6; 20	4; 9; 18; 61	6 [†] ; 6 [†] ; 7; 8; 9 [†] ; 9; 18; 26; 33	
Prélèvements de LCS :	29 (19%)	22 (15%)	29 (19%)	70 (47%)	150
Concentrations exclues	5	0	0	23	28 (16%)
Concentrations < LLOQ*	10/24	6/22	1/29	3/47	20/122 (16%)
Prélèvements de sérum :	29	25	29	72	155
Concentrations exclues	2	0	1	2	5 (3,2%)
Concentrations < LLOQ*	1/27	0/25	0/28	0/70	1/150 (0,7%)
Concentrations à J7 (mg/L)* :					
LCS	1,8 (<0,14 – 4,5)	<0,14 (<0,14 – 0,2)	13 (1,2 – 46)	27 (<0,14 – 59)	2,0 (< 0,14 – 59)
Sérum	3,3 (0,7 – 7,7)	91 (12 – 146)	190 (46 – 314)	56 (1,3 – 202)	56 (0,7 – 314)
Concentrations à J56 (mg/L)* :					
LCS	0,2 (<0,14 – 3,3)	0,8 (<0,14 – 1,5)	0,5 (0,3 – 0,8)	23 (0,15 – 91)	0,54 (<0,14 – 91)
Sérum	3,4 (1,7 – 10)	127 (112 – 141)	147 (94 – 547)	116 (35 – 271)	103 (1,7 – 547)

Tableau I : Données recueillies chez les patientes incluses, stratifiées par palier de dose. Nombre et proportions pour les données discrètes ou qualitatives, ou médiane et valeurs extrêmes pour les données continues ; [†] : progression neurologique ou décès ; * : parmi les concentrations incluses dans l'analyse pharmacocinétique ; LLOQ : limite inférieure de quantification.

Le nombre élevé de concentrations mesurées dans le LCS qui ont été exclues de l'analyse pour le palier 4 s'explique par des prélèvements de LCS au travers d'une chambre implantée IT probablement mal rincée après l'administration précédente, avec plusieurs concentrations extrêmement élevées par rapport à celles des autres jours (parfois > 3000 mg/L) et deux patientes n'avaient aucune valeur exploitable. Ce problème avait déjà été rapporté pour l'une d'entre elles, issue de la phase I. (Bonneau *et al.* 2018)

2. Analyse pharmacocinétique

Un total de 150 prélèvements de LCS et de sérum étaient disponible pour les 21 patientes. Les concentrations inférieures à la LLOQ à l'inclusion étaient considérées comme non informatives et exclues de l'étude. Les autres concentrations inférieures à la LLOQ étaient en revanche prises en compte, comme des données censurées pour lequel le logiciel d'analyse PK simulait une valeur inférieure à la LLOQ.

Différents modèles structuraux de complexité croissante ont été comparés (**Tableau II**). Un modèle bicompartimental avec une constante k_{12} d'ordre zéro, une élimination médiée par une cible latente et un rétrocontrôle négatif a été retenu. La **figure 7** représente schématiquement ce modèle.

#Modèle	Description du modèle	-2 LL	AIC
[1]	Deux compartiments (sérum, liquide cébrospinal)	1862	1882
[2]	Deux compartiments + transfert d'ordre zéro du sérum vers le liquide cébrospinal (LCS)	1839	1859
[3]	[2] + élimination du LCS d'ordre zéro	1839	1865
[4]	[2] + élimination du LCS d'ordre un	1811	1835
[5]	[2] + liaison irréversible à une cible latente	1808	1838
[6]	[2] + compartiments de transit produisant la cible latente	1803	1833
[7]	[2] + modèle de Friberg (rétrocontrôle négatif sur la production de la cible latente)	1739	1769

Tableau II : comparaison des principaux modèles testés à l'aide de la fonction objective (-2 log vraisemblance, -2 LL) et du critère d'information d'Akaike (AIC)

La description des concentrations mesurées dans le liquide ventriculaire ou spinal, par deux compartiments différents, diminuait l'AIC mais prédisait des concentrations aberrantes pour l'un ou l'autre des compartiments selon les patientes (données non présentées dans le tableau).

Parmi les covariables testées, aucune n'a permis d'expliquer la variabilité interindividuelle des paramètres du modèle.

Le modèle d'erreur retenu était une erreur proportionnelle pour les concentrations estimées dans le sérum et le LCS. Les différents paramètres pharmacocinétiques étaient estimés avec une précision satisfaisante (erreur-type relative inférieures à 40 %). Le **tableau III** recense les résultats de l'analyse pharmacocinétique de population.

	VALEUR	S.E.	R.S.E. (%)
<i>Effets fixes</i>			
V_1 (L)	3,25	0,55	16,89
CL (L.j ⁻¹)	0,139	0,012	8,94
V_2 (L)	0,644	0,101	15,75
k_{21} (j ⁻¹)	0,311	0,067	21,57
k_{12} (mg.j ⁻¹)	0,264	0,013	5,08
k_{in} (nmol.j ⁻¹)	11,88	3,20	26,90
k_{tr} (j ⁻¹)	0,325	0,109	33,38
k_{deg} (nmol ⁻¹ .j ⁻¹)	0,0116	0,0011	9,40
<i>Ecart-type des effets aléatoires</i>			
ω_{V1}	0,685	0,123	18,03
ω_{CL}	0,339	0,068	19,91
ω_{k21}	0,816	0,185	22,71
ω_{kin}	0,788	0,182	23,03
ω_{ktr}	1,081	0,285	26,39
<i>Paramètres du modèle d'erreur</i>			
$\sigma_{prop,sérum}$ (%)	20,94	1,47	7,02
$\sigma_{prop,LCS}$ (%)	54,09	5,29	9,79

Tableau III : Valeurs des paramètres estimés pour le modèle retenu

S.E. : erreur-type ; R.S.E. : erreur-type relative ; V_1 : volume apparent de distribution du compartiment sérique (1) ; CL : clairance d'élimination du compartiment sérique ; V_2 : volume apparent de distribution du compartiment cérébrospinal (2) ; k_{21} : constante de transfert du

LCS vers le sérum (ordre 1) ; k_{12} : constante de transfert du sérum vers le LCS (ordre 0) ; k_{in} : constante de production de la cible latente ; k_{tr} : constante de transit de la cible ; k_{deg} : constante de dégradation de la cible et du trastuzumab (ordre 2) ; σ_{prop} : constante d'erreur proportionnelle.

Les volumes de distribution apparents du trastuzumab étaient proches des volumes physiologiques ($V_1 = 3,25$ L, $V_2 = 0,644$ L, pour le sérum et le LCS, respectivement). Le transfert du sérum vers le LCS était constant et lent ($k_{12} = 0,264$ mg.j⁻¹) tandis que la demi-vie estimée du transfert du LCS vers le sérum était rapide ($\ln 2/k_{21} = 2,2$ jours).

Le MTT de la cible latente – correspondant au temps moyen mis par la cible pour être produite et mise à disposition de l'AcMo avant leur élimination – était de 12,3 jours.

Après simulation d'une administration IT unique de 150 mg, les MRT du trastuzumab ont été calculés pour l'ensemble des patients (**Figure 8**). Le MRT médian était de 3,8 jours dans le LCS et de 15,6 jours dans le sérum.

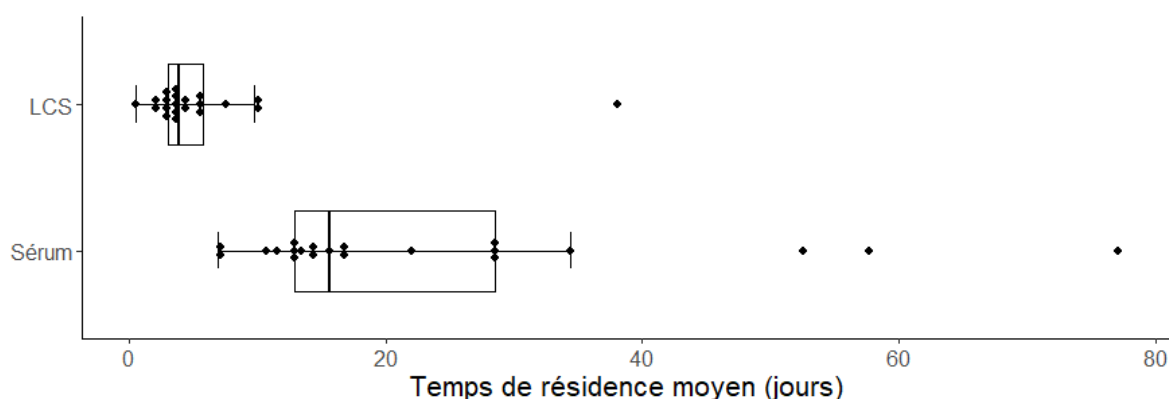


Figure 8 : Temps de résidence moyen dans le liquide cébrospinal et le sérum, calculés pour une dose unique de 150 mg intrathécale de trastuzumab.

L'estimation d'une cible latente nous a permis de bien mieux décrire les concentrations de trastuzumab dans le LCS : le paramètre d'erreur proportionnelle est ainsi passé de 74 % à 54 % grâce à ce procédé. L'inspection visuelle du graphique des concentrations individuelles observées vs concentrations prédites par le modèle montrait également une bien meilleure description des concentrations dans le LCS chez certaines patientes (**Figure 9**).

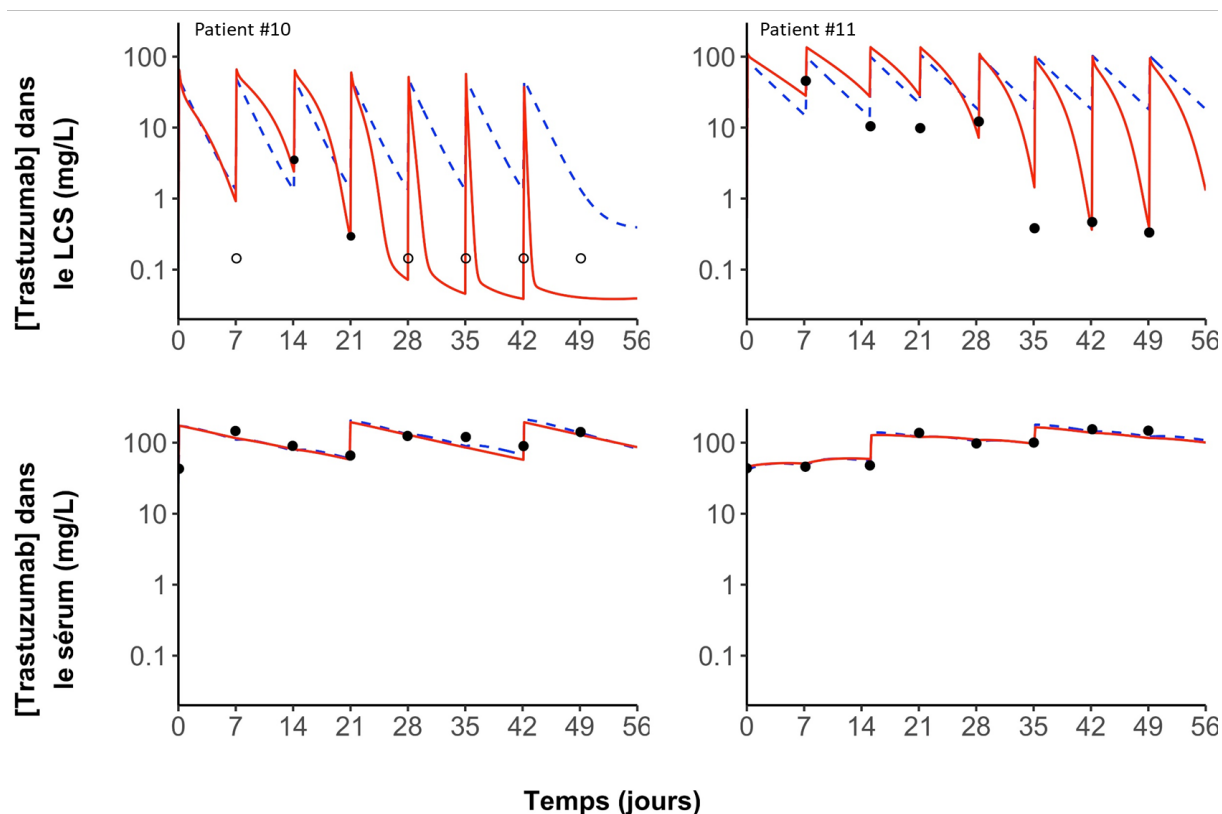


Figure 9 : Exemples de profils pharmacocinétiques présentant une forte non-linéarité des concentrations dans le liquide cébrospinal.

La patiente de gauche avait reçu des administrations hebdomadaires de 100 mg de trastuzumab par voie intrathécale et 246 mg par voie intraveineuse toutes les trois semaines ; celle de droite avait reçu des doses hebdomadaires intrathécales de 60 mg et des doses intraveineuses de 420 mg toutes les 3 semaines. Les profils obtenus par un modèle dépourvu de cible latente sont en pointillés bleus tandis que ceux obtenus par le modèle final sont en traits pleins rouges. Les points noirs représentent les concentrations mesurées ; les cercles vides représentent des valeurs retrouvées inférieures à la limite de quantification (0,144 mg/L dans le LCS).

A partir des valeurs typiques, le profil PK moyen a pu être simulé pour des administrations hebdomadaires aux posologies étudiées. La **figure 10** représente les résultats des simulations. On peut constater un important flux du LCS vers le sérum après administrations IT et une concentration faible et constante dans le LCS après administrations uniquement par voie IV.

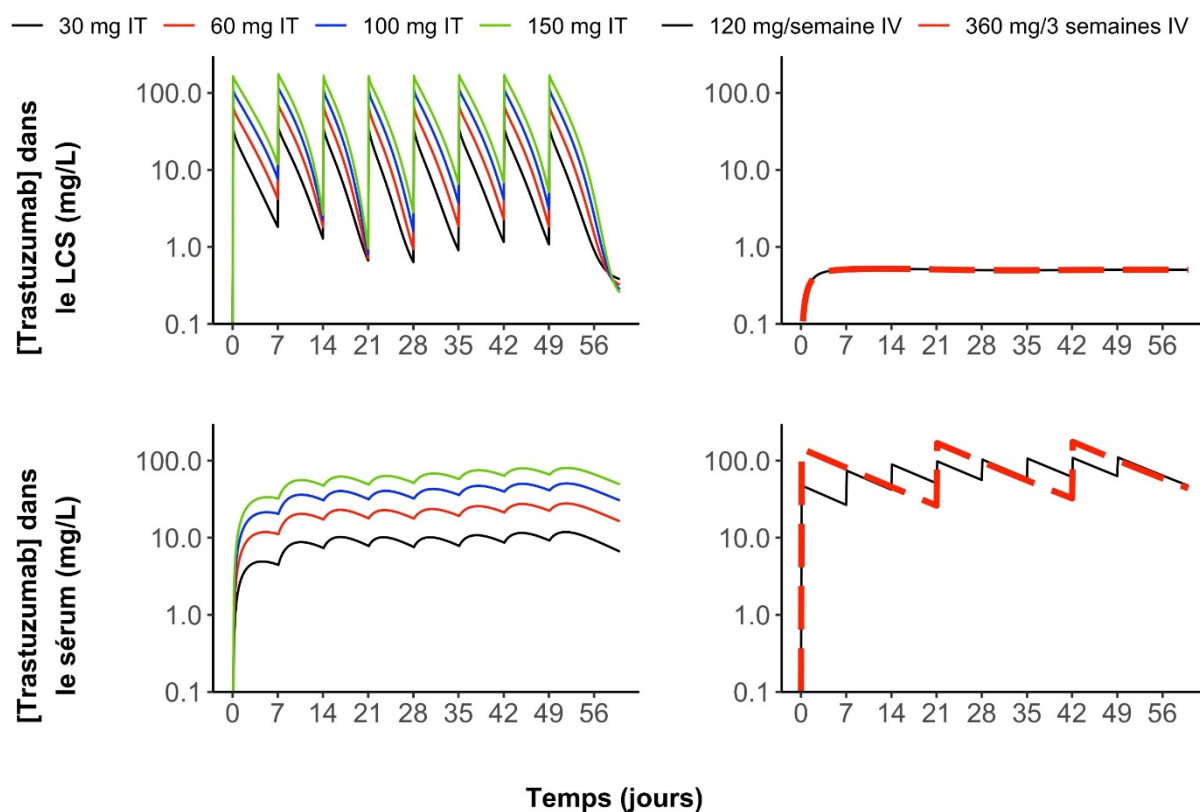


Figure 10 : Simulations des profils pharmacocinétiques typiques de trastuzumab
 Les concentrations dans le liquide cébrospinal (LCS) (haut) et le sérum (bas) ont été simulées à l'aide des valeurs typiques des paramètres pharmacocinétiques, pour des administrations intrathécales (IT) (gauche) ou intraveineuses (IV) (droite). Dans cette simulation les administrations hebdomadaires avaient lieu aux jours 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 et 49, et les administrations toutes les 3 semaines avaient lieu aux jours 0, 21 et 42.

Pour un individu moyen recevant des injections IT hebdomadaires de 150 mg de trastuzumab, les AUC cumulées sur 56 jours était de 4 399 mg.j/L et 4 007 mg.j/L dans le sérum et le LCS, respectivement. Après 8 injections hebdomadaires de 120 mg par voie IV (correspondant à la dose pour une patiente de 60 kg), les AUC cumulées sur 56 jours était de 31 mg.j/L et 4 613 mg.j/L dans le sérum et le LCS, respectivement. L'AUC dans le LCS ne pouvait augmenter malgré une intensification de la posologie par voie IV. Notre modèle prédit donc une exposition 142 fois plus importante dans le LCS après administrations IT par rapport à la voie IV

3. Validation interne du modèle pharmacocinétique

Les prédictions individuelles comparées aux observations étaient nettement meilleures dans le sérum que dans le LCS, mais moins de 10 % des valeurs étaient en dehors de l'intervalle de prédiction à 90 % (**figure 11**).

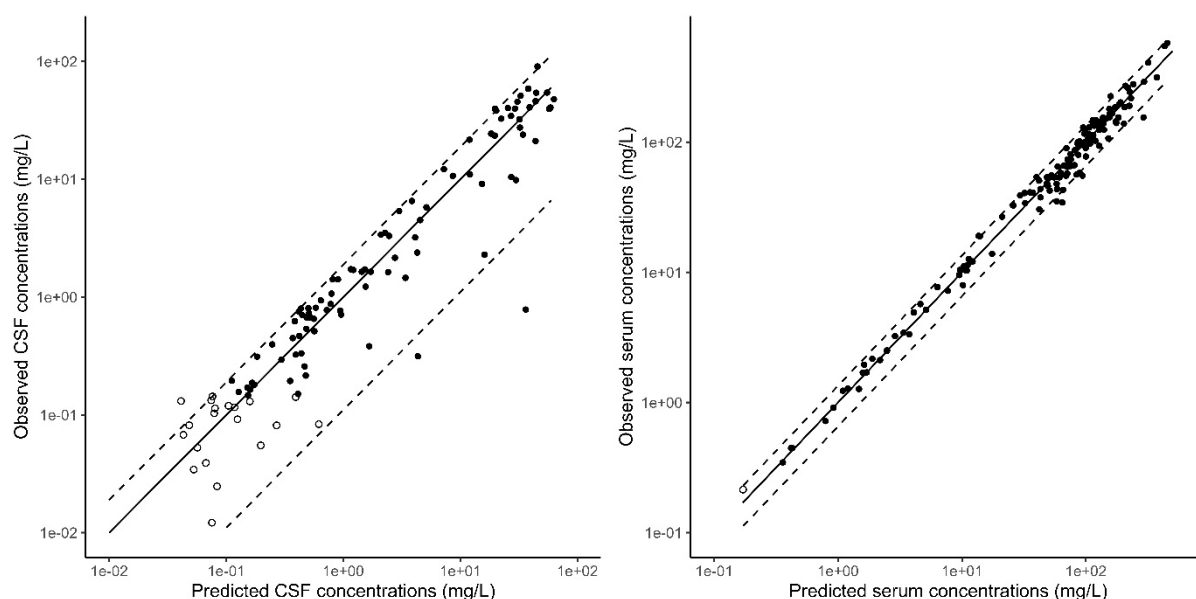


Figure 11 : Concentrations observées vs prédites dans le liquide cébrospinal (gauche) et le sérum (droite)

Les points non remplis correspondent aux données censurées, observées inférieures à la LLOQ et dont les valeurs sont simulées par le logiciel ; les pointillés représentent les bornes de l'intervalle de prédiction à 90 % du modèle d'erreur par rapport à la droite d'équivalence.

L'analyse des résidus révélait une absence de tendance et une distribution aléatoire pour les IWRES (**Figure 12**). Les NPDE ne suivaient pas une distribution strictement normale mais aucun biais n'a pu être mis en évidence (**Figure 13**) : la description des données par le modèle est valide mais sa généralisation est sujette à précaution.

Les valeurs de *shrinkage* étaient satisfaisantes pour les paramètres pour lesquels une variabilité interindividuelle était estimée, avec un maximum de 48 % pour la constante de transit k_{tr} . Le retrait de sa variabilité diminuait les performances du modèle, ce qui a justifié son maintien (il n'est toutefois pas possible de tester l'influence d'une éventuelle covariable sur ce paramètre).

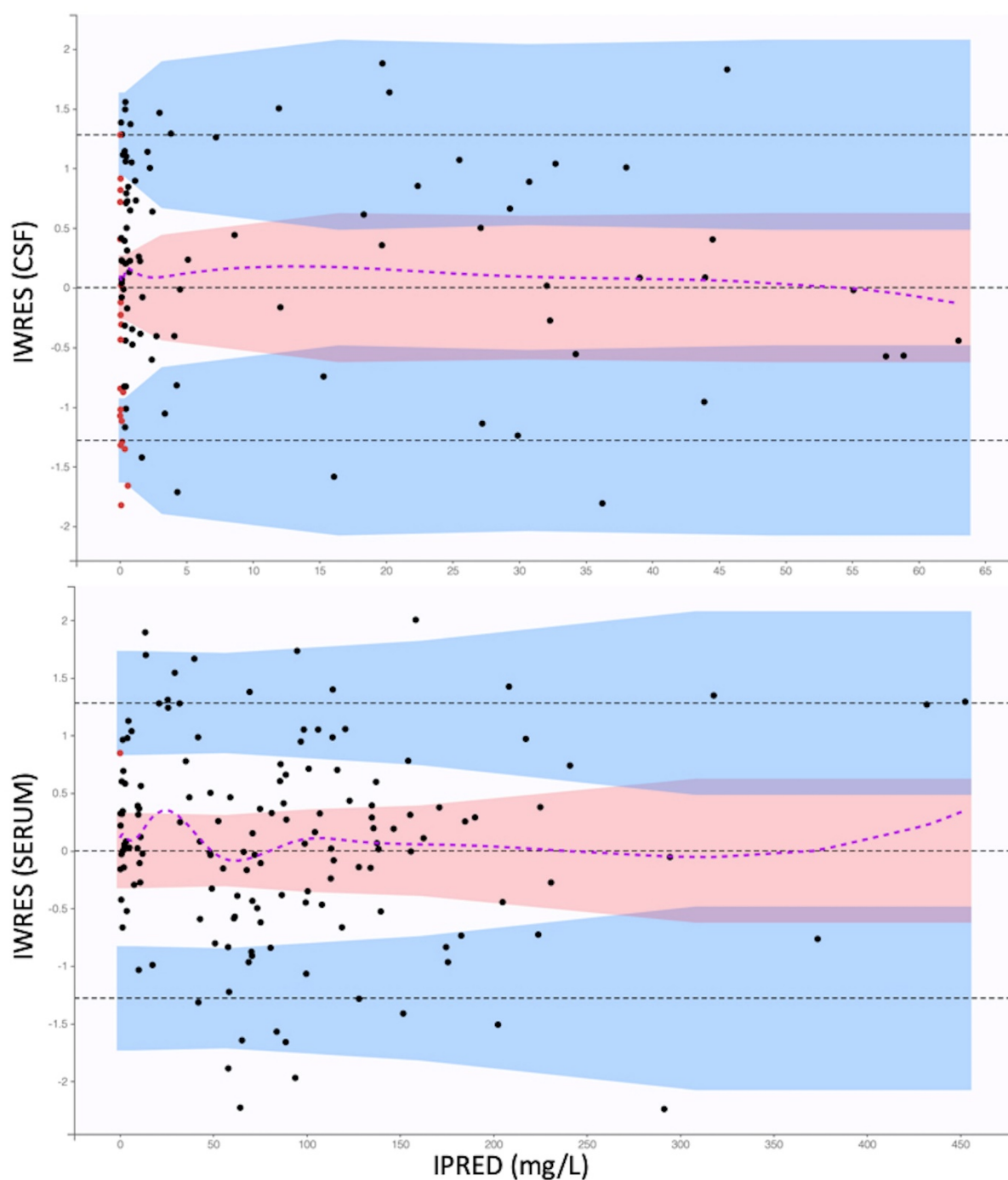


Figure 12 : Résidus individuels pondérés (IWRES) dans le sérum et le liquide cébrospinal (CSF) en fonction des concentrations prédites (IPRED)

Les points noirs représentent les résidus individuels, les points rouges correspondent aux résidus simulés d'une concentration observée inférieure à la limite de quantification, la zone bleue représente les intervalles de prédiction à 90 % des 1^e et 9^e déciles des IWRES, la zone rose celle de la médiane, les pointillés noirs les valeurs théoriques des déciles et de la médiane et les pointillés violets la courbe de tendance.

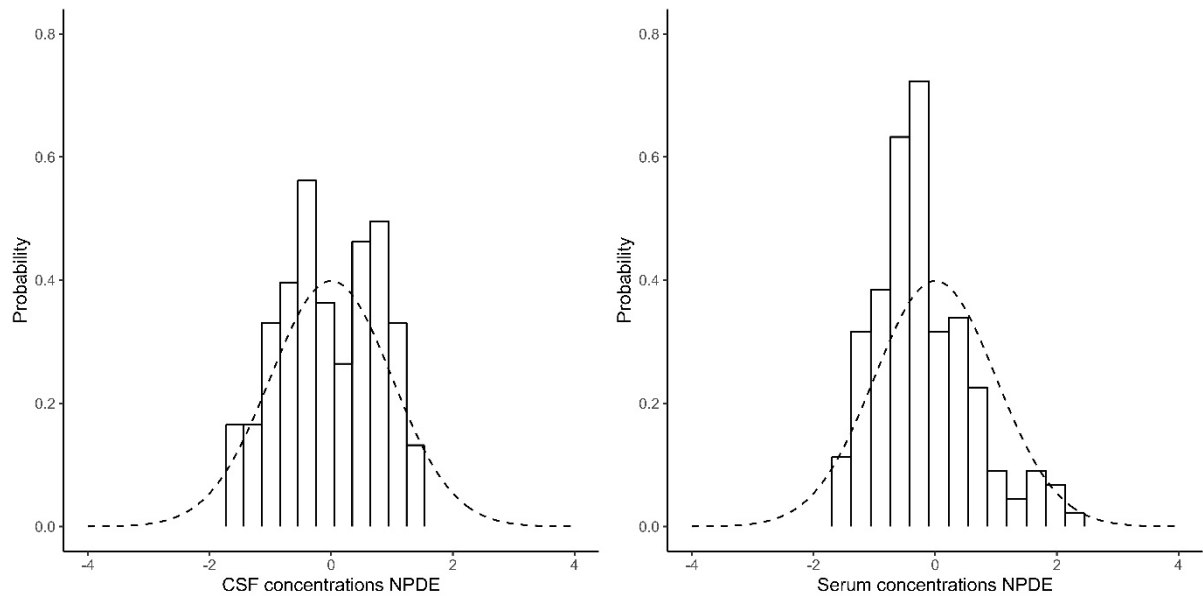


Figure 13 : Distribution normalisée des résidus (NPDE) dans le liquide cébrospinal (CSF) et le sérum

La ligne pointillée correspond à la distribution d'une loi normale centrée réduite $N(0,1)$

4. Etude de la relation exposition-effet

Les AUC moyennes la première semaine de traitement étaient de 425 mg.j/L et 511 mg.j/L dans le LCS et le sérum, respectivement. La huitième semaine, ces valeurs étaient de 381 mg.j/L et 817 mg.j/L, respectivement.

Sur 7 jours de traitement, le temps moyen passé dans le LCS au-dessus des seuils de 10 mg/L et 60 mg/L étaient de 5,2 jours et 2,8 jours, respectivement. Sur 56 jours de traitement, ces valeurs étaient de 36,3 jours et 19,9 jours, respectivement.

La **figure 14** représente la courbe de survie pour la PFS.

Une exposition plus importante au trastuzumab n'était pas corrélée à une PFS plus longue (**Tableau IV**).

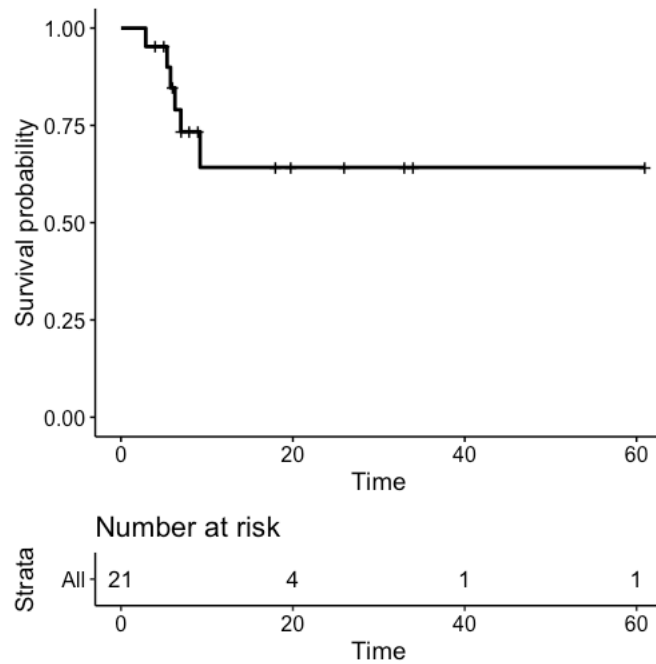


Figure 14 : Courbe de Kaplan-Meier de la survie sans progression neurologique sous trastuzumab intrathécal
Le temps écoulé est en semaines.

Exposition au trastuzumab	Réponse clinique PFS (hazard ratio / <i>p</i>)	Réponse cytologique		
		Cyto_neg (moy. / s)	Cyto_pos (moy. / s)	<i>p</i>
AUC LCS J0-J7 (mg.j/L)	0.9999 / 0.983	411.4 / 317.5	443.8 / 313.2	0.8078
AUC LCS J49-J56 (mg.j/L)	0.9997 / 0.838	345.7 / 328.1	468.3 / 429.1	0.9451
AUC Sérum J0-J7 (mg.j/L)	1.0001 / 0.899	527.4 / 679.4	489.5 / 411.9	0.6016
AUC Sérum J49-J56 (mg.j/L)	0.9989 / 0.177	827.7 / 732.8	789.6 / 591.8	0.8392
$T_{LCS} > 10$ mg/L sur 7 j (j)	1.4369 / 0.147	5.134 / 2.128	5.349 / 2.385	1
$T_{LCS} > 10$ mg/L sur 56 j (j)	1.0265 / 0.299	36.00 / 18.59	36.94 / 25.16	0.8392
$T_{LCS} > 60$ mg/L sur 7 j (j)	0.9629 / 0.829	2.713 / 2.488	2.917 / 2.212	0.7215
$T_{LCS} > 60$ mg/L sur 56 j (j)	0.9849 / 0.519	18.91 / 17.48	22.54 / 22.35	0.8313

Tableau IV : Comparaisons des valeurs d'exposition aux données de réponse clinique et biologique

PFS : survie sans progression neurologique ; Cyto_neg : patientes avec les 2 dernières cytologies du LCS négatives ; Cyto_pos : patientes avec au moins une cytologie positive sur les 2 derniers LCS ; *p* : *p*-value (test du rapport de vraisemblance pour la réponse clinique, test de Wilcoxon et Mann-Whitney pour la réponse cytologique) ; T_{LCS} : temps cumulé où les concentrations dans le LCS sont supérieures à une valeur seuil.

La présence de cellules tumorales dans au moins un des deux derniers prélèvements de LCS avait été retrouvée chez 9 patientes, dont 5 avaient arrêté précocement l'étude (résultats des examens cytologiques par semaine représentés sur la **figure 15**).

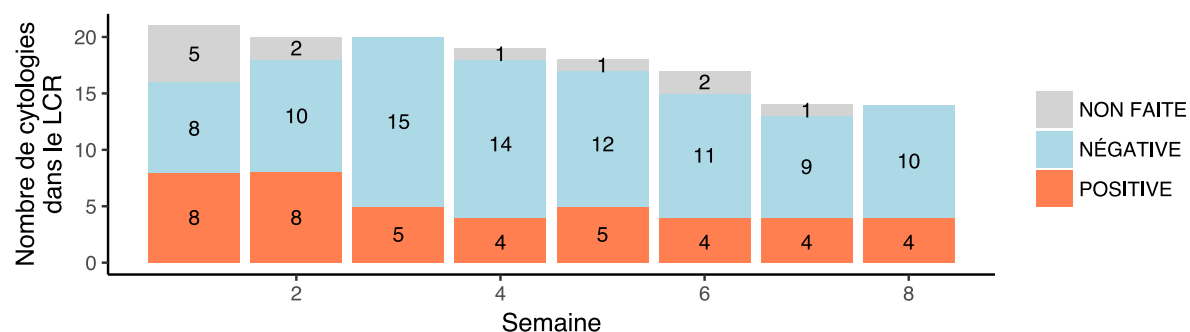


Figure 15 : Evolution des examens cytologiques dans le LCS au cours des semaines de traitement IT.

Aucune différence d'exposition n'a été mise en évidence entre les patientes répondeuses ou non répondeuses en termes de cytologie du LCS (**Tableau IV**).

Discussion

Il s'agit de la première étude décrivant la PK du trastuzumab après administration par voie IT chez l'Homme. Kadoch et collaborateurs avaient précédemment décrit la PK d'un autre AcMo (le rituximab) après administrations IT chez 7 patients atteints de lymphome cérébral. (Kadoch *et al.* 2014; Rubenstein *et al.* 2007)

Nous avons été en mesure de décrire la PK du trastuzumab à l'aide d'un modèle à deux compartiments comprenant un transfert du sérum vers le LCS d'ordre zéro, une liaison irréversible à une cible latente et un rétrocontrôle négatif (**Figure 7**). L'exposition au trastuzumab dans le LCS était 142 fois plus élevée après administration IT que IV. Nous avons estimé une demi-vie du LCS vers le sérum de 2,2 jours et une diffusion médiocre du sérum vers le LCS (0,264 mg/j, soit 1,8 mg en 7 jours). Notre modèle prédisait une élimination du trastuzumab au sein du LCS après liaison à sa cible, ce qui constitue un phénomène non linéaire surajouté : la demi-vie de 2,2 précédemment mentionnée sous-estime par conséquent l'élimination du LCS. Les MRT médians étaient de 3,8 jours et 15,6 jours dans le LCS et le sérum, respectivement. A la lumière de ces résultats, un schéma d'administration hebdomadaire par voie IT semble justifié pour maintenir des concentrations significatives de trastuzumab dans le LCS.

1. Hypothèses semi-mécanistiques

Nous avons obtenu une meilleure description du transfert du sérum vers le LCS avec une constante d'ordre zéro plutôt qu'avec une constante d'ordre 1, couramment utilisée en pharmacocinétique. Cela pourrait suggérer la présence d'un phénomène saturable (saturé aux concentrations étudiées), probablement médié par un transporteur ou un récepteur. Le principal récepteur impliqué dans la transcytose des AcMo est le récepteur néonatal à la portion Fc des IgG (FcRn), capable également de protéger les AcMo de leur dégradation lysosomale. (Junghans et Anderson 1996) Le FcRn est fortement exprimé par l'endothélium du système nerveux central et par les plexus choroïdes. Plutôt que de transporter les IgG vers le système nerveux central, le FcRn est probablement responsable de leur efflux vers la circulation générale (Roopenian et Akilesh 2007), bien que ce rôle reste à confirmer (Wang, Wang, et Balthasar 2008). Notre modèle ne nous permet pas d'étudier cette hypothèse. D'autres mécanismes et

récepteurs que le FcRn pourraient être impliqués dans le passage des AcMo entre le sang et le LCS. De plus, la PK des AcMo diffère probablement de manière importante entre des sujets sains et des patientes atteintes de CLM. Les paramètres de notre modèle ayant été obtenus uniquement à partir de concentrations résiduelles, des études complémentaires qui comprendraient notamment des mesures de concentrations à des temps plus proches de l'injection seraient nécessaires au développement d'un modèle plus mécanistique.

L'équipe de Kuchimanchi a récemment publié les données PK du cinpanemab, un anticorps anti- α synucléine, dans le LCS après administrations IV. (Kuchimanchi *et al.* 2020) Ils ont observé une augmentation modérée des concentrations dans le LCS avec des doses IV croissantes, de 3 à 45 mg/kg, tandis que les patientes de notre étude recevant le trastuzumab par voie IV bénéficiaient toutes d'une posologie de 6 mg/kg. Ceci pourrait expliquer pourquoi nous observions un phénomène saturable en apparence. Leurs résultats corroborent toutefois les nôtres dans la mesure où la dose la plus élevée (3 500 mg) ne permettait d'obtenir qu'une concentration de 10 mg/L dans le LCS.

Par ailleurs, nous n'avons pas été en mesure d'observer une variabilité interindividuelle sur la constante de transfert du sérum vers le LCS. Si davantage de mesures permettaient d'observer une distribution du paramètre (*shrinkage* suffisamment faible), il serait pertinent de tester l'influence de covariables potentiellement liées à l'intégrité de la barrière hémato-méningée, telles que le temps écoulé depuis une intervention chirurgicale ou une radiothérapie au niveau cérébral, ou le quotient d'albumine (Link et Tibbling 1977).

2. Influence de la masse antigénique sur la pharmacocinétique du trastuzumab

L'effet de la masse antigénique sur la PK des AcMo en général et du trastuzumab en particulier a été précédemment décrit (Bernadou *et al.* 2016) et a fait l'objet d'une revue de la littérature (Ternant *et al.* 2018). Cet effet s'exprime notamment par une demi-vie d'élimination plus brève dans le cancer du sein métastatique que dans le cancer localisé et par une augmentation de la clairance d'élimination avec la taille de la tumeur mesurée à l'échographie.

Notre modèle comprenait l'estimation d'une cible latente au trastuzumab, ce qui nous a permis de décrire des fluctuations observées dans le LCS au cours du temps. Il est primordial d'interpréter les estimations de cette cible comme un ensemble de divers phénomènes susceptibles d'influencer la PK du trastuzumab (progression tumorale, relargage de HER2 après

lyse tumorale, modifications du volume de distribution, etc.), et non comme le simple reflet de la masse antigénique. La cytologie du LCS n'était pas contributive à la description de la cible latente et ne constitue probablement pas un bon marqueur de la masse antigénique. Dans une étude rétrospective de 137 patients atteints de CLM, 15 % d'entre eux avaient eu un diagnostic permis par l'imagerie malgré une cytologie du LCS négative et 37 % étaient dans la situation inverse. (Clarke *et al.* 2010)

Le domaine extracellulaire de HER2 peut être mesuré dans la circulation sanguine et a été décrit comme covariable influençant la clairance et le volume de distribution périphérique du trastuzumab. (Bruno *et al.* 2005) Une méthode de dosage adaptée au LCS pourrait être mise au point afin d'étudier l'évolution des concentrations dans le LCS au cours du temps. Chez 39 patientes atteintes de cancer du sein HER2 positif traitées par trastuzumab seul ou en association avec le paclitaxel, le 5-fluorouracile, l'épirubicine et le cyclophosphamide, Mazouni et collaborateurs ont pu décrire l'évolution du domaine extracellulaire de HER2, qui diminuait fortement après trois semaines de traitement mais variait peu par la suite. (Mazouni *et al.* 2007)

Comme notre analyse montre une non-linéarité de la PK du trastuzumab dans le LCS, la demi-vie ne constitue pas un paramètre adapté à la description du devenir de l'AcMo car le temps nécessaire à la diminution de moitié des concentrations dans le LCS varie au cours du temps. Nous suggérons que les études PK mettant en évidence une non-linéarité importante analysent le MRT, ce paramètre constituant une façon intuitive de décrire le comportement d'un médicament, quels que soient les phénomènes impliqués.

3. Absence de relation exposition-efficacité

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de relation entre l'exposition au trastuzumab et son efficacité. Nous pouvons supposer que l'effet maximal a été atteint dès les doses (et par conséquent les expositions) les plus faibles. Toutefois, nous pouvons nous interroger sur la pertinence des critères d'exposition retenus. Ainsi les seuils de concentrations dans le LCS définis (10 et 60 mg/L) ont été transposés à partir de données rapportées dans le sérum. De nouvelles cibles d'exposition devraient probablement être déterminées chez les patientes répondant au traitement.

Par ailleurs les données étaient hétérogènes avec de faibles effectifs. A titre d'exemple, pour observer une différence significative (risque $\alpha = 5 \%$, puissance = 90 %) du temps passé au-

dessus de 10 mg/L sur 56 j avec une différence attendue de 5 jours et un écart-type commun de 5 jours, l'inclusion de 22 patientes par groupe aurait été nécessaire.

4. Influence de la stratégie de prélèvement

Dans la mesure où nous ne disposions de concentrations lombaires et intra-ventriculaires que pour une seule patiente (et à des temps différents), nous ne pouvions pas développer un modèle décrivant de façon satisfaisante ces deux types de prélèvements. Après administration IV de trastuzumab chez le rat et étude par microdialyse, des profils pharmacocinétiques différents selon les sites (ventricule latéral, grande citerne, liquide interstitiel cérébral) ont été observés. (Chang *et al.* 2018) Dans un cas clinique rapportant l'administration intraventriculaire de 50 mg de trastuzumab à une patiente atteinte de CLM de cancer du sein HER2 positif, les concentrations de trastuzumab mesurées en ventriculaire et en lombaire de façon quasi-simultanée étaient différentes. (Bousquet *et al.* 2016) Ces différences étaient toutefois minimales plusieurs jours après l'administration IT, ce qui pourrait expliquer l'absence d'impact sur notre analyse.

Dans le modèle développé par Kadoch et collaborateurs pour l'administration IT de rituximab (Kadoch *et al.* 2014), un compartiment périphérique au LCS (représentant le parenchyme cérébral) avait été décrit, car 5 prélèvements précoces de LCS étaient réalisés sur 24 h au travers d'un réservoir d'Ommaya. Dans notre étude, des compartiments supplémentaires n'avaient pas pu être identifiés car seules les concentrations résiduelles hebdomadaires étaient disponibles (et que certaines patientes recevaient leurs administrations par ponction lombaire, difficilement répétables au cours de la journée). La modélisation PK par approche de population étant enrichie par la variabilité dans les horaires de prélèvements, une stratégie de prélèvements de LCS à des temps éparés au cours d'une étude complémentaire permettrait de mieux décrire le devenir du trastuzumab, notamment pour modéliser les phénomènes survenant précocement après l'injection IT. Néanmoins, nous avons pu constater l'importance d'un rinçage rigoureux des chambres implantables intrathécales, au risque de mesurer des concentrations aberrantes sur les prélèvements. La validation de notre modèle était limitée à une validation interne, en l'absence de jeu de données indépendants pour procéder à une validation externe, indispensable pour vérifier le caractère généralisable du modèle.

Conclusion

Nous avons ainsi pu décrire de manière satisfaisante les concentrations dans le sang et le LCS du trastuzumab après son administration par voie IT. Nous avons développé un modèle PK original, faisant appel à une élimination médiée par une cible latente. Ce modèle s'est avéré le plus performant mais son interprétation biologique doit être prudente. La prise en compte de concentrations précoces après les injections, ainsi que des marqueurs de la masse antigénique et de l'intégrité de la barrière hémato-méningée dans des études complémentaires permettraient de mieux décrire la PK du trastuzumab, et des AcMo de manière générale. Ce type d'études PK s'avère d'autant plus nécessaire qu'une meilleure maîtrise de la voie IT permettrait des stratégies thérapeutiques innovantes, notamment en oncologie et en neurologie.

Bibliographie

- Abbott, N. Joan *et al.* 2010. « Structure and Function of the Blood-Brain Barrier ». *Neurobiology of Disease* 37(1): 13-25.
- Baselga, J. 2001. « Phase I and II Clinical Trials of Trastuzumab ». *Annals of Oncology* 12(suppl 1): S49-55.
- Bernadou, G. *et al.* 2016. « Influence of Tumour Burden on Trastuzumab Pharmacokinetics in HER2 Positive Non-Metastatic Breast Cancer: Trastuzumab Pharmacokinetics ». *British Journal of Clinical Pharmacology* 81(5): 941-48.
- Bonneau, C. *et al.* 2018. « Phase I Feasibility Study for Intrathecal Administration of Trastuzumab in Patients with HER2 Positive Breast Carcinomatous Meningitis ». *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* 95: 75-84.
- Bousquet, G. *et al.* 2016. « Intrathecal Trastuzumab Halts Progression of CNS Metastases in Breast Cancer ». *Journal of Clinical Oncology* 34(16): e151-55.
- Bruno, R. *et al.* 2005. « Population Pharmacokinetics of Trastuzumab in Patients With HER2+ Metastatic Breast Cancer ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 56(4): 361-69.
- Chamberlain, M. C. 2006. « Neoplastic Meningitis ». *The Neurologist* 12(4): 179-87.
- Chang, H.-Y. *et al.* 2018. « Antibody Pharmacokinetics in Rat Brain Determined Using Microdialysis ». *mAbs*: 1-11.
- Clarke, J. L. *et al.* 2010. « Leptomeningeal Metastases in the MRI Era ». *Neurology* 74(18): 1449-54.
- CoPath, (Collège français des pathologistes). 2019. *Anatomie et cytologie pathologiques*. ELSEVIER / MASSON.
- Friberg, L. E. *et al.* 2002. « Model of Chemotherapy-Induced Myelosuppression with Parameter Consistency across Drugs ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 20(24): 4713-21.
- Grossman, S. A., et Michael J. Krabak. 1999. « Leptomeningeal Carcinomatosis ». *Cancer Treatment Reviews* 25(2): 103-19.
- Gutierrez, Maya *et al.* 2011. « [Leptomeningeal meningitis related to breast cancer overexpressing HER2: is there a place for a more specific treatment?] ». *Bulletin Du Cancer* 98(4): 417-24.
- Hall Thomas, K. et Ramirez R. A. 2017. « Leptomeningeal Disease and the Evolving Role of Molecular Targeted Therapy and Immunotherapy ». *Ochsner Journal* 17(4): 362-78.
- Hamdan, D. *et al.* 2018. « A Novel Way to Manage Trastuzumab Cardiotoxicity ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 81(4): 791-96.

- Haute Autorité de Santé, H.A.S. 2016. *HERCEPTIN (trastuzumab), anticorps monoclonal*. Saint-Denis La Plaine. Avis sur les Médicaments. https://www.has-sante.fr/jcms/c_2620144/fr/herceptin-trastuzumab-anticorps-monoclonal.
- Jéhannin-Ligier, K. 2017. *Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2017. Rapport technique*. Saint-Maurice: Santé publique France.
- Junghans, R. P., et Anderson C. L. 1996. « The Protection Receptor for IgG Catabolism Is the Beta2-Microglobulin-Containing Neonatal Intestinal Transport Receptor ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(11): 5512-16.
- Kadoch, C. *et al.* 2014. « Complement Activation and Intraventricular Rituximab Distribution in Recurrent Central Nervous System Lymphoma ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 20(4): 1029-41.
- Keaney, J., et Campbell M. 2015. « The Dynamic Blood-Brain Barrier ». *The FEBS journal* 282(21): 4067-79.
- Kuchimanchi, M. *et al.* 2020. « Phase II Dose Selection for Alpha Synuclein-Targeting Antibody Cinpanemab (BIIB054) Based on Target Protein Binding Levels in the Brain ». *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*.
- Le Rhun, E., Taillibert S., et Taillandier L. 2009. « Atteintes leptoméningées de tumeurs solides chez les adultes ». *La Lettre du Neurologue* XIII(5): 147-52.
- Le Tilly, O., Bretonnière C., et Grégoire M. 2019. « La pharmacologie des antibiotiques dans le liquide cébrospinal » éd. Pierre-Emmanuel Charles et Thomas Ritzenthaler. *Médecine Intensive Réanimation* 28(5): 371-79.
- Leyland-Jones, B. 2001. « Dose Scheduling--Herceptin ». *Oncology* 61 Suppl 2: 31-36.
- Link, H., et Tibbling G. 1977. « Principles of Albumin and IgG Analyses in Neurological Disorders. II. Relation of the Concentration of the Proteins in Serum and Cerebrospinal Fluid ». *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 37(5): 391-96.
- Mazouni, C. *et al.* 2007. « Kinetics of Serum HER-2/Neu Changes in Patients with HER-2-Positive Primary Breast Cancer after Initiation of Primary Chemotherapy ». *Cancer* 109(3): 496-501.
- Memorial Sloan Kettering Cancer Center. 2019. « Frequently Asked Questions About Ommaya Reservoirs and Ommaya Taps ». *Memorial Sloan Kettering Cancer Center*. <https://www.mskcc.org/cancer-care/patient-education/faq-about-ommaya-reservoirs-and-ommaya-taps> (20 août 2020).
- Noguchi, Y., Kato M., Ozeki K., et Ishigai M. 2017. « Pharmacokinetics of an Intracerebroventricularly Administered Antibody in Rats ». *mAbs* 9(7): 1210-15.
- Obermeier, B., Daneman R., et Ransohoff R. M. 2013. « Development, Maintenance and Disruption of the Blood-Brain Barrier ». *Nature Medicine* 19(12): 1584-96.

- Obermeier, B., Verma A., et Ransohoff R. M. 2016. « The Blood-Brain Barrier ». *Handbook of Clinical Neurology* 133: 39-59.
- Paintaud, G. 2009. « [Pharmacokinetics (PK) of mAbs] ». *Medecine Sciences: M/S* 25(12): 1057-62.
- Raper, D., Louveau A., et Kipnis J. 2016. « How Do Meningeal Lymphatic Vessels Drain the CNS? » *Trends in neurosciences* 39(9): 581.
- Reiber, H. 2016. « Knowledge-base for interpretation of cerebrospinal fluid data patterns. Essentials in neurology and psychiatry ». *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 74(6): 501-12.
- Roopenian, D. C., et Akilesh S. 2007. « FcRn: The Neonatal Fc Receptor Comes of Age ». *Nature Reviews Immunology* 7(9): 715-25.
- Rubenstein, J. L. *et al.* 2007. « Phase I Study of Intraventricular Administration of Rituximab in Patients with Recurrent CNS and Intraocular Lymphoma ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 25(11): 1350-56.
- Stemmler, H.-J. *et al.* 2007. « Ratio of Trastuzumab Levels in Serum and Cerebrospinal Fluid Is Altered in HER2-Positive Breast Cancer Patients with Brain Metastases and Impairment of Blood-Brain Barrier ». *Anti-Cancer Drugs* 18(1): 23-28.
- Ternant, D. *et al.* 2018. « Influence of Antigen Mass on the Pharmacokinetics of Therapeutic Antibodies in Humans ». *Clinical Pharmacokinetics*.
- . 2019. « Nonlinear Pharmacokinetics of Rituximab in Non-Hodgkin Lymphomas: A Pilot Study ». *British Journal of Clinical Pharmacology* 85(9): 2002-10.
- Tout, M. *et al.* 2017. « Influence of FCGR3A-158V/F Genotype and Baseline CD20 Antigen Count on Target-Mediated Elimination of Rituximab in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia: A Study of FILO Group ». *Clinical Pharmacokinetics* 56(6): 635-47.
- Wang, W, Wang E., et Balthasar J. 2008. « Monoclonal Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics ». *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 84(5): 548-58.
- Zagouri, F. *et al.* 2013. « Intrathecal Administration of Trastuzumab for the Treatment of Meningeal Carcinomatosis in HER2-Positive Metastatic Breast Cancer: A Systematic Review and Pooled Analysis ». *Breast Cancer Research and Treatment* 139(1): 13-22.
- Zhang, Y., et Pardridge W. M. 2001. « Mediated Efflux of IgG Molecules from Brain to Blood across the Blood-Brain Barrier ». *Journal of Neuroimmunology* 114(1-2): 168-72.

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) Olivier LE TILLY

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (Décret n°92-657 du 13 juillet 1992)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature :



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : 21001280


N° Thèse : 54

Nom et Prénom : Olivier LE TILLY

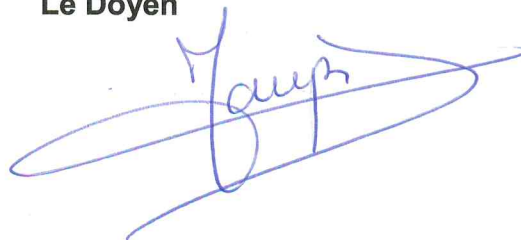
Sujet : Etude du devenir du trastuzumab après administration par voie intrathécale
chez l'Homme

Tours, le : 16/10/2020

Le(s) Directeur(s) de Thèse :

Dr. Gilles PAIN TAUD


Vu et Transmis :
Le Doyen



M. Olivier LE TILLY
N° 54 (2020)

TITRE DE LA THÈSE

Etude du devenir du trastuzumab après administration par voie intrathécale chez l'Homme

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

La carcinomatose leptoméningée est une complication sévère du cancer du sein, caractérisée par un envahissement méningé de cellules métastatiques. Bien que le trastuzumab représente un traitement de première ligne du cancer du sein HER2+, son administration par voie intraveineuse ne permet pas un passage cérébral et méningé suffisant. Nous avons étudié le devenir du trastuzumab après son administration par voie intrathécale à l'aide d'une analyse pharmacocinétique de population.

L'essai clinique de phase I/II a inclus 21 patientes atteintes de carcinomatose leptoméningée de cancer du sein HER2+. Ces patientes ont reçu pendant 8 semaines une administration intrathécale hebdomadaire de trastuzumab (de 30 à 150 mg) et les concentrations résiduelles sériques et rachidiennes ont été mesurées. L'exposition des patientes au trastuzumab a été quantifiée par l'aire sous la courbe des concentrations à la première et dernière injection dans le sérum et le liquide cébrospinal (LCS) ainsi que par le temps passé au-delà de différents seuils de concentrations rachidiennes. Ces données ont été confrontées à la réponse clinique (survie sans progression neurologique) et biologique (disparition des cellules cancéreuses du LCS).

Un modèle intégrant une élimination du trastuzumab du LCS médiée par une cible latente nous a permis d'expliquer l'importante variation des concentrations observées au cours du temps. Le transfert du sérum vers le LCS était fortement limité tandis que celui du LCS vers le sérum était rapide. Les temps de résidence moyens du trastuzumab dans le LCS et le sérum étaient respectivement de 6,0 jours et 23,6 jours. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de relation entre l'exposition au trastuzumab et la réponse clinique ou biologique.

Notre étude quantifie pour la première fois le devenir du trastuzumab après administration intrathécale chez l'Homme.

Mots-clés : Trastuzumab ; Pharmacocinétique ; Liquide cébrospinal ; Système nerveux central ; Voie intrathécale ; Cancer du sein ; Carcinomatose leptoméningée

JURY

PRÉSIDENT : Pr Véronique MAUPOIL, pharmacien, PU, Faculté de Pharmacie – TOURS

MEMBRES : Pr Gilles PAINAUD, médecin, PU-PH, Faculté de Médecine – TOURS

Pr Claude LINASSIER, médecin, PU-PH, Faculté de Médecine – Tours

Pr Christophe DESTRIEUX, médecin, PU-PH, Faculté de Médecine – Tours

Dr David TERNANT, pharmacien, MCU-PH, Faculté de Médecine – Tours

DATE ET LIEU DE SOUTENANCE

16 octobre 2020, UFR de Sciences Pharmaceutiques, TOURS