

REMERCIEMENTS

A monsieur le Professeur Eric Bellissant, directeur de Thèse

Pour la confiance que vous m'avez accordée tout au long de ces quatre années et pour m'avoir donné l'opportunité de m'épanouir dans un domaine qui me passionne, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

A madame le Docteur Marie-Clémence Verdier, co-directeur de Thèse

Pour ton aide précieuse dans les différentes étapes de la Thèse et pour avoir eu la patience de m'accompagner dans ce travail, merci. J'espère avoir acquis un peu de ta sagesse.

A Madame le Professeur Françoise Stanke, rapporteur

Pour avoir accepté d'être rapporteur de ce travail, recevez ici toute ma gratitude. Votre grande expertise de l'inflammation sera un apport précieux dans l'évaluation de ce travail, et contribuera à enrichir les débats autour de l'interdépendance de l'inflammation et de la pharmacocinétique des médicaments en général et des anticorps en particulier.

A Monsieur le Docteur Joseph Ciccolini, rapporteur

Pour avoir accepté d'être rapporteur de cette Thèse, je vous remercie. Vos connaissances en modélisation pharmacocinétique et en pharmacologie des anticorps utilisés en oncologie seront source, j'en suis sûr, de passionnants échanges autour de ce travail.

A madame le docteur Stéphanie Chhun, examinateur

Chère Stéphanie, pour avoir accepté avec enthousiasme de participer à ce jury et d'être juge de ce travail, et pour nos fructueux échanges en congrès autour des anticorps thérapeutiques, je te remercie.

A Monsieur le Professeur Gilles Paintaud, examinateur

Pour me faire l'honneur d'être à nouveau juge de mon travail, quatre ans après la thèse d'exercice, vous qui m'avez suivi depuis mes premiers pas en pharmacologie, recevez toute ma gratitude. Votre présence dans ce jury était indispensable, en tant que mentor et grand expert de la pharmacologie des anticorps.

A monsieur le professeur Xavier Roblin, examinateur

Pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury, en tant que clinicien expert dans la pharmacologie et le suivi thérapeutique des anti-TNF α dans le traitement des MICI, je vous remercie sincèrement. J'espère que ce travail contribuera à aider les malades.

A monsieur le Docteur David Ternant, examinateur

Cher David, pour avoir toujours été présent pour répondre à mes questions ; pour avoir été l'initiateur de ma passion pour les anticorps ; pour avoir été mon Maître en modélisation compartimentale ; et enfin pour ton implication dans ce travail de Thèse, reçois toute ma gratitude.

AVANT-PROPOS

Les anticorps monoclonaux thérapeutiques ont représenté une avancée majeure dans la prise en charge de nombreuses pathologies, tout particulièrement des cancers et des maladies inflammatoires chroniques. En empruntant la structure naturelle des anticorps endogènes, ils permettent l'immunisation passive des malades contre des cibles antigéniques très spécifiques. Leurs propriétés pharmacologiques résultent à la fois de cette spécificité antigénique introduite artificiellement dans l'organisme et des propriétés naturelles des anticorps, notamment de leurs interactions avec le système immunitaire.

Malgré le développement littéralement exponentiel des anticorps thérapeutiques en médecine humaine et leurs propriétés largement partagées avec des structures endogènes pourtant bien connues, les propriétés pharmacologiques des anticorps restent incomplètement élucidées. La relation concentration-effet est variable entre les patients et au sein d'un même patient, avec des échecs primaires et secondaires parfois nombreux mais pas toujours compris. Une partie de ces échecs s'explique par une pharmacocinétique hypervariable tant au niveau de la population qu'au niveau individuel, dont les sources sont partiellement connues et qui impose des adaptations régulières de la posologie et rend difficile la standardisation des doses. De plus, les patients sont susceptibles de s'immuniser, rendant les traitements inefficaces, mais les déterminants de ces immunisations restent incomplètement compris et difficilement prévisibles à l'échelle individuelle. Enfin, malgré leur marge thérapeutique considérée comme très large et l'utilisation de doses parfois très élevées, on en sait peu sur une éventuelle relation quantifiable entre exposition et effets indésirables.

Dans ce travail de thèse de doctorat, ces différents aspects de la pharmacologie des anticorps thérapeutiques seront abordés, à travers l'exemple des anticorps anti-TNF α utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), des pathologies dont la prise en charge a été révolutionnée par ces médicaments depuis une vingtaine d'années. Après une première partie faisant une synthèse bibliographique de l'état des connaissances de la pharmacologie des anti-TNF α dans les MICI, nous présenterons les résultats de plusieurs travaux de recherche originaux réalisés dans le cadre de la thèse et qui contribueront à améliorer les connaissances scientifiques dans ce domaine.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| Remerciements | 3 |
| Avant-propos..... | 5 |
| Table des figures..... | 12 |
| Table des tableaux..... | 15 |
| Liste des abréviations..... | 16 |
| 1. Etude bibliographique : pharmacologie des anti-TNF α | 18 |
| 1.1. Pharmacologie générale des anticorps thérapeutiques | 18 |
| 1.1.1. Historique | 18 |
| 1.1.2. Structure générale d'une immunoglobuline | 22 |
| 1.1.2.1 Organisation structurale | 22 |
| 1.1.2.2 Organisation fonctionnelle | 26 |
| 1.1.3. Les récepteurs au fragment Fc | 28 |
| 1.1.3.1 Les récepteurs FcR | 28 |
| 1.1.3.2 Le récepteur néonatal au fragment Fc | 30 |
| 1.1.4. Structures utilisées en thérapeutique..... | 31 |
| 1.1.4.1 Anticorps complets | 31 |
| 1.1.4.2 Fragments, protéines chimériques et anticorps modifiés | 34 |
| 1.1.5. Propriétés pharmacocinétiques générales | 37 |
| 1.1.5.1 Absorption..... | 37 |
| 1.1.5.2 Distribution | 39 |
| 1.1.5.3 Métabolisme | 45 |
| 1.1.5.4 Excrétion directe | 46 |

| | | |
|---------|--|----|
| 1.1.5.5 | Élimination non spécifique..... | 47 |
| 1.1.5.6 | Élimination spécifique..... | 53 |
| | Points-clés : propriétés pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques..... | 58 |
| 1.1.6. | Mécanismes d'action des anticorps monoclonaux..... | 59 |
| 1.1.6.1 | Anticorps neutralisants..... | 59 |
| 1.1.6.2 | Anticorps antagonistes..... | 59 |
| 1.1.6.3 | Anticorps cytotoxiques..... | 60 |
| 1.1.6.4 | Anticorps utilisés comme vecteurs..... | 63 |
| | Points-clés : propriétés pharmacodynamiques des anticorps thérapeutiques. | 64 |
| 1.1.7. | Les anticorps anti-médicament..... | 65 |
| 1.1.7.1 | Immunogénicité : facteurs liés à l'anticorps thérapeutique..... | 65 |
| 1.1.7.2 | Immunogénicité : facteurs liés au patient..... | 67 |
| 1.1.7.3 | Cibles des anticorps anti-médicaments..... | 68 |
| 1.1.7.4 | Conséquences de l'immunisation..... | 69 |
| 1.1.7.5 | Aspects analytiques..... | 71 |
| 1.1.7.6 | Prévenir et surmonter l'immunisation..... | 72 |
| | Points-clés : les anticorps anti-médicaments..... | 73 |
| 1.2. | Les anti-TNF α dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin..... | 74 |
| 1.2.1. | Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI)..... | 74 |
| 1.2.1.1 | Généralités sur les MICI..... | 74 |
| 1.2.1.2 | Le TNF α dans les MICI..... | 81 |
| 1.2.1.3 | Mécanismes d'action des anti-TNF α dans les MICI..... | 82 |
| 1.2.1.4 | Place des anti-TNF α dans le traitement des MICI..... | 88 |

| | |
|---|-----|
| Points-clés : les anti-TNF α dans le traitement des MICI..... | 91 |
| 1.2.2. Relation concentration-effet et STP des anti-TNF α dans les MICI | 92 |
| 1.2.2.1 Relation concentration-effet des anti-TNF α dans les MICI | 92 |
| 1.2.2.2 Apport du suivi thérapeutique pharmacologique | 96 |
| Points-clés : la relation concentration effet et le STP des anti-TNF α dans les MICI | 99 |
| 1.2.3. Pharmacocinétique des anti-TNF α dans les MICI | 100 |
| 1.2.3.1 Propriétés pharmacocinétiques générales | 100 |
| 1.2.3.2 Variabilité pharmacocinétique inter-individuelle..... | 101 |
| 1.2.3.3 Variabilité pharmacocinétique intra-individuelle..... | 107 |
| Points-clés : variabilité de la pharmacocinétique des anti-TNF α dans les MICI.... | 109 |
| 1.3. Méthodes d'étude de la pharmacocinétique et de ses sources de variabilité | 110 |
| 1.3.1. Pharmacocinétique non compartimentale | 110 |
| 1.3.2. Pharmacocinétique compartimentale | 111 |
| 2. Objectifs de la thèse..... | 113 |
| 2.1. Synthèse des données bibliographiques..... | 113 |
| 2.2. Objectifs généraux | 114 |
| 2.3. Objectifs spécifiques | 114 |
| 3. Matériel et méthodes | 115 |
| 3.1. Techniques de dosage | 115 |
| 3.1.1. Anticorps thérapeutiques..... | 115 |
| 3.1.1.1 Méthode de dosage | 115 |
| 3.1.1.2 Performances analytiques | 116 |
| 3.1.2. Anticorps anti-médicament..... | 119 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 3.2. | Modélisation pharmacocinétique et pharmacocinétique-pharmacodynamique . | 120 |
| 3.2.1. | Modèles structuraux | 121 |
| 3.2.2. | Modèle de variabilité inter-individuelle..... | 122 |
| 3.2.3. | Modèle d'erreur résiduelle | 122 |
| 3.2.4. | Modèle de covariables | 123 |
| 3.2.5. | Modélisation des paramètres variant au cours du temps | 123 |
| 3.2.5.1 | Modèle inter-occasion | 124 |
| 3.2.5.2 | Covariables variant au cours du temps..... | 124 |
| 3.2.5.3 | Utilisation de fonctions dépendantes du temps..... | 127 |
| 3.2.6. | Comparaison de modèles..... | 128 |
| 3.2.7. | Outils diagnostiques et validation du modèle | 128 |
| 3.3. | Analyse statistique | 129 |
| 4. | Résultats..... | 130 |
| 4.1. | Revue de la littérature : modélisation compartimentale des variations de la pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques au cours du temps | 130 |
| 4.1.1. | Résumé..... | 131 |
| 4.2. | Etude 1. Modélisation de l'immunisation contre l'infliximab et relation concentration-effet de l'infliximab en phase d'induction chez des enfants atteints de maladie de Crohn..... | 161 |
| 4.2.1. | Résumé..... | 162 |
| 4.2.2. | Commentaires sur l'article 1. | 173 |
| 4.3. | Etude 2. Facteurs prédictifs de rechute après désescalade du traitement par infliximab dans les MICI et intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique..... | 175 |
| 4.3.1. | Résumé..... | 176 |
| 4.3.2. | Commentaires sur l'article 2. | 185 |

| | | |
|--------|---|-----|
| 4.4. | Etude 3. Modélisation de la pharmacocinétique à long terme et relation concentration-effet de l’infliximab en traitement d’entretien chez des adultes atteints de MICI bénéficiant d’une désescalade..... | 188 |
| 4.4.1. | Résumé..... | 189 |
| 4.4.2. | Commentaires sur l’article 3. | 201 |
| 4.5. | Etude 4. Relation entre exposition cumulée à l’infliximab en traitement d’entretien et risque infectieux chez des patients adultes atteints de MICI | 206 |
| 4.5.1. | Résumé..... | 207 |
| 4.5.2. | Commentaires sur l’article 4. | 233 |
| 5. | Discussion..... | 238 |
| 5.1. | Variabilité pharmacocinétique intra-individuelle | 238 |
| 5.2. | Immunogénicité et variabilité pharmacocinétique..... | 239 |
| 5.3. | Vers un monitoring de la clairance ?..... | 241 |
| 5.4. | STP proactif <i>versus</i> STP réactif et accès au STP..... | 242 |
| 5.5. | Relation concentration-effet et adaptations posologiques..... | 244 |
| 5.6. | Perspectives..... | 245 |
| 6. | Conclusion..... | 246 |
| 7. | Bibliographie | 247 |
| | Annexes..... | 257 |

TABLE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1: Portraits de Von Behring et Ehrlich. | 18 |
| Figure 2: Portraits de Kohler et Milstein. | 19 |
| Figure 3: Effets de l'Ab89 chez l'Homme. | 20 |
| Figure 4: Evolution du nombre d'études cliniques impliquant les anticorps monoclonaux de 1975 à 2015. | 21 |
| Figure 5: Représentation schématique de la structure générale d'une immunoglobuline. | 23 |
| Figure 6: Principales caractéristiques des isotypes d'immunoglobuline humaine et représentation schématique de leur structure. | 25 |
| Figure 7: Fragments d'anticorps issus de la digestion enzymatique par la pepsine ou la papaïne. | 27 |
| Figure 8: Différents types de Fc γ R existant chez l'Homme. | 28 |
| Figure 9: Résumé de la répartition des FcR sur les cellules de l'immunité et principaux effets médiés. | 29 |
| Figure 10: Nomenclature des anticorps. | 32 |
| Figure 11: Répartition des structures d'anticorps approuvés par la FDA entre 1997 et 2017. ... | 33 |
| Figure 12: Représentation schématique de la structure du certolizumab pegol. | 36 |
| Figure 13: Représentation schématique de quelques structures issues des anticorps thérapeutiques actuellement utilisées ou testées. | 36 |
| Figure 14: Représentation schématique des mécanismes de la distribution interstitielle des anticorps. | 40 |
| Figure 15: Relation entre l'affinité pour HER2 et la pénétration dans une tumeur exprimant HER2. | 42 |
| Figure 16: Influence du FcRn sur la distribution tissulaire des anticorps. | 43 |
| Figure 17: Recyclage des anticorps. | 48 |
| Figure 18: Relation entre l'affinité de liaison au FcRn et demi-vie terminale d'élimination. | 51 |
| Figure 19: Non-linéarité pharmacocinétique des anticorps. | 57 |
| Figure 20: Représentation schématique des effets médiés par les anticorps antagonistes. | 62 |

| | |
|--|------------|
| Figure 21: Résumé des principaux mécanismes d'action des anticorps thérapeutiques et isotypes utilisés pour médier les effets cytotoxiques..... | 64 |
| Figure 22: Répartition du nombre d'études en oncologie dans lesquelles des anticorps anti-médicaments ont été détectés selon la nature de l'anticorps thérapeutique. | 67 |
| Figure 23: Résultats de méta-analyse évaluant l'effet de l'immunisation sur l'efficacité du traitement par anti-TNFα (infliximab et adalimumab) dans les MICI et les rhumatismes inflammatoires. | 70 |
| Figure 24: Résumé des principales techniques immunologiques utilisables pour détecter les ADA. | 72 |
| Figure 25: Evolution naturelle de la MC. | 78 |
| Figure 26: Approches thérapeutiques testées dans les MICI. | 80 |
| Figure 27: Structures des anti-TNFα commercialisés actuellement. | 83 |
| Figure 28: Effets cytotoxiques de l'infliximab, l'adalimumab, le golimumab, l'éta nercept, le rituximab et le certolizumab. | 84 |
| Figure 29: Effets pro-apoptotiques des anti-TNFα et induction de la différenciation des monocytes en macrophages M2 « wound healing ». | 85 |
| Figure 30: Affinité de liaison des anticorps anti-TNFα en présence ou non de TNFα. | 86 |
| Figure 31: Comparaison de la taille des complexes immuns formés par l'infliximab et l'éta nercept en présence de s-TNFα. | 87 |
| Figure 32: Proposition d'algorithme simplifié pour la prise en charge de la MC. | 89 |
| Figure 33: Proposition d'algorithme simplifié pour la prise en charge de la RCH. | 89 |
| Figure 34: Concentrations-cibles en anti-TNFα selon la réponse. | 93 |
| Figure 35: Synthèse des marqueurs cliniques, paracliniques et moléculaires utilisés pour évaluer la réponse au traitement dans les études enregistrées sur Clinica lTrial.gov en 2015... .. | 95 |
| Figure 36: Exemple d'algorithme décisionnel d'adaptation du traitement par anti-TNFα en cas de maladie insuffisamment contrôlée. | 97 |
| Figure 37: Concentrations fécales d'infliximab chez les individus répondeurs versus les non-répondeurs après deux semaines de traitement. | 102 |
| Figure 38: Quantités de TNFα et d'anticorps anti-TNFα dans des biopsies de muqueuse de patients atteints de MICI selon le degré d'inflammation. | 104 |

| | |
|--|-----|
| Figure 39: Représentation de l'évolution conjointe typique des concentrations d'infliximab et d'ADA et différence entre les concentrations réelles et mesurées d'ADA en utilisant une technique « drug sensitive ». | 105 |
| Figure 40: Evolution conjointe des concentrations d'adalimumab et d'ADA et du score clinique chez quatre patients dont l'immunisation a été surmontée par l'addition d'un immunomodulateur. | 107 |
| Figure 41: Courbes de calibration obtenues avec les techniques de dosages mises au point. | 119 |
| Figure 42: Comparaison des mesures de concentrations obtenues avec les techniques mises au point versus les méthodes de référence. | 119 |
| Figure 43: Représentation schématique de modèle compartimentaux courants. | 121 |
| Figure 44: Exemple de corrélations entre paramètres et covariables. | 125 |
| Figure 45: Représentation schématique des différentes approches possibles pour gérer une covariable dont les valeurs varient au cours du temps. | 127 |
| Figure 46: Relation entre le décile d'ASC cumulée sur la période d'étude et le nombre moyen d'infections par patient, avec différentes méthodes d'estimation de l'ASC cumulée. | 236 |

TABLE DES TABLEAUX

| | |
|--|------------|
| Tableau 1: Distribution cellulaire des différents FcγR chez l'Homme, affinités de liaison au Fc et affinités de liaison comparées entre les isotypes d'IgG. | 61 |
| Tableau 2: Caractéristiques comparées de la MC et de la RCH. | 77 |
| Tableau 3: Classification phénotypique de Montréal pour la MC..... | 79 |
| Tableau 4: Classification phénotypique de Montréal pour la RCH. | 79 |
| Tableau 5: Résumé des principales caractéristiques pharmacocinétiques des anti-TNF\square estimées par modélisation compartimentale dans les MICI. | 100 |
| Tableau 6: Résumé des performances analytiques des techniques de dosage. | 118 |
| Tableau 7: Résultats de l'étude univariée du lien entre ASC cumulée et risque infectieux avec différentes méthodes d'estimation de l'ASC et différentes approches statistiques..... | 235 |

LISTE DES ABREVIATIONS

-2LL : *-2 log-vraisemblance*

5-ASA : *acide 5-aminosalicylique*

ADA : *Anti-Drug Antibodies*

ADCC : *Antibody-Dependant Cell Cytotoxicity*

ADCP : *Antibody-Dependant Cell Phagocytosis*

AGA : *American Gastroenterology Association*

AIC : *Akaike's Information Criterion*

AMM : *Autorisation de Mise sur le Marché*

ANSM : *Agence Nationale de Sécurité du Médicament*

ASC : *Aire Sous la Courbe des concentrations*

ASCA : *Anti-Saccharomyces Cerevisae Antibodies*

CDAI : *Crohn's Disease Activity Index*

CDC : *Complement-Dependant Cytotoxicity*

CDR : *Complementary Determining Regions*

C_{max} : *concentration maximale*

C_{min} : *concentration résiduelle*

CQI : *Contrôle Qualité Interne*

CRP : *protéine C-réactive*

CYP450 : *Cytochrome P450*

ECCO : *European Crohn's and Colitis Organisation*

EEQ : *Evaluation Externe de la Qualité*

Fab : *Fragment antigen binding*

Fc : *Fragment cristallisable*

FcR : *Récepteur au Fragment cristallisable des immunoglobulines*

FcRn : *Récepteur Néonatal au Fragment cristallisable des immunoglobulines*

FcγR : *Récepteur au fragment Fc des immunoglobulines G*

FDA : *Food and Drug Administration*

HACA : *Human Anti-Chimeric Antibodies*

HBI : *Harvey Bradshaw Index*

IgG : *Immunoglobuline d'isotype G*
ITAM : *Immunoreceptor Tyrosine-Based Activating Motif*
ITIM : *Immunoreceptor Tyrosine-Based Inhibiting Motif*
IV : *Intra-Veineux*
LBM : *Laboratoires de Biologie Médicale*
LLOQ : *Lower Limit Of Quantitation*
LRT : *Likelihood Ratio Test*
MC : *Maladie de Crohn*
MICI : *Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin*
NCA : *Non Compartmental Analysis*
pANCA : *peripheral AntiNeutrophilic Cytoplasmic Antibody*
PBMC : *Peripheral Blood Mononuclear Cells*
PEG : *PolyEthylène Glycol*
pI : *point Isolélectrique*
RCH : *RectoColite Héorragique*
RSE : *Relative Standard Error*
SC : *Sous-Cutané*
SFIg : *SuperFamille des Immunoglobulines*
STP : *Suivi Thérapeutique Pharmacologique*
TMDD : *Target-Mediated Drug-Disposition*
TNF α : *Facteur de Nécrose des Tumeurs alpha*
ULOQ : *Upper Limit Of Quantitation*
VPC : *Visual Predictive Checks*
 α -gal : *alpha-1,3-galactose*
 β 2m : *beta-2-microglobuline*

1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : PHARMACOLOGIE DES ANTI-TNF α

1.1. Pharmacologie générale des anticorps thérapeutiques

1.1.1. Historique

L'Histoire des anticorps thérapeutiques remonte à plus d'un siècle. Elle a débuté avec la découverte de la sérothérapie, dont la naissance officielle date du 6 décembre 1890 avec la publication des travaux de Von Behring et Kitasato sur la sérothérapie antidiphtérique (Von Behring 1890). La sérothérapie est une méthode qui consiste à administrer le sérum d'un animal ou d'un Homme préalablement immunisé contre un pathogène à un malade pour lui transférer cette immunité. Elle a été largement utilisée tout au long du XXe siècle, non seulement pour traiter la diphtérie, mais également la rage et le tétanos. Ses travaux sur la sérothérapie ont valu à Von Behring de recevoir le premier prix Nobel de Médecine en 1901.



Figure 1: Portraits de Von Behring et Ehrlich.

A gauche : Emile Von Behring (1854-1917), à droite : Paul Ehrlich (1854-1915).

Le fait que l'administration du sérum permette de détruire un pathogène sans atteindre l'organisme du receveur a amené Ehrlich, qui travaillait sur la sérothérapie antidiphtérique avec Von Behring, à imaginer le concept de *Magische Kugel* (« Boulet magique »). Le « boulet magique » d'Ehrlich, une substance capable de cibler spécifiquement le pathogène en épargnant les tissus avoisinants, n'était autre que l'anticorps. Dans le cadre de la sérothérapie cependant, la réponse anticorps est polyclonale et il faut attendre près d'un siècle pour commencer à parler d'anticorps monoclonaux.

En 1975, Kohler et Milstein publient une technique qui permet d'isoler un clone plasmocytaire unique et de l'immortaliser, permettant ainsi la production en grande quantité d'anticorps portant une spécificité antigénique unique (Kohler 1975). Cette méthode, dite « technique des hybridomes », leur a valu le prix Nobel de médecine en 1984. Kohler et Milstein n'ont par ailleurs jamais fait breveter le procédé, pour permettre un accès au plus grand nombre (Garces 2018).

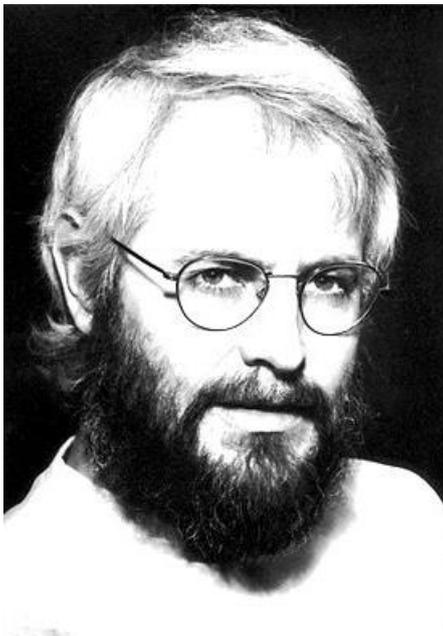


Figure 2: Portraits de Kohler et Milstein.

A gauche : Georges Kohler (1946-1995), à droite : César Milstein (1927-2002).

En 1980, l'équipe de Nadler publie le premier rapport de l'utilisation chez l'Homme de l'Ab 89, un anticorps monoclonal qui avait été développé pour cibler un antigène spécifique des cellules lymphomateuses en épargnant les cellules lymphoïdes saines (Nadler 1980). A chaque injection d'Ab 89, une réduction transitoire du nombre de cellules lymphomateuses circulantes était observée.

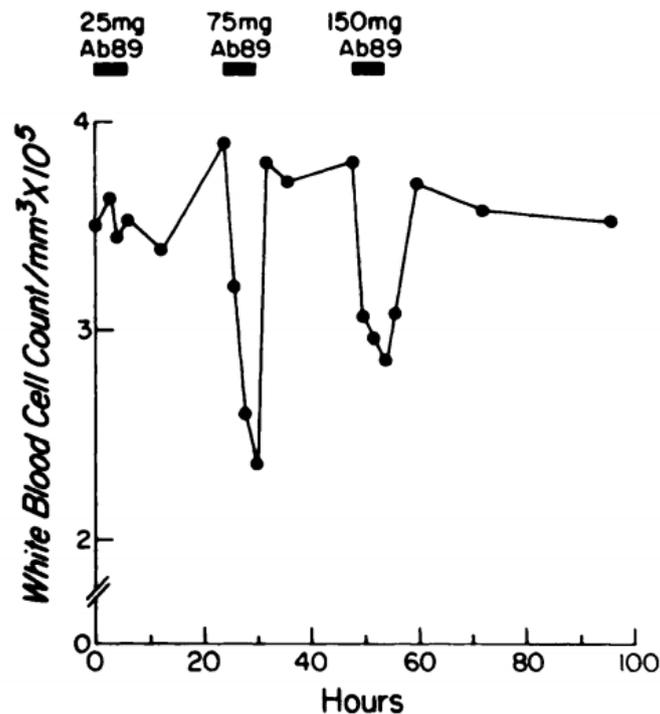


Figure 3: Effets de l'Ab89 chez l'Homme.

Evolution de la numération en clone leucémique chez le patient N.B., après administrations de doses croissantes de l'anticorps monoclonal Ab89 (Nadler 1980).

Le premier anticorps thérapeutique ayant obtenu l'autorisation de mise sur le marché est le muromonab, un anticorps murin anti-CD3 approuvé par la FDA en 1985, indiqué jusqu'en 2010 dans le traitement du rejet aigu en transplantation d'organes solides. Par la suite, de nombreux autres anticorps monoclonaux ont vu le jour, au fur et à mesure que la physiopathologie et les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la pathogenèse ont été élucidés et que de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles ont été dévoilées.

En parallèle de la découverte de nouvelles cibles antigéniques, les connaissances sur la production des anticorps monoclonaux se sont accrues. Cela a permis notamment d'améliorer la tolérance de ces médicaments. En effet, contrairement à toute attente à l'époque, une proportion substantielle de patients subissait des réactions d'hypersensibilité suite à l'administration de muromonab. Cela allait à l'encontre de l'idée admise selon laquelle une protéine purifiée ne pouvait induire une réaction immunitaire en l'absence d'adjuvant (Garces 2018). La nature murine du muromonab a été mise en cause, et progressivement une proportion de plus en plus importante de portions d'origine humaine a été introduite dans les anticorps thérapeutiques pour tenter de les rendre plus proches des anticorps endogènes. Des structures variées ont par la suite vu le jour, qu'il s'agisse de fragments issus de structures naturelles ou artificielles.

A l'heure actuelle, les anticorps thérapeutiques sont un secteur en pleine explosion. Le nombre d'essais cliniques impliquant les anticorps monoclonaux croît de façon exponentielle depuis 1980, et le nombre d'anticorps thérapeutiques en développement augmente chaque année. En 2015, plus d'un quart des médicaments approuvés par la FDA étaient des anticorps (Sewell 2017). En 2019, plus de 570 anticorps thérapeutiques sont en cours de développement clinique à divers stades, dont 62 à des stades avancés (Kaplon 2019).

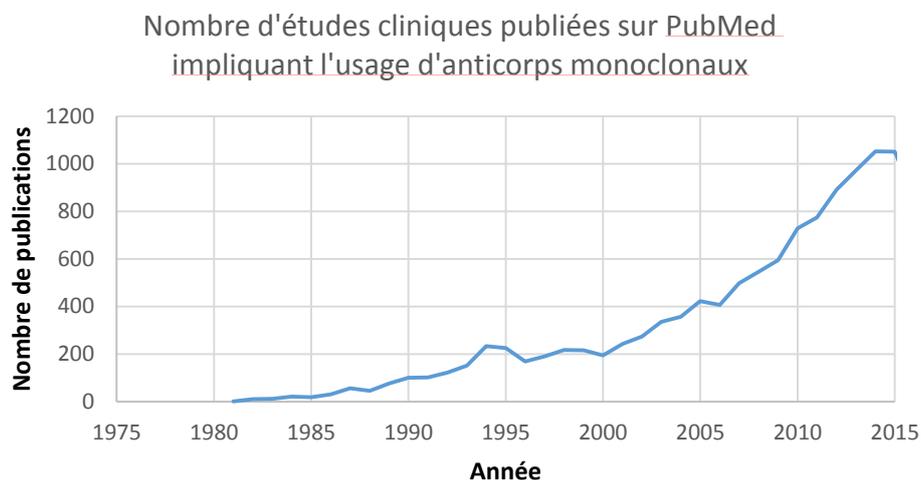


Figure 4: Evolution du nombre d'études cliniques impliquant les anticorps monoclonaux de 1975 à 2015.

Extraction Pubmed au 4 juin 2019. (Termes de recherche : « Monoclonal antibodies », filtres actifs : « études chez l'Homme » et « études cliniques »).

Les anticorps monoclonaux thérapeutiques empruntent non seulement la structure naturelle de l'anticorps endogène, mais également ses propriétés et notamment sa capacité à interagir avec les effecteurs de l'immunité pour exercer leur action thérapeutique. La compréhension de la pharmacologie des anticorps thérapeutiques passe donc par la compréhension de la physiologie des anticorps endogènes.

1.1.2. Structure générale d'une immunoglobuline

La superfamille des immunoglobulines (SFIg) comprend un grand nombre de glycoprotéines partageant une structure commune de base, le domaine immunoglobuline. La SFIg comprend de nombreuses molécules membranaires ou solubles impliquées dans l'adhésion, la communication et la reconnaissance cellulaire ; par exemple, les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH-I et CMH-II) et la beta-2-microglobuline appartiennent à la SFIg. Les immunoglobulines, encore appelées anticorps, sont des molécules solubles appartenant à la SFIg, capables de reconnaître spécifiquement une structure complémentaire, appelée antigène. Le terme « anticorps » fait initialement référence à l'une des fonctions biochimiques des immunoglobulines, l'« activité anticorps ». L'activité anticorps désigne la capacité d'une immunoglobuline de se lier, *via* son paratope, à un déterminant antigénique unique dont elle est spécifique : l'épitope. C'est pourquoi on désigne fréquemment les immunoglobulines par le terme « anticorps », en faisant référence à leur fonction ; de même, on parle fréquemment d'« anticorps thérapeutique » pour désigner des structures utilisées en thérapeutique qui portent l'activité anticorps, qu'il s'agisse d'immunoglobulines entières, de fragments d'immunoglobulines ou de structures dérivées des immunoglobulines.

1.1.2.1 Organisation structurale

Une immunoglobuline est une glycoprotéine d'environ 150 kDa constituée de 4 chaînes, deux chaînes lourdes et deux chaînes légères. Les deux chaînes lourdes sont reliées entre elles par des ponts disulfures et chaque chaîne légère est liée à une chaîne lourde par des ponts disulfures ; les chaînes légères ne sont pas liées entre elles. Ainsi, l'immunoglobuline a

schématiquement une structure tétramérique en forme de « Y », symétrique selon un plan situé entre les deux chaînes lourdes.

Les chaînes d'immunoglobuline sont organisées en domaines d'environ 110 acides aminés portant un pont disulfure intracaténaire qui les stabilise. Les domaines issus des chaînes lourdes sont notés H (pour « Heavy »), et ceux appartenant aux chaînes légères sont notés L (pour « Light »). On distingue parmi les domaines H et L ceux qui sont dits « constants », notés domaines CH ou CL selon qu'ils appartiennent à une chaîne lourde ou légère, respectivement, et les domaines qui sont dits « variables », notés VH et VL selon qu'ils sont issus d'une chaîne lourde ou légère, respectivement. Les chaînes lourdes comportent 4 à 5 domaines, 1 domaine variable unique noté VH, et 3 à 4 domaines constants notés CH1 à CH3 ou CH4. Entre CH1 et CH2, on retrouve une région flexible appelée « région charnière » ou *Hinge region*. Les ponts disulfures reliant les chaînes lourdes entre elles sont situés dans les régions charnières, à proximité des domaines CH2. Les chaînes légères ont invariablement 2 domaines notés VL et CL. Les chaînes lourdes et légères sont liées par un pont disulfure reliant les domaines CH1 et CL.

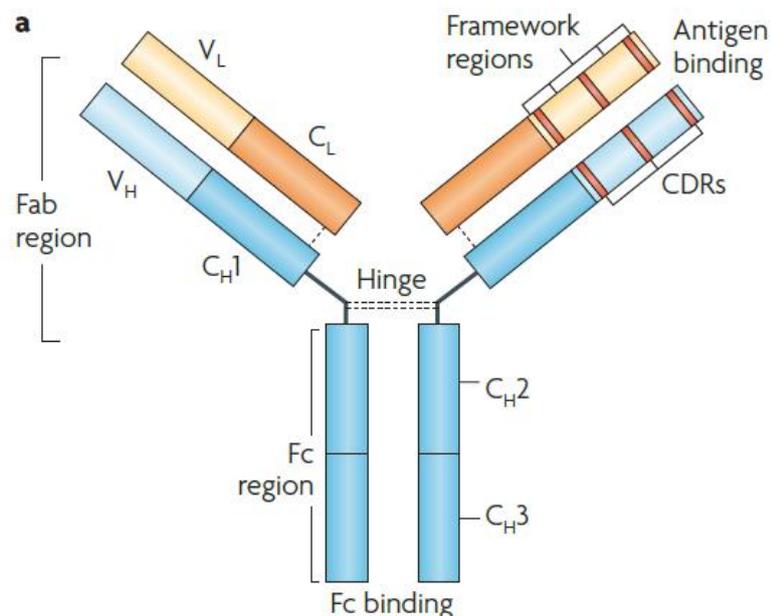


Figure 5: Représentation schématique de la structure générale d'une immunoglobuline.

(Hansel 2010)

Les séquences peptidiques qui composent une immunoglobuline sont sujettes à une variabilité qui peut se manifester à trois niveaux : inter-espèce, inter-individuelle et intra-individuelle. Ces trois niveaux correspondent respectivement à la variabilité isotypique, allotypique et idiotypique.

Variabilité isotypique

Les chaînes lourdes déterminent l'isotype, ou classe, de l'anticorps : il existe 5 classes de chaînes lourdes (γ , α , μ , δ , ϵ) déterminant 5 classes d'immunoglobulines (IgG, IgA, IgM, IgD et IgE). De petites variations de séquence et de structure (nombre de ponts disulfures, longueur de la région charnière) déterminent également plusieurs sous-classes désignées par des nombres pour un même isotype. Ainsi, il existe 4 sous-classes d'IgG, désignées IgG1 à IgG4.

Il existe également deux isotypes de chaînes légères : κ et λ . Les deux chaînes légères d'une immunoglobuline sont de même isotype. La proportion d'immunoglobulines portant des chaînes κ et λ est constante au sein d'une espèce et pour un isotype de chaîne lourde donné. Chez l'Homme, environ 2/3 des IgG portent des chaînes légères κ . On définit ainsi la nomenclature des anticorps selon leur classe, sous-classe et type de chaîne légère. Par exemple, l'IgG1 κ est la forme la plus abondante d'immunoglobuline dans le sérum humain.

La séquence peptidique des différents isotypes est hautement conservée au sein d'une espèce donnée. Ainsi, la variabilité isotypique détermine la variabilité inter-espèce des immunoglobulines. Les déterminants antigéniques isotypiques sont immunogènes pour les espèces qui ne les possèdent pas ; ainsi l'injection d'IgG1 humaines à un animal aboutira à la formation d'anticorps anti-IgG1 humaines, qui ne reconnaîtront ni les IgG de l'animal, ni les IgG d'une autre espèce, ni les autres isotypes humains (IgA ou IgM humaines par exemple).

| | IgM | IgD | IgG1 | IgG2 | IgG3 | IgG4 | IgA1 | IgA2 | IgE |
|--|-------|----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------------|
| PM Ig (kD) | 970 | 184 | 146 | 146 | 170 | 146 | 160 | 160 | 188 |
| Chaîne lourde | μ | δ | $\gamma 1$ | $\gamma 2$ | $\gamma 3$ | $\gamma 4$ | $\alpha 1$ | $\alpha 2$ | ϵ |
| PM de H | 65 | 70 | 51 | 51 | 60 | 51 | 56 | 52 | 72 |
| Sous-unités (H ₂ L ₂) | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 ou 2 | 1 ou 2 | 1 |
| Nb de CH | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 |
| «Hinge» | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Ponts di-S H-H | 1(+1) | 1 | 2 | 4 | 5-13 | 2 | 1(+1) | 1(+1) | 1 |
| Autres chaînes | J | | | | | | J, S | J, S | |
| Allotypes | | | Gm | Gm | Gm | Gm | | A2m | |
| Sucres (nb) | 5 | 6-7 | 1 | 1 | 1 | 1 | 7 | 4-5 | 6 |
| Valence | 5-10 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 (4) | 2 (4) | 2 |
| Taux (g/L) | 1,6 | 0,03 | 9 | 3 | 1 | 0,5 | 3 | 0,5 | 10 ⁻⁴ |
| Demi-vie (jours) | 5,1 | 2,8 | 21 | 21 | 7 | 21 | 5,8 | 5,8 | 2,5 |
| % extra-vasculaire | 10-20 | 25 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 50 |
| Structure schématique | | | | | | | | | |

Figure 6: Principales caractéristiques des isotypes d'immunoglobuline humaine et représentation schématique de leur structure.

Variabilité allotypique

Les domaines constants sont, comme leur nom l'indique, constants au sein d'une espèce donnée et pour un isotype donné. Elles portent néanmoins de petites variations de séquence peptidique, notamment au niveau des chaînes lourdes, capables d'induire des réactions immunitaires chez d'autres individus de la même espèce qui ne les possèdent pas (allo-immunisation) : ce sont les déterminants antigéniques allotypiques. Ces allotypes rendent compte du polymorphisme des gènes codant pour les différents isotypes et sont donc les déterminants de la variabilité inter-individuelle des immunoglobulines au sein de la même espèce.

Variabilité idiotypique

Par opposition aux domaines constants, les domaines variables portent le site de liaison à l'antigène spécifique de l'anticorps, et sont en conséquence hautement variables au sein d'une même espèce et d'un même individu, selon la spécificité antigénique de l'immunoglobuline. Deux domaines VH et VL contigus forment l'idiotype, composé de motifs antigéniques variables appelés idiotopes situés dans et hors du site de liaison à l'antigène (van Schie 2015). Les extrémités des domaines VH et VL portent chacune trois séquences peptidiques hautement variables, dites régions complémentaires (« Complementary Determining Regions » ou CDR), encadrées par des régions charpentes (« framework regions »). L'ensemble des 6 CDR forme le site de liaison spécifique de l'anticorps, appelé le paratope, qui reconnaît un motif complémentaire sur l'antigène, appelé épitope. Chaque idiotype comprend un paratope et chaque immunoglobuline porte donc deux paratopes. Une immunoglobuline peut ainsi lier deux antigènes à la fois ; cette capacité est une caractéristique importante des immunoglobulines, qui participe à leur mécanisme d'action (voir 1.1.3.1).

1.1.2.2 Organisation fonctionnelle

La structure d'un anticorps peut également être décrite selon les fonctions portées par les différentes portions qui le constituent. Ces différentes portions peuvent être obtenues en appliquant un traitement spécifique à l'anticorps. Ainsi, le traitement par de la pepsine va rompre les liaisons entre les domaines CH1 et CH2 tout en conservant les ponts disulfures à proximité des domaines CH2 dans les régions charnières, alors qu'un traitement par de la papaine entraîne la rupture des liaisons entre les domaines CH1 et CH2 sans conserver la liaison entre les deux chaînes lourdes. Trois types de fragments peuvent ainsi être obtenus :

- le fragment liant l'antigène sous forme monomérique, dit « Fab » pour *Fragment antigen binding*, composé des domaines VL, VH, CL et CH1 ;
- le fragment liant l'antigène sous forme dimérique, dit « F(ab')₂ », comprenant deux Fab liés par les ponts disulfures des régions charnières ;
- le fragment cristallisable, dit « Fc », qui comporte les domaines CH2 à CH3 (ou CH4 selon les sous-classes) des deux chaînes lourdes, elles-mêmes liées par des ponts disulfures. Ce

nom provient de la capacité de ce fragment à cristalliser après le traitement des immunoglobulines par la papaïne.

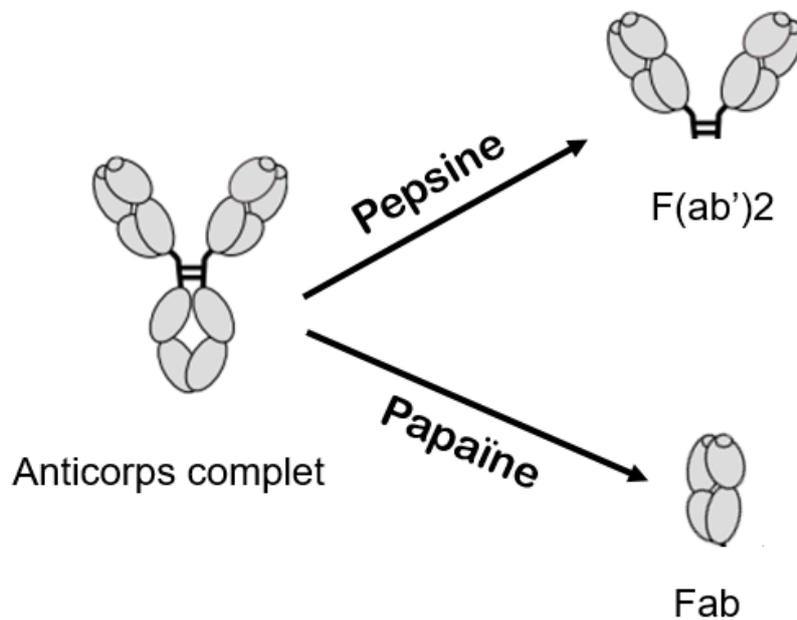


Figure 7: Fragments d'anticorps issus de la digestion enzymatique par la pepsine ou la papaïne.

Fonctionnellement, ces fragments sont différents et participent au mécanisme d'action des immunoglobulines endogènes et des anticorps thérapeutiques (voir 1.1.6). Les Fab portent la capacité et la spécificité de liaison à l'antigène (l'activité anticorps proprement dite). Le fragment Fc porte les fonctions effectrices de l'immunoglobuline *via* ses interactions avec les effecteurs de l'immunité, médiées par la liaison à ses récepteurs spécifiques, les FcR, ainsi qu'avec le complément. Ainsi, la structure de l'anticorps thérapeutique, selon qu'il s'agisse d'une immunoglobuline entière ou d'un fragment, influence son mécanisme d'action en modulant ses fonctions et ses interactions avec les effecteurs de l'immunité.

1.1.3. Les récepteurs au fragment Fc

1.1.3.1 Les récepteurs FcR

Les FcR sont des récepteurs de la SFlg situés à la surface de nombreuses cellules immunitaires, spécifiques du fragment Fc des immunoglobulines. Ils permettent l'interaction des immunoglobulines avec les cellules effectrices de l'immunité, et permettent ainsi d'induire certaines réactions dites « médiées par les anticorps », comme la cytotoxicité cellulaire des cellules NK.

Il existe plusieurs types et sous-types de FcR. Les FcR sont spécifiques d'un isotype, et désignés selon cette spécificité ; par exemple les FcR spécifiques des IgG sont notés FcγR. Certains isotypes d'immunoglobuline n'ont pas de FcR connu. L'affinité de liaison des immunoglobulines à leurs FcR spécifiques est variable d'un isotype à l'autre et variable entre les sous-classes d'un même isotype.

| Structure | | | | | | |
|-----------------|-------|--|---------------|--|---------------|--|
| Name | FcγRI | FcγRIIA | FcγRIIC | FcγRIIIA | FcγRIIIB | FcγRIIB |
| Affinity | High | Low to medium | Low to medium | Low to medium | Low to medium | Low to medium |
| Alleles | | FcγRIIA ^{I31H} FcγRIIA ^{I31R} | | FcγRIIIA ^{I58V} FcγRIIIA ^{I58F} | NA1 NA2 | FcγRIIB ^{I232I} FcγRIIB ^{I232T} |

Figure 8: Différents types de FcγR existant chez l'Homme.

Tous les FcγR humains connus sont associés à un motif intracellulaire activateur ITAM (Immunoreceptor Tyrosine-Based Activating Motif) à l'exception du FcγRIIB, associé à un motif inhibiteur (ITIM) (Nimmerjahn 2008).

La liaison d'une immunoglobuline à un FcR spécifique peut induire une réponse différente selon le type cellulaire, l'isotype d'immunoglobuline et le type de FcR. Le plus souvent, la liaison d'une immunoglobuline à un FcR induit une cascade intracellulaire activatrice qui aboutit à l'activation ou au renforcement de l'activité immunitaire (cytotoxicité ou

phagocytose par exemple). Pour entraîner une réponse, le pontage (« *cross-linking* ») des FcR est nécessaire ; il est rendu possible par la structure de l'anticorps, la présence de deux sites de liaison à l'antigène permettant la formation de complexes immuns (Rosales 2013). Les complexes immuns sont des agrégats d'antigènes et d'anticorps présentant à leur surface des fragments Fc. Les complexes immuns interagissent avec les cellules immunitaires en réalisant le pontage des FcR qu'elles portent à leur surface.

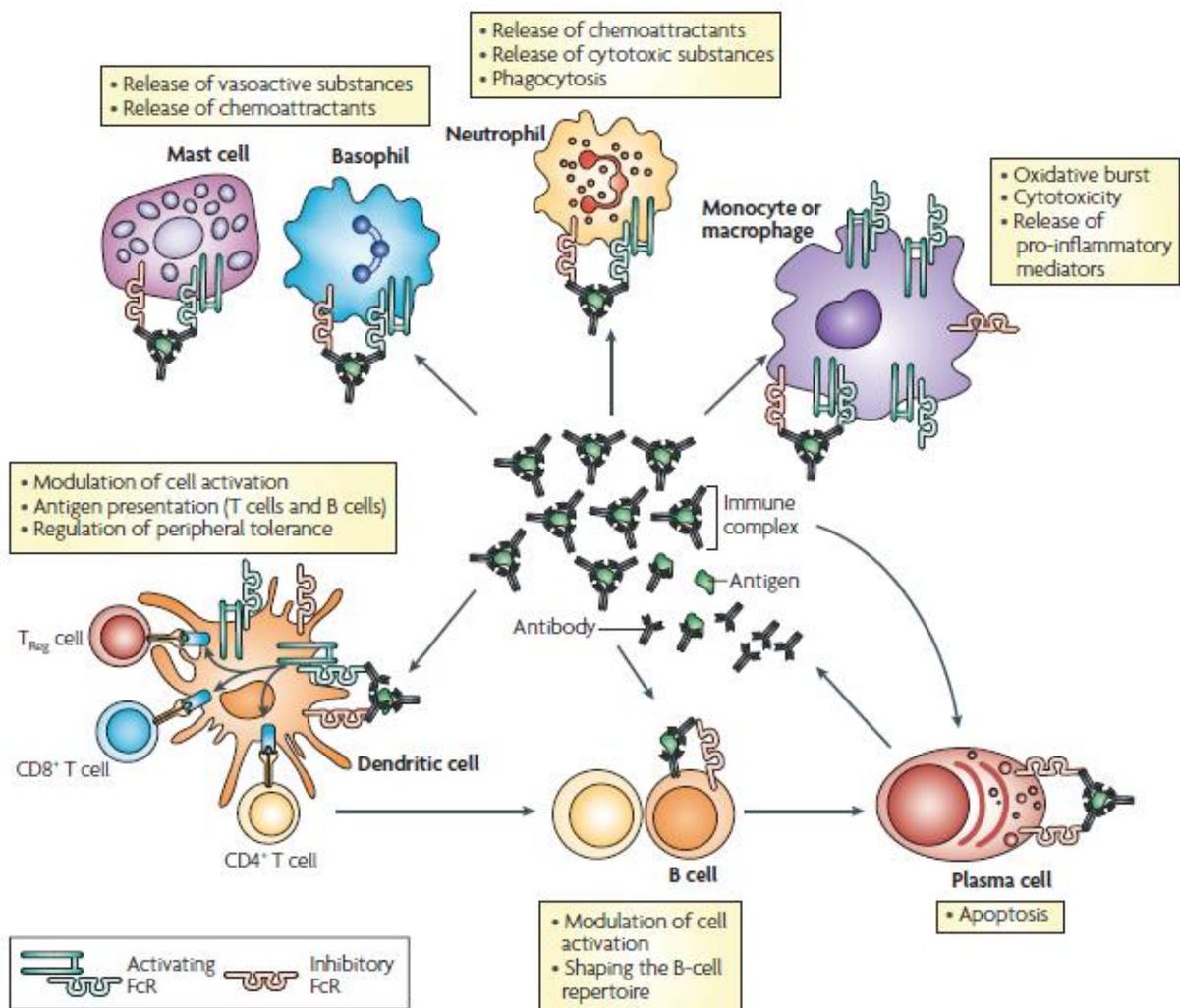


Figure 9: Résumé de la répartition des FcR sur les cellules de l'immunité et principaux effets médiés.

La formation de complexes immuns permet la réalisation de pontages entre les FcR et l'activation de leurs fonctions (Nimmerjahn 2008).

Il existe des polymorphismes des gènes codant pour les FcR qui sont responsables de variations inter-individuelles d'affinité de liaison d'un isotype donné pour un FcR spécifique. De la même manière, les polymorphismes des gènes codant pour les chaînes lourdes (variations allotypiques) peuvent modifier l'affinité de liaison d'un isotype pour un FcR spécifique (voir 1.2.3.2). L'affinité de la liaison au FcR peut également être augmentée lorsque l'immunoglobuline est liée à son antigène-cible, renforçant ainsi ses interactions avec les cellules de l'immunité (voir 1.2.1.3).

La liaison des anticorps thérapeutiques de type IgG aux Fc γ R participe à leur mécanisme d'action en leur permettant d'interagir avec les cellules de l'immunité innée notamment (voir 1.1.6.3). La structure de l'anticorps thérapeutique, en particulier la présence ou non de fragment Fc et l'affinité de liaison aux Fc γ R, influence donc son mécanisme d'action.

1.1.3.2 Le récepteur néonatal au fragment Fc

Le récepteur néonatal au fragment Fc (FcRn), ou récepteur de Brambell, est un récepteur appartenant à la famille du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I (CMH-I), découvert en 1963 par Roger Brambell. Ce récepteur est capable de lier le fragment Fc des IgG avec une affinité dépendante du pH, faible à pH sanguin mais qui augmente lorsque le pH diminue. Le FcRn ne lie pas les autres isotypes d'immunoglobulines, mais est capable de lier l'albumine, sur des sites de liaison distincts de ceux des IgG (Magdelaine-Beuzelin 2009).

Il est exprimé dans de nombreux tissus chez l'Homme, notamment à la surface des cellules endothéliales dans les lits vasculaires des muscles squelettiques, de la peau et du foie, et à la surface des cellules présentatrices d'antigène (monocytes/macrophages, cellules dendritiques et lymphocytes B). Il est également présent à la surface d'autres types cellulaires variés, comme les cellules de divers épithéliums (cellules tubulaires rénales, entérocytes, kératinocytes, cellules des épithéliums pulmonaire et bronchique), les hépatocytes, ou encore les cellules de Küppfer et les macrophages de la pulpe rouge splénique (Latvala 2017).

Le FcRn est impliqué dans plusieurs aspects de la pharmacocinétique des IgG (voir 1.1.5). Il est notamment responsable du recyclage et de la transcytose des IgG endogènes et thérapeutiques. C'est ce recyclage qui, en protégeant les IgG de la dégradation lysosomale, leur confère leur longue demi-vie (21 jours environ pour une IgG1 humaine) comparativement aux autres isotypes. Le FcRn est également responsable du transfert de l'immunité de la mère à l'enfant.

Il existe des polymorphismes génétiques responsables de variations de l'expression du FcRn qui modifient la pharmacocinétique des anticorps (Passot 2013). La structure de l'anticorps thérapeutique (sous-classe, présence ou non de Fc, glycosylation du Fc) influence son affinité de liaison au FcRn, et donc sa demi-vie, mais également sa capacité à traverser la barrière placentaire et sa distribution tissulaire. La capacité et l'affinité de liaison au FcRn sont donc des déterminants majeurs de la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux thérapeutiques.

1.1.4. Structures utilisées en thérapeutique

1.1.4.1 Anticorps complets

Les structures les plus utilisées en médecine humaine sont les anticorps complets. Les anticorps monoclonaux actuellement commercialisés sont des IgG, en grande majorité des IgG1, mais il existe également quelques IgG2 (par exemple, le denosumab) ou IgG4 (par exemple, le natalizumab). Outre leur isotype, les anticorps utilisés en thérapeutique diffèrent par l'origine (humaine ou animale) des fragments et domaines qui les composent.

Historiquement, le premier anticorps monoclonal utilisé chez l'Homme à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) était d'origine animale. Il s'agissait du muromonab OKT-3 (Orthoclone®), un anticorps entièrement murin dirigé contre le CD3, utilisé en prévention du rejet de greffe en transplantation, approuvé par la *Food and Drug Administration* (FDA) en 1985 puis par l'Afssaps (actuelle Agence Nationale de Sécurité du Médicament ou ANSM) en 1986. Le muromonab, l'un des seuls anticorps monoclonal entièrement murin utilisé en médecine humaine, a été retiré du marché en France en 2010. Par la suite, de nombreuses structures alternatives sont apparues : d'abord les anticorps

chimériques (« -xumabs »), composés de domaines constants d'origine humaine et de domaines variables d'origine murine, puis les anticorps humanisés (« -zumabs »), dont seuls les CDR sont d'origine murine, et enfin les anticorps entièrement humains (« fully-human » ou « -mumabs ») dont la séquence peptidique entière est d'origine humaine.

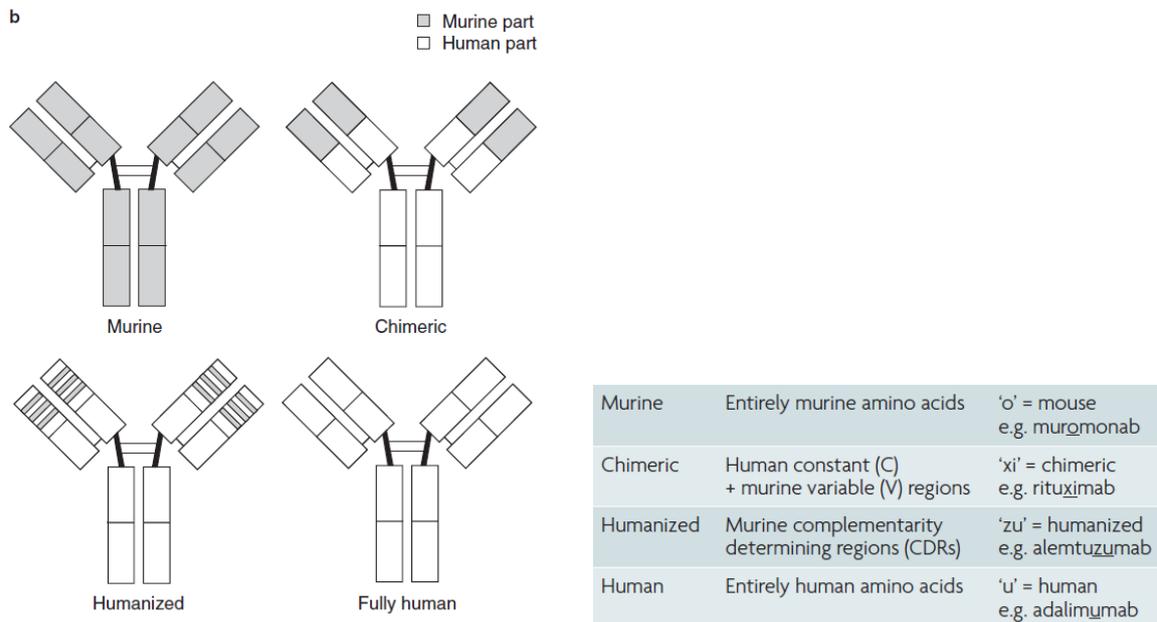


Figure 10: Nomenclature des anticorps.

Structures d'immunoglobulines complètes utilisées en thérapeutique (Keizer 2010) et nomenclature correspondante (Hansel 2010).

La sous-classe d'IgG ainsi que l'origine (humaine ou animale) des anticorps monoclonaux thérapeutiques ont un impact direct sur leur tolérance, leur pharmacocinétique et leur pharmacodynamie.

Les portions non-humaines sont immunogènes et sont donc à l'origine de réactions immunitaires dirigées contre l'anticorps thérapeutique, qui se manifestent par la production d'anticorps anti-médicament. L'immunogénicité dépend théoriquement de la proportion de séquence d'origine non-humaine présente dans la structure : ainsi, les anticorps chimériques sont les plus immunogènes, et les anticorps entièrement humains sont les moins immunogènes. Néanmoins, il existe une très grande hétérogénéité des techniques analytiques utilisées pour détecter et quantifier les anticorps anti-médicaments, avec pour conséquence une évaluation difficile du pourcentage réel de patients qui s'immunisent et des conséquences de l'immunisation. L'immunogénicité semble liée au profil de tolérance,

avec des évènements indésirables plus fréquents avec les anticorps chimériques et plus fréquents chez les patients qui ont développé des anticorps anti-médicament. L'immunogénicité des anticorps thérapeutiques est abordée en détail plus tard dans ce travail (voir 1.1.7).

L'origine et la structure de l'anticorps influencent également l'affinité de liaison des Fc des IgG aux différents types de FcγR, en plus d'autres facteurs déjà évoqués précédemment (voir 1.1.3.1). Ainsi, les Fc d'IgG murines lient moins bien les FcγR humains que les Fc d'IgG humaines. Les IgG1 ont l'affinité de liaison aux FcγR la plus forte. Au contraire, les IgG4 lient peu les récepteurs FcγR. L'origine du Fab joue également un rôle : les anticorps chimériques dont le Fab est partiellement murin peuvent, selon la structure du Fc, lier moins bien les FcγR que les anticorps humanisés ou entièrement humains. De façon analogue, l'origine du Fc et la nature du Fab des IgG influencent l'affinité de liaison au FcRn ; les IgG monoclonales entièrement humaines sont celles dont l'affinité de liaison est la plus proche de celle des IgG endogènes, ce qui se traduit par une pharmacocinétique proche de celle des IgG endogènes. La structure des anticorps thérapeutiques influence ainsi leur affinité de liaison aux FcγR et au FcRn, et donc influence leur pharmacodynamie et leur pharmacocinétique, respectivement.

En conséquence, on observe une modification des structures commercialisées, avec une proportion de plus en plus importante d'anticorps humanisés et humains (Tsumoto 2019).

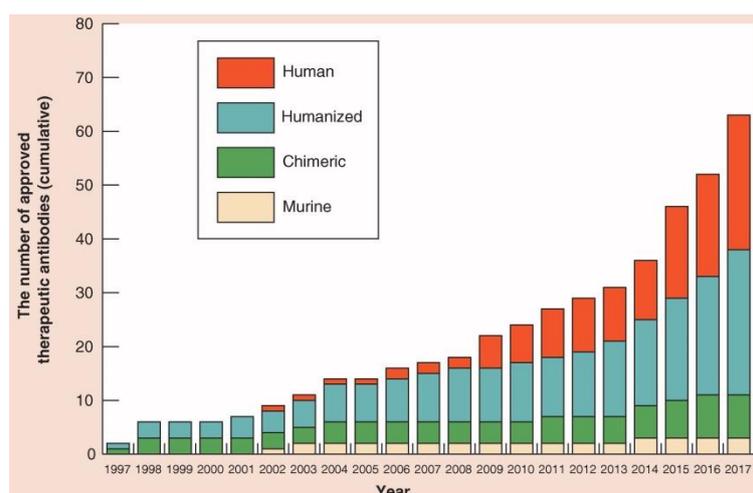


Figure 11: Répartition des structures d'anticorps approuvés par la FDA entre 1997 et 2017.

Le nombre d'anticorps murins approuvés est très faible et comprend majoritairement des anticorps destinés au diagnostic en imagerie. Les anticorps humanisés et humains, ayant des profils pharmacocinétique et de tolérance plus favorables, sont les plus nombreux (Tsumoto 2019).

1.1.4.2 Fragments, protéines chimériques et anticorps modifiés

De nombreuses structures alternatives aux anticorps monoclonaux complets ont été développées. Parmi elles, on retrouve notamment les fragments d'anticorps et les protéines chimériques.

Fragments Fab et F(ab')₂

Les fragments d'anticorps utilisés actuellement en thérapeutique humaine sont des Fab ou des F(ab')₂. Ils portent la spécificité de liaison à l'antigène d'intérêt, mais ne permettent pas d'effets médiés par le Fc, celui-ci étant absent. Les Fragments Fab et F(ab')₂ sont donc utilisés essentiellement pour leurs propriétés neutralisantes. Ces propriétés sont bien illustrées par le ranibizumab, Fab anti-VEGF-A, ou encore les F(ab')₂ anti-digitaliques ou anti-venin de vipère, utilisés comme antidotes. Dans ces deux derniers cas, les F(ab')₂ sont polyclonaux, dirigés contre divers antigènes de surface des digitaliques et des protéines de venin de vipère, et issus de l'immunisation d'animaux. Un autre exemple de Fab monoclonal est l'abciximab, anti-GPIIb/IIIa qui inhibe la liaison du fibrinogène au récepteur GPIIb/IIIa et inhibe ainsi l'agrégation plaquettaire. Il s'agit ici d'une propriété antagoniste. L'absence de fragment Fc permet aux Fab et aux F(ab')₂ d'avoir une activité pharmacologique passant uniquement par la liaison à leur antigène-cible, en bénéficiant de la haute affinité de liaison des anticorps, sans effets médiés par les FcR ; de plus, l'absence de Fc leur confère une demi-vie courte comparativement aux anticorps complets, due à l'absence de liaison au FcRn. Il s'agit d'un critère de choix dans les traitements d'urgence, mais au contraire cette propriété n'est pas recherchée dans le cadre des traitements chroniques où une demi-vie longue permet de réduire la fréquence des administrations.

Protéines chimériques

Les protéines chimériques sont des chimères obtenues en fusionnant un fragment provenant d'un anticorps avec une autre structure d'intérêt. Les protéines chimériques dérivées des anticorps monoclonaux couplent un récepteur humain recombinant à un fragment Fc d'IgG1 humaine. On peut citer comme exemple l'étanercept, fusion d'un Fc

d'IgG1 humaine avec la portion extracellulaire du récepteur humain au TNF α (p75/TNF-R2), ou l'abatacept, fusion d'un Fc d'IgG1 humaine avec le domaine extracellulaire de CTLA-4. Grâce à la présence du fragment Fc, les protéines chimériques peuvent interagir avec le FcRn et ont donc une demi-vie relativement longue, bien que plus courte que celle des IgG entières. Cependant, l'absence des fragments Fab modifie l'interaction du Fc avec les FcR (FcRn et Fc γ R) et influence donc la demi-vie et les effets médiés par la liaison aux Fc γ R. Les protéines chimériques ont en conséquence des demi-vies intermédiaires, entre celles des anticorps complets et des fragments sans Fc, et ont en général des effets médiés par les Fc γ R de moindre intensité que les anticorps complets. De plus, le pontage des Fc γ R est plus difficile étant donné l'existence d'un unique site de liaison, au contraire des anticorps complets (voir 1.2.1.3).

Anticorps et fragments modifiés

Plus récemment, la progression des connaissances concernant les relations structure-affinité de liaison et structure-activité des anticorps a conduit à proposer des modifications des structures naturelles pour produire des anticorps dont les propriétés sont mieux maîtrisées. Diverses techniques ont été mises au point pour caractériser la liaison de l'anticorps à sa cible et aux différents FcR, mais aussi à d'autres structures comme l'albumine (liaisons aspécifiques) et ainsi de déterminer les séquences peptidiques qui influencent les affinités de liaisons. Sont ainsi en cours de développement des IgG dont le fragment Fc a été modifié pour augmenter l'affinité de liaison aux FcR et consécutivement la demi-vie et les effets, médiés par la liaison au FcRn et aux Fc γ R, respectivement. De même, la nature et la quantité des résidus glycosylés retrouvés sur le fragment Fc modifient les affinités de liaison et la modification de ces résidus permet d'optimiser les propriétés du Fc des anticorps monoclonaux (« *glyco-engineering* »). On retrouve également dans la littérature des protéines chimériques constituées d'un Fc d'IgG1 portant des mutations ponctuelles qui augmentent leur affinité de liaison aux FcR et ainsi leur demi-vie et leurs effets médiés par la liaison aux Fc γ R (voir 1.2.1.3).

De façon plus marginale, on retrouve l'exemple de la modification d'un Fab avec le certolizumab pegol, constitué d'un fragment Fab unique dirigé contre le TNF α , lié à une

molécule de polyéthylène glycol (PEG). Le Fab apporte l'activité anticorps, et le PEG augmente sa demi-vie, celle-ci étant fortement réduite par l'absence de fragment Fc et donc d'interaction avec le FcRn.

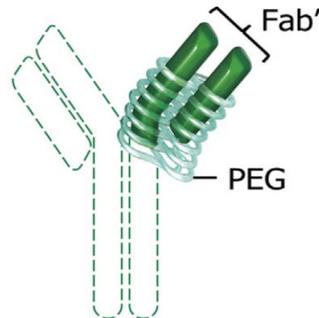


Figure 12: Représentation schématique de la structure du certolizumab pegol.

L'ajout d'une molécule de PEG augmente la demi-vie du Fab, qui porte la spécificité antigénique (Porter 2016).

Enfin, de nombreux travaux sont en cours également pour créer des structures alternatives : anticorps complets bi-spécifiques, fragments bi-, tri- voire tétravalents, ou encore nanobodies (domaine VHH des chaînes d'Ig de camélidés) en sont des exemples.

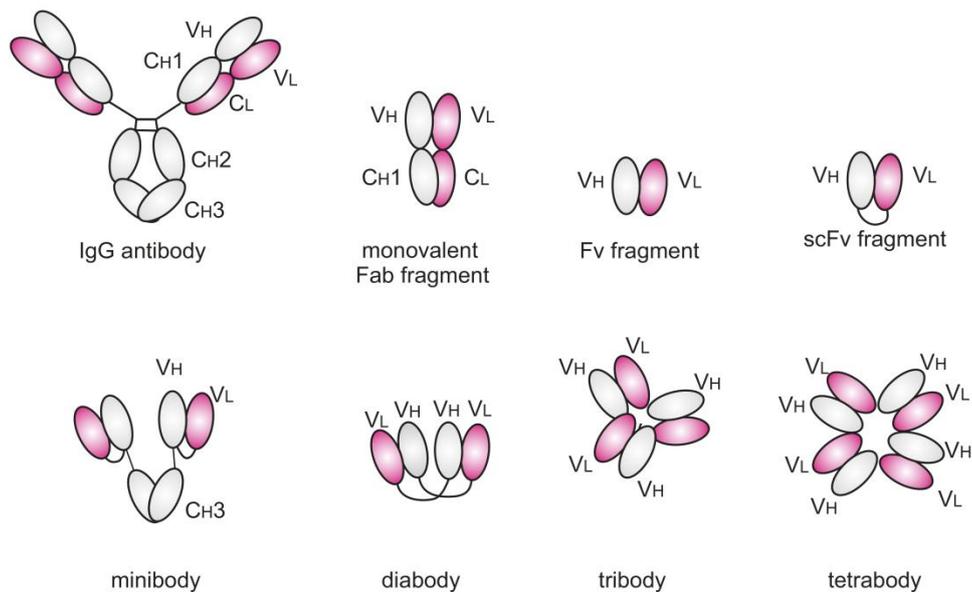


Figure 13: Représentation schématique de quelques structures issues des anticorps thérapeutiques actuellement utilisées ou testées.

1.1.5. Propriétés pharmacocinétiques générales

Les anticorps thérapeutiques ont des propriétés pharmacocinétiques qui sont uniques dans le monde du médicament, pour part identiques à celles des anticorps endogènes dont ils partagent la structure. Leur nature protéique et leur haut poids moléculaire leur confèrent des caractéristiques très particulières, et leur capacité de liaison à l'antigène et aux FcR résulte en des phénomènes pharmacocinétiques qui leur sont spécifiques.

1.1.5.1 Absorption

Chez l'Homme, les anticorps ne sont presque pas absorbés lorsqu'ils sont administrés par voie orale, avec une biodisponibilité de l'ordre de 1-2% (Ovacik 2018). En conséquence, les anticorps thérapeutiques ne sont à l'heure actuelle administrés que par voie parentérale, en sous-cutané (SC) ou en intraveineux (IV), plus rarement en intramusculaire. Des études ont permis de comparer les expositions, estimées par l'aire sous la courbe des concentrations (ASC) extrapolée à l'infini (ASC_{0-inf}) suite à des administrations par voie IV et par voie SC. Elles ont révélé que la biodisponibilité par voie SC n'était pas de 100%, mais plutôt de l'ordre de 40-70%, avec une grande variabilité inter-individuelle, suggérant l'existence d'une dégradation *in situ* d'une partie de la dose totale administrée. Les mécanismes responsables de cette dégradation ne sont pas clairement élucidés.

Suite à l'administration SC, les anticorps seraient résorbés *via* la lymphe, ce qui expliquerait que les concentrations plasmatiques d'anticorps augmentent lentement. En effet, le débit des vaisseaux lymphatiques étant faible, la résorption, supposément par convection, est lente. En conséquence, il faut plusieurs jours (3 à 5 en général) pour atteindre la concentration maximale (C_{max}). L'implication du FcRn dans l'absorption SC des anticorps a été évoquée. En effet une étude chez la souris a montré une biodisponibilité accrue des anticorps lorsque l'affinité de liaison au FcRn était plus importante ; une étude chez le macaque n'a cependant pas mis en évidence de relation analogue et il n'existe pas de données chez l'Homme (Giragossian 2013).

Une étude récente a permis de montrer que l'absorption des anticorps monoclonaux par le tissu sous-cutané peut être modélisée par une équation de Hill dont les paramètres sont

influencés par plusieurs facteurs. Ainsi, le pH et la viscosité de la formulation, le point isoélectrique (pI) de l'anticorps, sa charge à pH physiologique et sa concentration influencent la quantité maximale absorbable (autrement dit la biodisponibilité) et la vitesse de l'absorption (autrement dit, la valeur de la constante d'absorption k_a) (Bown 2018). Ces éléments corroborent les résultats d'une étude pharmacocinétique sur le LY2189102 (anti-IL-1 β) dans laquelle la biodisponibilité a été décrite comme une fonction de la dose administrée (Bihorel 2014).

En marge des administrations parentérales, des travaux sont en cours avec des administrations par voie orale (Ilan 2018) ou encore par nébulisation dans les voies aériennes (Respaud 2015). En pré-clinique, l'administration de fragments d'anticorps anti-TNF α par voie orale a été testée dans le but d'exercer une action localisée sur l'intestin (Crowe 2018).

Données de pharmacocinétique

Les études pharmacocinétiques décrivent généralement la résorption à partir du tissu sous cutané comme étant d'ordre 1, c'est-à-dire proportionnelle à la quantité d'anticorps présente dans le compartiment de dépôt (ici le site d'injection). Dans les modèles pharmacocinétiques compartimentaux publiés dans la littérature, les valeurs de la constante d'absorption k_a suite à une administration SC varient entre 0.125 et 1.83 j^{-1} (médiane 0.264 j^{-1}), soit une demi-vie d'absorption de 0.38 à 5.54 jours (médiane 2.63 jours), sans différence notable entre les anticorps complets et les fragments, ce qui tend à confirmer l'absence de rôle du FcRn dans le processus d'absorption. Parfois, le processus d'absorption a été décrit avec un temps de latence ou *lag-time* de l'ordre de 3h (Muralidharan 2017). Du fait de la demi-vie très longue de l'anticorps et d'intervalles d'injection adaptés à cette demi-vie (1 à 4 semaines en général), le profil pharmacocinétique suite à une administration SC est réputé assez « plat », avec peu de différence entre la C_{max} et la concentration résiduelle (C_{min}), bien qu'il existe une grande variabilité inter-individuelle. De manière intéressante, on ne dispose pas de données sur l'influence éventuelle de lésions cutanées sur l'absorption des anticorps. Notamment, les études dans le psoriasis n'ont pas évalué l'éventuelle influence des plaques sur la résorption des anticorps suite à une administration SC (Suleiman 2019).

1.1.5.2 Distribution

Mécanismes de la distribution

La distribution tissulaire des anticorps résulte de l'équilibre entre 3 phénomènes : (1) l'extravasation hors des vaisseaux sanguins vers le liquide interstitiel, au contact des tissus, (2) la liaison tissulaire et (3) la clairance tissulaire (Ryman 2017).

L'extravasation fait intervenir trois processus : la diffusion, la convection et la transcytose. Diffusion et convection sont des mécanismes passifs, alors que la transcytose est un mécanisme actif. La diffusion à travers les cellules endothéliales est un phénomène minoritaire, du fait de la taille et de la polarité des anticorps qui rendent difficile la traversée de la membrane cellulaire lipophile (Wang 2008, Glassman 2015, Ryman 2017). Le transport paracellulaire par convection serait le mécanisme majoritaire de l'extravasation des anticorps (Wang 2008, Ryman 2017, Liu 2018). La convection correspond au transport à travers l'endothélium *via* les pores qu'il comporte, dans le sens du gradient de pression hydrostatique. La convection est donc influencée par le différentiel de débit et de pression oncotique entre le sang et le liquide interstitiel, et par l'effet de tamis moléculaire (« *sieve effect* ») lié à la taille et au nombre des pores (Glassman 2015, Ryman 2017). L'architecture vasculaire est ainsi un déterminant majeur de la distribution tissulaire des IgG. La convection est limitée par l'existence d'un différentiel de pression faible entre le sang le milieu interstitiel, mais est facilitée par une porosité capillaire élevée ; les capillaires sinusoides par exemple, dont les pores sont nombreux et mesurent 100nm de diamètre, permettent le libre passage des anticorps. A l'inverse, les endothéliums continus et riches en jonctions serrées constituent une barrière peu perméable aux anticorps. (Tabrizi 2010, Ryman 2017). La densité de la vascularisation est un paramètre à prendre en compte ; à perméabilité capillaire égale, l'extravasation sera plus importante si le tissu est richement vascularisé. L'imperméabilité relative de l'endothélium et d'autres épithéliums aux anticorps peut être surmontée par la transcytose.

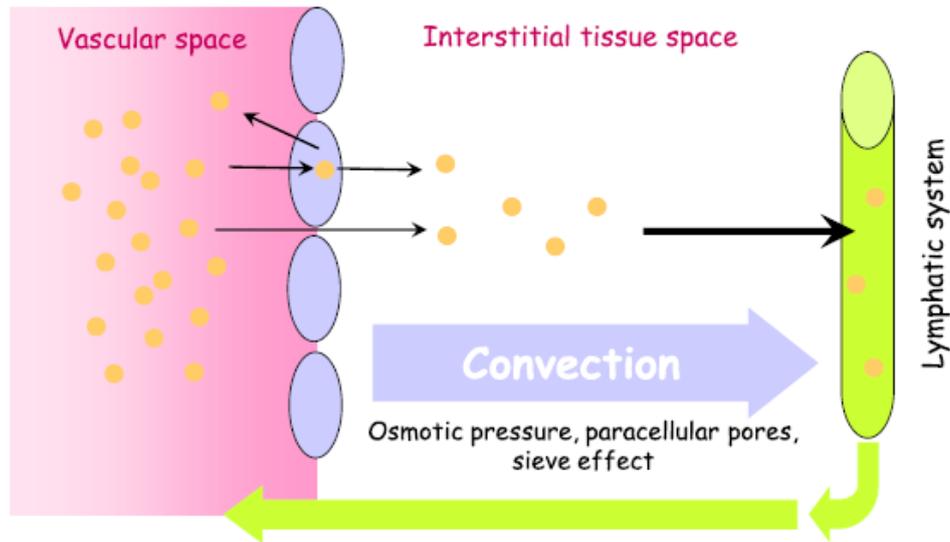


Figure 14: Représentation schématique des mécanismes de la distribution interstitielle des anticorps.

La convection est le mécanisme principal de l'extravasation hors des vaisseaux sanguins et de la résorption par les vaisseaux lymphatiques (Ryman 2017).

Distribution tissulaire et liaison à l'antigène

Les anticorps ont une distribution tissulaire limitée. Les études sur IgG radiomarquées ont montré une distribution extravasculaire totale de l'ordre de 50% (Giragossian 2013). Les ratios de concentration tissu/plasma établis chez l'animal sont en général inférieurs ou égaux à 0.2. Les ratios de concentration liquide interstitiel/plasma sont compris entre 0.3 et 0.5 dans la peau et les muscles (Giragossian 2013). Les concentrations dans le liquide interstitiel des tissus sont donc globalement faibles comparativement aux concentrations sanguines. Cela peut s'expliquer par une extravasation limitée comme évoqué précédemment, mais également par un catabolisme tissulaire élevé. Ce catabolisme dépend de la capacité de l'anticorps à se lier aux cellules tissulaires et de la vitesse de résorption par les vaisseaux lymphatiques (Liu 2018).

En 2013, sur la base de données expérimentales, les coefficients de distribution des IgG (*antibodies biodistribution coefficients* ou ABC) ont été établis pour de nombreux tissus, montrant une corrélation linéaire entre les concentrations plasmatiques et les concentrations tissulaires pour les anticorps non liés. Ces coefficients de distribution sont néanmoins très différents entre les tissus, en cohérence avec l'impact de la vascularisation sur la distribution tissulaire. Les coefficients de distribution sont élevés (>10% de la

concentration plasmatique) dans les tissus richement vascularisés avec une vasculature perméable : la peau, le poumon, le rein, la rate et le foie. Ces données sont cohérentes avec les sites de distribution préférentiels rapportés *in vivo* : foie, rate et moelle osseuse, qui sont des tissus très vascularisés et riches en capillaires sinusoides (Tabrizi 2010, Glassman 2015). Au contraire, le coefficient de distribution au niveau cérébral est très faible (0.35% de la concentration plasmatique) (Shah 2013), ce qui s'explique par la richesse en jonctions serrées de la barrière hémato-encéphalique et concorde avec les concentrations mesurées *in vivo* dans le liquide cérébro-spinal (LCS) qui sont de l'ordre de 100 à 1000 fois plus faible que les concentrations plasmatiques. Les anticorps ne passent pas non plus la barrière hémato-oculaire (Giragossian 2013).

Ces coefficients de distribution ne sont toutefois valables que lorsque le tissu n'exprime pas l'antigène-cible de l'anticorps. En effet, les anticorps monoclonaux ont tendance à s'accumuler préférentiellement dans les tissus qui contiennent leur cible antigénique ; cela implique que la distribution des anticorps thérapeutiques est directement liée à la nature et à la quantité de cible, à sa localisation physiologique et/ou pathologique, mais également à l'affinité de liaison de l'anticorps. Ainsi, la distribution peut être impactée par la réduction rapide des concentrations plasmatiques d'anticorps libre, qui est d'autant plus rapide que l'anticorps est affin pour sa cible. Pour les antigènes circulants, la concentration circulante d'anticorps libre est rapidement réduite par l'association de l'anticorps à sa cible sous forme de larges complexes immuns. De façon analogue, pour les antigènes de surface l'équilibre entre les concentrations plasmatiques et tissulaires est dépendant de la vitesse d'internalisation du complexe antigène-anticorps dans la cellule, et de la vitesse à laquelle l'antigène libre est à nouveau exprimé à la surface cellulaire (Tabrizi 2010).

L'affinité de liaison influence également la distribution tissulaire par le phénomène de « *binding site barrier* ». Sur des tumeurs surexprimant HER2, il a été montré que la pénétration intratumorale était plus élevée avec des anticorps d'affinité modérée qu'avec des anticorps d'affinité forte. Cela a été attribué à une accumulation de l'anticorps en surface de la tumeur due à une affinité trop élevée, l'empêchant de pénétrer en profondeur dans le tissu. Ce résultat a par la suite été confirmé avec un anticorps anti-CD44 (Liu 2018). Dans le cas particulier des tumeurs, l'altération de l'architecture vasculaire et les pressions interstitielles élevées altèrent également la distribution des anticorps.

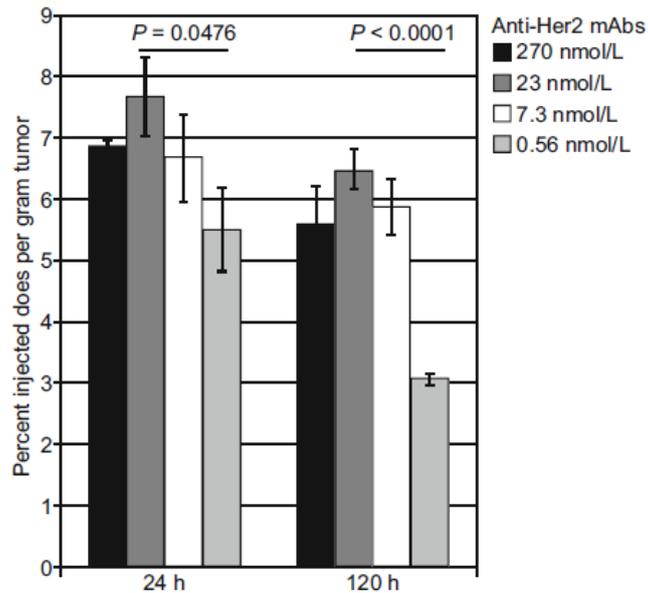


Figure 15: Relation entre l'affinité pour HER2 et la pénétration dans une tumeur exprimant HER2.

Au-delà d'un certain seuil, l'augmentation de l'affinité de liaison pour HER2 résulte en une réduction de la pénétration intra-tumorale de l'anticorps anti-HER2 (Rudnick 2011).

Clairance tissulaire

La clairance tissulaire résulte de deux mécanismes : la convection et le catabolisme. La convection serait le mécanisme principal. Le diamètre et la porosité des vaisseaux lymphatiques sont plus élevés que ceux des capillaires sanguins, facilitant la convection. Le fait que la convection vers les vaisseaux lymphatiques soit plus efficace que la convection hors des vaisseaux sanguins explique en partie que les concentrations d'anticorps libre soient bien plus faibles dans le liquide interstitiel et les tissus que dans le sang (Glassman 2015). Le catabolisme tissulaire résulte de l'internalisation de l'anticorps dans les cellules, par des mécanismes spécifiques ou non-spécifiques (voir 1.1.5.5 et 1.1.5.6).

Rôle du FcRn et de la transcytose dans la distribution

Le FcRn jouerait un rôle mineur dans la distribution des anticorps. En effet, chez des souris KO pour le gène codant la beta-2-microglobuline ($\beta 2m^{-/-}$), l'une des deux chaînes du FcRn, il a été observé que les ratios de concentration tissu/plasma étaient peu différents comparativement aux souris sauvages. Cela est cohérent avec une distribution majoritairement passive par convection et diffusion des anticorps. Néanmoins, l'exposition tissulaire était significativement réduite dans la peau, suggérant le rôle du FcRn dans la distribution active des anticorps dans ce tissu, possiblement par transcytose (Garg 2007).

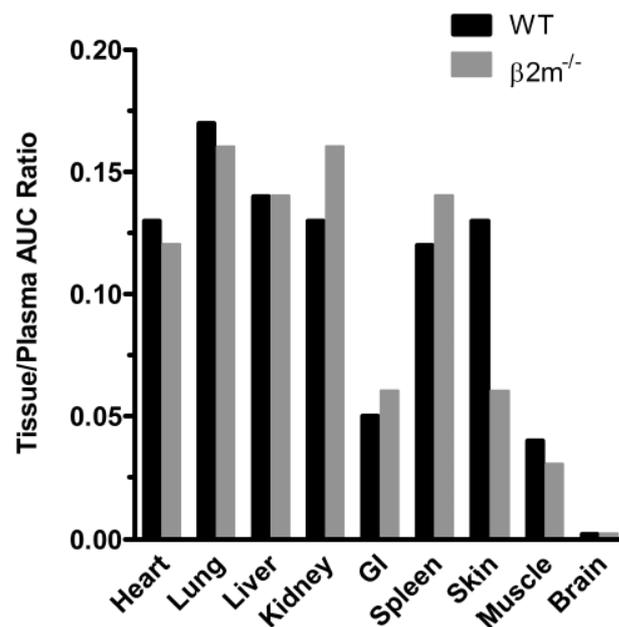


Figure 16: Influence du FcRn sur la distribution tissulaire des anticorps.

La comparaison des ratios de concentration tissu/plasma entre des souris sauvages (WT) et des souris KO pour le gène de la beta-2-microglobuline ($\beta 2m^{-/-}$) montre que le FcRn influence peu la distribution, sauf dans la peau (Garg 2007).

La transcytose correspond à un système de transport où une vésicule d'endocytose contenant des IgG est transportée jusqu'au pôle opposé de la cellule. A l'intérieur de la vésicule d'endocytose, la liaison du Fc des IgG au FcRn permet d'éviter leur dégradation lors du transport intracellulaire (voir 1.1.5.5). La transcytose semble jouer un rôle mineur dans la distribution tissulaire, en cohérence avec les données qui ne montrent pas de modification de la distribution en l'absence de FcRn. Pourtant, le rôle de la transcytose a été évoqué dans quelques situations particulières.

Chez le jeune rongeur, elle permet la transmission des IgG du lait maternel à travers la barrière entérocytaire ; ce mécanisme n'est pas retrouvé chez l'Homme. En effet, chez l'Homme les concentrations d'IgG dans le lait maternel 10 jours après l'accouchement sont seulement de 0.04 fois les concentrations sériques, ce qui s'ajoute à un transport trans-intestinal peu efficient comparé aux rongeurs (Giragossian 2013). Cependant, le FcRn est exprimé dans les entérocytes humains et il permettrait la transcytose des IgG dans sang vers le *lumen* intestinal puis le retour des complexes immuns, ensuite internalisés par les cellules présentatrices d'antigènes. De cette façon, le FcRn contribuerait à l'immunité au niveau du tractus intestinal (Roopenian 2007).

Chez l'Homme, le transfert d'immunité de la mère à l'enfant semble majoritairement dépendre du transport transplacentaire dépendant du FcRn (Giragossian 2013). Cela a été démontré *in vitro* sur placenta perfusé : l'abolition sélective de la liaison au FcRn des IgG1, sans atteinte des capacités de liaison aux autres FcR, résultait en une disparition du transfert transplacentaire (Firan 2001).

Le FcRn serait également impliqué dans la transcytose des IgG hors du système nerveux central à travers les cellules endothéliales de la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE) (Roopenian 2007). Cet efflux, couplé à l'absence de traversée de la BHE saine, implique l'utilisation d'administrations intrathécales pour atteindre des concentrations thérapeutiques dans le LCS (Tabrizi 2010).

Enfin, il a été rapporté qu'une expression accrue du FcRn était associée à une vitesse de distribution réduite du cetuximab chez l'Homme ; cela illustre bien l'existence d'un rôle du FcRn dans la distribution tissulaire à l'échelle de l'individu, mais également sa complexité (Passot 2013).

Données de pharmacocinétique

Lorsque les données sont suffisamment riches, les modèles compartimentaux décrivent pour les anticorps thérapeutiques administrés par voie IV une pharmacocinétique bicompartimentale, avec une décroissance bi-exponentielle des concentrations après le pic. La première phase de décroissance correspond à l'étape de distribution tissulaire. Celle-ci est rapide, comparativement à la seconde phase correspondant à l'élimination terminale. La

demi-vie de distribution médiane des anticorps complets est de l'ordre de 1.5 jours. Le volume de distribution périphérique médian est de 3.3L, du même ordre de grandeur que le volume de distribution central, ce qui est cohérent avec les données qui indiquent une distribution tissulaire limitée et une distribution extravasculaire d'environ 50%.

1.1.5.3 Métabolisme

Les anticorps thérapeutiques ne subissent pas de métabolisme au sens où on l'entend habituellement en pharmacocinétique ; ils ne subissent pas de réaction de phase 1 ni de phase 2, et leur élimination est donc indépendante des cytochromes P450 (CYP450) et des enzymes de conjugaison. Les principales conséquences en sont l'absence de nécessité d'adaptation posologique en cas d'insuffisance hépatique, et l'absence théorique d'interactions médicamenteuses avec les médicaments inducteurs ou inhibiteurs enzymatiques, ce qui facilite leur manipulation et leur association avec d'autres thérapeutiques médicamenteuses.

Les anticorps thérapeutiques ne sont néanmoins pas totalement exempts d'interactions médicamenteuses. Récemment, plusieurs études ont en effet démontré qu'un processus inflammatoire chronique était responsable d'un phénomène d'inhibition enzymatique capable de ralentir le métabolisme des médicaments pris en charge par exemple par les enzymes de la famille des CYP450. Ainsi, les anticorps thérapeutiques utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires sont capables, indirectement, de lever l'inhibition enzymatique résultant de l'inflammation chronique et ainsi de restaurer une activité métabolique basale, produisant un « faux effet » d'induction enzymatique (Clarivet 2016, Ferri 2016). Outre l'influence possible des anticorps thérapeutiques sur le métabolisme des autres médicaments, certains co-traitements peuvent modifier la pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques, principalement en jouant sur le mécanisme d'élimination spécifique (voir 1.1.5.6 et 1.2.3). Les anticorps thérapeutiques en association, bien que rarement utilisés actuellement, sont également susceptibles de perturber leurs distributions ou leurs éliminations respectives : on citera notamment l'exemple du bevacizumab, anti-VEGF capable de normaliser ou de détruire la vascularisation tumorale selon les modalités de traitement (posologie, durée) (Jain 2013). Selon son action sur la vascularisation tumorale, le bevacizumab peut faciliter ou à l'inverse inhiber la distribution des autres

anticorps thérapeutiques au sein de la tumeur, et modifie en conséquence l'accès à l'antigène cible et l'élimination spécifique (Arjaans 2013). De façon similaire, le bevacizumab pourrait faciliter ou altérer la distribution d'autres médicaments anticancéreux de par son action sur la vascularisation de la tumeur, comme cela a été démontré avec le docétaxel par exemple (Van der Veldt 2012).

1.1.5.4 Excrétion directe

Dans les conditions physiologiques, les IgG endogènes ne sont pas retrouvées dans les urines ni dans les selles. De manière analogue, les anticorps thérapeutiques ne devraient donc pas être excrétés par voie urinaire ni par voie fécale. L'élimination urinaire des anticorps est conceptuellement impossible du fait de la taille de l'anticorps (~150 kDa) comparativement au poids moléculaire maximal pouvant être filtré au niveau du glomérule rénal (~55 kDa) ; elle est donc considérée comme négligeable (Ovacik 2018). Cependant, la présence du FcRn dans certains épithéliums, au niveau du rein et de l'intestin par exemple, laisse supposer une élimination possible des IgG dans les urines ou les selles par d'autres mécanismes (transcytose). Une étude a par exemple démontré une élimination urinaire d'IgG1 monoclonale de l'ordre de 22% chez des patientes atteintes de carcinome ovarien (Buist 1993). Dans certaines situations pathologiques, l'anticorps thérapeutique peut être retrouvé dans les urines du fait de lésions rénales et contribuer à une part substantielle de l'excrétion. Par exemple, une étude a retrouvé des concentrations de rituximab dans les urines de patients entre 0.1 et 47 µg/mL, soit un ordre de grandeur équivalent aux concentrations sériques circulantes (Jacobs 2017). De la même façon, il est possible d'observer une élimination d'anticorps dans les selles via l'exsudation colique dans les MICI (voir 1.2.3). En dehors de ces situations particulières, on retrouve également une corrélation inattendue entre la clairance de la créatinine et celle des anticorps thérapeutiques dans quelques études de pharmacocinétique compartimentale (Suleiman 2019). Cependant, la majeure partie de l'élimination des anticorps est la résultante de deux phénomènes distincts : l'élimination dite « non-spécifique » (voir 1.1.5.5) et l'élimination dite « spécifique » (voir 1.1.5.6).

1.1.5.5 *Élimination non spécifique*

On désigne sous le terme d'élimination « non-spécifique » l'ensemble des voies d'élimination des anticorps qui ne dépendent pas de sa liaison à son antigène-cible spécifique. En dehors de l'excrétion directe, minoritaire, il existe au moins deux mécanismes distincts qui contribuent à l'élimination non-spécifique des IgG endogènes et thérapeutiques : l'endocytose en phase fluide (ou pinocytose) et l'endocytose médiée par les récepteurs (Ovacik 2018).

Pinocytose et recyclage des anticorps

La pinocytose est le mécanisme le mieux élucidé. Les IgG, en concentration élevée dans le sang (de l'ordre de 10 g/L), sont pinocytées passivement par les cellules endothéliales exprimant à leur surface le FcRn. Suite à l'invagination de la membrane, les vésicules d'endocytose contenant les anticorps portent sur leur surface interne le FcRn. L'affinité de liaison du Fc des IgG au FcRn est pH-dépendante : elle est négligeable au pH plasmatique ($\text{pH} \approx 7.4$) et maximale pour un pH d'environ 6, avec une affinité de liaison nanomolaire ($K_D \approx 760 \text{ nM}$ à $\text{pH} = 5.8$) (Roopenian 2007, Abdiche 2015). Au contraire, l'acidification du milieu favorise la dissociation de la liaison spécifique de l'anticorps à sa cible antigénique. Les vésicules d'endocytose vont fusionner pour former des endosomes précoces, dont le pH interne est proche de celui du plasma, et les IgG qu'ils contiennent ne se lient donc pas au FcRn. Les endosomes vont ensuite s'acidifier progressivement, suite à la fusion avec des vésicules golgiennes portant des pompes à protons à leur surface, et deviennent alors des endosomes tardifs. La réduction du pH augmente l'affinité de liaison des anticorps au FcRn et dissocie les antigènes liés aux Fab. Les IgG contenues dans l'endosome tardif se lient donc au FcRn, dans la limite du nombre de molécules de FcRn disponibles. Les IgG qui ne sont pas liées au FcRn et les antigènes libérés suivent la voie lysosomale et sont dégradés par protéolyse ; cette voie correspond à l'élimination non-spécifique. Au contraire, les IgG liées au FcRn sont protégées de la dégradation et vont être redirigées vers la membrane cellulaire par des endosomes de recyclage, ce qui entraîne leur libération dans un milieu à pH neutre, permettant ainsi la désolidarisation de l'anticorps et du FcRn. Les anticorps sont alors libérés soit au niveau du pôle tissulaire, déterminant la transcytose, soit au niveau du pôle

vasculaire, déterminant le recyclage des anticorps (Roopenian 2007, Magdelaine-Beuzelin 2009).

Cette propriété de liaison au FcRn permettant le recyclage des IgG leur confère une demi-vie d'élimination très longue, de l'ordre de 21 jours chez l'Homme pour les IgG1, contre seulement 7 jours pour les IgG3 dont l'affinité pour le FcRn est plus faible. Des expérimentations sur un modèle murin transgénique exprimant le gène humain pour le FcRn ont montré que la demi-vie d'élimination des IgG humaines était drastiquement raccourcie (d'un facteur 10 environ) lorsque les souris étaient KO pour ce gène, comparativement à celles ayant un gène fonctionnel (Ryman 2017). Cette demi-vie longue est importante car elle confère une immunité durable suite à une réaction immunitaire humorale, et elle permet également de transférer une immunité durable de la mère à l'enfant lors du passage transplacentaire des IgG.

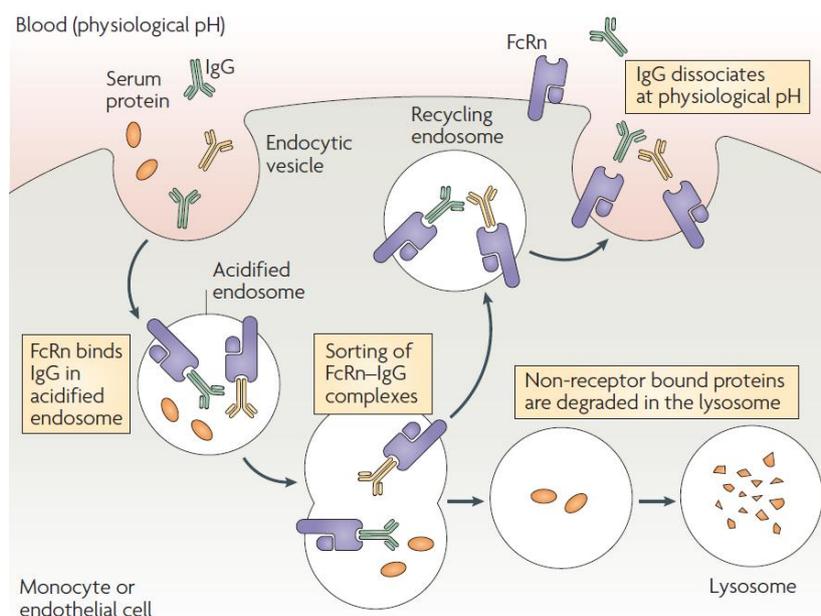


Figure 17: Recyclage des anticorps.

Le recyclage des IgG dans les cellules dépend de la protection des IgG contre la protéolyse conférée par leur liaison au FcRn à pH acide (Roopenian 2007).

D'autres molécules que les IgG sont capables de se lier au FcRn, en particulier l'albumine. On estime que 4/5^e des IgG et 50% de l'albumine endocytées sont protégées de la dégradation par le FcRn ; ce système de recyclage consommerait moins d'énergie que la synthèse de

novo de protéines. La pinocytose est un processus très actif, car la surface disponible à la surface des cellules endothéliales est très importante ($>1000\text{m}^2$) ; en l'absence de recyclage, la demi-vie des IgG est en conséquence très raccourcie. La dégradation non-spécifique des IgG intervient majoritairement dans les organes richement vascularisés : la peau, les muscles et le tractus gastro-intestinal (Ryman 2017).

Ainsi, l'albumine est un marqueur de l'activité catabolique de l'organisme ; un catabolisme élevé se traduit par une concentration circulante faible d'albumine et une clairance élevée des IgG, donc une concentration plus faible. L'inflammation chronique est également à l'origine d'un catabolisme accéléré responsable de concentrations plus faibles en albumine et en anticorps. Cette propriété a été mise en évidence dans plusieurs études de pharmacocinétique compartimentale, où on observe une relation inverse entre la concentration d'albumine et la clairance des anticorps thérapeutiques (Dirks 2010). De façon analogue, il a récemment été mis en évidence dans le cancer que la cachexie était probablement associée à une clairance élevée des anticorps thérapeutiques (Bajaj 2017, Li 2017, Baverel 2018). Enfin, il a été suggéré que la corrélation négative entre albumine sérique et clairance pouvait également provenir du niveau d'expression du FcRn, directement lié à la capacité de recyclage des IgG (Dirks 2010).

Endocytose médiée par les récepteurs

L'endocytose médiée par les récepteurs correspond à l'endocytose des IgG circulantes suite à la liaison du fragment Fc aux Fc γ R exprimés à la surface des monocytes/macrophages et cellules apparentées comme les cellules de Küpffer. Le devenir des IgG endocytées est le même que suite à une pinocytose. La contribution de ce mécanisme dans l'élimination non-spécifique des anticorps n'est pas totalement élucidée, mais on suppose qu'elle est de faible importance étant donnée la faible concentration des anticorps thérapeutiques par rapport aux IgG endogènes, qui entraîne une forte compétition de liaison (Wang 2008, Keizer 2010). De plus, il a été montré que la part d'élimination médiée par les Fc γ R n'était pas suffisamment importante pour modifier substantiellement la clairance totale (Mould 2010). Cela est cohérent avec une faible affinité des IgG libres (c'est-à-dire non liées à leur cible) pour les Fc γ R, limitant ainsi l'activation des fonctions effectrices cellulaires en l'absence

d'antigène (Rosales 2013). A l'inverse, l'affinité de liaison aux FcγR étant augmentée par la liaison de l'anticorps à sa cible antigénique, l'endocytose médiée par la liaison aux FcγR est facilitée lorsque l'anticorps est lié à l'antigène. Dans ce cas, on parle « d'élimination médiée par la cible », qui est un mécanisme d'élimination spécifique (voir 1.1.5.6) (Wang 2008, Ryman 2017, Ovacik 2018).

Demi-vie d'élimination et affinité de liaison au FcRn

Le recyclage des immunoglobulines, partagé par les anticorps endogènes et les anticorps thérapeutiques, est directement dépendant de la protection contre la protéolyse que confère la liaison au FcRn. Cela implique que l'affinité de liaison d'un anticorps thérapeutique au FcRn est susceptible de faire varier la demi-vie de l'anticorps thérapeutique : plus l'affinité de liaison au FcRn est élevée, et plus la demi-vie est longue. Ainsi, les anticorps thérapeutiques d'isotype IgG1 entièrement humains sont ceux qui ont la demi-vie la plus proche de celle des IgG1 endogènes, soit 21 jours environ.

Certains facteurs sont susceptibles de faire varier l'affinité de liaison au FcRn, comme la nature du CDR. Une étude récente a par exemple démontré que de petites variations introduites uniquement dans la séquence peptidique des CDR (1-3 mutations) influençaient l'affinité de liaison au FcRn et la demi-vie d'élimination *in vivo*, alors que les variations d'isotype de chaîne lourde (IgG1, 2 ou 4) et de chaîne légère et des variations dans les régions charpente encadrant les CDR ne changeaient pas l'affinité de liaison pour le FcRn (Piche-Nicholas 2018).

La structure de l'anticorps thérapeutique influence également l'élimination non-spécifique en jouant sur la liaison au FcRn. Ainsi, les protéines de fusion sont éliminées plus rapidement que les anticorps complets, mais elles conservent en général une demi-vie assez longue de l'ordre de 8-14 jours selon les études, grâce à la présence du Fc ; l'absence de Fab et l'incapacité de réaliser des pontages cependant pourrait expliquer une demi-vie plus courte malgré la présence d'un Fc d'IgG1 humaine (voir 1.2.1.3). Les fragments F(ab')₂ et les Fab ont des demi-vies bien plus faibles, de l'ordre de quelques jours, dues à l'absence de recyclage puisqu'ils ne peuvent lier le FcRn.

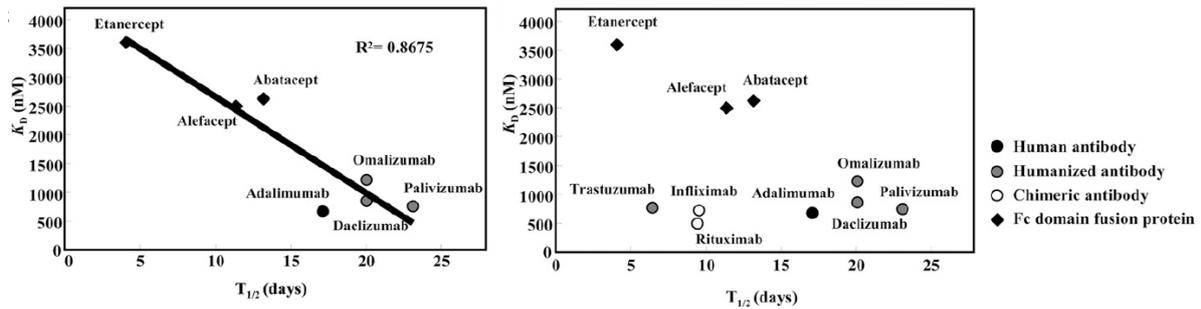


Figure 18: Relation entre l'affinité de liaison au FcRn et demi-vie terminale d'élimination.

A gauche : mise en évidence d'une corrélation négative entre la constante de dissociation et la demi-vie d'élimination : une affinité forte est liée à une élimination lente. A droite : cette corrélation disparaît après ajout de trois anticorps supplémentaires, ayant une affinité de liaison équivalente à celle des autres IgG mais une demi-vie plus courte (Suzuki 2010).

Il faut cependant noter que l'affinité de liaison du Fc au FcRn seule ne permet pas d'expliquer toutes les différences de demi-vies observées: il a notamment été rapporté que des anticorps thérapeutiques ayant des affinités équivalentes pour le FcRn pouvaient avoir des demi-vies d'élimination différentes (Suzuki 2010), probablement liées à leur immunogénicité et à l'élimination spécifique (voir 1.1.7 et 1.1.5.6, respectivement). D'autres facteurs peuvent jouer sur l'élimination non-spécifique. Il a été démontré que deux anticorps dirigés contre la même cible antigénique et ayant des affinités de liaison équivalentes pour le FcRn pouvaient avoir des demi-vies différentes liées à l'existence de liaisons non-spécifiques (Kelly 2016). Le degré de glycosylation est également à prendre en compte ; par exemple, la présence de glycanes riches en mannose est associée à une demi-vie plus courte, due à l'endocytose des IgG médiée par des récepteurs spécifiques comme le *mannose receptor* (ManR) retrouvé à la surface des hépatocytes et des cellules de Kuppfer et le *asialoglycoprotein receptor* (ASGPR) retrouvé à la surface des cellules endothéliales des capillaires sinusoides (Liu 2018). Le pI de l'anticorps influence sa charge ; plus il est bas, plus la charge à pH physiologique sera négative et donc plus la répulsion par la surface cellulaire (chargée négativement) sera importante, réduisant la distribution tissulaire et la pinocytose ; au contraire, un pI élevé, supérieur au pH physiologique, favorisera l'élimination non spécifique (Liu 2018). Enfin, le niveau d'expression du FcRn influence le recyclage des anticorps endogènes, mais aussi des anticorps thérapeutiques ; certains polymorphismes génétiques influencent ainsi l'élimination des anticorps thérapeutiques (Billiet 2016).

Saturation de l'élimination non-spécifique

La capacité de recyclage médiée par la liaison des anticorps au FcRn est directement dépendante de son l'expression. Dans les conditions physiologiques, il existe un équilibre entre la quantité de FcRn et la production des IgG qui résulte en une concentration circulante stable, d'environ 10 g/L chez l'Homme. A cette concentration, la clairance des IgG est de l'ordre de 3.5 ml/kg/j. Cependant, lorsque la concentration d'anticorps augmente, la capacité de recyclage du FcRn peut être saturée car les IgG sont en excès, et la proportion d'IgG qui peut être prise en charge par le FcRn diminue, ce qui entraîne une diminution de leur demi-vie par augmentation de la fraction catabolisée. Ainsi, chez les patients atteints de myélome multiple, la concentration d'IgG peut atteindre près de 100 g/L et la demi-vie chuter à 8-10 jours (Wang 2008, Mould 2010). De façon similaire, une réduction de la demi-vie des IgG a été rapportée suite à l'administration de fortes doses d'IVIg (Mould 2010). Au contraire, chez les patients ayant des concentrations circulantes très faibles d'IgG, la demi-vie peut être augmentée à près de 70 jours par augmentation de la fraction recyclée (Wang 2008).

Données de pharmacocinétique

D'un point de vue pharmacocinétique, l'élimination non-spécifique des anticorps se traduit par une élimination terminale d'ordre 1 avec une demi-vie d'environ 14 à 21 jours selon la nature de l'anticorps pour les IgG complètes, de 7 à 14 jours pour les protéines de fusion au Fc, et de quelques jours seulement pour les fragments Fab et F(ab')₂ sauf en cas de pégylation. Cette linéarité n'est cependant observée qu'au-delà d'une certaine concentration, supérieure au seuil de saturation de l'élimination spécifique (voir 1.1.5.6). La saturation du recyclage médié par le FcRn n'est pas observée aux concentrations auxquelles les anticorps thérapeutiques sont utilisés.

Il faut noter que la méthode d'estimation de la demi-vie des anticorps thérapeutiques peut fortement influencer le résultat. Par exemple, les premières études sur le trastuzumab ont rapporté une demi-vie relativement courte pour un anticorps complet. Cependant, dans ces études, l'intervalle d'administration était court (7 jours). Or, avec une demi-vie de distribution médiane de 1.5 jours, il faut compter 7.5 jours pour que cette phase soit terminée et que l'élimination contribue majoritairement à la décroissance des

concentrations. Ainsi, seule la phase de distribution était visible, ce qui donne l'impression, par régression log-linéaire, que la demi-vie d'élimination est plus courte qu'elle ne l'est réellement. Enfin, il faut noter que la demi-vie d'élimination des anticorps thérapeutiques dépend fortement de la liaison à l'antigène-cible de l'anticorps, déterminant le processus d'élimination dit « spécifique ».

1.1.5.6 *Élimination spécifique*

L'élimination spécifique correspond à la dégradation de l'anticorps une fois qu'il est lié à sa cible antigénique. En effet, une fois que l'anticorps a lié sa cible, il est rapidement pris en charge par le système immunitaire pour permettre la lyse de l'antigène.

L'élimination spécifique des anticorps est un processus saturable, car elle dépend de la quantité d'antigène-cible disponible : une fois que tous les sites de fixation disponibles sont occupés, les anticorps en excès ne peuvent plus s'y fixer et suivent donc la voie de l'élimination non-spécifique. Ce procédé d'élimination particulier est appelé « élimination médiée par la cible » ou « *target-mediated drug-disposition* » (TMDD).

Le processus d'élimination spécifique a deux conséquences distinctes sur l'élimination des anticorps thérapeutiques. La première est l'existence d'une non-linéarité pharmacocinétique, c'est-à-dire que la vitesse d'élimination de l'anticorps n'est pas proportionnelle à la quantité d'anticorps présente dans le sang seule (ordre 1) mais dépendante également de la quantité de cible disponible pour liaison (ordre 2). L'élimination spécifique est en général plus rapide que le catabolisme ; c'est donc la proportion d'anticorps qui passe par chacune des voies d'élimination qui détermine la vitesse d'élimination totale. Lorsque l'anticorps est en large excès par rapport à son antigène-cible, la majorité de l'élimination correspond à l'élimination non-spécifique. L'anticorps en excès suit la voie catabolique classique des IgG, et l'élimination peut être décrite comme étant d'ordre 1 ou encore « linéaire ». Ce sont alors les caractéristiques structurales de l'anticorps et son interaction avec le FcRn qui définissent sa demi-vie (voir 1.1.5.5), et l'élimination spécifique est négligeable.

Au contraire, lorsque la concentration d'anticorps thérapeutique est faible en comparaison de la cible, la vitesse d'élimination augmente car la proportion d'anticorps liant l'antigène, et

donc éliminée par la voie spécifique, est élevée. La réciproque de ce raisonnement est vraie, et permet de décrire la seconde conséquence pharmacocinétique du processus TMDD : plus la quantité d'antigène est élevée, plus la vitesse d'élimination de l'anticorps thérapeutique est élevée, car la proportion d'anticorps éliminé par la voie spécifique est plus importante.

Pour aller plus loin, l'élimination médiée par la cible est responsable de phénomènes pharmacocinétiques particuliers, notamment de modifications de la pharmacocinétique des anticorps au cours du temps. En effet, lorsque les données sont suffisamment riches, on peut constater que la vitesse d'élimination des anticorps change au cours du traitement, en parallèle de la modification de la quantité de cible antigénique disponible. On observe notamment dans certaines pathologies, en début de traitement, un effet de « pompe antigénique » ou « effet éponge » dû à la présence de fortes quantités de cible antigénique lors des premières administrations d'anticorps thérapeutiques, qui résulte en une élimination très rapide qui se ralentit par la suite. Ces aspects seront abordés plus en détail dans la suite de ce travail (voir 4.2.2).

Deux cas de figure principaux peuvent être retrouvés : l'anticorps lié à une cible membranaire et l'anticorps lié à une cible circulante.

Cible membranaire

L'anticorps lié à une cible exprimée à la surface d'une cellule peut être internalisé dans la cellule puis dégradé par protéolyse (modèle « *sink* ») (Keizer 2010). Le processus est le même que l'endocytose médiée par les récepteurs, mais l'anticorps se lie cette fois *via* son Fab et non son Fc. La cible antigénique est le plus souvent un récepteur de surface (EGFR, HER2, IL-6R par exemple), plus rarement une molécule exprimée à la surface cellulaire (m-TNF α).

Un autre mécanisme d'élimination spécifique des anticorps liés à une cible membranaire est la phagocytose. En effet, les anticorps liés à la surface des cellules jouent le rôle d'opsonines : elles facilitent, *via* l'interaction de leurs fragments Fc avec les Fc γ R présents à la surface des phages, l'élimination par phagocytose des cellules recouvertes d'anticorps. On parle parfois d'ADCP (Antibody-Dependant Cell Phagocytosis).

La part de l'élimination spécifique dans la clairance totale des anticorps ciblant des antigènes membranaires dépend de plusieurs facteurs :

- l'accessibilité de la cible, qui dépend de sa localisation tissulaire et de la capacité de l'anticorps à se distribuer dans le tissu qui l'exprime (voir 1.1.5.2) ;
- l'affinité de liaison de l'anticorps à sa cible, qui va influencer la distribution (voir 1.1.5.2) ;
- le *turn over* de la cible, qui dépend de sa vitesse d'internalisation dans la cellule et de sa vitesse d'expression membranaire (Wang 2008, Mould 2010, Ryman 2017, Ovacik 2018) ;
- le rapport stœchiométrique entre l'anticorps et sa cible.

Concernant les cibles membranaires, il faut également noter la possible existence de versions circulantes et membranaires du même antigène (« *shed antigen* »), par exemple le PD-1 ou le PD-L1 circulant, le domaine extracellulaire d'HER2 circulant, le s-IL-6R ou encore le s-TNF α (Mould 2010). Dans ce cas, l'élimination comprend à la fois l'élimination de la cible circulante et membranaire.

En général, les anticorps thérapeutiques qui ciblent un antigène membranaire présentent une non-linéarité d'élimination bien visible à faible concentration, mais pour certains, elle n'a jamais été décrite (anti-TNF α par exemple).

Cible circulante

Lorsque la cible de l'anticorps est circulante et qu'elle présente plusieurs épitopes répétés (cible multimérique typiquement, comme le TNF α par exemple), elle est susceptible de lier plusieurs anticorps à la fois. Il en résulte la formation de complexes immuns possiblement de grande taille, qui sont rapidement phagocytés suite à l'engagement des Fc γ R exprimés à la surface des phagocytes. Comme l'antigène-cible est directement accessible, ce sont surtout sa vitesse de production et le rapport stœchiométrique par rapport à l'anticorps qui influencent l'élimination spécifique des cibles circulantes. Le même processus peut se retrouver avec des cibles exprimées à la surface de cellules (érythrocytes, leucocytes) ou de particules (plaquettes, virus, bactéries) circulantes (Wang 2008) ; dans ce cas, un anticorps

ayant une cible membranaire peut se comporter comme un anticorps ayant une cible circulante.

En général, on n'observe pas de non-linéarité d'élimination avec les anticorps ayant des cibles circulantes, mais des contre-exemples existent : une non linéarité a été décrite par exemple pour le natalizumab (anti- $\alpha 4\beta 1$ exprimé à la surface des leucocytes circulants) ou pour l'éculizumab (anti-fraction C5 du complément) (Gatault 2015, Muralidharan 2017).

Éléments de pharmacocinétique

L'élimination spécifique est responsable d'un phénomène de dose-dépendance de l'élimination qui est fréquemment observée dans les essais d'escalade de dose en pré-clinique et en clinique. A doses faibles, on observe une non-linéarité qui se traduit par une demi-vie plus courte pour les doses (et donc les concentrations) les plus faibles. L'augmentation des doses s'accompagne d'une réduction progressive de la clairance. Lorsque la concentration d'anticorps thérapeutique est supérieure à la concentration saturant la cible, l'élimination spécifique est saturée et l'élimination non-spécifique devient prépondérante (Ryman 2017, Ovacik 2018). L'élimination tend alors vers l'ordre 1.

L'élimination non-linéaire est plus fréquemment observée pour les anticorps ayant une cible membranaire et donc une élimination médiée par les récepteurs (Keizer 2010, Mould 2010). A l'inverse, les anticorps dirigés contre des cibles circulantes, du fait de l'absence de saturation de l'élimination, présentent généralement une clairance linéaire (Mould 2010).

Il faut cependant noter qu'en théorie, tous les anticorps thérapeutiques sont susceptibles de présenter une non-linéarité d'élimination puisque par définition, la liaison de l'anticorps à son antigène-cible est d'ordre 2. La capacité à observer la non-linéarité dépend donc de la richesse des données d'une part, et de l'intensité de l'élimination non-linéaire par rapport à l'élimination linéaire d'autre part. Plus l'élimination médiée par la cible est intense, plus elle sera facile à mettre en évidence ; cette intensité est proportionnelle au rapport stœchiométrique entre anticorps et cible, et à la vitesse d'élimination du complexe (Ternant 2019).

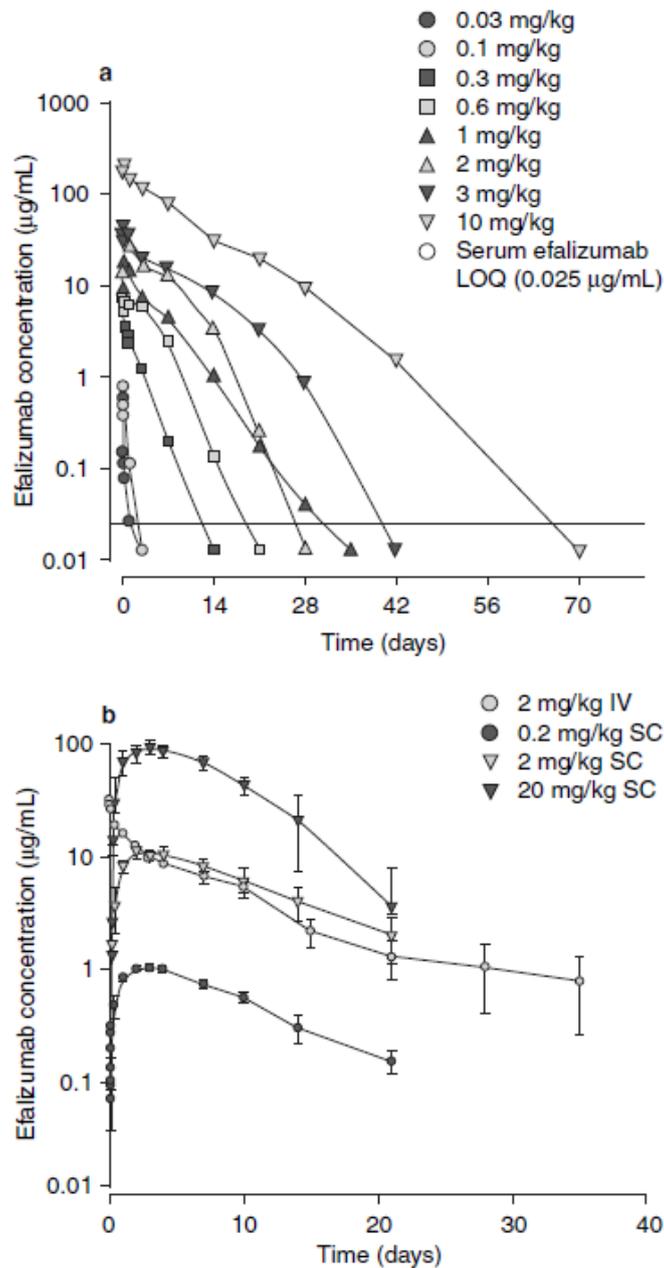


Figure 19: Non-linéarité pharmacocinétique des anticorps.

Comparaison de la vitesse d'élimination à doses croissantes d'une IgG thérapeutique humaine chez l'Homme (en haut) et chez le lapin (en bas). Chez le lapin, du fait de l'absence d'interaction avec les $Fc\gamma R$ et donc d'élimination spécifique, on n'observe pas de non-linéarité d'élimination ni de dose-dépendance de l'élimination (Mould 2010).

Points-clés : propriétés pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques.

Les anticorps thérapeutiques sont actuellement administrés exclusivement par voie parentérale. Par voie sous cutanée, **l'absorption est lente**, avec un pic de concentration atteint en 3-5 jours et une biodisponibilité variable de l'ordre de 40 à 70%. La **distribution tissulaire est limitée** (volume périphérique ~3L), **lente** (demi-vie de distribution ~1.5 jours), passive par convection principalement, et dépend de la vascularisation locale. Elle est d'autant plus importante que la vascularisation est dense et perméable, riche en capillaires fenestrés. L'élimination est complexe. Elle comprend une **élimination non-spécifique par dégradation lysosomiale, linéaire et lente, avec une demi-vie terminale de 14 à 21 jours** pour les anticorps complets. Cette demi-vie longue est due à l'interaction du fragment Fc avec le FcRn qui protège les IgG de la protéolyse et permet le recyclage des anticorps. La demi-vie d'élimination est ainsi directement dépendante de l'affinité de liaison au FcRn, qui varie selon la nature de l'anticorps et sa structure. Il existe également un processus **d'élimination spécifique non-linéaire, médiée par la liaison à la cible antigénique, qui est plus rapide que l'élimination non-spécifique** mais variable en proportion car dépendante de la quantité de cible disponible pour la liaison de l'anticorps, de l'affinité de l'anticorps pour sa cible, et de son accessibilité. **Plus la proportion d'antigène-cible est élevée par rapport à la concentration d'anticorps thérapeutique, plus la vitesse d'élimination totale augmente.**

1.1.6. Mécanismes d'action des anticorps monoclonaux

Le mécanisme d'action pharmacologique des anticorps monoclonaux peut faire appel à différentes propriétés, qui sont la neutralisation, l'antagonisme et la cytotoxicité (Hansel 2010, Suzuki 2015). Ces mécanismes d'action, directement en lien avec la structure de l'anticorps, sont communs avec les anticorps endogènes dont ils partagent la structure. Certains anticorps thérapeutiques sont également utilisés comme vecteurs d'un composé d'intérêt. Les mécanismes d'action sont rarement purs, et pour de nombreux anticorps, plusieurs propriétés pharmacodynamiques ont été décrites *in vitro*.

1.1.6.1 Anticorps neutralisants

Les anticorps neutralisants sont capables de lier une cible antigénique circulante et ainsi d'inhiber sa liaison à son récepteur spécifique. On peut citer comme exemple les anticorps ciblant le TNF α (comme l'infliximab ou l'adalimumab), les anticorps anti-VEGF-A (comme le bevacizumab ou le risankizumab), ou les anticorps anti-cytokines comme l'ustekinumab (anti-p40 de l'IL12/23). Leur mécanisme d'action consiste à neutraliser l'effet de leur cible en empêchant la liaison à son récepteur. Les anticorps neutralisants forment des complexes immuns qui sont rapidement éliminés par phagocytose, et réduisent donc la concentration de la cible circulante (Mould 2010).

1.1.6.2 Anticorps antagonistes

Les anticorps antagonistes sont dirigés contre une cible membranaire, généralement un récepteur de surface. Ils peuvent être de deux types : couvrants (« *coating* ») ou lytiques (Mould 2010). Les anticorps couvrants empêchent la liaison du ligand naturel et les effets consécutifs à cette liaison (effet antagoniste, au sens pharmacologique du terme). De nombreux type de récepteurs peuvent être concernés, comme les récepteurs aux facteurs de croissance surexprimés à la surface des cellules tumorales (anti-EGFR comme le cetuximab ou le panitumumab, anti-HER2 comme le trastuzumab ou le pertuzumab) ou les récepteurs aux cytokines (anti-IL6R comme le tocilizumab). Il existe également des anticorps antagonistes dirigés contre des intégrines (anti- α 4 β 1 comme le natalizumab ou anti- α 4 β 7

comme le vedolizumab), qui vont bloquer la diapédèse et limiter les infiltrats de cellules immunitaires dans les tissus, ou encore des anticorps ciblant des molécules de surface impliquées dans les communications intercellulaires (anti-CTLA-4 comme l'abatacept ou l'ipilimumab, ou encore les inhibiteurs de checkpoint, anti-PD-1 comme le nivolumab et le pembrolizumab ou anti-PD-1L comme le durvalumab).

Certains anticorps antagonistes sont dirigés contre des marqueurs de surface spécifiques dans l'objectif de cibler un type cellulaire précis. L'exemple typique est celui des anticorps dirigés contre les cellules lymphoïdes, comme les anti-CD20 (rituximab, obinutuzumab, ocrelizumab et ofatumumab) et l'anti-CD38 daratumumab. Il existe également des anticorps thérapeutiques dirigés contre les marqueurs de surface des cellules myéloïdes, comme le gemtuzumab (anti-CD33). Contrairement aux anticorps thérapeutiques couvrants, ces anticorps ont pour finalité de détruire la cellule qui porte le marqueur de surface : ce sont des anticorps lytiques (Mould 2010). Pour cela, les anticorps thérapeutiques font appel à la cytotoxicité.

1.1.6.3 Anticorps cytotoxiques

De nombreux anticorps possèdent des propriétés cytotoxiques. La cytotoxicité des anticorps peut être de trois types : la cytotoxicité directe, la cytotoxicité dépendante du complément (*Complement-Dependant Cytotoxicity* ou CDC) et la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (*Antibody-Dependant Cell Cytotoxicity* ou ADCC).

La cytotoxicité directe des anticorps correspond à un processus par lequel l'anticorps thérapeutique serait capable, indépendamment de toute interaction avec les cellules immunitaires ou le complément, de détruire une cellule sur laquelle il s'est fixé. Cela a été décrit principalement pour le rituximab *in vitro*. La CDC et l'ADCC sont des mécanismes d'action faisant appel aux propriétés du Fc de l'anticorps thérapeutique.

La CDC est induite par la liaison de la fraction C1q du complément aux domaines CH2 du fragment Fc de l'anticorps lié à une cible membranaire, entraînant l'activation de la voie principale du complément, qui aboutit *in fine* à la formation du complexe d'attaque membranaire et à la destruction de la cellule-cible (Suzuki 2015).

L'ADCC fait intervenir l'interaction du fragment Fc des IgG avec les récepteurs FcγR. Ces récepteurs transmembranaires sont exprimés à la surface des nombreux types cellulaires, notamment des cellules immunitaires, mais aussi les cellules dendritiques et les plaquettes. Les FcγR sont classés selon leur affinité pour le fragment Fc. Le FcγRI (ou CD64) est le récepteur de haute affinité, le FcγRII (ou CD32) et le FcγRIII (ou CD64) sont des récepteurs d'affinité moyenne à faible. Les domaines intracellulaires des FcγR sont couplés à des tyrosines kinases, formant des motifs activateurs de type ITAM ou inhibiteurs de type ITIM. Il faut noter que le seul récepteur décrit couplé à un ITIM est le FcγRIIB, qui est donc un FcγR portant des fonctions inhibitrices, alors que les autres FcγR décrits sont couplés à des ITAM et portent donc des fonctions activatrices (Nimmerjahn 2008).

| Human | | | |
|------------------|-----------------------------|--|--|
| Receptor | Principal antibody ligand | Affinity for ligand ^a | Cell distribution |
| FcγRI (CD64) | IgG1 and IgG3 > IgG4 > IgG2 | High (Kd ~ 10 ⁸ M ⁻¹) | Macrophages Neutrophils Eosinophils Dendritic cells |
| FcγRIIA (CD32) | IgG1 > IgG2 and IgG3 > IgG4 | Low (Kd ~ 2 × 10 ⁶ M ⁻¹) | Macrophages Neutrophils Mast cells Eosinophils Platelets Dendritic cells |
| FcγRIIB (CD32) | IgG1 > IgG2 and IgG3 > IgG4 | Low (Kd ~ 2 × 10 ⁶ M ⁻¹) | Macrophages Neutrophils Mast cells Eosinophils Dendritic cells B Cells |
| FcγRIIIA (CD16A) | IgG1 and IgG3 | Low (Kd ~ 5 × 10 ⁵ M ⁻¹) | Macrophages Mast cells Basophils NK cells Dendritic cells |
| FcγRIIIB (CD16B) | IgG and IgG3 | Low (Kd ~ 2 × 10 ⁵ M ⁻¹) | Neutrophils |

Tableau 1: Distribution cellulaire des différents FcγR chez l'Homme, affinités de liaison au Fc et affinités de liaison comparées entre les isotypes d'IgG.

Les IgG1 sont l'isotype qui a la plus grande affinité pour tous les FcγR ; cette propriété est utile pour le mécanisme d'action des anticorps thérapeutiques cytotoxiques. Au contraire, lorsque l'on ne souhaite pas médier d'effets cellulaires, les IgG3 ou les IgG4 sont préférables, mais les IgG3 n'ont pas un profil pharmacocinétique favorable du fait de leur faible affinité pour le FcRn et en pratique seules les IgG4 sont utilisées (Rosales 2013).

La liaison des fragments Fc aux Fc γ R (à l'exception du Fc γ RIIB) entraîne l'activation d'une cascade intracellulaire, qui aboutit à l'activation des effecteurs de l'immunité, notamment de leurs fonctions cytotoxiques (lymphocytes NK, lymphocytes T CD8, monocytes/macrophages), constituant l'ADCC, et de leurs fonctions phagocytaires (monocytes/macrophages et neutrophiles), constituant l'ADCP (Nimmerjahn 2008).

La sous-classe d'anticorps revêt une importance particulière dans les mécanismes d'action des anticorps thérapeutiques : les IgG1, se liant à tous les sous-types de Fc γ R, peuvent médier la CDC et l'ADCC, être antagonistes ou neutralisants et entraîner de l'ADCP. Les IgG2 comme le denosumab (anti-RANKL) ou les IgG4 comme la natalizumab (anti- α 4 β 1) ou le nivolumab (anti-PD1), liant peu les Fc γ R, n'entraînent au contraire que peu ou pas de ces effets cytotoxiques. De la même façon, la structure a une grande importance : les protéines de fusion portant le Fc sont capables d'interagir avec les Fc γ R et donc de médier la cytotoxicité, alors que les Fab et les F(ab')₂ ne le peuvent pas puisqu'ils ne portent pas de Fc. Enfin, les anticorps thérapeutiques ont un mécanisme d'action rarement pur ; ainsi, une IgG1 neutralisant une cible circulante sera capable de médier la CDC, l'ADCC et l'ADCP *via* son Fc et son mode d'action n'est donc pas limité à l'inhibition de l'interaction entre sa cible antigénique et le récepteur correspondant.

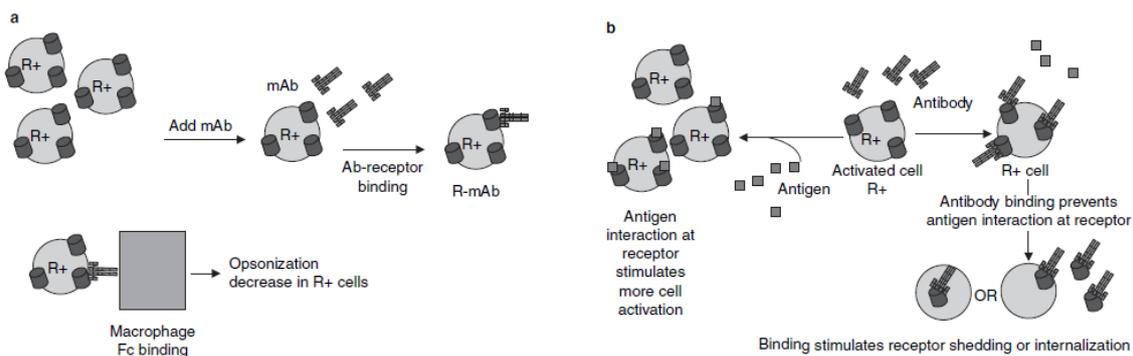


Figure 20: Représentation schématique des effets médiés par les anticorps antagonistes.

a. la liaison à la surface cellulaire peut permettre des effets médiés par les Fc γ R : opsonisation et phagocytose (ADCP), ADCC, ou CDC. b. blocage du récepteur de surface empêchant la liaison du ligand naturel, pouvant être suivi d'une internalisation ou d'une libération du complexe sous forme soluble (« shedding ») (Mould 2010).

1.1.6.4 Anticorps utilisés comme vecteurs

En marge des mécanismes d'action « conventionnels » décrits ci-dessus, il est possible d'utiliser la capacité de ciblage d'un antigène spécifique pour utiliser l'anticorps comme un vecteur. Dans ce cadre, on retrouve deux applications : les anticorps couplés à des chimiothérapies, et les anticorps couplés à des radioéléments.

L'exemple le plus typique d'anticorps couplé à la chimiothérapie est le trastuzumab-emtansine, qui correspond à une molécule de trastuzumab (anti-HER2) couplé à un complexe entre le DM1 (inhibiteur de polymérisation des microtubules) et le MCC (molécule de couplage de DM1 au trastuzumab), l'ensemble MCC-DM1 formant l'emtansine. L'intérêt de cette approche repose sur le fait que le complexe trastuzumab-HER2 va être internalisé dans ces cellules. Le DM1 va alors être libéré dans le milieu intracellulaire, limitant fortement la cytotoxicité systémique puisque la chimiothérapie est libérée directement dans la cellule suite à l'internalisation de l'anticorps, rendant le cytotoxique à la fois plus efficace et moins toxique (au niveau systémique) que le trastuzumab non couplé.

D'autre part, il est possible de lier à un anticorps un radioélément, soit dans un but diagnostic (imagerie), soit dans un but thérapeutique (irradiation). On peut citer notamment l'ibritumomab tiuxétan, anti-CD20 couplé à l'⁹⁰Y, utilisé dans le traitement des lymphomes.

Points-clés : propriétés pharmacodynamiques des anticorps thérapeutiques.

Les anticorps thérapeutiques empruntent leur mécanisme d'action aux anticorps endogènes. Ils peuvent soit lier des antigènes **circulants**, et sont dits **neutralisants**, soit des antigènes de **surface** cellulaire, et sont dits **antagonistes**. Dans les deux cas, ils sont capables d'empêcher la liaison d'un ligand à son récepteur. De plus, pour les anticorps complets, la présence du **fragment Fc** permet des interactions avec les récepteurs **FcγR**, induisant l'**ADCC** via le recrutement de cellules effectrices. Le fragment Fc peut également lier le **C1q**, induisant la **CDC**. L'existence d'une cytotoxicité directe (cytolyse) est controversée. Enfin, le fragment Fc lorsqu'il est présent permet l'**ADCP** via l'interaction du **Fc** avec le **FcγR** des cellules phagocytaires. L'absence de Fc ou la présence d'un Fc liant peu les FcγR, comme pour les IgG2 ou les IgG4, permet de moduler les effets cytotoxiques et l'ADCP des anticorps thérapeutiques.

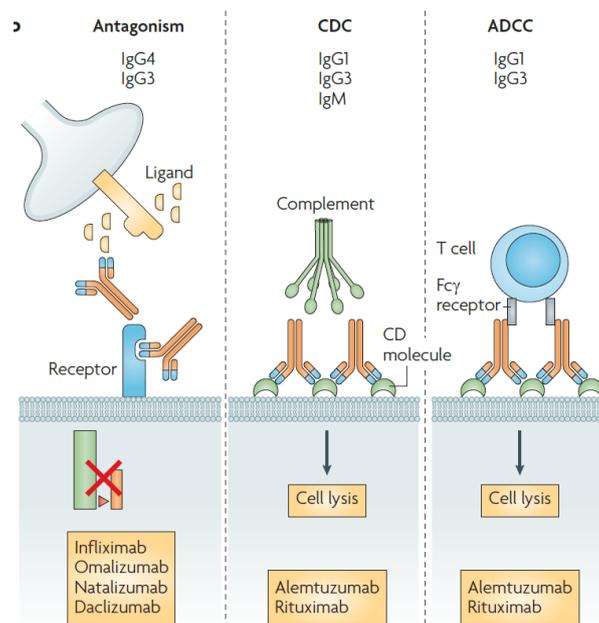


Figure 21: Résumé des principaux mécanismes d'action des anticorps thérapeutiques et isotypes utilisés pour médier les effets cytotoxiques.

Les IgG1 sont utilisées pour toutes les applications; les IgG4 sont préférées lorsque la cytotoxicité n'est pas souhaitable. Adapté d'après Hansel (Hansel 2010)).

1.1.7. Les anticorps anti-médicament

La nature protéique des anticorps thérapeutiques est responsable d'une forte immunogénicité, qui se traduit par la production d'anticorps dirigés contre le médicament (*Anti-Drug Antibodies* ou ADA). Pour les anticorps chimériques, on parle également d'HACA (*Human Anti-Chimeric Antibodies*). Les ADA sont caractérisés principalement par trois éléments :

- Leur épitope-cible, qui peut être situé soit dans, soit hors de l'idiotype de l'anticorps thérapeutique ; dans le premier cas, l'ADA est neutralisant, empêchant la liaison du médicament à sa cible, dans le second, il est simplement « liant » (*binding antibodies*) (Harding 2010, Garces 2018).
- Leur titre ; un titre faible a généralement des conséquences limitées sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du médicament.
- Leur caractère transitoire ou non ; les ADA transitoires et de faible titre n'affectent en général pas ou peu la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du médicament.

Les déterminants de l'immunogénicité ne sont pas totalement élucidés mais peuvent globalement se diviser en deux catégories : les facteurs liés à l'anticorps et ceux liés au patient.

1.1.7.1 Immunogénicité : facteurs liés à l'anticorps thérapeutique

La formulation peut influencer l'immunogénicité (présence d'agrégats ou d'adjuvants), de même que la voie d'administration (Harding 2010). Les voies SC et IM seraient plus immunogènes, potentiellement du fait de la formation d'agrégats au site d'injection et de la présence de cellules de Langerhans (Ryman 2017). L'immunogénicité est également plus prononcée lorsque la part de structures d'origine non-humaine est importante : les anticorps thérapeutiques les plus immunogènes sont les anticorps entièrement murins, puis viennent les anticorps chimériques, puis les humanisés et enfin les anticorps entièrement humains. Cela a été très bien illustré dans une revue de la littérature se focalisant sur les biothérapies utilisées en oncologie (van Brummelen 2016).

Les séquences non-humaines sont en effet des « xénotopes » et sont donc fortement immunogènes (van Schie 2015). Les variations allotypiques des régions constantes d'origine humaine sont également une source d'immunogénicité (van Schie 2015) (voir 1.1.2.1). Cependant, les immunisations contre les idiotypes des anticorps entièrement humains ne sont pas rares : les CDR d'un anticorps entièrement humain restent des motifs antigéniques n'appartenant pas au soi, et même les anticorps entièrement humains portent donc des séquences immunogènes (Harding 2010, van Schie 2015). Les fréquences d'immunisation contre les anticorps humains sont cependant très variables d'une étude à l'autre et d'un anticorps à l'autre. On a rapporté de 20% à 89% d'immunisation contre l'adalimumab, contre seulement 2-16% contre le golimumab, alors que les deux anticorps sont entièrement humains, dirigés contre la même cible, et que ces chiffres proviennent de patients traités pour la même indication (polyarthrite rhumatoïde) (Harding 2010).

Une partie de ces différences pourraient être expliquées par la glycosylation. La présence de galactose alpha-1,3-galactose (α -gal) à la surface du cetuximab a été identifiée comme la cause de réactions anaphylactiques sévères dues à la présence constitutive d'IgE spécifiques chez certains patients (Harding 2010, van Schie 2015). L'immunogénicité du cetuximab a été fortement réduite par la production dans une lignée cellulaire incapable d'ajouter ce sucre à ses Fab (Harding 2010). Le rôle de la glycosylation est complexe cependant : la production d'IgE anti- α -gal *a posteriori* du traitement chez des patients qui ne possédaient pas d'IgE pré-existantes n'a pas été démontrée. De plus, des α -gal existent, en faible quantité, sur le Fc de l'infliximab et du palivizumab, mais ils ne sont pas reconnus par les IgE anti- α -gal, contrairement aux α -gal présents sur le Fab du cetuximab. Cela suggère que la position des α -gal sur l'anticorps aurait une influence sur leur capacité à induire une réaction immunitaire (van Schie 2015). Enfin, la cible antigénique de l'anticorps thérapeutique pourrait jouer ; les anticorps dirigés contre des récepteurs membranaires seraient plus immunogènes car les cellules seraient capables, suite à l'internalisation du complexe anticorps-récepteur, de présenter via les molécules du CMH les motifs antigéniques propres au médicament (Harding 2010).

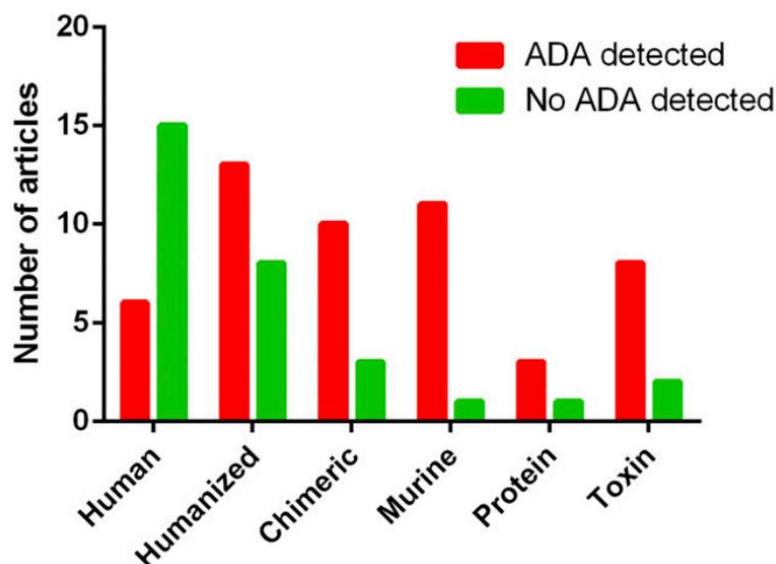


Figure 22: Répartition du nombre d'études en oncologie dans lesquelles des anticorps anti-médicaments ont été détectés selon la nature de l'anticorps thérapeutique.

La proportion d'études où les ADA n'ont pas été détectés réduit avec l'augmentation de la proportion de séquences d'origine non-humaine dans la structure de l'anticorps thérapeutique (van Brummelen 2016).

1.1.7.2 Immunogénicité : facteurs liés au patient

Le statut immunologique des patients pourrait influencer l'immunogénicité. On observe notamment des fréquences plus importantes d'immunisation avec les anticorps thérapeutiques utilisés dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques, qui ont souvent une composante auto-immune, que dans les cancers (van Brummelen 2016). Cela peut s'expliquer par une réactivité immunitaire accrue, mais également par l'influence des co-traitements. En effet, il a été montré que le traitement concomitant par un immunomodulateur comme le méthotrexate ou l'azathioprine était associé à une fréquence moindre d'immunisation (van Schie 2015, Garces 2018). Parallèlement, on peut supposer que l'immunodépression induite par les traitements cytotoxiques ou le cancer seraient responsable d'une moindre propension à s'immuniser contre les anticorps thérapeutiques. On peut retrouver chez certains patients des anticorps pré-existants, dirigés contre l'anticorps thérapeutique, dus à un contact préalable avec une substance portant les mêmes motifs antigéniques. Cela est particulièrement vrai pour les variations allotypiques et les glycanes, qui peuvent être retrouvés sur d'autres IgG (ou même sur des protéines totalement différentes concernant les glycanes) (van Schie 2015). Enfin, des facteurs

généétiques semblent entrer en jeu, certains haplotypes HLA étant liés à une prédisposition à la formation d'ADA (Billiet 2015, Ryman 2017).

1.1.7.3 Cibles des anticorps anti-médicaments

La réponse ADA est polyclonale (Ryman 2017). Les ADA sont majoritairement dirigés contre les régions hypervariables des anticorps thérapeutiques et sont donc majoritairement des anti-idiotypes (Garces 2018). Les ADA anti-idiotypes sont neutralisants, car en se liant dans ou à proximité du paratope, ils empêchent l'anticorps thérapeutique de se lier à sa cible. En conséquence, les ADA neutralisants vont en théorie réduire l'efficacité du traitement (van Schie 2015). Il a été démontré, pour les anti-TNF α humains et humanisés (adalimumab, golimumab et certolizumab), que les ADA neutralisants étaient largement majoritaires (>94%), et donc que la proportion d'anticorps anti-idiotype était élevée (van Schie 2015, Garces 2018). Les anticorps anti-idiotypes ne devraient pas pré-exister puisqu'ils nécessitent un contact préalable avec l'idiotype de l'anticorps thérapeutique, qui lui est très spécifique : on a notamment pu montrer une absence de réaction croisée entre les ADA dirigés contre les différents anticorps anti-TNF α (van Schie 2015). Les anticorps chimériques devraient présenter également des ADA dirigés contre leurs portions murines, mais il a été montré que plus de 90% des ADA dirigés contre l'infliximab étaient neutralisants (van Schie 2015, Garces 2018). Avec les protéines de fusion, l'absence de Fab et donc d'idiotype expliquerait ainsi la fréquence nettement plus faible d'immunisation, comme rapporté avec l'éta nercept par exemple (Garces 2018).

Le facteur rhumatoïde et les anticorps anti-allotypes, préexistants ou induits, sont de faible affinité et semblent ne pas interférer avec l'efficacité du traitement (van Schie 2015). Il est également possible de trouver des ADA dirigés contre des néo-épitopes provenant de la fragmentation des anticorps. On retrouve ainsi des ADA dirigés contre la région charnière des F(ab')₂, ou encore dirigés contre la région charnière C-terminale des Fab (« *anti-hinge* »). L'influence de ces ADA est peu connue. En proportion, ils sont peu fréquents par rapport aux ADA anti-idiotypes pour le certolizumab, possiblement à cause de la présence d'un polyéthylène-glycol qui masquerait les épitopes de la région C-terminale du Fab. Les *anti-hinge* peuvent être préexistants, car ils ne sont pas spécifiques de l'idiotype. Il a par exemple été montré qu'il existait des *anti-hinge* dirigés contre la région C-terminale de l'abciximab, sans

que la tolérance clinique soit affectée ; cependant leur rôle dans l'apparition de thrombopénie, un effet indésirable connu de l'abciximab, a été suggérée. Enfin, certains néo-épitopes résultant de l'association de l'anticorps à son ligand ont été décrits. On rapporte par exemple l'existence d'ADA anti-abciximab-GpIIb/IIIa ; leur influence sur l'efficacité du traitement est, à nouveau, peu connue (van Schie 2015).

1.1.7.4 Conséquences de l'immunisation

Les conséquences de la production d'ADA peuvent se décliner en 3 groupes : les conséquences sur la tolérance clinique, celles sur le profil pharmacocinétique et les conséquences sur l'efficacité clinique.

Concernant la tolérance clinique, il a été rapporté que la présence d'ADA était associée à un risque plus important de réactions au point d'injection et de réactions d'hypersensibilité. L'exemple typique est celui de IgE anti-cetuximab, mais qui reste cependant un cas particulier puisque la majorité des ADA sont des IgG inductibles et non des IgE pré-existantes (Garces 2018). On dispose maintenant d'un recul important sur l'association entre immunisation et réactions d'hypersensibilité pour l'infliximab et l'adalimumab (Garces 2018). La présence d'ADA a également été reliée à la toxicité avec d'autres anticorps thérapeutiques comme par exemple le pertuzumab (anti-HER2), le tositumomab (anti-CD20) et le brentuximab (anti-CD30) (van Brummelen 2016).

La présence des ADA a été associée à une augmentation de la clairance des anticorps thérapeutiques dans de nombreux rapports. Les ADA aboutissent à la formation de complexes immuns qui sont éliminés par endocytose médiée par les FcγR (Ovacik 2018), notamment par la liaison au FcγRIIA des plaquettes, suivie d'une phagocytose par les phages circulants (Ryman 2017). Une revue de la littérature des modèles compartimentaux utilisés jusqu'ici pour décrire les conséquences pharmacocinétiques de l'immunisation est présentée dans la suite de ce travail (voir 4.1).

Au plan de l'efficacité clinique, la nature neutralisante de la majorité des ADA laisse penser que l'immunisation contre le médicament peut réduire l'effet thérapeutique. Cela a été démontré, par exemple, dans une méta-analyse groupant les résultats d'études dans les rhumatismes inflammatoires et les MICI traitées par adalimumab ou infliximab (Garces

2013). Les ADA, en augmentant la clairance du médicament, peuvent également être à l'origine de sous-expositions conduisant à un manque d'efficacité. Il faut cependant tenir compte du fait que l'incidence de l'immunisation dans ces études peut être sous-estimée, et que l'utilisation de techniques « *drug-sensitive* » (voir 1.1.7.5) conduit à une surestimation de l'effet des ADA puisque seules les immunisations avec des titres élevés d'ADA et des concentrations basses de médicament sont détectées (Garces 2018). Le titre en lui-même a également une importance, puisqu'il détermine la proportion d'anticorps thérapeutique neutralisé, et donc la proportion de l'effet thérapeutique qui est neutralisé (Ryman 2017).

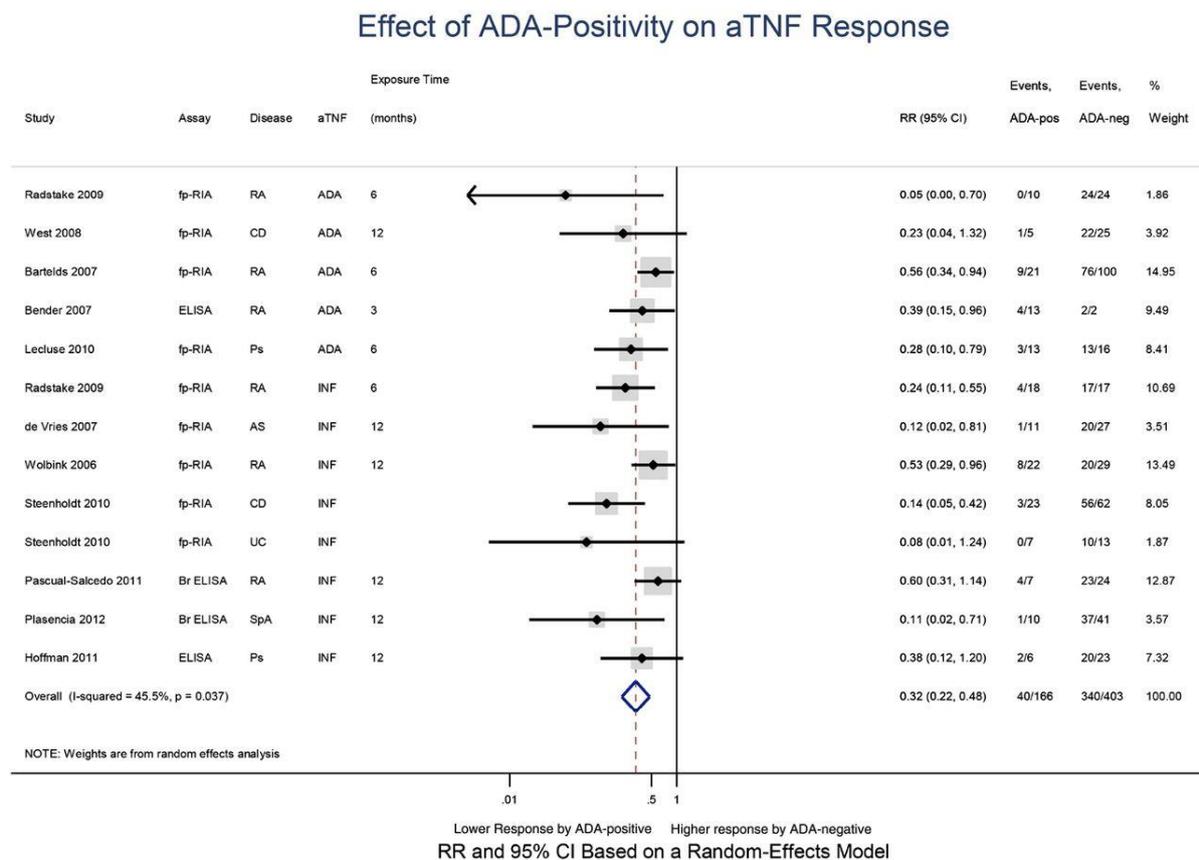


Figure 23: Résultats de méta-analyse évaluant l'effet de l'immunisation sur l'efficacité du traitement par anti-TNF α (infliximab et adalimumab) dans les MICI et les rhumatismes inflammatoires.

La majorité des études rapportent une moins bonne réponse clinique en présence d'ADA, ce qui est confirmé par l'analyse globale ; noter cependant la grande variabilité de la proportion de patients immunisés entre les études (Garces 2013).

1.1.7.5 Aspects analytiques

Les très larges variations de fréquence d'immunisation entre les études peuvent s'expliquer par des différences d'immunogénicité liées à l'anticorps, des différences de susceptibilité individuelle et des facteurs liés à la maladie et aux co-traitements. En plus de ces facteurs, il faut noter que les techniques analytiques utilisées pour détecter et quantifier les ADA peuvent considérablement varier en termes de sensibilité, expliquant également en partie l'hétérogénéité des chiffres rapportés (van Schie 2015). En particulier, leur détection est rendue difficile par la formation de complexes immuns entre le médicament et les ADA et leur incidence est probablement sous-estimée (Garces 2018). Il est possible de recourir à des pré-traitements des échantillons, par acidification ou par chauffage, qui permettent de dissocier les complexes ADA-médicament et ainsi d'augmenter la sensibilité des dosages (Bian 2017). Par exemple, il a été montré avec l'adalimumab, une incidence d'ADA à 28 semaines de traitement de 17% en utilisant une analyse « drug sensitive » contre 70% en utilisant une technique « drug-tolerant » (van Schouwenburg 2010). Le même constat a été réalisé avec l'infliximab dans les MICI (Van Stappen 2018).

Des techniques alternatives comme le *High Mobility Shift Assay* (HMSA), plus sensibles et permettant de détecter les ADA en présence de concentrations significatives de médicaments, ont été développées ; elles sont néanmoins plus difficiles à mettre en œuvre en routine et peuvent être associées à une fréquence élevée de faux positifs (Bendtzen 2015). Par ailleurs, se pose la question de la pertinence de mettre en évidence des ADA à faible titre ; en effet, cela permettrait une détection précoce de l'immunisation, mais qui ne préjuge pas du développement ultérieur de titres élevés qui auraient des conséquences sur l'efficacité clinique. A l'inverse, dans certaines études la détection précoce d'ADA de faible titre a précédé la survenue de réactions d'hypersensibilité ; se pose alors la question de leur valeur prédictive de réactions à l'injection. En conclusion, le rôle des ADA et la place de leur monitoring dans la prise en charge des patients restent encore à préciser (Garces 2018).

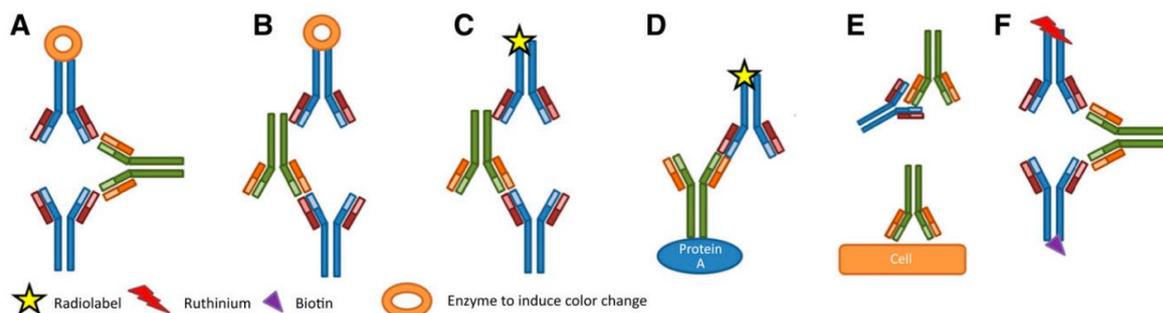


Figure 3. Schematic representation of techniques used to detect antidrug antibodies (ADAs). **(A):** Bridging enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with drug as binding agent and enzyme-linked drug as idiotype-detecting agent. **(B):** Sandwich ELISA with drug as binding agent and enzyme-linked secondary antibody as isotype-detecting agent. **(C):** Radioimmunoassay with radiolabeled drug binding to ADAs. **(D):** Antigen-binding test in which IgG from serum is pulled down by protein A bound to a solid carrier, and radiolabeled drug is added and binds to ADAs. **(E):** Cytotoxicity assays measure ADA-induced alterations in cytotoxic effects of the drug. **(F):** Bridging electrochemiluminescence assays measure electrochemical signals from the ruthinium-labeled drug bound to the ADA-biotin-streptavidin complex.

Figure 24: Résumé des principales techniques immunologiques utilisables pour détecter les ADA.

Noter que quelle que soit la technique, elle nécessite la présence d'ADA libre et limite donc la détection des ADA lorsque ceux-ci sont saturés par le médicament (van Brummelen 2016).

1.1.7.6 Prévenir et surmonter l'immunisation

La conduite à tenir face à une immunisation ne fait l'objet d'aucun consensus, ce qui est la conséquence directe des différents éléments évoqués ci-dessus qui rendent compte de la complexité de la question. L'ajout d'immunomodulateur pour prévenir et/ou réduire la production des ADA a été proposé (Ben-Horin 2013, Ungar 2017). Il a également été montré que l'usage de doses plus élevées d'infliximab ou d'adalimumab en début de traitement réduisait la fréquence des ADA induits, et qu'au contraire des faibles doses étaient associées à un risque plus élevé (Ryman 2017, Garces 2018). Ces données sont cohérentes avec une étude de pharmacocinétique qui a montré que le risque de développement d'ADA augmentait au-dessus d'un seuil de concentration « immunogène » (Brandse 2017). L'augmentation de posologie de l'anticorps thérapeutique est également une approche intéressante, car elle permet de « saturer » les ADA et de restaurer une concentration d'anticorps libre suffisante pour exercer l'effet thérapeutique. Cependant, cette approche peut également amplifier la réponse immunitaire et augmenter le risque de réaction d'hypersensibilité (Garces 2018). Au contraire, le traitement « à la demande » et les pauses thérapeutiques semblent associées à une fréquence accrue de développement d'ADA (Garces 2018), possiblement en permettant de passer régulièrement sous le seuil immunogène. Les traitements plus longs seraient associés à une probabilité cumulée plus

élevée d'immunisation, et les ADA vont mûrir avec le temps, augmentant leur avidité (Ryman 2017). Certains auteurs ont proposé des algorithmes incluant le statut immunogène pour la prise de décision en clinique (Garces 2014, Roblin 2014). Néanmoins, il n'existe pas de stratégie universelle et la conduite à tenir reste à préciser, l'un des principaux problèmes restant la fiabilité du dosage des ADA.

Points-clés : les anticorps anti-médicaments.

Les anticorps thérapeutiques sont **immunogènes** par certains des motifs antigéniques qu'ils portent, situés essentiellement au niveau de l'**idiotype** et des régions non-humaines de l'anticorps (**xénotopes**) ; les **régions charnières** (exposées sur les fragments d'anticorps seulement) et **certaines sucres comme l'- α -gal** peuvent également induire une immunisation. L'immunogénicité se traduit par la production d'**anticorps anti médicaments** (*anti-drug antibodies* ou ADA). Les ADA sont majoritairement des **anti-idiotypes** et sont donc **neutralisants** ; en bloquant la capacité de liaison du médicament à son antigène-cible, ils réduisent l'efficacité clinique. Celle-ci peut également être réduite par une **forte augmentation de la clairance de l'anticorps thérapeutique** sous forme de complexes ADA-médicament, induisant une **sous-exposition**. La présence d'ADA se traduit enfin par une **augmentation du risque de réactions d'hypersensibilité**. Ces effets néfastes sont favorisés par un **titre élevé** et un **caractère persistant** des ADA. La fréquence des ADA est variable en fonction de la structure de l'anticorps, de susceptibilités individuelles, de la maladie et des co-traitements. Les **immunomodulateurs** en particulier réduisent leur fréquence et leur impact. Les performances des techniques de dosages des ADA sont très hétérogènes et leur sensibilité est fréquemment réduite en présence de concentrations significatives d'anticorps thérapeutique (techniques « **drug-sensitive** »). Des techniques « **drug-tolerant** » existent, révélant des immunisations plus fréquentes qu'initialement estimé ; la signification de la présence d'ADA de faible titre et/ou transitoires, reste cependant à élucider.

1.2. Les anti-TNF α dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

1.2.1. Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI)

1.2.1.1 Généralités sur les MICI

Les MICI regroupent deux entités cliniques distinctes, la maladie de Crohn (MC) et la Rectocolite Hémorragique (RCH). Dans la RCH, l'inflammation intéresse exclusivement le rectum et le côlon, alors que dans la MC, tout le tube digestif peut être atteint, avec une prédominance pour la région iléo-caecale. A l'interface entre ces deux pathologies, on retrouve les colites indéterminées (CI).

Epidémiologie

Les MICI sont des pathologies dont la fréquence est plus importante dans les pays industrialisés (Ng 2018). En France, les données du SNIRAAM (Système National d'Information Inter-Régimes de l'Assurance Maladie) rapportent un total de 212 700 malades atteints de MICI en 2015, avec une prévalence proche entre RCH et MC (52.3% et 47.7%, respectivement) (Kirchgesner 2017). Le *sex-ratio* F/H est de 1,3 pour la MC et 0,9 pour la RCH (Gower-Rousseau 2018). Les données du registre Epimad indiquent une incidence moyenne de 7,7/10⁵ habitants pour la MC et de 4.4/10⁵ habitants pour la RCH entre 1988 et 2014. L'incidence globale de la RCH paraît stable sur cette période, alors que celle de la MC augmente. On note un gradient Nord-Sud avec une incidence plus forte de la MC dans le Nord de la France, alors que l'incidence de la RCH est répartie de façon homogène sur le territoire. D'une façon générale, le pic de fréquence de l'âge de survenue se situe entre 20 et 30 ans, mais l'incidence a fortement augmenté au cours des 20 dernières années chez les enfants et les adolescents (Gower-Rousseau 2018).

Physiopathologie

La physiopathologie des MICI n'est pas totalement élucidée mais fait intervenir divers facteurs comprenant une susceptibilité génétique, des facteurs environnementaux, la flore intestinale, et une dysrégulation de la réponse immunitaire. Un résumé des connaissances actuelles est présenté ci-après, qui permettra de mieux comprendre les nouvelles cibles pharmacologiques explorées actuellement (Zhang 2014).

En 2014, on dénombrait 163 gènes de susceptibilité associés aux MICI, dont 110 communs aux deux maladies, 23 spécifiques de la RCH et 30 spécifiques de la MC. Ces gènes sont pour la plupart impliqués dans des mécanismes immunitaires, comme *NOD2*, *ATG16L1* et *IRGM*, des gènes impliqués dans le contrôle de l'autophagie et la régulation de la réponse T. On retrouve également des gènes codant pour des cytokines ou leurs récepteurs comme les gènes *IL-23R* et *IL-12B*, et des gènes impliqués dans la réponse immunitaire comme *JAK2* et *STAT3*.

De nombreux facteurs environnementaux ont été mis en cause dans le développement des MICI, comme le tabac, l'alimentation, les médicaments, le stress et des éléments psychologiques. L'influence de ces facteurs est cohérente avec la répartition géographique de ces pathologies, la prévalence et l'incidence étant plus élevées dans les pays industrialisés par rapport aux pays à contexte socio-économique moins favorable. De façon analogue, la pollution atmosphérique, plus fréquente dans les pays industrialisés, a été mise en cause ; on retrouve notamment une association entre des niveaux élevés de SO₂ et de NO₂ dans l'air et le risque de MICI. L'influence du tabac est connue de longue date, avec la première description d'une relation inverse entre usage du tabac et risque de RCH décrite dès 1982. Au contraire de la RCH où le tabagisme réduit le risque de rechute, le risque de MC est augmenté par l'usage de tabac. L'association entre MICI et déficit en vitamine D a été démontrée *in vivo* chez l'animal. L'usage prolongé et à haute dose d'anti-inflammatoires stéroïdiens serait un facteur de risque, de même que le recours à des antibiothérapies fréquentes, notamment pendant les premières années de la vie. Dans ce dernier cas, ce serait plutôt l'influence des antibiotiques sur le microbiote intestinal qui serait impliquée que le médicament en lui-même.

Le microbiote intestinal chez l'Homme recense environ 1150 espèces bactériennes, parmi lesquelles chaque individu acquiert pendant ses 2 premières semaines de vie une

combinaison d'environ 160 espèces qui reste stable tout au long de la vie. Il a été montré que la richesse du microbiote et sa stabilité sont altérés chez les patients atteints de MICI par rapport aux individus sains. On note dans la MC un défaut des phyla *Firmicutes* et *Bacteroidetes* et une sur-représentation des entérobactéries ; dans la RCH, c'est un défaut de *Clostridium spp* et un excès d'*Escherichia coli* qui est retrouvé. Spécifiquement dans la MC, la présence d'une espèce adhérente et invasive d'*E. coli* (AIEC) a été rapportée, cohérente avec la formation de granulomes caractéristiques de la maladie et avec la capacité de cette bactérie de se répliquer dans les macrophages.

Les MICI sont caractérisées par une dysrégulation immunitaire complexe, qui fait intervenir à la fois des acteurs de l'immunité innée et adaptative. Au niveau de l'immunité innée, un défaut de réponse au LPS bactérien, augmentant le pouvoir invasif de certaines bactéries et possiblement lié à la perte de fonction de *NOD2*, a été suggéré dans la MC. Les mutations d'*ATG16L1* et d'*IRGM* altèreraient les capacités d'autophagie et donc de lutte contre les pathogènes intracellulaires dans la MC. Enfin, un défaut de sécrétion de peptides antibactériens et une augmentation de la perméabilité de l'épithélium intestinal ont également été observés dans la MC. Au niveau de l'immunité adaptative, une polarisation préférentielle Th1 a été observée dans la MC sous la forme de production anormalement élevée d'IL-2 et d'INF γ par les cellules T muqueuses de la *lamina propria*. A l'inverse, une polarisation Th2 préférentielle a été rapportée dans la RCH avec une production élevée d'IL-13 par des cellules NK atypiques. Des données contradictoires existent cependant et le paradigme de la polarisation, notamment Th2 dans la RCH, est aujourd'hui remis en question. Plus récemment, il a été montré que la réponse muqueuse Th17 était impliquée dans l'inflammation intestinale, aussi bien dans la RCH que dans la MC. Cette polarisation Th17 s'accompagne de production de quantités importantes d'IL-17A et d'IL-21. En lien avec les données de génétique, on notera la présence de l'IL-23R à la surface des cellules Th17.

Symptômes et évolution

Bien qu'elles partagent des caractéristiques communes, la RCH et la MC sont des pathologies distinctes. Dans la RCH, l'inflammation ne touche que le côlon alors que dans la MC, tout le tube digestif peut être touché, avec une prédominance iléo-caecale. Au niveau microscopique, dans la RCH seul l'épithélium colique est touché par l'inflammation alors que dans la MC, l'atteinte est transmurale avec présence d'ulcérations. Les atteintes de la muqueuse sont continues et sans granulomes dans la RCH, et au contraire discontinues avec alternance des régions saines et présence de granulomes épithélioïdes (20 à 30% des cas) dans la MC (Beaugerie 2014, Fakhoury 2014).

Les signes généraux, comme les douleurs abdominales ou les diarrhées, ne sont pas spécifiques. On retrouve plus fréquemment des douleurs dans la fosse iliaque droite dans la MC, accompagnées de diarrhées en règle non sanglantes en alternance avec des épisodes de constipation et des fébricules. Dans la RCH, on retrouve des douleurs dans la fosse iliaque gauche fréquemment assorties de diarrhées sanglantes et de perte de poids. Dans 10 à 20% des cas, des signes extradigestifs peuvent être retrouvés, comme des douleurs articulaires, des atteintes oculaires (kératite, uvéite), cutanées (érythème noueux, *pyoderma gangrenosum*), vasculaires (thrombose) ou encore hépatobiliaires (cholangite sclérosante, dans la RCH notamment) (Beaugerie 2014, Fakhoury 2014).

| Key features | Crohn's disease | Ulcerative colitis |
|---------------------|---|--|
| Location | | |
| Upper parts of GIT | Rarely | Never |
| Distal Ileum | Very common | Never |
| Colon | Common | Always |
| Rectum | Rarely | Never |
| Signs and symptoms | Pain in the lower right abdomen, swelling, thickening of the bowel wall | Pain in the lower left abdomen, diarrhea, weight loss, rectal bleeding |

Abbreviation: GIT, gastrointestinal tract.

Tableau 2: Caractéristiques comparées de la MC et de la RCH.

(Fakhoury 2014)

Les complications de la MC comprennent les occlusions, les sténoses, les fistules, les abcès et perforations et la colite aigue grave. Le risque de cancer colorectal est également supérieur à celui de la population générale et la morbi-mortalité globale est supérieure à celle de la population générale. L'évolution naturelle de la maladie va vers la destruction progressive de l'intestin avec nécessité de résection chirurgicale (Beaugerie 2014, Fakhoury 2014). Le recours à la chirurgie est requis chez 70-75% des patients pour le traitement d'une maladie non contrôlée, d'une poussée ou d'une complication (cancer, abcès, fistule).

La complication la plus fréquente de la RCH est la colite aigue grave ; les fissures anales, fistules et abcès sont possibles mais uniques et sporadiques au contraire de la MC. Le risque de cancer colorectal est augmenté seulement chez les patients qui ont une colite étendue et ancienne, et la mortalité est équivalente à celle de la population générale (Beaugerie 2014, Fakhoury 2014). Le recours à la chirurgie est nécessaire chez 25-30% des patients.

Les MICI sont des maladies chroniques évoluant par poussées. Dans la RCH, la guérison de la muqueuse est en général complète entre deux poussées, alors que dans la MC, l'inflammation reste présente même pendant les phases de rémission et aboutit à l'accumulation progressive de lésions et à la destruction de l'intestin (Pariante 2011, Beaugerie 2014).

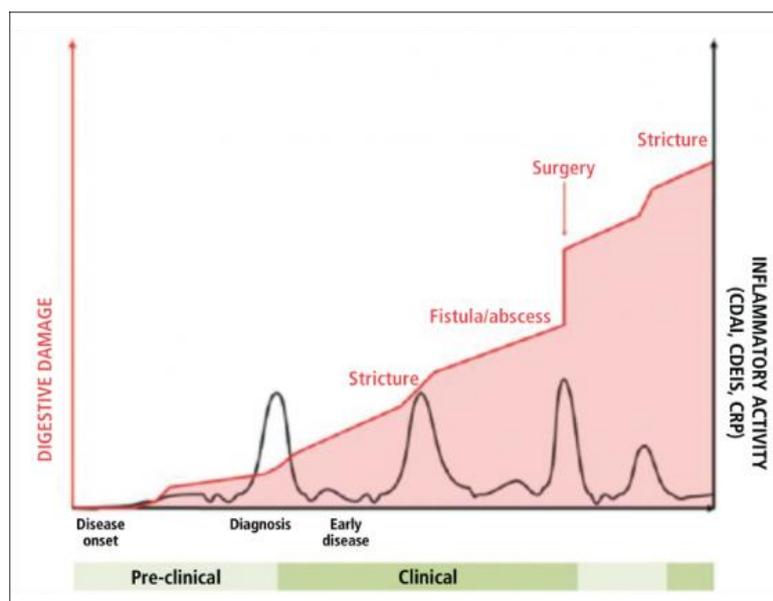


Figure 25: Evolution naturelle de la MC.

Entre les poussées de la maladie, les dommages intestinaux continuent de progresser (Pariante 2011).

Biologiquement, on retrouve un syndrome inflammatoire non spécifique avec élévation de la vitesse de sédimentation (VS), de la protéine C-réactive (CRP), et des signes d'inflammation chronique : anémie ferriprive inflammatoire, carence martiale, hypoalbuminémie, hyperplaquettose, augmentation du fibrinogène. Dans les selles, on retrouve un marqueur d'inflammation colique, la calprotectine, lorsque la maladie est active ; ce marqueur sert à la fois au diagnostic et au suivi de la maladie, une concentration faible dans les selles signant une rémission (D'Haens 2012, Mooiweer 2015). Le diagnostic peut être aidé par la présence d'anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), plutôt présents dans la MC, ou par la présence de pANCA (peripheral AntiNeutrophilic Cytoplasmic Antibody), plutôt présents dans la RCH. Leur sensibilité est relativement faible (environ 50%, augmentée dans les formes sévères) mais la spécificité est bonne, de l'ordre de 95-100% (Mokrowiecka 2009).

La localisation anatomique et phénotypique est caractérisée à l'aide de la classification de Montréal ; cette classification reflète par ailleurs les différences entre les deux maladies. Pour la RCH, seule l'étendue de la colite est prise en compte alors que dans la MC, la localisation et la sévérité des lésions intestinales, ainsi que la présence de symptômes extra-intestinaux (atteinte périanale et atteinte digestive haute) sont également relevés.

| Elements of classification | Categories | Description | Modifying factor |
|----------------------------|------------|----------------------------------|------------------------|
| Age at diagnosis | A1 | Up to 16 years | |
| | A2 | 17-40 years | |
| | A3 | >40 years | |
| Disease location | L1 | Terminal ileum | + L4 (upper GI tract) |
| | L2 | Colon | + L4 (upper GI tract) |
| | L3 | Ileo-colonic | + L4 (upper GI tract) |
| | L4 | Upper GI tract | - |
| Disease behaviour | B1 | Non stricturing, non fistulating | + P (perianal disease) |
| | B2 | Stricturing | + P (perianal disease) |
| | B3 | fistulating | + P (perianal disease) |

Tableau 3: Classification phénotypique de Montréal pour la MC.

(Louis 2011)

| Elements of classification | Categories | Description |
|----------------------------|------------|--------------------|
| Extension of colitis | E1 | Proctitis |
| | E2 | Left-sided colitis |
| | E3 | pancolitis |

Tableau 4: Classification phénotypique de Montréal pour la RCH.

(Louis 2011)

Traitements

Il n'existe pas à ce jour de traitement curatif des MICI. Les traitements actuellement disponibles ont donc plusieurs objectifs : faire régresser les symptômes, réduire la fréquence des poussées, retarder la constitution de lésions irréversibles, ralentir la nécessité de recours à la chirurgie, réduire l'incidence des manifestations extra-digestives et globalement améliorer la qualité de vie des patients.

Les traitements médicamenteux non biologiques incluent les glucocorticoïdes, les 5-aminosalicylés et les immunomodulateurs comme l'azathioprine et, plus rarement, le méthotrexate. Parfois, des immunosuppresseurs comme la ciclosporine peuvent être utilisés. Depuis quelques années, des thérapies ciblant les tyrosine-kinases sont en cours d'évaluation, comme le tofacitinib. Enfin, l'arsenal thérapeutique comprend des anticorps monoclonaux.

L'usage des anticorps thérapeutiques dans les MICI a débuté avec la mise sur le marché du premier anti-TNF α en 1998, l'infliximab. La prise en charge médicamenteuse des MICI a alors été révolutionnée, et rapidement d'autres anticorps anti-TNF α ont vu le jour, puis des anticorps dirigés contre d'autres cibles, présentés sur le schéma ci-dessous (Kim 2017).

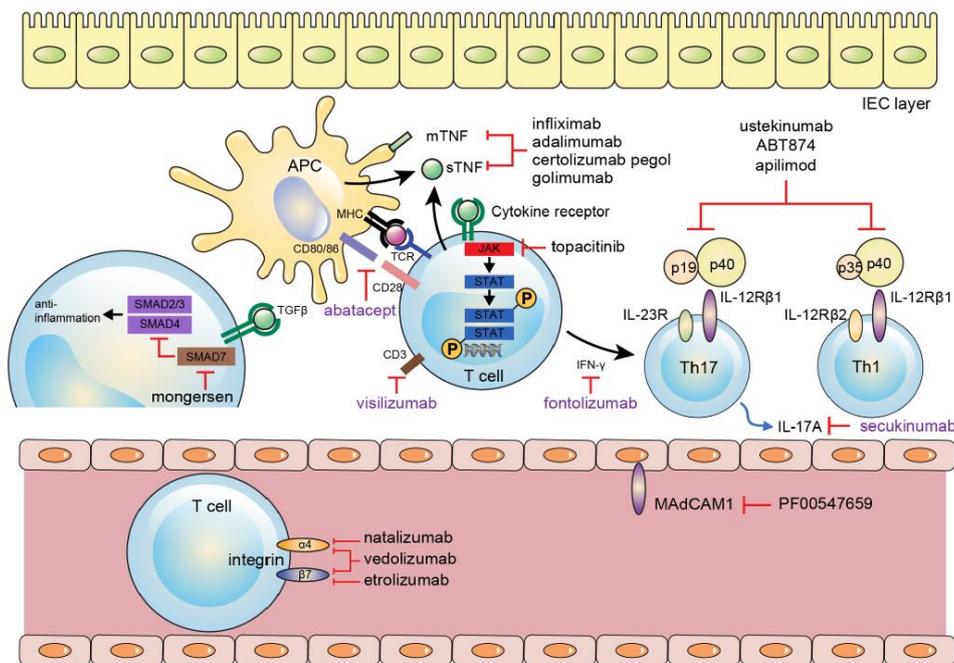


Figure 26: Approches thérapeutiques testées dans les MICI.

En violet, les approches n'ayant pas fait la preuve de leur efficacité, en noir, les approches efficaces (Kim 2017).

De façon intéressante, on notera que l'éтанercept ne figure pas parmi les traitements représentés sur cette figure au contraire des autres anti-TNF α , et que le secukinumab, agissant pourtant sur une composante essentielle de l'inflammation muqueuse (l'IL-17A), n'a pas fait la preuve de son efficacité. Au contraire, le secukinumab est responsable d'aggravations de la maladie et provoque des MICI induites chez les patients atteints de rhumatismes inflammatoires ou de psoriasis, pathologies dans lesquelles cet anticorps est efficace (Verstockt 2017). Cela illustre bien notre connaissance incomplète de la physiopathologie des MICI et la complexité des relations entre les effecteurs de l'immunité et la maladie ; en particulier, le manque d'efficacité de l'éтанercept dans les MICI implique que le blocage seul du TNF α n'est pas suffisant et que le mécanisme d'action des anti-TNF α fait donc intervenir d'autres composantes.

1.2.1.2 Le TNF α dans les MICI

Le TNF α , ou facteur de nécrose des tumeurs α , a été découvert en 1975 par Carswell. Le TNF α a été nommé ainsi pour sa capacité à induire la nécrose de diverses formes de tumeurs *in vivo* chez la souris et *in vitro* sur des cellules tumorales humaines et murines. En 1985, le gène du TNF α humain a été cloné, ce qui a permis une production à grande échelle de TNF α humain recombinant. De grands espoirs avaient été placés dans ses propriétés anti-tumorales, mais elles se sont révélées décevantes (Perše 2018).

Le TNF α est une cytokine homotrimérique membranaire (m-TNF α) de 233 acides aminés, qui peut être clivé et libéré sous une forme soluble trimérique de 51 kDa (s-TNF α). Il existe également une forme sécrétée monomérique de 17 kDa. Il est produit majoritairement par les macrophages activés mais de nombreux types de cellules immunitaires peuvent également le produire. Il existe deux types de récepteurs au TNF α : le TNF-RI, ubiquitaire, et le TNF-RII, exprimé principalement à la surface des cellules immunitaires. Le TNF-RI peut être activé par le m-TNF α et le s-TNF α , alors que le TNF-RII n'est activé que par le m-TNF α . Les effets du TNF α sont très complexes et partiellement élucidés. Parmi les effets clairement identifiés, l'activation des TNF-R par le TNF α peut initier trois voies de signalisation :

- Activation de NF- κ B, qui globalement aboutit à la prolifération cellulaire et à des effets anti-apoptotiques et pro-inflammatoires ;

- Activation de la voie des MAP kinases qui aboutit à la prolifération et la différenciation cellulaire, et qui est aussi pro-apoptotique ;
- Induction des signaux de mort cellulaire *via* les caspases aboutissant à l'apoptose.

Les effets apparemment contradictoires du TNF α vont globalement entraîner une activation de la réponse immunitaire et de l'inflammation, et les effets pro-apoptotiques sont largement contrebalancés par les effets prolifératifs. Les effets physiologiques sont nombreux : fièvre, anorexie (d'où son autre nom de cachexine), stimulation de la synthèse des protéines de la phase aigüe dont la CRP et de molécules d'adhésion à la surface de l'endothélium, attraction des polynucléaires, stimulation de la phagocytose, effet pro-inflammatoire *via* l'IL-1 et l'IL-6 entre autres.

Dans les années 90, les premiers rapports objectivant la présence de concentrations élevées de TNF α dans le sang, les selles et les biopsies intestinales des patients atteints de MICI ont été publiés. Plusieurs études chez la souris ont montré qu'une production excessive de TNF α au niveau intestinal était responsable du développement de colites inflammatoires et que les types cellulaires impliqués dans la production du TNF étaient importants ; une production accrue par les lignées myéloïdes donnait des colites sévères, alors qu'une production accrue par les lymphocytes T ne donnait qu'une colite légère et qu'une production par les lymphocytes B ne donnait pas de signes de MICI (Perše 2018).

1.2.1.3 Mécanismes d'action des anti-TNF α dans les MICI

Le mécanisme d'action des anti-TNF α dans les MICI est relativement complexe, du fait de l'action également complexe et ubiquitaire du TNF α , et n'est pas totalement élucidé. A ce jour, plusieurs mécanismes ont cependant été clairement identifiés et la multiplicité des structures des anticorps anti-TNF α a permis au moins partiellement d'identifier l'implication des différents fragments de l'anticorps dans le mécanisme d'action.

Actuellement, il existe 5 anticorps anti-TNF α commercialisés : l'infliximab (IgG1 chimérique murin-humain), l'adalimumab et le golimumab (IgG1 humaines), l'étanercept (protéine de fusion entre un Fc d'IgG1 humaine et le p75/TNF-R2) et le certolizumab pegol (fragment Fab d'IgG1 humanisée couplé à une molécule de PEG).

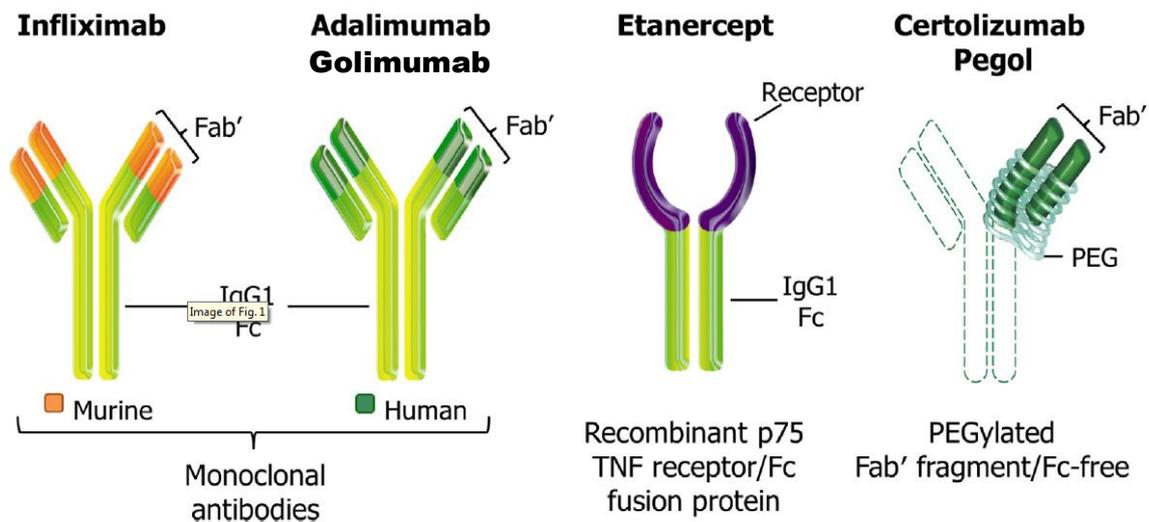


Figure 27: Structures des anti-TNF α commercialisés actuellement.

L'infliximab, l'adalimumab et le certolizumab ont l'AMM dans les MICI, contrairement à l'éta nercept (Porter 2016).

Les anti-TNF α ont une action neutralisante sur le TNF α circulant dont la concentration pourrait être augmentée dans les MICI, bien que des résultats contradictoires aient été publiés ; une revue récente a en effet montré que le TNF α circulant avant traitement par anti-TNF α était augmenté dans seulement 3 études sur 6 dans la MC et 4 études sur 10 dans la RCH, rendant difficile l'usage du TNF α circulant comme marqueur diagnostique ou pronostique (Korolkova 2015). Par ailleurs, la concentration molaire circulante du TNF α est de l'ordre de 10^{-11} mol/L et celle de l'infliximab, à titre d'exemple, est de l'ordre de 10^{-9} mol/L, soit une différence d'un facteur 100 et donc un déséquilibre stœchiométrique très en faveur de l'infliximab. Cela implique une neutralisation très rapide du TNF α circulant.

En accord avec ces données, il a été démontré sur un modèle murin de colite expérimentale que la seule neutralisation du TNF α circulant n'était pas suffisante à l'efficacité des anti-TNF α . En effet, sur ce modèle, l'abolition de l'affinité du Fc pour le Fc γ RI entraîne une perte totale d'efficacité du traitement, indiquant que l'interaction de l'anticorps avec le Fc γ RI est indispensable à son mécanisme d'action (McRae 2016). D'autres études *in vitro* ont démontré que les anticorps complets (infliximab, adalimumab et golimumab) pouvaient induire l'ADCC et la CDC, ainsi que l'éta nercept dans une moindre mesure, mais pas le certolizumab, indiquant l'implication du Fc dans ce processus (Nesbitt 2007, Ueda 2013).

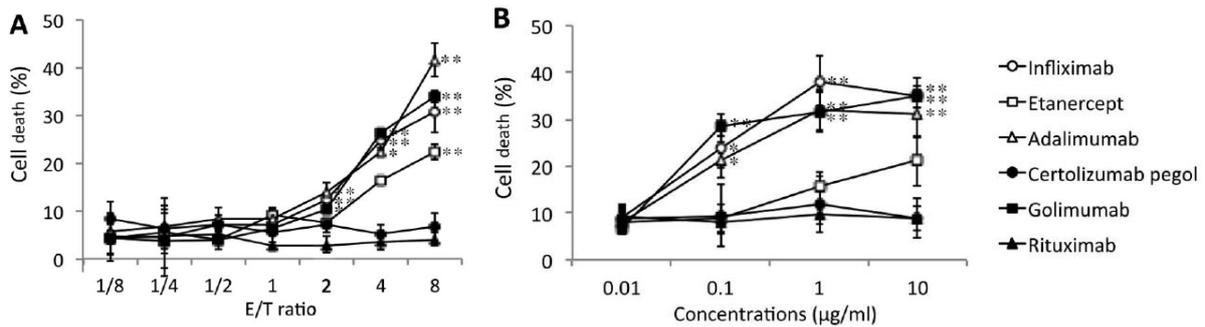


Figure 28: Effets cytotoxiques de l'infliximab, l'adalimumab, le golimumab, l'étanercept, le rituximab et le certolizumab.

A. Induction de l'ADCC sur des cellules exprimant le m-TNF α (cellules-cibles) en présence de PBMC (cellules effectrices). B. Induction de la CDC sur des cellules exprimant le m-TNF α (cellules-cibles) en présence de complément. Le certolizumab, en l'absence de Fc, ne peut induire ni CDC ni ADCC car il ne peut ni lier le C1q ni activer la cytotoxicité des PBMC via la liaison aux Fc γ R. Le rituximab, n'étant pas spécifique du TNF α , n'induit ni CDC ni ADCC dans ces conditions expérimentales. Noter que l'étanercept induit bien ADCC et CDC, mais dans une moindre mesure comparé aux anticorps anti-TNF α complets (Ueda 2013).

Ces données semblent indiquer, d'une part, que l'engagement des Fc γ R exprimés à la surface des PBMC est nécessaire à l'efficacité des anti-TNF α , et d'autre part, que la présence du fragment Fc est nécessaire à l'induction de la CDC et de l'ADCC. La conclusion pourrait être que les anti-TNF α agissent en détruisant par CDC et ADCC les cellules exprimant le m-TNF α , via l'engagement des Fc γ R des PBMC (*Peripheral Blood Mononuclear Cells*). Les cellules-cibles seraient les lymphocytes T pro-inflammatoires de la *lamina propria* qui expriment le m-TNF α .

Cependant, si la liaison au Fc paraît indispensable à l'efficacité des anti-TNF α sur les modèles murins, les données cliniques entrent en contradiction avec ce paradigme. Le certolizumab, qui ne porte pas de Fc, est en effet efficace dans les MICI, alors que l'étanercept, qui porte bien un Fc, ne l'est pas.

Une explication partielle a été proposée dans une étude où il a été montré que le certolizumab était capable d'induire une cytotoxicité directe sur des CD4 exprimant le m-TNF α , par un mécanisme distinct de l'ADCC et de la CDC (Ueda 2013). Ainsi, une partie du mécanisme d'action des anti-TNF α proviendrait également d'un effet cytotoxique direct sur les CD4 pro-inflammatoires de la *lamina propria*.

Il existe également un effet pro-apoptotique indirect qui semble provenir du blocage des signaux anti-apoptotiques générés *via* l'interaction du TNF-RII des cellules T CD4+ avec le m-TNF α exprimé à la surface des macrophages CD14+ (Atreya 2011). Par ailleurs, l'engagement des Fc γ R, outre la CDC et l'ADCC, est également responsable de la différenciation des macrophages de la *lamina propria* en « M2 wound healing macrophages », une sous-population de macrophages impliquée dans la cicatrisation muqueuse (Vos 2012). L'absence de Fc sur le certolizumab, et donc d'ADCC et de CDC, expliquerait en partie le faible pourcentage de patients qui ont obtenu une cicatrisation muqueuse complète dans une étude clinique publiée en 2013 sur la MC. Cependant, il faut noter que le critère de cicatrisation complète était particulièrement difficile à atteindre car les patients de l'étude avaient des lésions étendues (Hebuterne 2013).

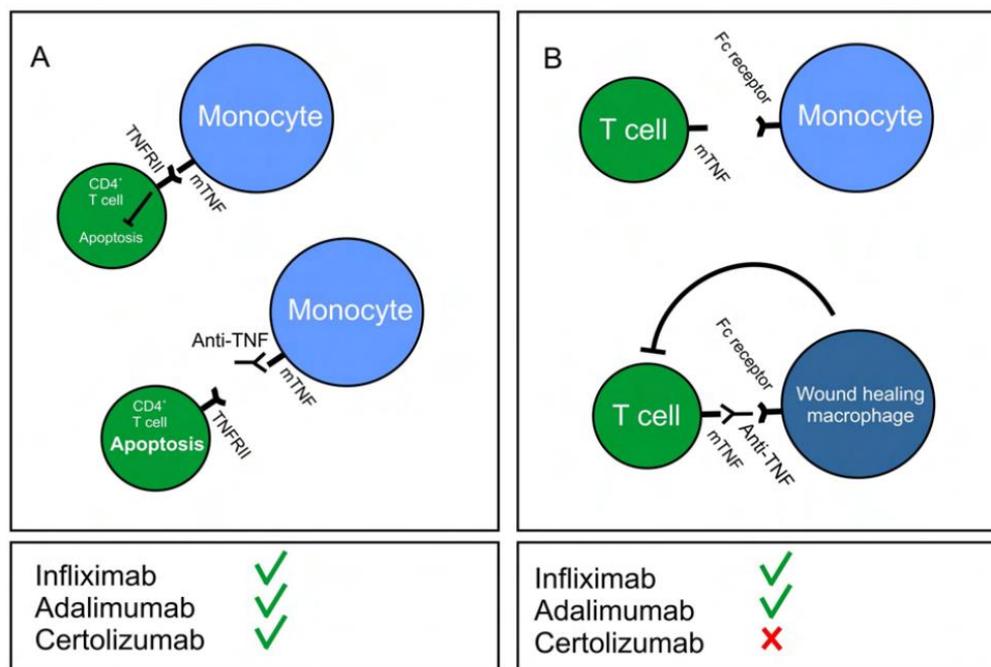


Figure 29: Effets pro-apoptotiques des anti-TNF α et induction de la différenciation des monocytes en macrophages M2 « wound healing ».

Le fragment Fc n'est pas nécessaire à la neutralisation du m-TNF α , ce qui permet de bloquer le signal anti-apoptotique des PBMC et d'entraîner l'apoptose des CD4 de la lamina propria. Au contraire, le Fc est indispensable à l'interaction avec les Fc γ R des macrophages pour induire leur différenciation en M2 « wound healing » qui favorisent la cicatrisation muqueuse (Levin 2016).

Par ailleurs, l'absence d'efficacité de l'éтанercept semble résulter de plusieurs facteurs. D'une part, l'éтанercept n'entraîne pas de cytotoxicité directe sur les CD4 exprimant le m-TNF α (Ueda 2013). De plus, l'ADCC et la CDC qu'il induit sont plus faibles que les anticorps complets. Plusieurs pistes peuvent expliquer ces différences.

La structure de l'éтанercept pourrait perturber l'activation du complément, de par une rigidité structurelle perturbant l'accès au C1q et par l'absence de domaine CH1 nécessaire à l'activation du C3, l'une des étapes de la cascade d'activation du complément (Mitoma 2008).

Par ailleurs, il a été démontré que l'affinité de liaison aux Fc γ R de l'infliximab et de l'adalimumab était augmentée une fois liés à leur cible antigénique, contrairement à l'éтанercept dont l'affinité de liaison ne change pas en présence de TNF α (Arora 2009). Cela pourrait expliquer en partie l'ADCC plus faible induite par l'éтанercept. Une étude a d'ailleurs démontré qu'il était possible d'obtenir une activité cytotoxique plus importante en augmentant l'affinité de liaison au TNF α . Le T0001, équivalent à l'éтанercept à l'exception d'une mutation ponctuelle dans le récepteur au TNF α augmentant son affinité de liaison pour ce dernier, est capable d'induire une ADCC équivalente à l'infliximab et à l'adalimumab et une CDC supérieure à celle de l'éтанercept, bien que de moindre puissance que les deux anticorps complets (Shen 2017).

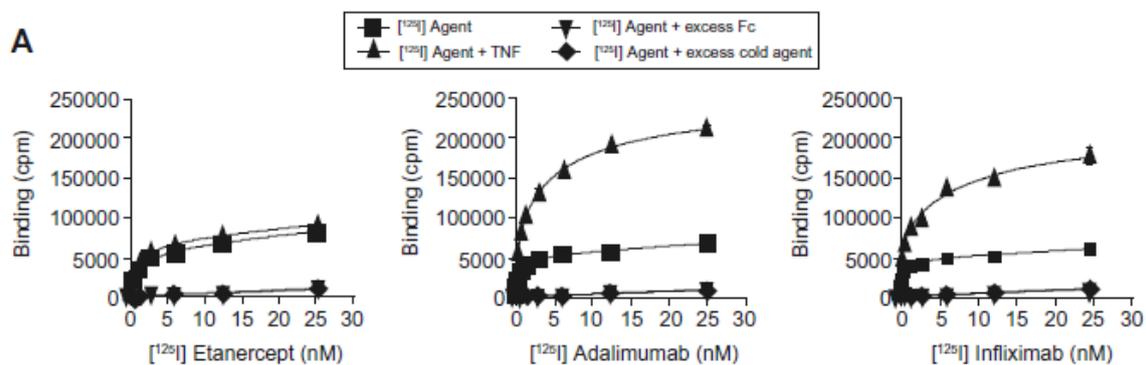


Figure 30: Affinité de liaison des anticorps anti-TNF α en présence ou non de TNF α .

Les anticorps entiers (infliximab et adalimumab) ont une affinité de liaison aux Fc γ R augmentée in vitro en présence de leur cible antigénique, alors que l'affinité de liaison de l'éтанercept ne change pas en présence de TNF α (Arora 2009).

De plus, l'engagement des Fc γ R est favorisé par leur pontage (voir 1.1.3.1). La structure monovalente de l'étanercept et sa rigidité, liée à l'absence de *hinge*, expliqueraient la formation de complexes de petite taille ayant peu de chances de ponter les Fc γ R à la surface d'une même cellule (Kohno 2007).

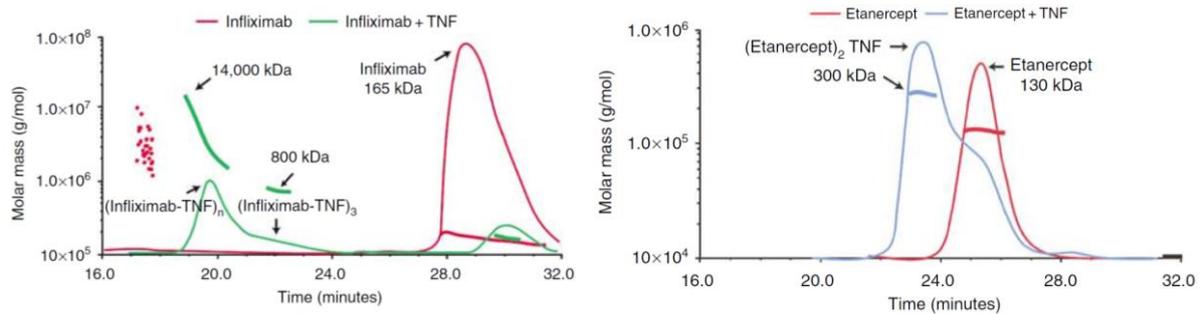


Figure 31: Comparaison de la taille des complexes immuns formés par l'infliximab et l'étanercept en présence de s-TNF α .

L'infliximab est capable de former des complexes de grande taille, jusqu'à 14 000 kDa, alors que l'étanercept du fait de sa structure ne peut former au plus que des complexes divalents de 300 kDa (Kohno 2007).

Enfin, il a été démontré sur des PBMC *in vitro*, après blocage des Fc γ R de surface, que l'étanercept n'induisait pas de *down-regulation* de la sécrétion de l'IL-10 et de l'IL-12p70 en présence de LPS, contrairement à l'infliximab et à l'adalimumab. De manière identique, l'adalimumab et l'infliximab induisent une apoptose des PBMC mais pas l'étanercept. Cela pourrait s'expliquer par la moindre affinité de l'étanercept pour le m-TNF α et par son incapacité à ponter les molécules de m-TNF α (Shen 2005). Il a été rapporté que l'IL-10 est surexprimée par les CD4 dans la muqueuse inflammatoire des patients atteints de RCH, bien que les effets de cette cytokine soient complexes, avec des effets pro- ou anti-inflammatoires selon le contexte (Melgar 2003). L'IL-12 est impliquée dans la polarisation Th1 de la réponse immunitaire. Ainsi, une forte affinité pour le m-TNF α pourrait suffire à induire une réponse clinique, même en l'absence d'interaction avec les Fc γ R des PBMC, via la réduction de la production de certaines cytokines pro-inflammatoires. Cela expliquerait pourquoi le certolizumab est efficace dans le traitement des MICI, du fait d'une affinité supérieure pour le m-TNF α à celle de l'étanercept.

1.2.1.4 Place des anti-TNF α dans le traitement des MICI

En France, les anti-TNF α sont indiqués dans la prise en charge des MICI actives modérées à sévères, après échec d'un traitement par corticoïdes et/ou immunomodulateurs, ou lorsque ces traitements sont contre-indiqués ou mal tolérés. L'infliximab et l'adalimumab sont indiqués dans la MC et la RCH, le golimumab seulement dans la RCH. Le certolizumab n'a pas d'AMM en France dans les MICI, mais il est autorisé aux USA dans la MC et peut être obtenu en France dans cette indication sous certaines conditions. Un essai clinique est en cours pour déterminer son efficacité dans la RCH (NCT01090154) (Arora 2015).

L'appréciation de la sévérité dans les MICI comprend à la fois un score clinique, une évaluation biologique de l'inflammation et une évaluation par imagerie (endoscopie ou IRM). L'imagerie est particulièrement importante dans la MC, où les scores cliniques (CDAI et Harvey-Bradshaw) sont grandement basés sur les symptômes et sont donc subjectifs, et où près de 50% des patients présentant des ulcérations muqueuses n'ont pas de syndrome inflammatoire biologique (Peyrin-Biroulet 2014).

L'European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO) propose des critères plus larges que l'AMM française pour débiter les anti-TNF α . En particulier, la corticodépendance et la corticorésistance dans la MC sont des critères à prendre en compte, ainsi que des facteurs de mauvais pronostic comme un jeune âge au diagnostic ou certaines localisations (atteinte du grêle ou ano-périnéale). L'utilisation d'une thiopurine avant le recours aux anti-TNF α est requis dans la RCH, mais pas dans la MC selon les recommandations de consensus de l'ECCO (Dignass 2012, Gomollon 2017).

Il faut noter cependant que les recommandations de l'AMM et de l'ECCO ne peuvent pas couvrir tous les cas et que l'appréciation du clinicien, dans le contexte particulier de chaque patient, reste indispensable dans le choix de débiter un traitement par anti-TNF α .

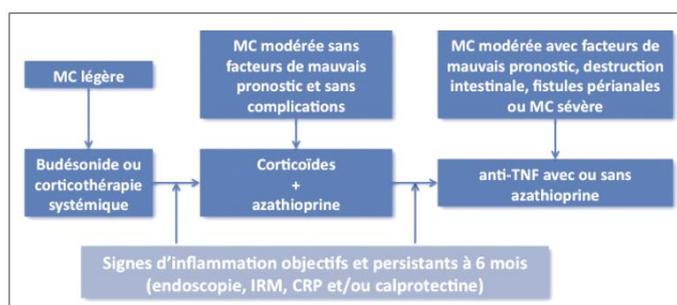


Figure 32: Proposition d'algorithme simplifié pour la prise en charge de la MC.

(Peyrin-Biroulet 2014)

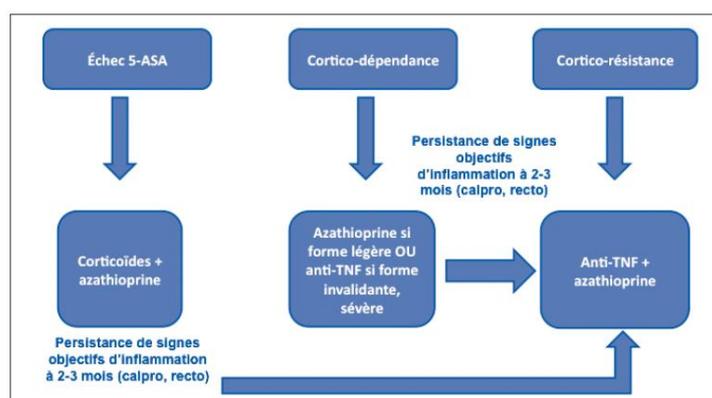


Figure 33: Proposition d'algorithme simplifié pour la prise en charge de la RCH.

(Peyrin-Biroulet 2014)

Concernant le choix de l'anti-TNF α , le consensus de l'ECCO considère que tous ont fait la preuve d'une efficacité équivalente et le choix est donc motivé par des questions pratiques (voie d'administration, coût, disponibilité). Le certolizumab présenterait cependant une moindre efficacité dans l'induction de la rémission dans la MC (Gomollon 2017).

Deux questions demeurent cependant une fois le traitement par anti-TNF α débuté :

- quelles modalités d'adaptation posologique en cas de réponse insuffisante (intensification thérapeutique ou « optimisation ») ou au contraire de rémission profonde (« désescalade ») ?
- est-il possible d'arrêter le traitement chez un patient en rémission profonde et si oui, quelles sont les modalités d'arrêt ?

La première question sera traitée dans la section 1.2.2. A la seconde question, il n'y a pas de réponse définitive pour le moment, l'arrêt de traitement semblant associé à un fort taux de

rechute précoce, et seuls quelques patients très sélectionnés pourraient être éligibles (Louis 2018).

Points-clés : les anti-TNF α dans le traitement des MICI.

Les MICI sont caractérisées par une **dysrégulation immunitaire** aboutissant à une **inflammation chronique de la muqueuse intestinale** responsable de la symptomatologie digestive. Cette inflammation s'accompagne d'un **excès de sécrétion de TNF α** par les cellules immunitaires. Les anticorps anti-TNF α s'opposent à l'inflammation en ciblant le **TNF α circulant et membranaire (m-TNF α)**. Leur mécanisme d'action est cependant complexe. Ils agiraient en induisant une cytotoxicité, par **CDC** en recrutant la fraction C1q du complément après liaison au m-TNF α , et par **ADCC** sur les cellules surexprimant le m-TNF α , via l'interaction avec les Fc γ R des PBMC. Ils peuvent également induire une **cytotoxicité directe** indépendante des Fc γ R, si leur affinité pour le m-TNF α est suffisamment forte. Ils induisent l'**apoptose des lymphocytes T CD4 de la lamina propria** en bloquant l'interaction entre le m-TNF α des PBMC et le récepteur TNFR-II exprimé à la surface des CD4. Ils induisent la **différenciation des macrophages en type M2** favorisant la cicatrisation muqueuse et entraînent l'apoptose des macrophages pro-inflammatoires. Enfin, les anti-TNF α peuvent **moduler la production de cytokines pro-inflammatoires par les PBMC** en liant le m-TNF α . La structure joue un rôle important dans le mécanisme d'action, les Fab ne pouvant induire ni CDC ni ADCC en l'absence de Fc. L'affinité de liaison pour le TNF α semble également jouer un rôle important, les protéines de fusion d'affinité moindre pour le TNF α induisant une cytotoxicité moins marquée que les anticorps complets.

1.2.2. Relation concentration-effet et STP des anti-TNF α dans les MICI

1.2.2.1 Relation concentration-effet des anti-TNF α dans les MICI

Relation concentration-réponse

Malgré leur efficacité, il existe une grande variabilité de réponse aux anticorps anti-TNF α dans le traitement des MICI. On déplore environ 30% d'échecs primaires (absence de réponse) et 50% d'échecs secondaires (perte de réponse chez des patients initialement répondeurs) sous traitement. En conséquence, se pose la question de l'origine de ces échecs. De nombreuses études ont tenté d'élucider cette question en s'intéressant à l'exposition des patients au traitement, souvent évaluée par la mesure des concentrations résiduelles circulantes d'anticorps thérapeutique. Une récente synthèse de la littérature a identifié pas moins de 83 articles scientifiques ayant mis en évidence une relation entre la concentration sanguine d'anti-TNF α et la réponse au traitement (Papamichael 2019).

Il apparaît de plus en plus probable que la concentration-cible est variable en fonction de l'objectif considéré. Une concentration plus élevée serait par exemple nécessaire pour l'obtention d'une cicatrisation muqueuse que pour l'obtention d'une réponse biologique, et une réponse biologique complète nécessiterait des concentrations plus élevées qu'une réponse partielle (Roblin 2017, Papamichael 2019). De plus, les objectifs de concentration sont variables en fonction du moment du traitement ; typiquement avec l'infliximab, les concentrations-cibles en période d'induction sont plus élevées qu'au cours du traitement d'entretien, en partie du fait d'un schéma d'administration intensif en début de traitement (administration aux semaines S0, S2 et S6 en induction puis toutes les 8 semaines en entretien), mais également du fait de besoins supérieurs en médicament en début de traitement pour obtenir la rémission. De façon similaire, les concentrations résiduelles minimales requises pourraient être plus faibles chez les patients en rémission profonde.

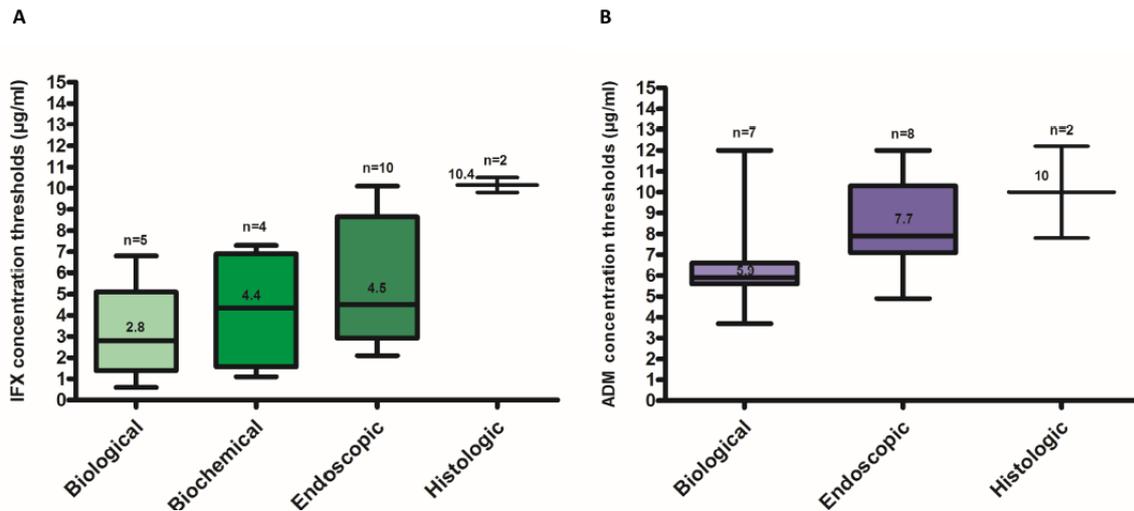


Figure 34: Concentrations-cibles en anti-TNF α selon la réponse.

Distribution des concentrations résiduelles minimales à atteindre en traitement d'entretien avec l'infliximab (A) ou l'adalimumab (B) dans des études comparables selon les objectifs : rémission biologique (CRP), biochimique (calprotectine fécale), endoscopique ou histologique (Papamichael 2019).

Relation concentration-toxicité

Les anti-TNF α sont connus pour entraîner des effets indésirables en relation avec leurs effets sur le système immunitaire. On note en particulier un risque accru de cancer et une augmentation de la fréquence des infections, dont des infections opportunistes communautaires mais également des infections plus graves (tuberculose).

En dehors des travaux présentés dans le cadre de ce travail de thèse (voir 4.5), il n'a pas été démontré que la concentration ou l'exposition aux anti-TNF α était liée au risque de cancer ou d'infection dans les MICI. En conséquence, il n'existe actuellement aucun seuil supérieur de concentration résiduelle validé. Une seule étude, dans les rhumatismes inflammatoires, a fait état d'une relation entre une concentration résiduelle chroniquement élevée d'infliximab et le risque infectieux (Bejan-Angoulvant 2017). Il n'existe pas de données avec les autres anti-TNF α concernant une éventuelle relation exposition-toxicité.

En marge de ces effets indésirables, il est désormais connu que le risque d'immunisation contre les anti-TNF α , en particulier l'infliximab, est augmenté en cas de sous-exposition. En pratique, cela signifie que la définition de la concentration minimale à atteindre doit prendre en compte à la fois la probabilité de réponse clinique et la probabilité d'immunisation.

Difficultés posées par l'étude de la relation concentration-effet

En plus de la variabilité des concentrations-cibles selon l'objectif clinique, l'étude de la relation concentration-effet des anti-TNF α est rendue difficile par une grande hétérogénéité des études sur le sujet. Celles-ci diffèrent notamment sur :

- la définition du critère de jugement : réponse clinique, cicatrisation muqueuse, réponse biologique basée sur la CRP et/ou la calprotectine fécale, critères composites ;
- le moment de l'évaluation de la réponse : évaluation longitudinale avec une analyse statistique type survie, évaluation en point donné (par exemple taux de patients répondeurs à 1 an) avec analyse statistique type régression logistique ;
- la population à l'étude : taille des échantillons de patients, âge (adultes ou enfants) ;
- le design : prospectif ou rétrospectif ;
- la pathologie : MC, RCH ou population mixte ;
- le moment du traitement : traitement d'induction ou traitement d'entretien, optimisation ou désescalade thérapeutique ;
- les méthodes de dosage des anticorps thérapeutiques (en particulier, plusieurs techniques ELISA différentes) ;
- les méthodes pharmacocinétiques éventuelles qui sont appliquées : estimation de concentration et/ou d'ASC par méthode compartimentale ou simple mesure de concentration.

En plus de ces difficultés méthodologiques, l'étude de la relation concentration-effet des anti-TNF α présente une difficulté supplémentaire : la pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques est très variable au cours du temps chez un même individu, du fait notamment de l'influence des anticorps anti-médicaments et de l'évolution de la masse antigénique. En conséquence, l'évaluation de la relation concentration-effet est particulièrement délicate lorsque le design de l'étude ne prévoit pas suffisamment de points de mesure de la concentration résiduelle (voir 1.2.3).

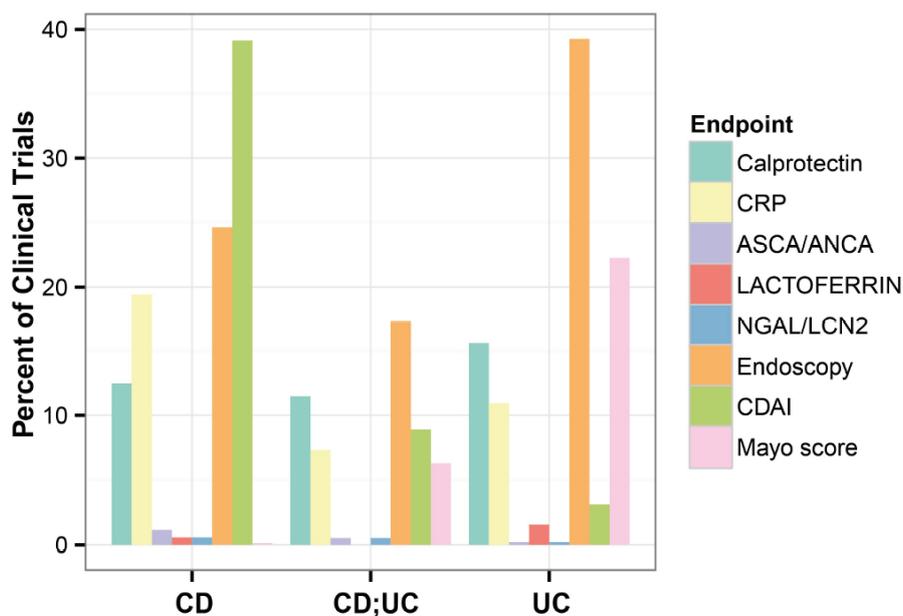


Figure 35: Synthèse des marqueurs cliniques, paracliniques et moléculaires utilisés pour évaluer la réponse au traitement dans les études enregistrées sur ClinicaTrial.gov en 2015.

On remarque une grande hétérogénéité des méthodes d'évaluation de la réponse dans les essais. Par exemple dans la MC, près de 40% des études utilisent le CDAI (Crohn's Disease Activity Index), qui est un score clinique subjectif, contre moins de 25% qui utilisent l'évaluation de la cicatrisation par endoscopie (Titz 2018).

Enfin, la mesure de la concentration résiduelle, classiquement utilisée pour évaluer la relation concentration-effet, peut ne pas être adaptée aux anti-TNF α . En effet, pour les médicaments dont la pharmacocinétique est linéaire, la concentration résiduelle et l'exposition entre deux administrations (représentée par l'AUC_{0-tau}) sont fortement corrélées. En conséquence, la concentration résiduelle est un bon reflet de l'exposition. La non-linéarité pharmacocinétique des anticorps n'a jamais été observée avec les anti-TNF α en clinique et la résiduelle devrait donc refléter l'exposition (voir 1.2.3). Cependant, les modulations de posologie des anti-TNF α (dose et intervalle d'injection) font qu'à clairance égale, une même concentration résiduelle peut être obtenue pour des expositions différentes entre deux administrations. Cela remet en question la pertinence de la concentration résiduelle pour le suivi de l'exposition et augmente la difficulté de comparaison des résultats des études de relation concentration-effet, quand ces paramètres posologiques ne sont pas maîtrisés.

1.2.2.2 Apport du suivi thérapeutique pharmacologique

Malgré les difficultés pour définir un intervalle de concentration résiduelle à cibler, dans l'état actuel des connaissances, il ne fait pas de doute qu'il est nécessaire de maintenir une concentration résiduelle minimale pour obtenir une réponse clinique puis la maintenir. Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) consiste à mesurer les concentrations de médicament dans le sang afin d'évaluer l'exposition au traitement, et de proposer en cas de sous-dosage ou de surdosage des adaptations posologiques afin de maximiser l'efficacité du traitement et de limiter le risque de toxicité concentration-dépendante.

Le STP peut être proactif, réalisé sans point d'appel particulier, ou réactif, en réponse à une situation dont on souhaite objectiver la cause (perte de réponse, toxicité). Actuellement, dans les MICI, le STP des anti-TNF α a fait la preuve de son intérêt, mais il reste des controverses quant aux modalités pratiques de mise en œuvre (proactif *versus* réactif) et les avantages qui en découlent. Une récente méta-analyse a analysé les données issues de 11 publications et a conclu que le STP réactif présentait un intérêt économique et que le STP proactif présentait plutôt un intérêt en termes de persistance du traitement. Les résultats concernant l'aide à l'obtention de la réponse clinique restent peu concluants (Ricciuto 2018). Une récente revue de la littérature a conclu que le STP proactif ne peut être recommandé actuellement mais que des indications dans la désescalade se dessinent (Roblin 2018). Nous traiterons de cette question plus tard dans ce travail (voir 4.3 et 4.4).

Actuellement, l'American Gastroenterology Association (AGA) et un consensus Australien (IBD Sydney Organisation and the Australian Inflammatory Bowel Diseases Consensus Working Group) ont émis des recommandations qui soutiennent le recours au STP pour guider l'adaptation posologique notamment en cas de traitement inefficace (Feuerstein 2017, Mitrev 2017). L'AGA précise néanmoins que le niveau de preuve est de faible qualité, et n'émet pas de recommandation pour le suivi proactif faute de données (Feuerstein 2017). Le consensus australien note également un niveau de preuve faible à modéré dans la plupart des cas, mais intègre pourtant le recours au STP dans les algorithmes décisionnel (Mitrev 2017). Par ailleurs, de plus en plus d'auteurs tentent de démontrer l'intérêt d'un STP proactif et la question fait débat dans la communauté scientifique, certains experts allant jusqu'à exprimer leur désaccord avec les consensus internationaux en ce qui concerne la nécessité d'un STP proactif (Papamichael 2018).

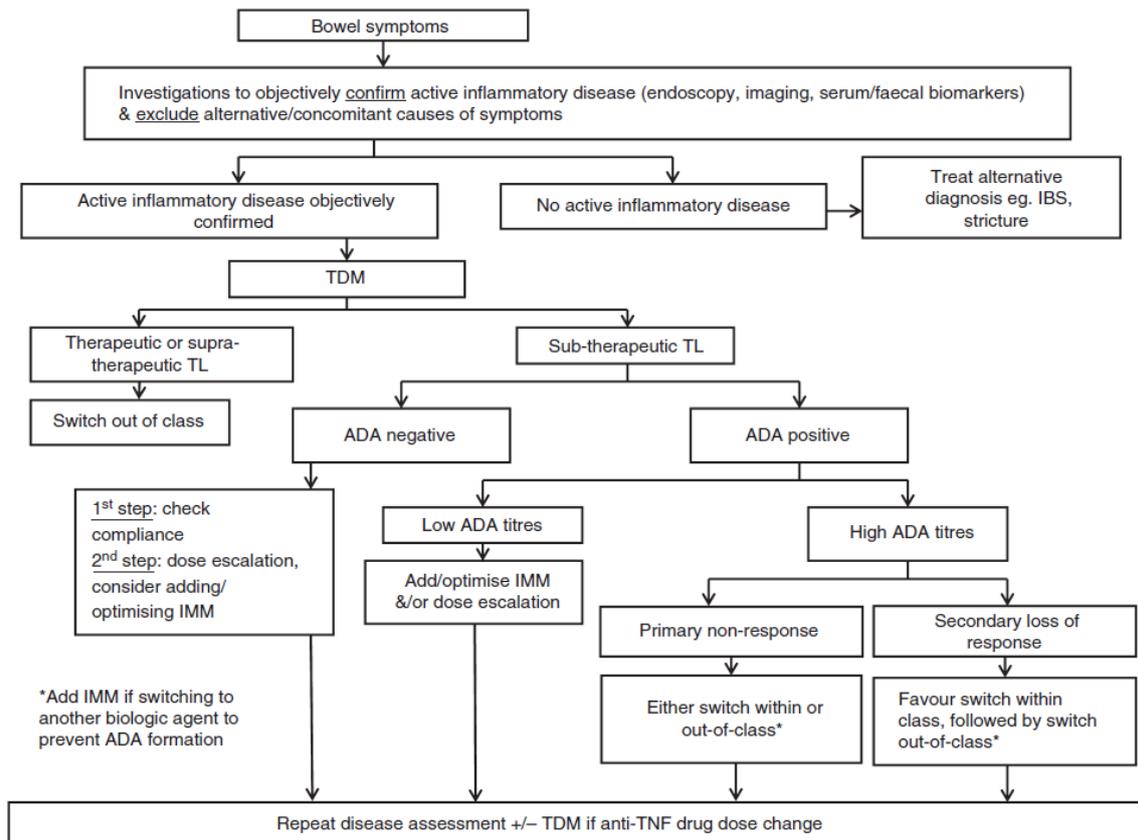


Figure 36: Exemple d'algorithme décisionnel d'adaptation du traitement par anti-TNF α en cas de maladie insuffisamment contrôlée.

On remarque l'intégration du STP pour évaluer l'exposition et rechercher la présence d'ADA dans l'aide à la prise de décision (Mitrev 2017).

Un élément qui est peu évoqué dans ces différents travaux est l'intérêt potentiel du STP pour guider la désescalade thérapeutique. En effet, puisqu'il n'existe actuellement aucun seuil supérieur de concentration résiduelle validé, le surdosage est rarement considéré en pratique clinique courante faute de données scientifiques concernant ses conséquences. L'intérêt économique de la désescalade reste à discuter, mais cette question est rendue moins urgente par le développement des biosimilaires de l'infliximab et de l'adalimumab, bien moins chers et remettant en question la balance économique du recours au STP. Peu d'études ont par ailleurs évalué l'intérêt du STP pour guider la désescalade thérapeutique (Amiot 2016). Les travaux présentés dans ce travail de thèse apportent de nouvelles informations sur l'intérêt du STP pour guider la désescalade et sur l'intérêt de la désescalade en termes de sécurité (voir 4.3, 4.4 et 4.5).

Un élément supplémentaire qui rend difficile la définition de la place du STP est la recherche des ADA. En effet, une concentration résiduelle faible peut faire évoquer une immunisation, et dans ce cas, la détection et la quantification des ADA peuvent aider à la prise de décision. Cependant, les difficultés analytiques (évoquées en 1.1.7.5) rendent complexe l'interprétation des résultats, notamment en cas de résultat négatif. En cas de résultat positif, le titre des ADA est considéré comme un élément important pour guider la décision clinique. Pourtant, la définition des titres-seuils pour objectiver une immunisation de forte intensité est également difficile, d'une part à cause de la difficulté à établir le lien entre le titre d'ADA et leur effet (pharmacocinétique et/ou pharmacodynamique), d'autre part à cause du manque de comparabilité des résultats des différentes techniques qui ne sont parfois même pas exprimées dans les mêmes unités.

Ainsi, bien que la place exacte du STP reste probablement encore à préciser et puisse évoluer dans les années à venir, la communauté scientifique s'accorde sur le fait que le STP est utile pour objectiver les sous-expositions responsables de réponse insuffisante ou de rechute, en accord avec la relation concentration-effet mise en évidence avec les anti-TNF α . Les sous-expositions expliquent une part importante des échappements de traitement. La cause de ces sous-expositions est l'existence d'une variabilité pharmacocinétique inter- et intra-individuelle importante, comme pour tous les anticorps thérapeutiques, mais qui présente quelques particularités propres aux anti-TNF α et aux MICI.

Points-clés : la relation concentration effet et le STP des anti-TNF α dans les MICI

De très nombreuses études ont permis de mettre en évidence l'**existence d'une relation concentration-effet des anti-TNF α dans les MICI**. Cependant, ces études souffrent d'une **grande hétérogénéité méthodologique** qui rend **difficile la définition d'un intervalle de concentration** à cibler. De plus, il semble que la **concentration minimale à obtenir soit dépendante de la réponse souhaitée** ; les réponses les plus « superficielles » (disparition du syndrome inflammatoire biologique) sont atteintes pour des concentrations plus faibles que les réponses profondes (cicatrisation muqueuse objectivée à l'endoscopie), et les concentrations nécessaires pour maintenir la rémission sont plus faibles que celles requises pour l'induire. La définition de la concentration minimale requise doit également tenir compte du **seuil immunogène**, une concentration en deçà de laquelle la probabilité d'immunisation contre le médicament augmente. Il n'existe que très peu de données concernant l'existence d'une **relation concentration-toxicité** mais il pourrait exister un **risque accru d'infection en cas de surexposition chronique**. Le recours au STP fait l'objet de débat. Il est admis que **la mesure de la concentration résiduelle permet de documenter des pertes de réponses liées à une sous-exposition**, mais le recours à un STP proactif plutôt que réactif reste controversé. La place du STP dans certaines situations particulières (désescalade, arrêt de traitement) reste encore à préciser.

1.2.3. Pharmacocinétique des anti-TNF α dans les MICI

1.2.3.1 Propriétés pharmacocinétiques générales

Les anti-TNF α partagent les propriétés pharmacocinétiques générales des anticorps thérapeutiques. La pharmacocinétique de l'infliximab, administré par voie IV, est généralement décrite par un modèle bicompartimental. On retrouve un volume central de distribution faible, de l'ordre de 2-5L, et un volume de distribution périphérique de même ordre de grandeur. Pour l'adalimumab et le certolizumab, l'administration par voie SC et une absorption lente (demi-vie d'absorption de 3.5 jours environ) empêchent l'identification de la phase de distribution, et des modèles monocompartimentaux sont donc utilisés. Le volume de distribution unique estimé est une approximation de la somme du volume central et du volume périphérique, il peut donc être un peu plus élevé dans quelques études (6-8L). La demi-vie d'élimination des anti-TNF α est de l'ordre de 14 jours, mais reste variable selon les études.

| Anticorps | Struct. | N | Voie | Comp | Vc (L) | CL (L/j) | Vp (L) | T $\frac{1}{2}$ - α (j) | T $\frac{1}{2}$ - β (j) | k _a (j ⁻¹) | F | Référence |
|--------------|---------|------|------|------|--------|----------|--------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|------|-----------------------|
| Adalimumab | IgG1 | 56 | SC | 1C | 8,64 | 0,27 | - | - | 22,28 | 0,15 | 0,64 | (Ternant 2015) |
| Adalimumab | IgG1 | 189 | SC | 1C | 3,04 | 0,18 | - | - | 11,76 | 0,20 | 0,64 | (Sharma 2015) |
| Adalimumab | IgG1 | 96 | SC | 1C | 2,60 | 0,20 | - | - | 8,82 | 0,20 | 0,64 | (Berends 2018) |
| Certolizumab | Fab-PEG | 2157 | SC | 1C | 6,47 | 0,58 | - | - | 7,70 | 0,20 | 0,85 | (Wade 2015) |
| Certolizumab | Fab-PEG | 2157 | SC | 1C | 7,08 | 0,45 | - | - | 10,96 | 1,83 | 0,85 | (Vande Casteele 2017) |
| Infliximab | IgG1 | 111 | IV | 1C | 5,80 | 0,29 | - | - | 13,96 | - | - | (Ternant 2015) |
| Infliximab | IgG1 | 133 | IV | 2C | 2,60 | 0,34 | 4,50 | 0,54 | 15,68 | - | - | (Aubourg 2015) |
| Infliximab | IgG1 | 332 | IV | 2C | 4,72 | 0,36 | 2,40 | 0,64 | 14,10 | - | - | (Brandse 2017) |
| Infliximab | IgG1 | 33 | IV | 2C | 3,10 | 0,29 | 2,40 | 4,11 | 20,31 | - | - | (Ternant 2008) |
| Infliximab | IgG1 | 482 | IV | 2C | 3,10 | 0,38 | 4,20 | 0,15 | 13,39 | - | - | (Fasanmade 2009) |
| Infliximab | IgG1 | 692 | IV | 2C | 3,60 | 0,38 | 1,30 | 3,47 | 11,53 | - | - | (Fasanmade 2011) |
| Infliximab | IgG1 | 54 | IV | 2C | 2,40 | 0,38 | 1,40 | 2,91 | 12,04 | - | - | (Dotan 2014) |
| Infliximab | IgG1 | 42 | IV | 2C | 4,94 | 0,20 | 3,13 | 11,73 | 51,48 | - | - | (Buurman 2015) |

Tableau 5: Résumé des principales caractéristiques pharmacocinétiques des anti-TNF α estimées par modélisation compartimentale dans les MICI.

Struct : structure, N : nombre de patients, Comp : modèle compartimental (1C : monocompartimental, 2C : bicompartimental), Vc : volume central, Vp : volume périphérique, T $\frac{1}{2}$ - α et T $\frac{1}{2}$ - β : demi-vies de distribution et d'élimination, respectivement, k_a : constante d'absorption, F : biodisponibilité.

1.2.3.2 Variabilité pharmacocinétique inter-individuelle

Les anti-TNF α présentent une importante variabilité pharmacocinétique interindividuelle, dont les sources peuvent être schématiquement subdivisées en trois groupes :

- sources liées à l'individu : sexe, poids, métabolisme protéique, caractéristiques génétiques ;
- sources liées à la masse antigénique ;
- sources liées à l'immunogénicité de l'anticorps.

Certaines de ces sources de variabilité pharmacocinétique sont communes à tous les anticorps thérapeutiques, d'autres sont spécifiques aux MICI.

Sources de variabilité liées à l'individu

On retrouve fréquemment dans les études de pharmacocinétique de population une corrélation positive entre la corpulence (poids ou indice de masse corporelle) et la clairance et/ou le volume de distribution des anticorps anti-TNF α dans les MICI (Ternant 2008, Fasanmade 2009, Fasanmade 2011, Dotan 2014, Sharma 2015, Ternant 2015, Wade 2015, Vande Castele 2017). Le sexe influence également la pharmacocinétique, de façon indépendante de la corpulence (Ternant 2008, Fasanmade 2009, Dotan 2014, Buurman 2015). Les hommes ont en moyenne une clairance et un volume de distribution supérieurs aux femmes, à poids équivalent.

Il a été fréquemment rapporté qu'il existait une corrélation négative entre la concentration d'albumine et la clairance des anticorps thérapeutiques (Dirks 2010). Ceci s'expliquerait par l'existence du mécanisme commun de protection et de recyclage de l'albumine et des IgG *via* le FcRn (voir 1.1.5.5). Une concentration faible en albumine indiquerait un recyclage peu efficace, qui se traduit par une clairance augmentée de l'albumine et des IgG, et donc des concentrations plus faibles en albumine et en IgG, dont les anticorps thérapeutiques. Il est également possible que l'albumine soit un reflet de l'activité catabolique globale, qui est augmentée en cas d'inflammation chronique ; ainsi, une albumine basse serait un reflet d'une inflammation intense, et donc d'une masse antigénique importante qui elle-même augmenterait le phénomène d'élimination médiée par la cible, d'où des concentrations plus faibles en anticorps thérapeutique. La relation entre albumine et clairance a été rapportée

pour les anti-TNF α dans les MICI dans plusieurs études (Fasanmade 2009, Fasanmade 2011, Wade 2015, Vande Casteele 2017).

Enfin, il existe dans les MICI une perte de substance due à la présence de lésions coliques. L'exsudation colique est associée à une perte digestive de protéines, dont l'albumine, mais également les anticorps thérapeutiques. Une étude récente a notamment montré l'existence de pertes importantes d'infliximab dans les selles des patients non-répondeurs en début de traitement (Brandse 2015) ; il reste cependant difficile de savoir si les pertes digestives sont responsables d'un sous-dosage en médicament expliquant l'absence de réponse, ou si les pertes digestives sont le marqueur d'une maladie très active et donc moins sensible au traitement.

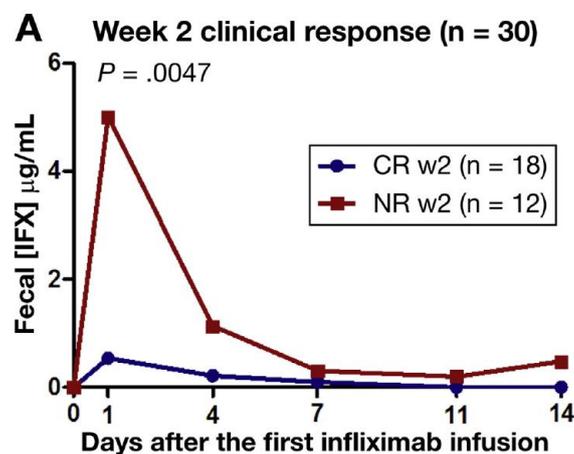


Figure 37: Concentrations fécales d'infliximab chez les individus répondeurs versus les non-répondeurs après deux semaines de traitement.

Une concentration fécale plus élevée est associée à une moins bonne réponse, sans qu'il soit possible de dire si la perte fécale entraîne une sous-exposition expliquant l'absence de réponse ou si elle est un marqueur d'une inflammation intense, reflet d'une maladie moins sensible au traitement (Brandse 2015)

Certains paramètres génétiques pourraient influencer l'élimination des anti-TNF α . Il a été montré que des polymorphismes des gènes codant les chaînes lourdes des IgG endogènes peuvent influencer indirectement la clairance de l'infliximab dans la spondylarthrite ankylosante. En effet, certains génotypes de chaînes lourdes aboutissent à une affinité moindre pour le FcRn, entraînant une réduction du recyclage des anticorps endogènes, et favorisant le recyclage des anticorps thérapeutiques par réduction de la compétition avec les anticorps endogènes. La conséquence est une réduction de la clairance de l'anticorps

thérapeutique par augmentation de son recyclage et réduction de son élimination non-spécifique (Ternant 2015). Bien que cela n'ait pas été démontré dans les MICI, il est probable que ce mécanisme soit transposable à ces pathologies. Une autre étude dans les MICI a montré que l'exposition à l'infliximab et à l'adalimumab, mesurée par l'ASC, était plus élevée chez les patients homozygotes *VNTR3/VNTR3*, car ils produisaient plus de FcRn (1.66 fois plus) et avaient donc un recyclage plus efficace des IgG, dont les anticorps thérapeutiques (Billiet 2016). Il a également été rapporté dans la MC que la clairance de l'infliximab était plus élevée chez les patients porteurs de la mutation 158 V/V du gène *FCGR3A* codant pour le FcγRIIIa. Cette mutation est responsable d'une affinité de liaison plus élevée du FcγRIIIa qui résulterait en une ADCC plus efficace et consécutivement une élimination spécifique plus rapide, se traduisant par une clairance plus élevée (Ternant 2015).

Sources de variabilité liées à la masse antigénique

Une source fréquemment rapportée de variabilité pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques est la masse antigénique ; plus celle-ci est importante, et plus l'élimination spécifique de l'anticorps est intense et donc plus sa clairance est élevée.

Peu d'études ont évalué la relation entre la concentration de s-TNFα et la concentration d'anticorps anti-TNFα. Dans une étude chez des patients atteints de MICI traités par anti-TNFα, on retrouvait des concentrations s-TNFα plus élevées chez les non-répondeurs (10,3pg/mL *versus* 6,5pg/mL), mais pas de corrélation entre s-TNFα et la concentration d'infliximab (Pallagi-Kunstar 2014). Cela pourrait être dû au large excès d'infliximab par rapport au s-TNFα (Ternant 2019). On note cependant dans cette étude une concentration significativement plus élevée de s-TNFα en présence d'ADA, ce qui est cohérent avec une proportion importante d'ADA neutralisants qui empêcheraient l'infliximab de neutraliser sa cible circulante (Pallagi-Kunstar 2014). Une autre étude a montré que chez les patients ayant une inflammation active (CRP>5mg/L), le rapport du s-TNFα sur la concentration circulante en anti-TNFα était plus élevé que chez les patients non-inflammatoires (Yarur 2016).

Dans les MICI, la majorité de la masse antigénique pourrait se trouver dans la muqueuse inflammatoire plutôt que dans le sang. Une étude sur biopsies coliques humaines a démontré que la concentration de TNFα était plus importante dans les tissus

inflammatoires, et croissante avec le niveau d'inflammation. De façon analogue, on observait une augmentation de la concentration d'anti-TNF α dans les tissus les plus inflammatoires, à l'exception notable des tissus très inflammés où l'on retrouvait paradoxalement moins de médicament (Yarur 2016), possiblement à cause du phénomène d'exsudation décrit plus haut ou de l'effet de *binding site barrier* (voir 1.1.5.2).

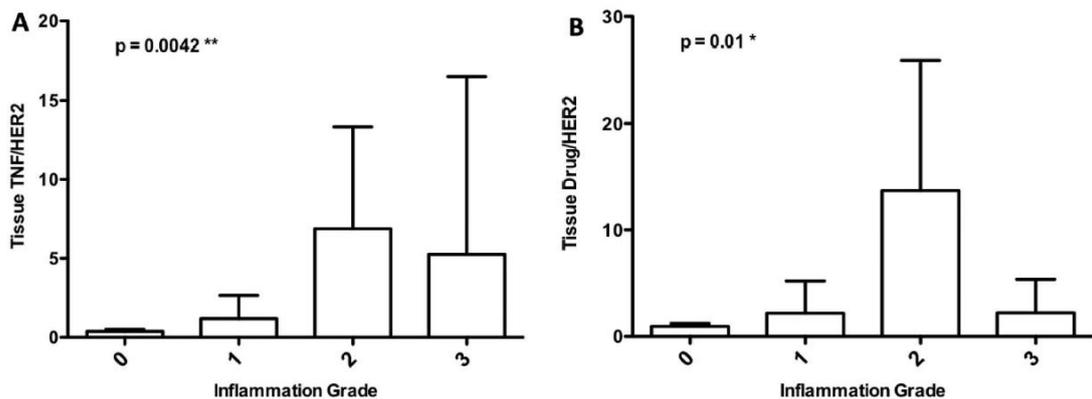


Figure 38: Quantités de TNF α et d'anticorps anti-TNF α dans des biopsies de muqueuse de patients atteints de MICI selon le degré d'inflammation.

On remarque que la quantité de TNF α tissulaire augmente avec le niveau d'inflammation, mais que la quantité de médicament augmente avec l'inflammation jusqu'à un certain point au-delà duquel elle chute brutalement, suggérant un défaut de pénétration ou une perte de médicament dans les tissus très inflammés (Yarur 2016).

Cependant, dans la majorité des publications, l'antigène-cible n'est pas mesuré directement et ce sont plutôt des marqueurs biologiques d'inflammation et/ou des scores cliniques d'activité de la maladie qui sont utilisés. De nombreuses publications rapportent un lien entre différents paramètres reflétant le niveau d'inflammation et la clairance. On retrouve notamment une corrélation positive entre la CRP et la clairance de l'anticorps dans 7 études de modélisation pharmacocinétique compartimentale sur les anti-TNF α (Ternant 2019), dont 3 dans les MICI (Ternant 2015, Wade 2015, Vande Castele 2017). Dans la MC, une étude a rapporté une clairance augmentée de l'infliximab avec un Index d'Harvey Bradshaw (HBI) plus élevé (Buurman 2015). Enfin, il a été montré que le traitement concomitant par des immunomodulateurs comme le méthotrexate (Fasanmade 2011) et l'azathioprine (Yarur 2015) était associé à une réduction de la clairance et une augmentation des concentrations circulantes d'infliximab dans les MICI. Le même résultat a été rapporté dans les rhumatismes

inflammatoires (Ternant 2015). Cette réduction de clairance pourrait s'expliquer par une réduction de l'élimination spécifique des anti-TNF α par réduction de la production de TNF α sous l'effet des immunomodulateurs (Ternant 2019). En marge de ces marqueurs, la corrélation négative entre la concentration d'albumine et la clairance des anticorps pourrait être (au moins en partie) le reflet de l'inflammation chronique et donc de la masse antigénique, comme discuté ci-dessus.

Sources de variabilité liées à l'immunogénicité

La production d'anticorps anti-médicaments résulte en la formation de complexes immuns qui sont rapidement éliminés par le système immunitaire. L'immunisation contre l'anticorps thérapeutique entraîne ainsi une accélération parfois très importante de la clairance et une réduction des concentrations circulantes. Cela a été décrit dans des études compartimentales avec les anti-TNF α dans les MICI (Ternant 2008, Fasanmade 2009, Fasanmade 2011, Buurman 2015, Sharma 2015, Ternant 2015, Wade 2015, Vande Casteele 2017).

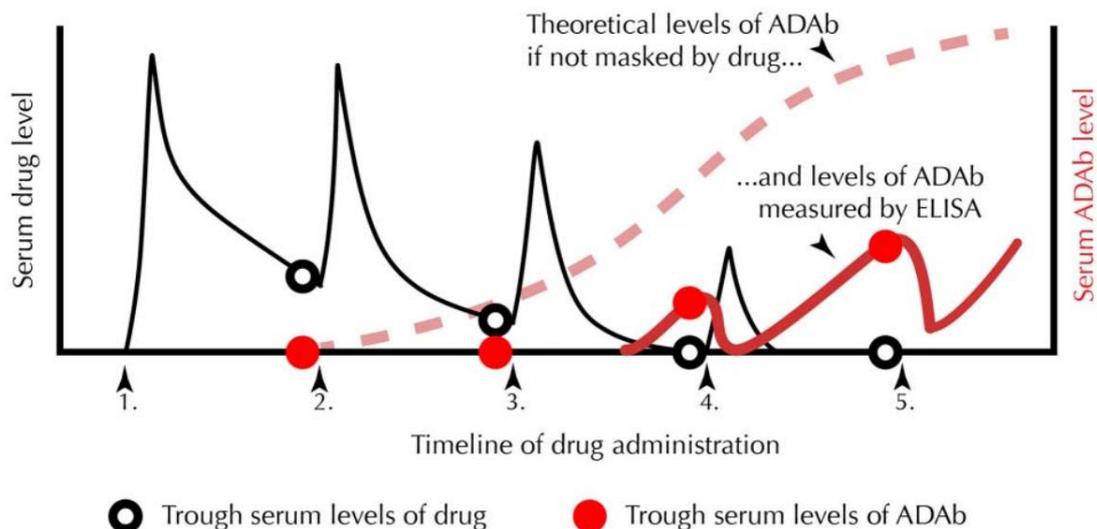


Figure 39: Représentation de l'évolution conjointe typique des concentrations d'infliximab et d'ADA et différence entre les concentrations réelles et mesurées d'ADA en utilisant une technique « drug sensitive ».

Ce schéma montre bien la dissociation temporelle qui existe entre le début de la production d'ADA et la positivité des échantillons sanguins aux ADA, qui n'est obtenue que lorsque les concentrations de médicament sont effondrées et qu'il n'interfère donc plus avec la détection des ADA (Bendtzen 2016).

La fréquence d'immunisation pourrait être influencée par la structure ; l'infliximab, chimérique, serait plus immunogène que l'adalimumab et le golimumab. En contrepartie, l'administration SC (adalimumab et golimumab) serait plus immunogène que la voie IV. Il a été suggéré que des facteurs génétiques pourraient entrer en compte, les patients homozygotes V/V pour le polymorphisme V158F du gène *FCGR3A* étant plus fréquemment immunisés (Romero-Cara 2018). Cependant, l'explication pourrait en être une clairance plus élevée comme cela a été démontré précédemment et donc des concentrations de médicament plus fréquemment inférieures au seuil immunogène. Une association entre les polymorphismes HLA et l'immunogénicité a également été rapportée (Billiet 2015).

D'autres facteurs incomplètement compris pourraient modifier l'immunogénicité. Il a été rapporté que les patients de plus de 60 ans avaient un risque plus élevé de développer des ADA contre l'infliximab, malgré l'immunosénescence qui devrait plutôt réduire la fréquence des immunisations (Paul 2019).

Certains auteurs ont suggéré que l'addition d'immunomodulateurs ou l'augmentation de la posologie étaient susceptibles de modifier la production d'ADA chez les patients (Ben-Horin 2013, Ungar 2017, Echarri 2019), bien que cette position soit controversée et mise sur le compte, à nouveau, de difficultés analytiques dans la mesure des ADA (Bendtzen 2017). De plus, se pose la question de savoir si il est réellement possible de réduire la production d'ADA par les plasmocytes, ou si la réduction des concentrations d'ADA ne serait pas plutôt liée à une élimination rendue plus rapide en présence de concentrations plus élevées de médicaments (Bendtzen 2017).

En tout état de cause, il n'en reste pas moins vrai que le statut immunogène et l'utilisation d'immunomodulateurs en réponse à la production d'ADA sont responsables de modifications de la pharmacocinétique des anti-TNF et sont donc tous deux responsables d'une variabilité, non seulement inter-individuelle, mais également intra-individuelle.

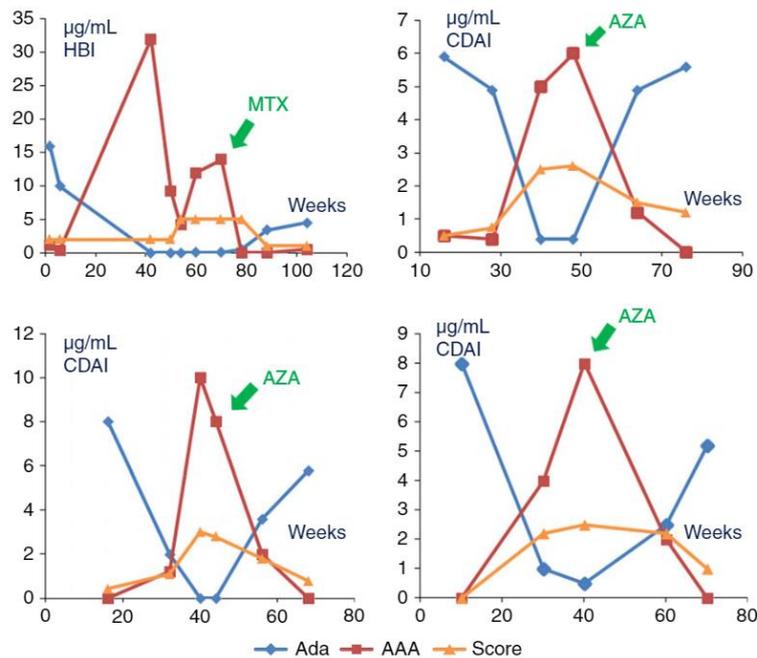


Figure 40: Evolution conjointe des concentrations d'adalimumab et d'ADA et du score clinique chez quatre patients dont l'immunisation a été surmontée par l'ajout d'un immunomodulateur.

Les scores cliniques sont étroitement liés à la concentration de médicament et d'ADA ; la réversion supposée de la production d'ADA par l'ajout d'un immunomodulateur résulte en une réascension des concentrations de médicament et une réduction du score clinique (Ungar 2017).

1.2.3.3 Variabilité pharmacocinétique intra-individuelle

Les MICI étant des maladies chroniques, la durée des traitements par anti-TNF α peut être longue, parfois plusieurs années voire dizaines d'années, notamment depuis que le recours au STP permet d'éviter des échappements précoces liés à un défaut d'exposition.

En conséquence, certaines caractéristiques individuelles sont susceptibles de varier significativement en cours de traitement. Par exemple, le poids corporel peut varier (reprise de poids avec la guérison de la maladie, prise de poids liée à la croissance chez les enfants). Le niveau d'inflammation, et donc la masse antigénique, peuvent également varier, notamment en début de traitement avec l'induction de la rémission, puis en cours de traitement en cas de poussée de la maladie. L'exsudation colique et donc les pertes digestives d'anticorps diminuent lorsque le traitement est efficace. Des co-traitements par immunomodulateurs peuvent être introduits ou stoppés. Enfin, des immunisations, transitoires ou durables, et d'intensité variable, peuvent apparaître.

L'ensemble de ces facteurs influence la pharmacocinétique des anti-TNF α au niveau individuel et explique l'existence d'une variabilité intra-individuelle au cours du temps. On retrouve cependant assez peu d'études l'ayant mise en évidence et quantifiée. Une étude pharmacocinétique dans la MC a rapporté une variabilité intra-individuelle de la clairance sous forme de variabilité inter-occasion (voir 3.2.5.1), avec un coefficient de variation de 18,3%, entre la phase d'induction et la phase d'entretien (Fasanmade 2011). Dans une autre étude, une augmentation progressive de clairance du certolizumab au cours du temps a été mise en évidence (Vande Casteele 2017). Cependant, dans aucune de ces études l'évolution de la clairance n'a été mise en lien avec l'évolution des caractéristiques individuelles des patients ou de la maladie. Dans quelques études compartimentales, on retrouve néanmoins des variations de clairance directement liées à la présence d'ADA, et dans un nombre restreint d'études, l'intensité de l'augmentation de clairance liée à l'immunisation a été corrélée au titre des ADA (voir 4.1). Les travaux présentés dans cette thèse apportent de nouvelles informations concernant la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle des anti-TNF α (voir 4.2 et 4.4).

Points-clés : variabilité de la pharmacocinétique des anti-TNF α dans les MICI.

Les anticorps anti-TNF α , comme tous les anticorps thérapeutiques, sont sujets à une **forte variabilité pharmacocinétique**. Cette variabilité a pour origine des facteurs multiples, **individuels** (corpulence, sexe), **génétiques** (polymorphismes des gènes codant les chaînes lourdes des IgG et le Fc γ RIIIa et des gènes régulant l'expression du FcRn), liés à la maladie et à la **masse antigénique** (activité de la maladie, exsudation colique, inflammation chronique) et enfin, liés à l'**immunogénicité** des anticorps thérapeutiques. Cette variabilité pharmacocinétique s'exprime non seulement à l'échelle **inter-individuelle**, ou elle a été **largement décrite**, mais également selon toute vraisemblance à l'échelle intra-individuelle. Pourtant, on retrouve **très peu de données**, notamment peu de modèles pharmacocinétiques compartimentaux, qui ont décrit cette **variabilité intra-individuelle**. Etant donné que les anti-TNF α présentent une relation concentration-effet relativement bien caractérisée, l'étude de la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle revêt une importance particulière, surtout dans le contexte de l'incertitude quant aux modalités de mise en œuvre du STP (proactif ou réactif) et des difficultés posées par l'immunogénicité des anti-TNF α , notamment au plan analytique. La compréhension de la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle pourrait permettre d'**améliorer la prise en charge des patients**, en prédisant l'**évolution probable de l'exposition et donc de la réponse clinique**.

1.3. Méthodes d'étude de la pharmacocinétique et de ses sources de variabilité

1.3.1. Pharmacocinétique non compartimentale

L'approche non compartimentale correspond à une méthode d'étude de la pharmacocinétique dans laquelle on ne fait pas d'hypothèse *a priori* sur le modèle compartimental qui est susceptible de décrire au mieux l'évolution des concentrations au cours du temps. Les paramètres pharmacocinétiques sont déterminés par analyse graphique.

L'étude de la pharmacocinétique par approche non compartimentale est généralement réservée aux phases les plus précoces du développement, en pré-clinique notamment puis en phases I ou II chez l'Homme. L'analyse non compartimentale (*Non Compartmental Analysis* ou NCA) a pour but de déterminer les caractéristiques pharmacocinétiques principales du médicament à partir de données généralement riches (prélèvements nombreux sur une courte période de temps), sur un nombre restreint d'individus.

La NCA ne permet pas d'obtenir une estimation réaliste de la variabilité pharmacocinétique interindividuelle, du fait du nombre réduit de patients, et ne permet pas d'en étudier les sources. Elle est également peu adaptée à l'étude de la variabilité intra-individuelle et de ses sources. L'approche compartimentale, au contraire, est particulièrement adaptée à ces problématiques.

1.3.2. Pharmacocinétique compartimentale

Par opposition à l'approche non-compartimentale, la modélisation compartimentale implique que l'on fasse une hypothèse sur le modèle compartimental qui permettra de décrire au mieux l'évolution des concentrations au cours du temps. On parle d'approche compartimentale car la pharmacocinétique est décrite par la modélisation des variations au cours du temps des quantités de médicaments dans 1 à n compartiments, qui communiquent entre eux et/ou avec le milieu extérieur. Le nombre de compartiments et les interactions entre les compartiments et le milieu extérieur sont définis *a priori*.

L'objectif de la modélisation compartimentale est de déterminer le modèle qui permet de trouver le meilleur compromis entre la (i) précision des prédictions des concentrations observées, (ii) la précision des estimations des paramètres du modèle, et (iii) le principe de parcimonie statistique. Les paramètres du modèle ne sont autres que les paramètres pharmacocinétiques du médicament : clairance, volume de distribution, et autres paramètres décrivant par exemple l'absorption, une distribution tissulaire ou une élimination non-linéaire. Le principe de parcimonie consiste à choisir le modèle le plus simple possible pour décrire les données ; un modèle plus complexe ayant des performances de prédiction équivalentes ou non significativement meilleures sera rejeté au profit d'un modèle plus simple. L'adéquation du modèle aux données observées est estimée par le calcul de la vraisemblance, ou plus fréquemment, la $-2 \cdot \log(\text{vraisemblance})$, notée $-2LL$, encore appelée la « fonction objective ». En modélisation compartimentale, la vraisemblance décrit la plausibilité des valeurs des paramètres d'un modèle étant donné les valeurs observées.

Intérêt de l'approche compartimentale

Comparativement à la NCA, l'analyse compartimentale utilise une approche populationnelle, c'est-à-dire qu'elle permet d'estimer des valeurs « typiques » des paramètres pharmacocinétiques et une variabilité autour de cette valeur typique dans la population étudiée. En conséquence, l'approche compartimentale permet (i) de décrire la pharmacocinétique, (ii) de quantifier la variabilité pharmacocinétique interindividuelle et (iii)

d'étudier les sources de cette variabilité. Les facteurs influençant la valeur des paramètres sont appelés « covariables ». De plus, l'approche compartimentale est particulièrement adaptée à l'utilisation de données de « vie réelle », avec possiblement peu de données par individu chez un grand nombre d'individus.

L'approche compartimentale permet de réaliser des prédictions et des simulations à partir d'un modèle préalablement établi. Ceci est particulièrement intéressant pour prédire des concentrations chez un individu pour lequel on ne dispose pas de données sur une période d'intérêt : il suffit d'estimer la valeur des paramètres pharmacocinétiques individuels à partir d'observations recueillies avant et/ou après cette période, et de connaître le schéma posologique pendant la période dont on cherche à estimer les concentrations. Les simulations sont intéressantes pour prédire l'évolution des concentrations avec des schémas posologiques alternatifs, par exemple dans le cadre de la construction d'un essai clinique.

Enfin, un avantage important de l'approche compartimentale est de permettre la description de modèles pharmacocinétiques complexes, intégrant des dimensions mécanistiques ou empiriques. Dans le cadre de la modélisation de la pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques, l'approche compartimentale permet notamment de décrire la non-linéarité due à l'élimination médiée par la cible en utilisant des modèles dits « TMDD » et diverses déclinaisons. De même, il est possible d'intégrer dans l'analyse une description de l'évolution au cours du temps de la pharmacocinétique des anticorps et de rechercher les covariables qui sont associées à cette évolution. Ce dernier aspect est particulièrement important pour l'étude et la compréhension de la variabilité intra-individuelle de la pharmacocinétique des anticorps.

2. OBJECTIFS DE LA THESE

2.1. Synthèse des données bibliographiques

Il ressort du travail de bibliographie réalisé que les anticorps anti-TNF α sont des médicaments très efficaces et très largement utilisés dans la prise en charge des MICI, mais que **notre connaissance de leur pharmacologie est imparfaite.**

Les études de relation concentration-effet suggèrent que les **besoins en médicament sont variables selon la réponse souhaitée.** Une concentration plus faible serait requise pour une réponse purement clinique, alors que la disparition de l'inflammation au niveau tissulaire nécessiterait des concentrations plus élevées. De plus, l'influence de la masse antigénique et d'autres sources de variabilité pharmacocinétique, comme l'exsudation colique, impliquent que les **besoins en médicaments pour obtenir une concentration donnée sont différents selon l'activité de la maladie** et donc selon la période de traitement (induction, entretien).

Cette variabilité de la relation dose-concentration-effet explique la difficulté à définir une cible de concentration à atteindre pour maximiser l'efficacité et par conséquent la **difficulté à définir la place du STP** dans le suivi des traitements par anti-TNF α . Actuellement, **le rôle du STP en pratique clinique courante est orienté vers la documentation de la cause de l'échappement secondaire (STP réactif)**, en mettant en évidence une sous-exposition, et en recherchant si elle est due à une posologie insuffisante ou à l'existence d'une **immunisation**. L'hétérogénéité des techniques analytiques et de leurs performances rend **incertaine la place des dosages des ADA** dans la stratégie thérapeutique, surtout en cas de résultat (potentiellement faux) négatif. Enfin, **la place du STP proactif n'est pas définie.**

L'existence d'une relation concentration-efficacité, même complexe, a justifié l'étude approfondie des sources de variabilité pharmacocinétique inter-individuelle. Mais paradoxalement, **la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle a été très peu étudiée** alors que de nombreux éléments cliniques et biologiques impliqués dans cette variabilité vont eux-mêmes varier au cours du temps, justifiant l'évolution des besoins en médicament.

Enfin, **l'absence de données de relation concentration-toxicité** explique peut-être partiellement l'absence d'attrait pour le STP proactif.

2.2. Objectifs généraux

Dans ce travail, deux aspects principaux de la pharmacologie des anti-TNF α dans les MICI seront abordés : la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle et la variabilité de la relation concentration-effet selon la période du traitement. L'objectif général est donc de fournir une description de la variabilité inter- et intra-individuelle de la relation dose-concentration-effet des anti-TNF α dans les MICI.

2.3. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- étudier les approches de modélisation compartimentale qui permettent de décrire la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle des anti-TNF α dans les MICI, en utilisant des modèles temps-dépendants notamment ;
- décrire les sources de variabilité inter- et intra-individuelle de la pharmacocinétique des anti-TNF α dans les MICI ;
- étudier la relation concentration-effet des anti-TNF α dans les MICI à des moments particuliers du traitement (induction, entretien, désescalade) ;
- étudier la relation entre l'exposition aux anti-TNF α et le risque d'effets indésirables ;
- discuter l'intérêt d'un STP proactif dans le suivi des traitements des MICI par anti-TNF α .

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Techniques de dosage

3.1.1. Anticorps thérapeutiques

Dans le cadre de ce travail de thèse, des techniques de dosage spécifiques des différents anticorps anti-TNF α ont été mises au point. En effet, les techniques historiques de dosage des anti-TNF α étaient basées sur la capacité du médicament à lier le TNF α (Ternant 2006, Desvignes 2015). En conséquence, il était impossible de différencier les anti-TNF α (infliximab, adalimumab et golimumab) entre eux, puisqu'ils ont tous la même spécificité pour le TNF α , et il existait donc des réactions croisées entre les différentes techniques de dosage. Le risque principal en cas d'erreur de prescription était de fournir une concentration plasmatique d'infliximab alors que le patient recevait de l'adalimumab par exemple.

3.1.1.1 Méthode de dosage

Les dosages de médicament ont été réalisés par une technique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) standardisée pour les trois molécules. Des microplaques 96 puits ELISA ont été sensibilisées avec des Fab anti-idiotypes spécifiques du médicament (infliximab, adalimumab ou golimumab) à 0.8 μ g/mL dans du tampon carbonate-bicarbonate (pH=9.6) pendant une nuit à 4°C (étape dite de « *coating* »). Le lendemain, l'excédent de Fab non fixé était éliminé par 4 lavages successifs avec une solution de PBS-Tween à 0.1%. Afin d'éviter des fixations non-spécifiques, les puits étaient saturés par incubation pendant 1h à température ambiante de 200 μ L par puits d'une solution de PBS-BSA à 1%. Après 4 nouveaux lavages, chaque puits recevait 100 μ L de solution de calibration, de contrôle interne de qualité (CIQ) ou de plasma de patient, préalablement dilué au 1/441 dans du PBS-BSA 1%-Tween 0.1%. Les échantillons étaient incubés 1h à 37°C sous agitation rotative. Après 4 nouveaux lavages, le médicament était détecté par ajout de 100 μ L par puits d'anticorps secondaire, un F(ab')₂ de chèvre anti-Fc d'IgG1 humaine couplé à une peroxydase, préparé au 1:40000. Après 1h d'incubation à 37°C sous agitation rotative et 4

nouveaux lavages, la plaque était révélée par ajout de 100µL par puits d'OPD (O-phenylenediamine dihydrochloride), un substrat chromogène de la peroxydase. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité à température ambiante, la réaction était stoppée par ajout de 50µL d'acide sulfurique 4N. Après 15 minutes sous agitation rotative, l'absorbance des puits de la plaque étaient lues à 450nm avec soustraction de l'absorbance de la plaque mesurée à 630nm. La courbe de calibration était obtenue par régression logistique 4 paramètres établissant la relation entre l'absorbance mesurée et la concentration selon la relation suivante :

$$Abs = \frac{(A - D)}{1 + (x/C)^B} + D$$

Où Abs est l'absorbance mesurée, A est l'absorbance minimale, D est l'absorbance maximale, x est la concentration, B est la pente et C est le point d'inflexion de la courbe.

3.1.1.2 Performances analytiques

Les méthodes de dosages ont été validées selon les guidelines de la FDA pour la mise au point de méthodes analytiques. Les méthodes de dosage de l'infliximab, de l'adalimumab et du golimumab étaient standardisées. Les limites inférieure (LLOQ) et supérieure (ULOQ) de quantification étaient les mêmes pour les trois dosages, à 0.2µg/mL et 20 µg/mL respectivement. Les points de calibration étaient équitablement répartis sur l'échelle du logarithme de la concentration en 7 niveaux compris entre 0.05µg/mL et 50µg/mL, et chaque série était validée par 4 niveaux de contrôle internes de qualité (CQI) à 0.2, 2, 10 et 20µg/mL. Chaque échantillon était analysé en duplicat et le coefficient de variation entre deux duplicats ne devait pas excéder 20%. La linéarité de dilution et le parallélisme ont été vérifiés pour chaque anticorps pour des dilutions de 1/2 à 1/100 au minimum. L'absence d'interférence avec le facteur rhumatoïde jusqu'à des titres >1000UI/mL a été testée. La spécificité a été vérifiée en s'assurant, pour chacune des trois techniques de dosage, que les deux autres anticorps anti-TNFα n'étaient pas détectables jusqu'à des concentrations de 50µg/mL.

Pour l'infliximab et l'adalimumab, la précision des mesures obtenues avec ces nouvelles techniques a été évaluée par comparaison avec les valeurs obtenues avec les techniques de

référence (Ternant 2006, Desvignes 2015) sur des échantillons de plasma de patient. De plus, l'adhésion à un programme d'évaluation externe de la qualité (EEQ) permettait de s'assurer de la validité des résultats des dosages.

Les performances analytiques des méthodes de dosage sont résumées ci-après.

Table 6a. Precision and bias of the method (infliximab)

| | Nominal value | Intraday (n=6) | | | Interday (n=6) | | |
|-------|---------------|----------------|--------|------|----------------|--------|------|
| | | Mean | Bias | CV% | Mean | Bias | CV% |
| Cal 1 | 0,05 | 0,04 | -17,00 | 5,11 | 0,04 | -18,83 | 7,33 |
| Cal 2 | 0,15 | 0,16 | 9,89 | 9,13 | 0,17 | 12,04 | 7,76 |
| Cal 3 | 0,50 | 0,54 | 7,10 | 0,28 | 0,54 | 7,01 | 3,23 |
| Cal 4 | 1,50 | 1,46 | -2,34 | 0,29 | 1,46 | -2,97 | 0,95 |
| Cal 5 | 5,00 | 4,97 | -0,61 | 0,31 | 5,03 | 0,51 | 1,11 |
| Cal 6 | 15,00 | 16,35 | 9,00 | 0,62 | 15,83 | 5,51 | 4,23 |
| Cal 7 | 50,00 | 41,63 | -16,74 | 2,74 | 42,23 | -15,53 | 6,18 |
| CQ1 | 0,20 | 0,22 | 10,67 | 8,93 | 0,23 | 13,31 | 7,72 |
| CQ2 | 2,00 | 2,01 | 0,51 | 3,41 | 2,03 | 1,35 | 4,13 |
| CQ3 | 10,00 | 11,05 | 10,46 | 7,22 | 11,33 | 13,32 | 5,88 |
| CQ4 | 20,00 | 20,35 | 1,74 | 5,93 | 20,86 | 4,29 | 5,44 |

Table 6b. Precision and bias of the method (adalimumab)

| | Nominal value | Intraday (n=6) | | | Interday (n=6) | | |
|-------|---------------|----------------|--------|-------|----------------|--------|-------|
| | | Mean | Bias | CV% | Mean | Bias | CV% |
| Cal 1 | 0,05 | 0,05 | -8,33 | 5,16 | 0,05 | 13,28 | 12,54 |
| Cal 2 | 0,15 | 0,13 | -14,00 | 8,80 | 0,17 | 15,92 | 21,32 |
| Cal 3 | 0,50 | 0,46 | -7,13 | 2,75 | 0,53 | 5,06 | 10,07 |
| Cal 4 | 1,50 | 1,41 | -6,28 | 2,59 | 1,44 | -4,03 | 3,74 |
| Cal 5 | 5,00 | 4,81 | -3,84 | 3,13 | 4,88 | -2,44 | 2,50 |
| Cal 6 | 15,00 | 14,97 | -0,18 | 5,84 | 16,11 | 7,39 | 7,27 |
| Cal 7 | 50,00 | 48,50 | -3,00 | 13,26 | 44,86 | -10,28 | 12,25 |
| CQ1 | 0,20 | 0,18 | -9,00 | 1,72 | 0,21 | 5,34 | 14,90 |
| CQ2 | 2,00 | 1,84 | -8,07 | 3,28 | 1,89 | -5,30 | 5,93 |
| CQ3 | 10,00 | 9,69 | -3,06 | 3,36 | 9,74 | -2,58 | 2,69 |
| CQ4 | 20,00 | 19,71 | -1,46 | 5,97 | 20,83 | 4,15 | 8,26 |

Table 6c. Precision and bias of the method (golimumab)

| | Nominal value | Intraday (n=6) | | | Interday (n=6) | | |
|-------|---------------|----------------|--------|-------|----------------|--------|-------|
| | | Mean | Bias | CV% | Mean | Bias | CV% |
| Cal 1 | 0,05 | 0,05 | 7,67 | 9,50 | 0,05 | 7,94 | 8,27 |
| Cal 2 | 0,15 | 0,14 | -7,06 | 5,71 | 0,15 | 0,16 | 3,85 |
| Cal 3 | 0,50 | 0,52 | 4,02 | 3,28 | 0,54 | 7,39 | 13,07 |
| Cal 4 | 1,50 | 1,41 | -6,23 | 6,26 | 1,45 | -3,63 | 1,90 |
| Cal 5 | 5,00 | 4,71 | -5,73 | 3,57 | 4,76 | -4,71 | 7,45 |
| Cal 6 | 15,00 | 15,44 | 2,93 | 7,38 | 15,10 | 0,65 | 10,38 |
| Cal 7 | 50,00 | 42,19 | -15,62 | 4,38 | 43,92 | -12,16 | 8,85 |
| CQ1 | 0,20 | 0,20 | -0,04 | 5,03 | 0,20 | 0,83 | 6,13 |
| CQ2 | 2,00 | 1,88 | -6,02 | 6,41 | 1,91 | -4,49 | 4,83 |
| CQ3 | 10,00 | 10,05 | 0,48 | 6,06 | 10,61 | 6,08 | 3,79 |
| CQ4 | 20,00 | 19,98 | -0,12 | 14,79 | 20,47 | 2,34 | 11,92 |

Tableau 6: Résumé des performances analytiques des techniques de dosage.

Toutes les techniques de dosages remplissaient les critères de validation de la FDA concernant la mise au point de méthodes analytiques.

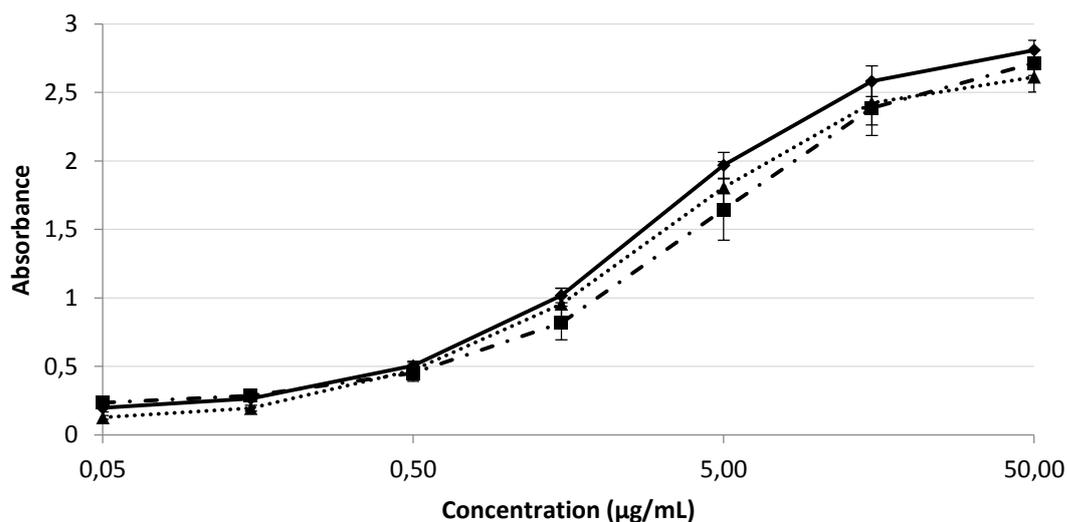


Figure 41: Courbes de calibration obtenues avec les techniques de dosages mises au point.

Trait plein : infliximab ; pointillés : golimumab ; tirets : adalimumab.

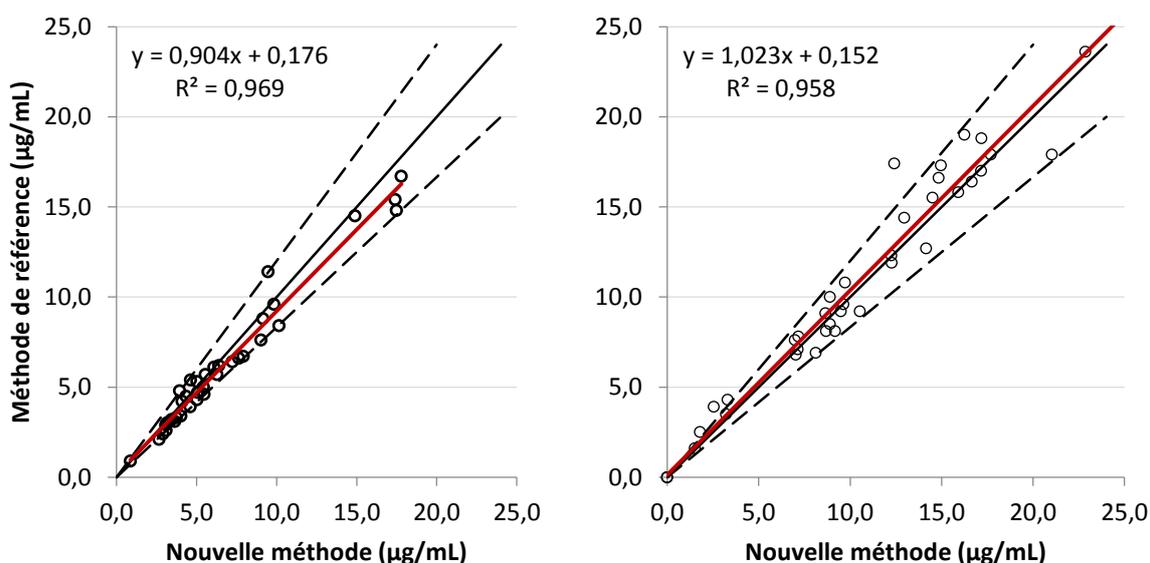


Figure 42: Comparaison des mesures de concentrations obtenues avec les techniques mises au point versus les méthodes de référence.

A gauche : infliximab ; à droite : adalimumab.

3.1.2. Anticorps anti-médicament

Les anticorps anti-médicaments étaient mesurés dans un autre laboratoire par une méthode publiée (Magdelaine-Beuzelin 2009). Cette méthode était « drug-sensitive » et ne permettait donc la mise en évidence des ADA qu'en présence de concentration faibles de médicament (en pratique, $<0.2\mu\text{g/mL}$, soit la LLOQ des méthodes de dosage des médicaments).

3.2. Modélisation pharmacocinétique et pharmacocinétique-pharmacodynamique

Les travaux de modélisation compartimentale ont été conduits à l'aide du logiciel de Monolix (Lixoft, Orsay, France), adapté à la construction de modèles non-linéaires à effets mixtes.

En modélisation pharmacocinétique, un modèle structural global, composé de 1 ou plusieurs compartiments reliés entre eux et avec le milieu extérieur, est appliqué aux données de concentration observées. Le modèle structural est caractérisé par un vecteur de paramètres pharmacocinétiques θ , noté Ψ . Ces paramètres quantifient les interactions entre les compartiments et sont intégrés dans des équations qui décrivent ces interactions, et donc l'évolution non-linéaire des concentrations en fonction du temps.

L'utilisation des observations issues de l'ensemble des individus du jeu de données permet de déterminer les valeurs centrales des paramètres θ , encore appelés valeurs « de population », notées θ_0 . La valeur « de population » est la valeur du paramètre θ la plus fréquente dans la population étudiée. Les paramètres de population correspondent aux effets fixes du modèle.

Pour chaque individu i , la valeur des θ_i peut s'éloigner plus ou moins de la valeur de population ; cela est représenté par le modèle de variabilité inter-individuel, qui décrit la distribution statistique des valeurs individuelles des θ_i , et qui quantifie dans la population à l'étude la variabilité des θ_i autour de θ_0 . Les paramètres individuels correspondent aux effets aléatoires du modèle ; l'inclusion conjointe d'effets fixes et d'effets aléatoires résulte en un modèle mixte.

Au total, la concentration chez l'individu i au temps j s'écrit :

$$C_{i,j} = f(T_{i,j}, \Psi_i)$$

Où f est une fonction non-linéaire correspondant au modèle structural choisi, $T_{i,j}$ est le temps j de l'observation chez l'individu i , et Ψ_i est le vecteur de paramètres pharmacocinétiques de l'individu i .

3.2.1. Modèles structuraux

Les modèles structuraux testés étaient principalement des modèles à un ou deux compartiments, avec distribution intercompartimentale d'ordre 1. Pour les administrations par voie IV, une administration d'ordre zéro directement dans le compartiment central était utilisée, selon un débit de perfusion correspondant à celui de l'administration. Pour les administrations sous-cutanées, la résorption a été modélisée par une administration instantanée d'ordre zéro de l'ensemble de la dose dans un compartiment de dépôt, suivie d'une absorption d'ordre 1 vers le compartiment central. L'évolution des concentrations dans les différents compartiments au cours du temps a été modélisée en utilisant des équations différentielles ; certains paramètres, notamment la clairance, pouvaient être définis dans les équations comme des fonctions du temps.

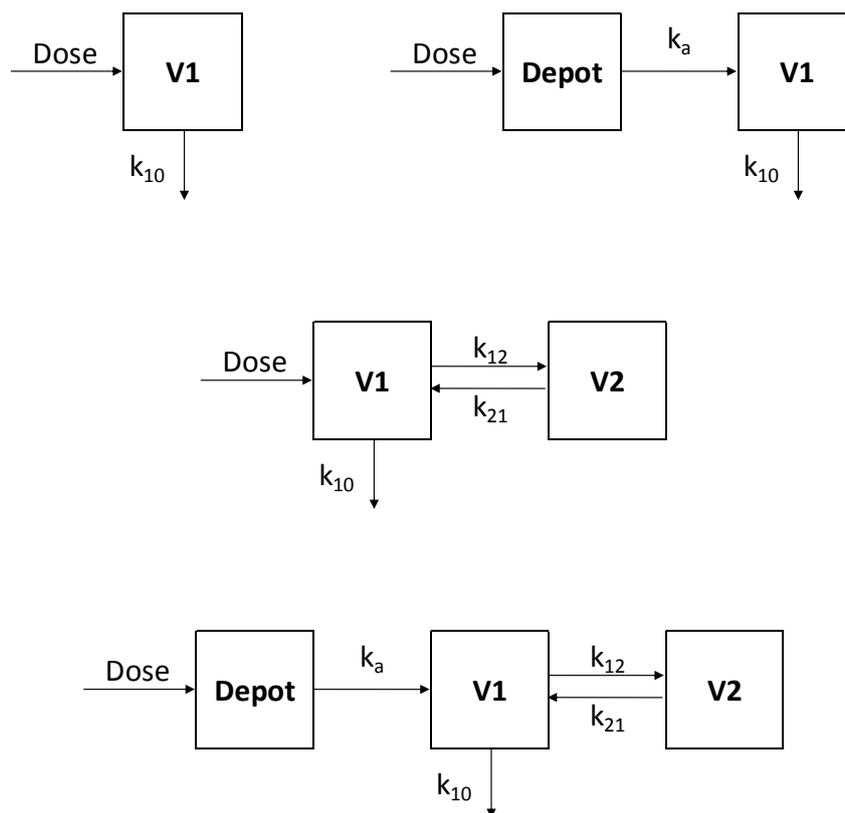


Figure 43: Représentation schématique de modèle compartimentaux courants.

A. Modèle IV monocompartmental. B. Modèle IV bicompartimental. C. Modèle extravasculaire monocompartmental. D. Modèle extravasculaire bicompartimental. Les modèles C et D sont adaptés à la description d'administrations par voie SC.

3.2.2. Modèle de variabilité inter-individuelle

La variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques était décrite selon un modèle exponentiel décrivant une distribution log-normale des paramètres :

$$\theta_i = \theta_{TV} \cdot e^{\eta_i}, \eta_i \sim \mathcal{N}(0, \omega^2)$$

Où θ_i est la valeur estimée du paramètre chez l'individu i , θ_{TV} est la valeur typique du paramètre (voir 3.2.4) et η_i est l'effet aléatoire chez l'individu i . Les valeurs des η_i sont supposées être normalement distribuées, avec une moyenne égale à 0 et une variance égale à ω^2 . Pour chaque paramètre, la variance ω^2 était fixée à 0 si les η_i ne pouvaient pas être estimés correctement.

3.2.3. Modèle d'erreur résiduelle

L'erreur résiduelle quantifie l'erreur de prédiction qui est faite par le modèle. La différence entre la valeur observée et la valeur prédite est appelée un résidu ; les résidus, notés ε , sont supposés suivre une loi normale de moyenne 0 et de variance σ^2 :

$$\varepsilon \sim \mathcal{N}(0, \sigma^2)$$

Les modèles d'erreur résiduelle testés étaient de type additif, proportionnel, ou combiné additif et proportionnel. Le modèle combiné s'écrit de la façon suivante :

$$Y_{O,ij} = Y_{P,ij} \cdot (1 + \varepsilon_{prop,ij}) + \varepsilon_{add,ij}, \varepsilon_{prop,ij} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_{prop}^2), \varepsilon_{add,ij} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_{add}^2)$$

Où $Y_{O,ij}$ et $Y_{P,ij}$ sont les concentrations observées et prédites au temps j chez l'individu i , respectivement, et $\varepsilon_{prop,ij}$ et $\varepsilon_{add,ij}$ représentent l'erreur proportionnelle et l'erreur additive, respectivement, suivant des distributions normales de moyenne 0 et de variances σ_{prop}^2 et σ_{add}^2 , respectivement.

3.2.4. Modèle de covariables

Les covariables sont des caractéristiques individuelles qui expliquent la variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques. Elles permettent de quantifier la déviation par rapport au paramètre de population. Les covariables peuvent être de deux types : continues ou catégorielles. L'influence d'une covariable continue sur un paramètre pharmacocinétique est classiquement décrite comme une fonction puissance de la valeur de la covariable centrée sur sa médiane, comme suit :

$$\theta_{TV} = \theta_0 \cdot \left(\frac{COV}{med(COV)} \right)^{\beta_{COV}}$$

Où θ_{TV} est la valeur "typique" du paramètre θ , c'est-à-dire la valeur la plus fréquente de θ pour une valeur donnée de la covariable, COV et $med(COV)$ sont la valeur de la covariable et sa médiane, respectivement, et β_{COV} est une variable qui quantifie l'influence de la covariable sur θ_0 . Lorsque la valeur de la covariable est égale à sa médiane, le paramètre typique est égal au paramètre de population. Lorsque β_{COV} est de signe positif, la covariable est corrélée positivement à θ , et lorsque β_{COV} est de signe négatif, la covariable est corrélée négativement à θ .

L'influence d'une covariable catégorielle sur un paramètre pharmacocinétique s'écrit de la façon suivante :

$$\ln(\theta_{TV}) = \ln(\theta_{CAT=0}) + \beta_{CAT=i}$$

Où θ_{TV} est la valeur "typique" du paramètre θ , $\theta_{CAT=0}$ est la valeur du paramètre dans une catégorie de référence, et $\beta_{CAT=i}$ quantifie la déviation de θ par rapport à $\theta_{CAT=0}$ lorsque la covariable entre dans la catégorie i .

Le choix des covariables retenues dans le modèle a été guidé par le test de Wald, qui vérifie si la valeur de β est significativement différente de 0, et par la réduction de la valeur de la fonction objective.

3.2.5. Modélisation des paramètres variant au cours du temps

Comme décrit plus haut (voir 1.2.3.3), l'une des particularités des anti-TNF α est qu'ils présentent une grande variabilité pharmacocinétique intra-individuelle. La modélisation des

variations des paramètres pharmacocinétiques au cours du temps peut se faire selon plusieurs approches : le modèle inter-occasion, les covariables variant au cours du temps et les modèles temps-dépendants.

3.2.5.1 *Modèle inter-occasion*

La variabilité intra-individuelle est classiquement décrite par un modèle exponentiel qui quantifie la variabilité, chez un même individu, de la valeur de θ_i entre différentes périodes d'observations, notées κ , et appelées « occasions ». On parle de variabilité inter-occasion, qui s'écrit de la façon suivante :

$$\theta_{ik} = \theta_i \cdot e^{\kappa_i}, \kappa_i \sim \mathcal{N}(0, \gamma^2)$$

Où θ_{ik} est la valeur estimée du paramètre chez l'individu i à l'occasion k , θ_i est la valeur de θ chez l'individu i à la première occasion, et κ_i est l'effet aléatoire chez l'individu i à l'occasion k . Les valeurs des κ_i sont supposées être normalement distribuées, avec une moyenne égale à 0 et une variance égale à γ^2 .

3.2.5.2 *Covariables variant au cours du temps*

Certaines covariables sont fixes et ne changent pas au cours du temps. Ce sont généralement des paramètres constitutifs de l'individu, comme par exemple le sexe, la pathologie ou les caractéristiques génétiques. D'autres covariables sont susceptibles de changer sur la période d'observation, comme le poids corporel, la masse antigénique ou les marqueurs de l'inflammation. Dans ce cas, deux approches sont possibles : utiliser la valeur à la *baseline* (ou une autre valeur unique, comme la moyenne sur la période d'observation) ou utiliser l'ensemble des valeurs sur la période d'observation.

Utiliser la valeur à la *baseline* est une approche fréquente, mais elle introduit un biais dans l'estimation des paramètres, notamment lorsque la covariable est très influente sur la valeur prise par le paramètre. Par exemple dans les MICI, utiliser la valeur à la *baseline* d'un marqueur d'inflammation comme covariable de la clairance introduit un risque de biais, car ce marqueur va voir sa valeur décroître (et la clairance également) en cours de traitement chez les patients répondeurs, parfois de manière importante.

Si l'on souhaite plutôt utiliser l'ensemble des valeurs disponibles sur la période d'observation, à nouveau deux approches sont possibles : l'intégration dans le modèle inter-occasion ou l'intégration dans le modèle structural.

Covariables et modèle inter-occasion

Pour rechercher l'influence d'une covariable sur un paramètre pharmacocinétique, on recherche l'existence d'une corrélation (pour les covariables continues) ou d'un lien (pour les covariables catégorielles) entre la valeur à la *baseline* de la covariable et la valeur estimée du paramètre individuel. La même approche est possible en recherchant un lien ou une corrélation entre l'ensemble des valeurs prises par la covariable à chaque occasion et l'ensemble des valeurs prises par le paramètre à chaque occasion. Il peut également exister un effet de l'occasion sur le paramètre, sans covariable identifiée. Par exemple, au cours d'un traitement par un anti-TNF α , on peut observer une réduction de clairance entre une première occasion (traitement d'induction) et une seconde occasion (traitement d'entretien), correspondant à une réduction progressive de l'élimination spécifique ; on aura alors un effet de l'occasion sur la valeur de la clairance. Si on dispose de valeurs de CRP moyenne à chaque occasion, on pourra observer qu'entre l'induction et l'entretien, la CRP moyenne diminue, et que la CRP est corrélée positivement à la clairance, toutes occasions confondues.

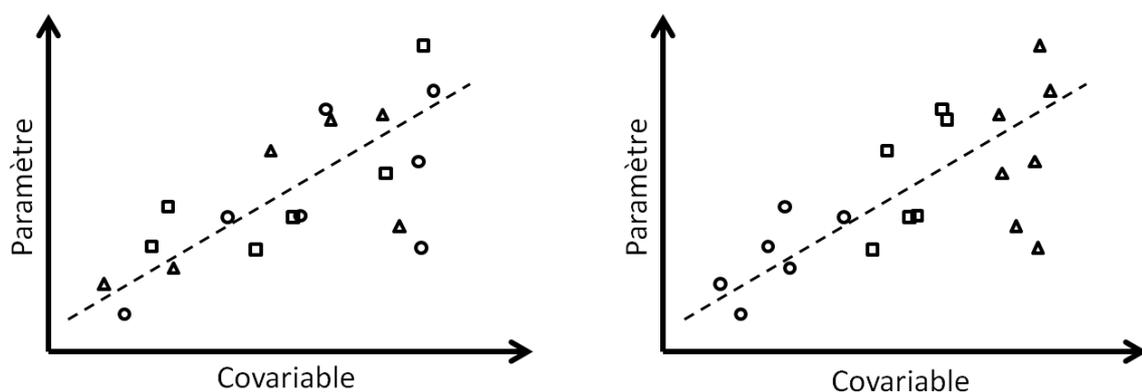


Figure 44: Exemple de corrélations entre paramètres et covariables.

Chaque forme de marqueur correspond à une occasion différente. A gauche, il existe une corrélation positive entre paramètre et covariable, sans influence apparente de l'occasion ; à droite, il existe une corrélation positive entre paramètre et covariable, mais l'occasion semble également influencer leur valeur.

Au total, le paramètre individuel pourra s'écrire de la façon suivante :

$$\theta_{ik} = \theta_0 \cdot \left(\frac{COV_{ik}}{med(COV_k)} \right)^{\beta_{COV}} \cdot e^{\eta_i} \cdot e^{\kappa_i} \cdot e^{\beta_{OCC=k}}$$

Où θ_{ik} est la valeur du paramètre chez l'individu i à l'occasion k , θ_0 le paramètre de population, COV_{ik} la valeur du paramètre chez l'individu i à l'occasion k , $med(COV_k)$ la médiane de la covariable à l'occasion k , η_i et κ_i les effets aléatoires, et $\beta_{OCC=k}$ un paramètre qui quantifie l'effet de l'occasion k .

Un des avantages de l'utilisation d'une variabilité inter-occasion est qu'il n'est pas nécessaire de disposer de covariables pour décrire l'existence d'une variabilité intra-individuelle. Un inconvénient majeur est la définition des occasions ; il faut disposer d'informations objectives justifiant le découpage de la période d'observation à des temps précis et définir le nombre d'occasions. La richesse des données dans chaque occasion est à prendre en compte et limite le nombre d'occasions que l'on peut définir sur la période d'observation.

Intégration dans le modèle structural

Monolix ne permet pas de gérer des covariables variant au cours du temps, et il n'est donc possible que de tester l'influence de la valeur de la covariable à la *baseline*, sauf dans le cas où une variabilité inter-occasion est estimée ; mais même dans ce cas, il n'est pas possible de gérer des covariables variant au sein d'une même occasion ; seule la valeur de la covariable au début de chaque occasion pourra être testée.

Une approche alternative consiste à définir l'influence de la covariable directement dans le modèle structural. L'écriture mathématique de l'influence de la covariable pourra être la même mais il sera possible pour la covariable de changer de valeur à n'importe quel temps, ce qui se traduira par une modification conjointe de la valeur du paramètre pharmacocinétique. Dans ce cas, l'estimation d'une variabilité inter-occasion n'est pas nécessaire.

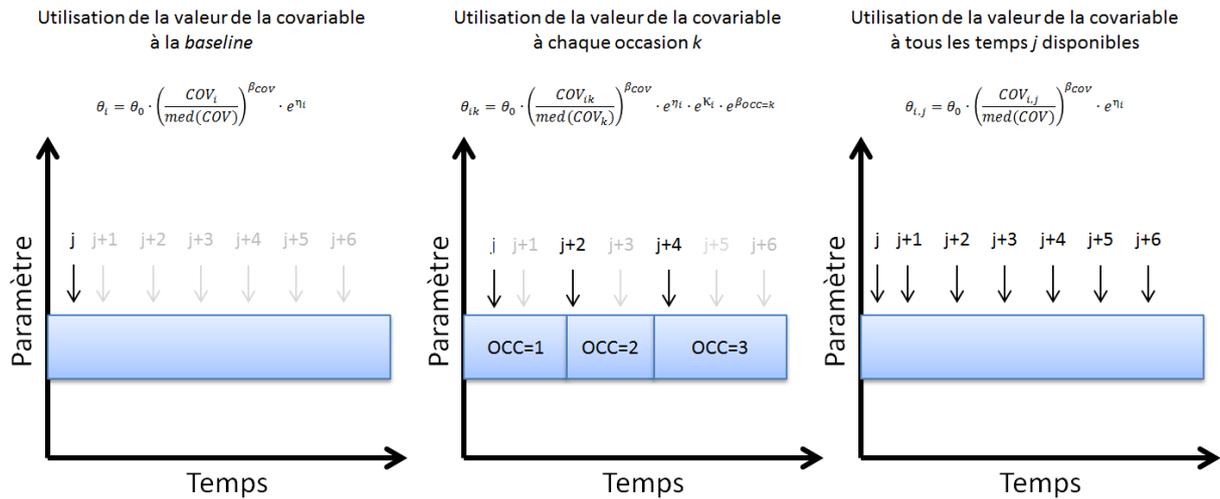


Figure 45: Représentation schématique des différentes approches possibles pour gérer une covariable dont les valeurs varient au cours du temps.

A gauche, seule la valeur à la baseline est prise en compte. Au centre, la valeur change à chaque nouvelle occasion, mais ne change pas au sein d'une occasion donnée. A droite, chaque changement de valeur de la covariable entraîne un changement de la valeur du paramètre.

3.2.5.3 Utilisation de fonctions dépendantes du temps

Une approche alternative pour décrire la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle est de recourir à des fonctions décrivant les paramètres pharmacocinétiques comme des fonctions du temps. Le choix de la fonction peut être empirique, le plus souvent, ou mécanistique, si les mécanismes qui sous-tendent la variation temporelle sont connus ou suspectés.

Les fonctions dépendantes du temps ont l'avantage de pouvoir décrire des phénomènes observés mais pas nécessairement expliqués, au même titre que la variabilité inter-occasion, et de décrire la forme de l'évolution du paramètre au cours du temps, au contraire de la variabilité inter-occasion. En effet, la forme de l'évolution temporelle du paramètre pourra être décrite par des fonctions plus ou moins complexes, mais surtout continues puisque le temps est une variable continue.

De plus, pour expliquer les évolutions observées, il sera possible de rechercher des covariables expliquant la variabilité inter-individuelle des paramètres décrivant la fonction temps-dépendante. Par exemple, une fonction décrivant une décroissance de la clairance au cours du temps peut décrire une réduction de l'élimination médiée par la cible ; dans ce cas

on pourra rechercher une corrélation entre le paramètre quantifiant la vitesse de la décroissance et les covariables représentant l'évolution de la masse antigénique.

A l'heure actuelle, peu de modèles compartimentaux décrivant la variabilité temporelle de la pharmacocinétique des anticorps ont été publiés. Une revue de la littérature présentant ces modèles a été réalisée dans le cadre de ce travail de thèse pour faire un état des lieux des modèles existants. Cette revue est présentée dans la section 4.1.

3.2.6. Comparaison de modèles

Les comparaisons des modèles ont été réalisées à l'aide de la fonction objective (-2LL) et du critère d'information d'Akaike (*Akaike's Information Criterion* ou AIC), défini comme suit :

$$AIC = -2LL + 2p$$

Où AIC est le critère d'information d'Akaike, -2LL est la fonction objective et p est le nombre de paramètres à estimer.

Les modèles emboîtés ont été comparés deux à deux par le test du rapport de vraisemblance (*Likelihood Ratio Test* ou LRT), où la différence de fonction objective entre deux modèles est supposée suivre une loi de χ^2 à 1 degré de liberté. Ainsi, une différence de -2LL de 3.84 points correspond à une différence significative pour un risque $\alpha = 5\%$.

Les modèles non emboîtés ne peuvent ont été comparées par leurs valeurs d'AIC, qui permet d'intégrer dans la comparaison à la fois les performances de prédiction et la parcimonie du modèle grâce à la pénalisation de la valeur de la fonction objective par le nombre de paramètres à estimer.

3.2.7. Outils diagnostiques et validation du modèle

La validation d'un modèle pharmacocinétique passe par plusieurs étapes qui tiennent compte d'éléments statistiques et de l'appréciation de l'utilisateur. La validation des modèles a tenu compte de la précision des estimations des paramètres mesurée par l'écart-type de l'estimation rapportée à la valeur de l'estimation (*Relative Standard Error* ou RSE) estimée par approximation stochastique, la performance prédictive du modèle évaluée par l'examen des valeurs observées *versus* les valeurs prédites et par l'examen de l'accord entre

les tracés de l'évolution des concentrations au cours du temps et les valeurs observées (*individual fits*), la normalité de la distribution des résidus et l'absence de tendance dans l'erreur de prédiction au cours du temps et en fonction de la hauteur de l'observation. Des graphiques diagnostiques comme les *Visual Predictive Checks* (VPC) ont également été utilisés.

3.3. Analyse statistique

Les analyses statistiques qui ne relevaient pas de la modélisation pharmacocinétique ont été réalisées classiquement. Les variables continues ont été décrites par leur moyenne et écart-type si elles étaient distribuées normalement et d'effectif >30, et par leur médiane et quartiles dans le cas contraire. Les variables catégorielles ont été décrites par l'effectif et la fréquence de chaque modalité dans la population à l'étude. Les variables continues ont été comparées deux à deux par des tests paramétriques (test de Student) ou non paramétriques (test de Wilcoxon) selon leurs caractéristiques, en utilisant les tests appariés si nécessaire. Les variables catégorielles ont été comparées par le test de χ^2 ou le test exact de Fisher lorsque les effectifs théoriques étaient trop faibles. Lorsque cela était nécessaire, des modèles multivariés ont été construits (régression multilinéaire, régression logistique, régression de Poisson).

Dans le cadre des études de la relation concentration-effet, des modèles de survie ont été utilisés pour rechercher le lien entre les paramètres dérivés des modèles pharmacocinétiques et la probabilité de rechute de la maladie. A l'étape univariée, des tests du log-rank ont été utilisés. Lorsque cela était nécessaire les variables continues étaient dichotomisées en recherchant le seuil discriminant optimal par *recursive partitioning*. Les analyses de survie multivariées étaient réalisées à l'aide du modèle de Cox. Lorsque cela était nécessaire, une analyse en données répétées pour les événements récurrents (plusieurs rechutes) était utilisée.

Pour toutes les analyses, un risque $\alpha = 0.05$ était utilisé sauf mention contraire dans les articles (étapes de *screening* univarié notamment pour la sélection des variables d'intérêt).

4. RESULTATS

4.1. Revue de la littérature : modélisation compartimentale des variations de la pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques au cours du temps

Article accepté pour publication dans *Clinical Pharmacokinetics*

DOI: 10.1007/s40262-019-00816-7

4.1.1. Résumé

Les anticorps monoclonaux thérapeutiques (AcMo) sont de plus en plus utilisés pour traiter diverses pathologies. Les sources de leur variabilité pharmacocinétique inter-individuelle ont été largement étudiées, mais il existe peu de données sur leur variabilité pharmacocinétique intra-individuelle. Dans cette revue de la littérature, nous rapportons les modèles compartimentaux actuellement publiés qui ont été utilisés pour décrire la variabilité pharmacocinétique temporelle des AcMo en clinique. Sur 189 publications de modélisation compartimentale sur les AcMo, 13 seulement font état de l'utilisation de paramètres variant au cours du temps et 30 décrivent les effets du développement d'anticorps anti-médicament (*Anti-Drug Antibodies* ou ADA). Les modèles actuellement publiés décrivent principalement des diminutions rapides de la clairance dues à la réduction progressive de l'élimination médiée par la cible ou des diminutions lentes de la clairance dues à la réduction de la cachexie. Les modèles d'immunogénicité décrivent le plus souvent des augmentations de clairance instantanées dues à une élimination rapide des complexes AcMo-ADA. Certains modèles plus sophistiqués ont tenté de décrire l'évolution temporelle de la réponse immunogène, notamment en tenant compte du moment de l'apparition des ADA et de l'augmentation progressive de leur production. Les modèles d'immunogénicité et les modèles temps-dépendants actuellement publiés sont des approximations empiriques de l'élimination complexe des AcMo, mais ils soulignent la nécessité de tenir compte des variations temporelles de la pharmacocinétique des anticorps monoclonaux dans la construction des modèles. Les implications cliniques de la pharmacocinétique variable dans le temps des AcMo ne sont pas entièrement comprises, mais certaines publications font état d'un lien entre la diminution de la clairance et l'amélioration de la maladie. Les perspectives offertes par ces connaissances incluent la possibilité d'adapter la posologie à l'activité de la maladie, à l'état des patients (cachexie), ainsi qu'à leur statut immunogène, et de suivre leur évolution en surveillant les variations pharmacocinétiques intra-individuelles.

Modelling of the time-varying pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies: a literature review

Petitcollin A^{1,2,3}, Bensalem A⁵, Verdier M-C^{1,2,3}, Tron C^{1,2,3}, Lemaitre F^{1,2,3}, Paintaud G^{4,5}, Bellissant E^{1,2,3}, Ternant D^{4,5}.

Authors' affiliations

¹Rennes University Hospital, Department of Clinical and Biological Pharmacology and Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information Center, Rennes, France.

²Rennes 1 University, Faculty of Medicine, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes, France.

³Inserm, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes, France.

⁴Tours University Hospital, Department of Medical Pharmacology, Tours, France.

⁵Tours University, EA7501 GICC, Tours, France.

Short title

Time-varying pharmacokinetics of monoclonal antibodies

Corresponding author:

Dr Antoine Petitcollin

Laboratory of Biological Pharmacology

Rennes University Hospital

2 rue Henri Le Guilloux

35033 Rennes

FRANCE

Tel: +332 99 28 42 80

Fax: +332 99 28 41 84

Email: antoine.petitcollin@chu-rennes.fr

Abstract word count: 229/250

Manuscript word count: 5995/6000

Number of tables: 2

Number of figures: 0

Conflicts of interest

The other authors declare no conflicts of interest.

Funding

This work was not supported.

Authors' contribution

AP, DT and AB performed the review. AP, DT, MCV, GP, and AB drafted the manuscript. MCV, FL, CT, DT and EB revised the draft and participated to the writing of the final manuscript, the interpretation of the data and discussion of the results. DT and EB critically revised the manuscript and gave final approval for submission. All authors revised the manuscript for important intellectual content and approved the manuscript in its submitted form.

Abstract (229/250 words)

Therapeutic monoclonal antibodies (mAbs) are increasingly used to treat a variety of conditions. The sources of their inter-individual pharmacokinetic (PK) variability have been extensively studied, but there are few data on their intra-individual PK variability. Here, we reviewed the published population compartmental models used to describe the time-varying pharmacokinetics of mAbs in clinical settings. Out of 189 publications, 13 report the use of time-varying parameters and 30 describe the effects of anti-drug antibodies (ADAs) development. Currently published time-varying models mainly describe fast decreases in clearance due to target-mediated elimination or slow decreases in clearance owing to cachexia reduction. Immunogenicity models mostly describe “on-off” increases of clearance due to a rapid elimination of mAbs-ADA complexes. Some more sophisticated models attempted to decipher the time course of immunogenic response, notably by accounting for the time of onset and progressive increase of ADAs production. Currently available time-varying and immunogenicity models are empirical approximations of the complex mAbs disposition, but they emphasize the necessity to account for the temporal variations of mAbs PK in model building. The clinical implications of the time-varying pharmacokinetics of mAbs are not fully understood but some publications reported a link between clearance decrease and disease improvement. The future perspectives offered by this knowledge include the possibility to adapt the regimen to disease and patients’ state and to immune status, and to monitor their evolution by monitoring PK variations.

Key points

- Monoclonal antibodies present a complex elimination, constituted of (i) a specific, target-mediated clearance, (ii) a non-specific, catabolic clearance, and (iii) in some patients an immunological clearance due to antidrug-antibodies (ADAs) development.
- All the components of mAbs clearance may vary in time, depending on disease evolution, metabolic changes and immunogenicity. Nevertheless, most compartmental models found in the literature do not account for time-varying pharmacokinetics.
- Current use of mAbs and future clinical developments may be improved by the knowledge of the temporal variability of mAbs pharmacokinetics and by the use of empirical or (semi-) mechanistic models.

Keywords

Monoclonal antibodies, pharmacokinetics, anti-drug antibodies, target-mediated elimination.

Manuscript (5995 words)

1. Introduction

Therapeutic monoclonal antibodies (mAbs) are increasingly used for the treatment of a wide variety of conditions, including chronic inflammatory diseases, auto-immune diseases, cancers, and more recently hyperlipidemia. New applications are forthcoming, especially in infectious diseases, and the number of mAbs entering in clinical studies and being approved is constantly growing. In 2019, over 570 therapeutic antibodies are being assessed at various clinical phases[1].

Therapeutic mAbs display a large pharmacokinetic inter-individual variability, which is clinically relevant because numerous studies reported the existence of a concentration-effect relationship in various diseases. The sources of this inter-individual variability have been partly deciphered, and can be schematically sorted in three groups: (i) factors linked to the individual, such as gender, body weight, albumin and genetics; (ii) factors linked to the antigen mass, a larger amount of antigen leading to a higher target-mediated drug disposition (TMDD), a non-linear clearance that adds to the non-specific, FcRn-controlled, linear elimination process; and (iii) factors linked to the immunogenicity of the mAb, anti-drug antibodies (ADAs) being responsible for a dramatic increase in mAbs clearance[2]. There are also other sources of PK variability that were evidenced *in vitro* or in pre-clinical studies but that were less, or not studied in clinical settings, such as the affinity for the FcRn receptor and the existence of non-specific binding[3, 4].

Although the sources of the PK inter-individual variability of mAbs have been extensively studied using non-linear mixed effects compartmental modelling, a limited number of studies accounted for intra-individual variability. Many studies used the baseline values of covariates to investigate their influence on the value of the PK parameters, despite their variation in time. Typically, target-mediated elimination can vary in time as the amount of available target antigen varies (increase of production of the target antigen in case of disease worsening / disease flare, decrease of production with disease improvement). Similarly, demographic and biologic characteristics may vary during the treatment. For instance, increases in body weight and albumin concentrations are correlated with bowel healing in Inflammatory Bowel Diseases (IBD). Furthermore, immunogenic response to the mAb may occur (or not) at any

time during the treatment, can be transient, and the development and repercussions of ADAs is influenced by the use of concomitant treatments such as corticosteroids or immunomodulators. All these factors may be responsible for wide intra-individual variations of mAbs pharmacokinetics, that add to the already substantial inter-individual variability.

The objective of the present work is to give an overview of the pharmacokinetic modelling strategies used to describe the variation of pharmacokinetics of mAbs with time, including the effects of ADAs, and to highlight the sources of this variability and its relevance in clinical settings.

2. Literature search

The literature search was focused on compartmental pharmacokinetic studies of mAbs in Humans using a population approach. Indeed, compartmental modelling is particularly suited to the implementation of complex models with time-varying parameters. The query used in Pubmed was similar to our previous review[5] and updated up to April 30th, 2019. This query led to 6220 references, and 189 publications on compartmental modelling of mAbs were identified in total, by selecting the relevant publications and after inspection of the reference list of the publications identified at the first stage.

The variation of the rate of elimination within a dosing interval due to the TMDD of mAbs has been extensively described before[5]. In this review, this phenomenon will therefore not be discussed unless it is useful to the understanding of the pharmacokinetic variations over an extended period of time comprising several administrations of the mAb.

3. Time-varying pharmacokinetic models

Out of 189 publications using compartmental modelling to describe mAbs PK, 13 report time-varying PK parameters (Table 1). Ten publications are related to cancer diseases, two are related to Inflammatory Bowel Diseases (IBD), and the last study is related to kidney transplantation. In almost all these publications (11/13), the target antigen was located at the cell surface, mainly on lymphoid cells (9/11): four publications refer to mAbs targeting the CD20 (three about rituximab[6-8] and one about obinutuzumab[9]); three publications refer

to the checkpoints inhibitors (anti-PD1 mAbs, nivolumab[10] and pembrolizumab[11], and the anti-PD-L1 durvalumab[12]); one is about daratumumab[13], an anti-CD38; and the last one refers to the human Anti-Lymphocyte Globulins[14] (h-ALG), which differ from the others because h-ALG are polyclonal antibodies. Two more studies (2/11) refer to gemtuzumab ozogamycin[15, 16], an anti-CD33 antibody-drug conjugate (ADC), which target is located at the surface of myeloid cells. The two remaining publications refer to infliximab and certolizumab pegol[17], both targeting circulating and tissue TNF α .

Interestingly, all the reports in cancer diseases described variations of the clearance with time (9/10 on linear clearance, 1/10 on parameters of the Michaelis-Menten function describing the non-linear elimination), as well as the two studies in IBD, whereas the single publication in kidney transplantation reported a variation of the volume of distribution. Of note, in all these publications, the target antigen of the mAb is circulating, located in lymph nodes and/or at the surface of immune cells, and is thus directly accessible.

3.1. Models used to describe the time-varying PK

In the majority of cases, the description of the time-varying parameters is empirical and uses either an exponential decay of the parameter (Eq 1.) or a sigmoid-Emax model (Eq 2.).

$$\theta(t) = \theta_1 + \theta_2 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\theta(t) = \theta_1 \cdot \exp\left(\frac{E_{max} \cdot t^\gamma}{T_{50}^\gamma + t^\gamma}\right) \quad (\text{Eq. 2})$$

where $\theta(t)$ is the value of the parameter θ at time t , θ_1 is the initial value of θ , θ_2 is an additive parameter such as $\theta(0) = \theta_1 + \theta_2$, k is a first-order decay constant describing the rate of decrease of θ_2 over time, E_{max} quantifies the maximum ratio of variation of θ_1 , T_{50} is the time at which θ_1 attains half of its final value, and γ is a the Hill factor.

A first-order decrease in clearance has been implemented to describe the PK of rituximab[6-8], obinutuzumab[9] and gemtuzumab[15, 16]. A similar relationship was used to describe a time-dependent decrease of the maximum rate of the non-linear elimination (V_m) of daratumumab[13]. Sigmoid-Emax models were used to describe the time-varying clearance

of nivolumab, pembrolizumab and durvalumab[10-12]. These two functions may have very similar profiles, in particular if $\gamma \leq 1$ and if $T50$ is low. However, the sigmoid-Emax model is much more flexible than the exponential model, notably because it allows the existence of a plateau before the onset of the time-variation, depending on the values of γ and of $T50$, which cannot be described using exponential model.

Aside from these models, a hyperbolic decrease of the volume of distribution was employed to describe the PK of h-ALG[14] as follows:

$$V(t) = V_1 + \frac{V_2}{t} \quad (\text{Eq. 3})$$

where V_1 denotes the final value of the volume and V_2 quantifies the initial difference in the volume. Like the exponential model, the hyperbolic model describes variations from the beginning of the observation period; however, due to the absence of a shape factor, the general shape of the decay is always the same.

Exponential, sigmoid Emax and hyperbolic models share a common principle, that is, the value of the time-varying parameters tends to an asymptotic, constant value; in other terms, the time-variation tends to disappear. In all the studies where these models were used, the values of the time-varying parameters led to a progressive increase in the concentrations of the mAb, either by a decrease of the clearance or a decrease of the volume. The two publications about anti-TNF α mAbs, in contrast, reported a progressive increase in clearance with time. A first-order increase in clearance was described for certolizumab[17], and a linear increase was reported for infliximab. Noticeably, the values of the parameters used to describe the first-order increase in clearance of certolizumab led to a very close-to-linear increase, and thus both studies report very similar shapes of clearance increase.

3.2. Magnitude and rate of the PK variations

The magnitude of the parameters variation is highly variable between the studies (Table 1). Regarding anti-CD20 mAbs, in the four studies using time-varying parameters[6-9], the total clearance was modelled as the sum of two first-order clearances: a non-specific clearance, with a static value ranging from 0.0828 to 0.252 L/d, and a specific time-varying clearance, with an initial value ranging from 0.231 to 1.26 L/d and an exponential decay. The baseline

specific clearance in these studies was always higher than the static, non-specific one, with a ratio ranging from 1.1 to 7.4 fold. The rate of exponential decline of the specific clearance was also highly variable, with typical times to half-decrease ranging from 4.8 to 34.7 days. Consequently, the specific, time-varying clearance became negligible after 5 decrease half-lives, and the total clearance reached its asymptotic value, corresponding to the non-specific clearance alone, in 24 to 173 days. Of note, a similar effect was reported for rituximab in rheumatoid arthritis, with a progressive decrease of the clearance with time, although this was modelled using inter-occasion variability instead of a continuous time-dependence[18].

The values reported for gemtuzumab ozogamycin are much different, although the equations are similar to those of anti-CD20. The initial clearance is 10.5 to 20.5-fold higher than the asymptotic one, and the rate of decrease is much faster, with a time to half-change of 0.9 to 3.1 hours. The asymptotic clearance value, corresponding to the non-specific elimination alone, is reached in approximately 5 to 15 hours. The parameters of gemtuzumab ozogamycin are nevertheless difficult to compare with those of the other mAbs, due to its ADC nature.

Last, the first-order decrease in the specific clearance of daratumumab was described through a slow decrease of the non-linear, Michaelis-Menten clearance, with a time to half-reduction of V_m of 126.6 days and a complete disappearance of the specific clearance in approximately 633 days.

The three publications using sigmoid Emax models describe smooth variations of the pharmacokinetics of immune checkpoints inhibitors. In contrast with the aforementioned studies, the time-variation of the elimination was imputed directly on the linear central clearance term. The time to half-change of clearance is close to 60 days for nivolumab and pembrolizumab, and of 173 days for durvalumab, indicating that the variations are much slower than reported for the anti-CD20, but faster than for daratumumab. They are also of lower magnitude, the relative decrease in the initial clearance being of ~20%, corresponding to a ratio of initial/final clearance of ~1.2-fold. Contrarily to the models mentioned above, a plateau is observed at the beginning of the treatment, with less than 1% of decrease of the clearance during the first 20 days in a typical individual. The steady-state is reached (97%) after approximately 180 days for nivolumab and pembrolizumab, and after 1135 days for durvalumab, due to a lower γ and higher time to half-change.

Lastly, the increases of clearance described for infliximab and certolizumab are much different, slower and linear (or close to linear for certolizumab)[17, 19]. For both anti-TNF α mAbs, the magnitude of the increase is comparable, of approximately 13-14% from baseline after a year of treatment.

Regarding the hyperbolic decrease of the value of the volume of distribution described for h-ALG[14], one day after the first infusion, the volume was 10-fold its final value of 2L, and after 10 days of treatment, the volume reached 2-fold its final value. After 100 days, the volume was only 10% of its initial value. In summary, the evolution of the parameter was both of higher magnitude and faster than described with the other models about complete mAbs.

3.3. Interpretation of the time-varying parameters

Most of the time-varying models (10/13) report a decrease in the value of the clearance over time. In 7 of these 10 studies, which were all referring to cancer diseases, this was directly imputed to the existence of a decrease in the target-mediated elimination of the mAb. In some cases, this hypothesis was confirmed by the covariate analysis. The link between the antigenic burden and variations of clearance was first reported with rituximab in NHL, with the baseline tumour size and CD19 count positively correlated to the baseline value of the specific clearance term, indicating a higher clearance at the beginning of the treatment in patients with a higher antigenic mass[8]. This was thereafter confirmed in DLBCL[7] with a rapid decrease of the specific clearance in patients with good clinical response, suggesting that the decrease in the amount of antigen resulted in a decrease in target-mediated elimination. This was also reported for obinutuzumab[9], patients with a higher tumour burden having a faster specific clearance. The link between antigen mass and TMDD was less clear though, because it may be influenced by the type of disease. Hence, compared to patients with CLL, the patients with mantle-cell lymphoma (MCL) had a higher specific clearance term and were considered as having a higher antigenic mass, whereas the patients with BCL and DLBCL displayed a lower specific clearance and were considered as having a lower antigenic burden[9]. Patients with MCL also had a faster decline of their specific clearance compared to patients with CLL, and a higher baseline count of circulating B-cells in CLL was associated to a slower decay of the specific clearance. Taken together, these elements suggest that not only the amount of

antigen but also its accessibility to the mAb influence the shape of the evolution of the specific clearance. Hence, in CLL, circulating cells are more easily accessible and lead to a faster decline of the specific clearance than in lymphomas, but this effect is compensated by a lower expression of CD20 at the cell surface than in MCL, resulting in a lower value of the specific clearance. This illustrates the complexity of the modelling of the interactions between the mAb and its target antigen. Moreover, in these studies, it was reported that patients with a higher antigenic burden had lower concentrations and a lower exposure to the drug, and were more likely to experience treatment failure.

The modelling of an exponential decrease of the specific clearance was reused recently to describe the pharmacokinetics of gemtuzumab ozogamycin[15, 16], but it is noteworthy that its PK is very different from that of unconjugated mAbs. The total clearance is much faster, approximately 10-fold that of an unconjugated mAb, due to the rapid intracellular internalization of the ADC once bound to CD33. However, as reported for rituximab[8], the number of circulating blasts and the percentage of marrow blasts were negatively correlated with the rate of decline of the specific clearance, confirming that a higher antigenic burden at the beginning of the treatment is associated with a slower disappearance of the target-mediated component of the mAb elimination.

A last example of a first-order decline of a PK parameter is found in the description of the time-varying PK of daratumumab[13]. Although the phenomenon is basically the same as that reported for anti-CD20 mAbs and gemtuzumab, *i.e.* a progressive decrease in the TMDD due to the disappearance of the target antigen, the description was refined by the use of a Michaelis-Menten term, in which the maximum disposition rate (V_m) decreases exponentially with time. This was attributed to the killing of tumour cells by the mAb and the progressive depletion of the target antigen, leading to an asymptotic clearance approaching that of endogenous IgGs, although no covariate was found to explain the interindividual variability of V_m to support this hypothesis. As for anti-CD20, the exposure to daratumumab was strongly correlated with the clinical response.

Aside from the aforementioned studies, 3/10 studies in cancer diseases reported other causes than antigen mass explaining a time-varying clearance of mAbs. Recently, three models with time-varying parameters were published to describe the PK of the immune checkpoints inhibitors[10-12]. Contrary to what was seen before, the clearance variations reported were

much slower, half of the change being attained in 2 to almost 6 months, and of less magnitude, with typical decreases of ~20% of the nominal value. The decrease of the clearance was attributed to a progressive healing of the cancer, leading to a decrease in cachexia, a hypermetabolic state responsible for hypoalbuminemia and thought to contribute to a hypercatabolism of mAbs in these diseases[20]. For nivolumab[10], the performance status was positively correlated to the clearance, in accordance with the putative role of cachexia in the non-specific clearance. For pembrolizumab[11] and durvalumab[12], the baseline clearance and the magnitude of the clearance decline increased with the baseline tumour size, probably indicating the role of the decrease of both tumour mass (and thus target-mediated elimination) and cachexia in the decrease of the clearance. Additionally, a Michaelis-Menten elimination was used to describe the TMDD of durvalumab, in which V_m was positively correlated to the value of serum circulating PD-L1, its target antigen. Interestingly, for pembrolizumab, the best overall response was correlated to the clearance variations. Poor responders had, on average, lower decreases in their clearance and the rate of patients experiencing increases in clearance was higher in the progressive disease group. Nevertheless, the role of TMDD in the time-varying clearance of immune checkpoint inhibitors is questionable because at the doses they are used, the target-mediated elimination pathway is thought to be saturated. Therefore, cachexia may play a more important role than target-mediated elimination in the clearance variations of these mAbs.

In addition to reports in cancer diseases, three publications out of the 13 reporting time-varying PK parameters describe other modalities of time-varying PK. A hyperbolic decrease of the volume of distribution of h-ALG was reported in kidney transplant recipients[14], which was attributed to the existence of a large excess of target cells at the beginning of the treatment leading to a rapid disappearance of the h-ALG from the blood. The process is basically the same as reported with the first-order decay in the clearance of anti-CD20 mAbs, *i.e.* a fast target-mediated elimination of the drug at the beginning of the treatment and a normalization of the clearance thereafter. The increase in volume of distribution with target amount suggests a reversible retention of antibodies by the targets, provided the elimination rate of antibody-target complexes is slow[5]. Lastly, the two studies about anti-TNF mAbs report a slow and regular increase in their clearance. For certolizumab, this increase is described exclusively in non-immunized patients, and its cause is has not been clearly

identified[17]. For infliximab, it was hypothesized that the increase in clearance may be the result of the disease healing, as comforted by the positive correlation between the progressive weight gain and the magnitude of the clearance increase[19]. However, since clearance increased even in patients who lost weight, other factors may explain this clearance increase, such as immunogenic response to the mAb. Immunogenicity is an important source of intra-individual variability of mAbs PK, and the topic of the second part of the present review.

4. Accounting for the influence of immunogenicity

Out of 189 articles, 30 described specifically the consequences of ADA production on increase in mAbs clearance and kept ADAs influence in the final model (Table 2). Noticeably, the studies describing the effects of immunogenicity are almost all (25/30) related to inflammatory and/or auto-immune diseases, with only four studies in cancer diseases and one last study in infectious disease.

4.1. Analytical considerations

The assessment of the effects of ADAs on the clearance of mAbs is limited by major analytical issues. Indeed, numerous bioanalytical methods used for the quantitation of ADAs are based on the detection of the free ADA, which means that ADAs linked to the mAb, even if they are present in the sample, cannot be detected. These “drug-sensitive” assays therefore give false negative results[21]. This is the case of the most common ADA assay, *i.e.* bridging ELISA, where ADAs in the sample are captured by drug immobilized on a microtiter plate, and then detected by labelled drug or labelled anti-human-Fc (if the mAb is a full antibody). Practically, the first ADAs detection occurs only when the immunogenic response have grown enough to result in an excess of ADAs relative to the drug. This implies that the ADA production began before their first detection, at an unknown time since ADAs are not detectable before they are in excess. Furthermore, if the ADAs are present but never in excess during the study period, they may even not be detected at all. This may result in the description of a clearance increase of the mAb, which can be falsely attributed to another cause, typically the antigen mass. To lower the interference with the drug and increase the sensitivity of ADA detection, sampling at

trough should therefore be preferred. Similarly, ADA-negative samples observed between two ADA-positive trough samples are strongly suspicious of being false-negative results.

These analytical issues can be overcome by several approaches. Acidification or heating of the samples allows the dissociation and prevent the reformation of mAb-ADA complexes and thus increase detection sensitivity[22]. These assays are “drug tolerant”. For example, for infliximab in IBD, the re-analysis of the samples of the TAXIT study with a drug-tolerant assay revealed an immunogenicity rate of 63%, whereas it was initially determined to be only of 21% with a drug-sensitive assay. Similarly, in rheumatoid arthritis, the immunogenicity rate initially reported with a drug-sensitive assay was of 17%, and increased to more than 50% with drug-tolerant assays in subsequent studies. Other techniques are available, notably Electrochemiluminescence (ECL) immunoassays, homogeneous mobility shift assay (HMSA) and functional tests, which are more sensitive, “drug tolerant”, but difficult to perform in routine practice and to standardize[23]. In summary, the modelling of the effects of ADAs on the PK of mAbs is hampered by analytical issues leading to common false negative results. This leads to an underestimation of the immunogenicity of the mAbs, an underestimation of ADAs-related clearance, and difficulties to identify the onset of ADAs production.

4.2. Dichotomous models to describe the effects of ADAs

There is a wide heterogeneity in the models implemented as well as in the data used to describe the effects of immune status on mAbs PK. Most of the models used are quite simple, describing an “on-off” effect of immunogenic response using an indicator variable as follows:

$$CL_{tot} = CL_{base} \cdot (1 + CL_{ADA} \cdot ADA) \text{ (Eq. 4)}$$

Or

$$CL_{tot} = CL_{base} \cdot CL_{ADA}^{ADA} \text{ (Eq. 5)}$$

Or

$$CL_{tot} = CL_{base} \cdot (1 - ADA) + CL_{ADA} \cdot ADA \text{ (Eq. 6)}$$

where CL_{tot} is the total clearance, CL_{base} is the value of the baseline clearance in the absence of ADAs, CL_{ADA} represents an additive or a multiplicative factor to quantify the increase in

clearance when ADAs are present, and ADA is a dichotomous indicator variable taking value 1 if ADAs are present and 0 otherwise. The main difference between these three formulas lies in the estimation of a distinct clearance value in the presence of ADAs in the third one, which was used in two studies[24, 25]. This has several implications in terms of modelling, because when using the two first equations, it is difficult to estimate a distinct value of inter-individual variability for CL_{base} and CL_{ADA} , because the variability of CL_{ADA} is impossible to distinguish from that of CL_{base} . Thus, the variability of CL_{ADA} is accounted for in the distribution of the random effects of CL_{base} . This problem can be partly overcome by using a single term of random effects for both CL_{base} and CL_{ADA} [17]. The third equation (Eq. 6) allows to estimate separate fixed and random effects for CL_{base} and CL_{ADA} , but the power is lowered because each distribution is estimated only in the ADA-negative and ADA-positive patients, respectively.

A major issue in the modelling is the integration of ADAs either as a time-invariant or as a time-varying covariate. In many studies (21/30), ADAs status was coded as positive if a patient tested positive in a single sample over the entire follow-up[12-14, 26-42]. In all these studies but one, only the proportion of ADA-positive patients is reported, ranging from 3 to 36%, but not the proportion of ADA-positive samples. Nevertheless, ADAs are in most cases not present all over the observation period, especially they are not present in the early phase of the treatment, even if their appearance can occur precociously, in the first months or even weeks of the treatment. Similarly, ADAs can be transient, as reported for example in inflammatory diseases[43, 44] and multiple myeloma[45]. Immunogenicity of mAbs is also influenced by the concomitant use of immunomodulators that reduce the risk of immunogenic response[44]. Thus, the models using ADAs as time-invariant covariates lead to a biased estimate of baseline clearance, *i.e.* at the beginning of treatment, when ADAs are still absent. Nader and colleagues addressed this problem by modelling an increase in adalimumab clearance in ADA-positive patients only from the 21st day of treatment[46]. Though it allows a better estimate of baseline clearance, the onset of the clearance increase is the same for all patients, regardless of the actual time to immunogenic response which may differ between individuals. A more refined approach is to use ADAs as a time-varying dichotomous covariate taking the value of 0 or 1 at each observation time, depending on the results of the ADA assay in each corresponding sample. This strategy accounts for the effects of ADAs only when they are detected. Simple

models such as those presented above (Eq. 4 to 6) combined to time-varying ADAs status were used in 5/30 studies[17, 24, 47-49], with only 1 study accounting both for time-varying ADA status and for interindividual variability of the clearance increase[24].

4.3 Continuous models of immunogenicity

Another issue arising when modelling the effects of ADAs is to account for the intensity of the immunogenic response. The estimation of an inter-individual variability of CL_{ADA} results in the description of a differential clearance increase between patients, but does not take into account the fact that the effects of the ADAs can vary with time at the individual level. Indeed, as in other immune reactions, ADA response starts with the production of IgMs, followed by IgGs, which concentration and avidity increase in time. Therefore, the clearance due to ADAs increases with time. This increase cannot be captured with an “on-off” model for ADAs, *i.e.* using a dichotomous variable. The use of ADAs as a continuous, time-varying covariate may overcome this problem and was tested in 4 out of 30 studies. In two of them, the authors finally chose to keep ADAs as a categorical covariate, after determining a threshold of ADA concentration beyond which the clearance increase was applied to the model[32, 34], and in the end ADAs were handled as a semi-quantitative covariate. In the two remaining models, ADAs were coded as real continuous covariates[17, 50]. For example, Vande Castele and colleagues described immunogenic response to certolizumab as follows[17]:

$$CL_{toti,j} = (CL_{base} + \theta_{ADA} \cdot ADA_{ci,j}^{\beta_{ADA}}) \cdot e^{\eta_i} \text{ (Eq. 7)}$$

where $CL_{toti,j}$ is the total clearance in the i^{th} individual at time j , CL_{base} is the typical mAb clearance without ADAs, θ_{ADA} is the typical additive increase in clearance for an ADA concentration of 1, $ADA_{ci,j}$ is the ADA concentration at time j in the i^{th} patient, β_{ADA} is a power weighing factor, and e^{η_i} denotes the inter-individual variability of the total clearance. Here, the three dimensions of the effects of ADAs are accounted for: the inter-individual variability, through the application of e^{η_i} to the whole expression of the clearance; the time-course of ADA formation, because the clearance increase is applied only when ADAs are present; and the intra-individual variability of the effects of immunogenicity, by weighting the clearance increase by the concentration of the ADAs. Nevertheless, it should be noted that

the power-transformation can describe several shapes of clearance increase. Hence, for certolizumab, ADA concentrations of 0.01, 1 and 100 U/mL resulted in θ_{ADA} reaching 79, 100 and 126% of its value, respectively, corresponding to a relative increase in CL_{base} of 252, 307 and 379%[17]. Comparatively, for infliximab, similar titers of ADAs resulted in θ_{ADA} reaching 6, 100 and 1680% of its value, respectively, corresponding to a relative increase in CL_{base} of 0.33, 106 and 199%[50]. Noticeably, the difficulty to standardize the units of the ADA assays further hampers the estimation of their effects on the pharmacokinetics of mAbs. At best, ADA assays are semi-quantitative, giving an *in vitro* quantification of the “neutralizing capacity” of ADAs, but they do not give information on their potential effects on mAbs clearance.

Sophisticated models were also used to describe the time-course of ADAs effect on mAbs disposition, each with strengths and weaknesses. Gibiansky and colleagues proposed a post-hoc estimation of the effects of ADAs on the PK of elotuzumab, in which a sigmoid function was implemented to describe a transient immunogenic response at the beginning of the treatment (2-4 months)[45]. With this model, the sigmoid shape of the clearance variations is smoother and perhaps more plausible than an “on-off” effect. This model also allowed to estimate inter-individual variability of the clearance increase, with a large coefficient of variation of 215%. Moreover, the effects of ADAs are reversible, because the variations in clearance are bound to the ADA assay positivity, *i.e.* the onset of the clearance increase is estimated at a time comprised between the last ADA-negative and the first ADA-positive sample, and the offset occurs between the last ADA-positive and the following ADA-negative sample. This allows a more realistic estimation of clearance variations linked to transient immunogenic response. There is, however, no mechanistic dimension in this model.

In children with Crohn’s disease, a logit-risk model was proposed in which the risk of developing ADAs was modelled as a linear function of time, which was then logit-transformed to describe sigmoid-shaped increases in clearance in case of ADA formation[51]. The main advantage of this model is its ability to describe increases in clearance independently from the ADA status. This approach is particularly appealing when “drug sensitive” assays are used and high rates of false negative results are expected. Conversely, its main weakness lies in the uncertainty, when ADAs are not evidenced, that the clearance variations are really linked to immunogenicity and not to an increase in the antigen mass. The utility of this model was

however confirmed thereafter in a larger cohort of adults, to describe the clearance variations that were not explained by the use of time-varying covariates reflecting disease activity and therefore the variations in target-mediated elimination[19].

Brandse and colleagues have proposed another approach in adults with IBD, using a time-to-event model to describe the probability of developing ADAs to infliximab, with the cumulative time spent below a “trigger concentration” of the mAb being predictive of an increased probability of immunogenic response[50]. Then, in the patients identified as immunized by the time-to-event model, the PK model estimated individual titers of ADAs to fit the observed drug concentrations, using these estimated titers as a continuous covariate as described above (Eq. 7).

In summary, the development of sophisticated models allowed more accurate descriptions of the time course of ADAs formation than an abrupt “on-off” effect of immunogenicity, using ADA measurements as concentrations, and/or attempting to estimate the time of onset of immunogenic response. However, these models still lack a mechanistic description of ADA-mediated elimination. One reason could be the complexity of the immunogenic response. Indeed, the ADA response is polyclonal, with several isotypes, and contains both non-neutralizing and neutralizing ADAs, the latter being the vast majority[52]. This questions the relevance of distinguishing both types in compartmental studies. Only one study distinguished neutralizing from non-neutralizing ADAs, but only neutralizing ADAs were retained in the final model, and were handled as a categorical time-varying covariate[47].

5. Relevance of the intra-individual pharmacokinetic variability in clinical settings

The role of ADA development on the clinical response in inflammatory diseases has been extensively described, notably for anti-TNF mAbs in chronic inflammatory diseases; the dramatic increase in mAb clearance is associated with underexposure and can lead to treatment failure[53, 54]. The role of immunogenicity in cancer diseases has been studied but is less well known, but overall the incidence of ADAs seems to be lower than in inflammatory diseases[55]. Moreover, an association between the development of ADAs and the occurrence of adverse events, e.g. infusion reactions, was reported[56, 57]. Conversely, only a few

compartmental modelling studies explored the relevance of the time-variations of the PK parameters of mAbs in predicting the clinical response to the treatment.

In solid cancer diseases, it was shown that the change in clearance of pembrolizumab was linked to the clinical response. Thus, patients with a greater and faster decrease in the clearance of the mAb were more likely to obtain partial or complete response, putatively because the reduction of the tumor mass and of the cachexia resulted in a decrease of the TMDD and of the non-specific clearance, respectively[11]. Conversely, patients with an increase of their clearance were more likely to have sub-optimal clinical response. Similar observations were made with rituximab, a progressive disease being associated with a slower decrease of the specific clearance[7]. In inflammatory diseases, it was shown that patients with a higher instant clearance of infliximab at the time of the treatment de-escalation or a faster linear clearance increase were more likely to relapse after the de-escalation, because they had a higher risk of underexposure[19]. It was also reported that a rapid clearance increase during the induction phase of the treatment was linked to a high probability of relapse. The cause of the clearance increase was nevertheless unknown in half of the patients because ADAs were not evidenced, and could be attributed equally to immunogenicity or to antigen mass[51].

From these observations, it can be hypothesized that the clearance variations of mAbs could be monitored and serve as a marker predictive of the clinical response. Depending on the compound, clearance variations are a direct reflection of the modifications of the target-mediated elimination and/or of the changes in protein catabolism. Thus, a clearance increase could be a reflection of a tumour growth or increased cachexia in cancer or of a disease flare in inflammatory diseases. Nevertheless, the causative link between the time-varying pharmacokinetics and the clinical response remains unclear as it cannot be determined which occurs first, the increase of the antigen mass (or the immunogenic response) leading to underexposure and treatment failure, or the treatment failure leading to a higher antigen mass and thus higher target-mediated disposition. Similarly, increases in clearance above a given threshold could be used as an early marker of immunogenic response, notably if no drug-tolerant ADA assay is available. A clearance increase without another identified cause (typically, antigen mass) should lead to suspect ADAs development.

It is important to note that both antigen mass and ADAs result in the same phenomenon, that is, an increase of the clearance of the mAb through the formation of target-antigen complexes which are rapidly eliminated by the immune system, usually modelled by the use of TMDD. In the case of immunogenic response, the mAb plays the role of the target, leading to an “ADA-mediated drug disposition” (“ADAMDD”). Indeed, TMDD and ADAMDD models share the same principles, that is, a high-affinity binding to the antigen; production of high amounts of antigen; and accelerated elimination of the immune complexes as compared to the free antibody[5]. Therefore, the aforementioned time-varying models and immunogenicity models both are simple approximations of a time-varying target-mediated clearance. These models, in the majority of cases, lack a mechanistic dimension, because of the difficulty to assess the amount of the target. This is particularly true considering ADAs because of the analytical issues we discussed above, and because it is hard to determine the onset of ADA production, as well as to capture the variations of their production and avidity. Thus, the use of time-varying models is a convenient substitute of TMDD models when measurements of the target antigen or of the ADAs are not available.

Ultimately, it seems important to remain aware of the wide temporal intra-individual variability of mAbs PK in routine practice, in particular in inflammatory diseases. Indeed, the use of TDM should be more frequent in case of disease flare, to adapt the dosing to the increased clearance in order to restore therapeutic efficacy. Similarly, the existence of a slow increase in clearance should be reminded even in stable patients under maintenance treatment, to avoid a progressive onset of underexposure and therefore an increased risk of secondary relapse. Last, the existence of a high specific clearance at the beginning of the treatment may necessitate an induction phase, as clearly depicted by the intensive regimen used for daratumumab, or by the use of loading doses of adalimumab or induction treatment with infliximab. Conversely, the maintenance of high doses of mAbs when the target antigen is saturated or has completely disappeared could be questioned.

6. Conclusion

The interrelationship of mAbs with their target antigen and with ADAs implies that their pharmacokinetics are highly variable, not only between individuals, but also in a same

individual with time. This intra-individual variability can be studied using time-varying pharmacokinetic models, which allow the description of parameters variations, especially of the clearance, linked to variations of the antigen mass and/or immunogenic response. Time-varying models are easy to implement with a reasonable amount of structural parameters compared to mechanistic models, but they only give an empirical description and lack a mechanistic dimension. Furthermore, the influence of antigen mass and of immunogenic response are sometimes difficult to distinguish from each other. To date, the possibility to use the evolution of PK parameters to monitor and/or predict treatment efficacy or ADA development has not been explored, but several studies have underlined a relationship between the shape of the PK variations and the response to the treatment. This argues for a new approach of TDM based on the evaluation of the evolution of the PK to help predict the clinical outcomes.

References

1. Kaplon H, Reichert JM. Antibodies to watch in 2019. *mAbs*. 2019 Feb/Mar;11(2):219-38.
2. Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clinical pharmacokinetics*. 2010 Oct;49(10):633-59.
3. Datta-Mannan A, Lu J, Witcher DR, Leung D, Tang Y, Wroblewski VJ. The interplay of non-specific binding, target-mediated clearance and FcRn interactions on the pharmacokinetics of humanized antibodies. *mAbs*. 2015;7(6):1084-93.
4. Kelly RL, Yu Y, Sun T, Caffry I, Lynaugh H, Brown M, et al. Target-independent variable region mediated effects on antibody clearance can be FcRn independent. *mAbs*. 2016 Oct;8(7):1269-75.
5. Ternant D, Azzopardi N, Raoul W, Bejan-Angoulvant T, Paintaud G. Influence of Antigen Mass on the Pharmacokinetics of Therapeutic Antibodies in Humans. *Clinical pharmacokinetics*. 2019 Feb;58(2):169-87.
6. Li J, Zhi J, Wenger M, Valente N, Dmoszynska A, Robak T, et al. Population pharmacokinetics of rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Journal of clinical pharmacology*. 2012 Dec;52(12):1918-26.
7. Rozman S, Grabnar I, Novakovic S, Mrhar A, Jezersek Novakovic B. Population pharmacokinetics of rituximab in patients with diffuse large B-cell lymphoma and association with clinical outcome. *British journal of clinical pharmacology*. 2017 Aug;83(8):1782-90.
8. Li j, Levi M, Charoin J-E, Frey N, Kheoh T, Ren S, et al. Rituximab Exhibits a Long Half-Life Based on a Population Pharmacokinetic Analysis in Non-Hodgkin's Lymphoma (NHL) Patients. *Blood*. 2007;110(11):2371.
9. Gibiansky E, Gibiansky L, Carlile DJ, Jamois C, Buchheit V, Frey N. Population Pharmacokinetics of Obinutuzumab (GA101) in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) and Non-Hodgkin's Lymphoma and Exposure-Response in CLL. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2014 Oct 29;3:e144.
10. Bajaj G, Wang X, Agrawal S, Gupta M, Roy A, Feng Y. Model-Based Population Pharmacokinetic Analysis of Nivolumab in Patients With Solid Tumors. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2017 Jan;6(1):58-66.
11. Li H, Yu J, Liu C, Liu J, Subramaniam S, Zhao H, et al. Time dependent pharmacokinetics of pembrolizumab in patients with solid tumor and its correlation with best overall response. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2017 Oct;44(5):403-14.
12. Baverel PG, Dubois VFS, Jin CY, Zheng Y, Song X, Jin X, et al. Population Pharmacokinetics of Durvalumab in Cancer Patients and Association With Longitudinal Biomarkers of Disease Status. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2018 Apr;103(4):631-42.
13. Xu XS, Yan X, Puchalski T, Lonial S, Lokhorst HM, Voorhees PM, et al. Clinical Implications of Complex Pharmacokinetics for Daratumumab Dose Regimen in Patients With Relapsed/Refractory Multiple Myeloma. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2017 Jun;101(6):721-4.
14. Ternant D, Buchler M, Beneton M, Alvan G, Ohresser M, Touchard G, et al. Interindividual variability in the concentration-effect relationship of antilymphocyte globulins - a possible influence of FcγRIIIa genetic polymorphism. *British journal of clinical pharmacology*. 2008 Jan;65(1):60-8.
15. Masters JC, Barry E, Knight B. Population Pharmacokinetics of Gemtuzumab Ozogamicin in Pediatric Patients with Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia. *Clinical pharmacokinetics*. 2019 Feb;58(2):271-82.
16. Hibma J, Knight B. Population Pharmacokinetic Modeling of Gemtuzumab Ozogamicin in Adult Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Clinical pharmacokinetics*. 2018 Jul 30.
17. Vande Castele N, Mould DR, Coarse J, Hasan I, Gils A, Feagan B, et al. Accounting for Pharmacokinetic Variability of Certolizumab Pegol in Patients with Crohn's Disease. *Clinical pharmacokinetics*. 2017 Dec;56(12):1513-23.

18. Lioger B, Edupuganti SR, Mulleman D, Passot C, Desvignes C, Bejan-Angoulvant T, et al. Antigenic burden and serum IgG concentrations influence rituximab pharmacokinetics in rheumatoid arthritis patients. *British journal of clinical pharmacology*. 2017 Aug;83(8):1773-81.
19. Petitcollin A, Brochard C, Siproudhis L, Tron C, Verdier MC, Lemaitre F, et al. Pharmacokinetic parameters of infliximab influence the rate of relapse after de-escalation in adults with inflammatory bowel diseases. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2019 Mar 12.
20. Ryman JT, Meibohm B. Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2017 Sep;6(9):576-88.
21. Kriekaert C, Rispens T, Wolbink G. Immunogenicity of biological therapeutics: from assay to patient. *Current opinion in rheumatology*. 2012 May;24(3):306-11.
22. Bian S, Ferrante M, Gils A. Validation of a Drug-Resistant Anti-Adalimumab Antibody Assay to Monitor Immunogenicity in the Presence of High Concentrations of Adalimumab. *The AAPS journal*. 2017 Mar;19(2):468-74.
23. Bendtzen K. Immunogenicity of Anti-TNF-alpha Biotherapies: II. Clinical Relevance of Methods Used for Anti-Drug Antibody Detection. *Frontiers in immunology*. 2015;6:109.
24. Wade JR, Parker G, Kosutic G, Feagen BG, Sandborn WJ, Laveille C, et al. Population pharmacokinetic analysis of certolizumab pegol in patients with Crohn's disease. *Journal of clinical pharmacology*. 2015 Aug;55(8):866-74.
25. Ternant D, Aubourg A, Magdelaine-Beuzelin C, Degenne D, Watier H, Picon L, et al. Infliximab pharmacokinetics in inflammatory bowel disease patients. *Therapeutic drug monitoring*. 2008 Aug;30(4):523-9.
26. Berends SE, Strik AS, Van Selm JC, Lowenberg M, Ponsioen CY, D'Haens GR, et al. Explaining Interpatient Variability in Adalimumab Pharmacokinetics in Patients With Crohn's Disease. *Therapeutic drug monitoring*. 2018 Apr;40(2):202-11.
27. Bihorel S, Fiedler-Kelly J, Ludwig E, Sloan-Lancaster J, Raddad E. Population pharmacokinetic modeling of LY2189102 after multiple intravenous and subcutaneous administrations. *The AAPS journal*. 2014 Sep;16(5):1009-17.
28. Buurman DJ, Maurer JM, Keizer RJ, Kosterink JG, Dijkstra G. Population pharmacokinetics of infliximab in patients with inflammatory bowel disease: potential implications for dosing in clinical practice. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2015 Sep;42(5):529-39.
29. Dotan I, Ron Y, Yanai H, Becker S, Fishman S, Yahav L, et al. Patient factors that increase infliximab clearance and shorten half-life in inflammatory bowel disease: a population pharmacokinetic study. *Inflammatory bowel diseases*. 2014 Dec;20(12):2247-59.
30. Fasanmade AA, Adedokun OJ, Blank M, Zhou H, Davis HM. Pharmacokinetic properties of infliximab in children and adults with Crohn's disease: a retrospective analysis of data from 2 phase III clinical trials. *Clinical therapeutics*. 2011 Jul;33(7):946-64.
31. Fasanmade AA, Adedokun OJ, Ford J, Hernandez D, Johanns J, Hu C, et al. Population pharmacokinetic analysis of infliximab in patients with ulcerative colitis. *European journal of clinical pharmacology*. 2009 Dec;65(12):1211-28.
32. Gupta A, Hussein Z, Hassan R, Wustner J, Maltzman JD, Wallin BA. Population pharmacokinetics and exposure-response relationship of amatuximab, an anti-mesothelin monoclonal antibody, in patients with malignant pleural mesothelioma and its application in dose selection. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2016 Apr;77(4):733-43.
33. Muralidharan KK, Kuesters G, Plavina T, Subramanyam M, Mikol DD, Gopal S, et al. Population Pharmacokinetics and Target Engagement of Natalizumab in Patients With Multiple Sclerosis. *Journal of clinical pharmacology*. 2017 Aug;57(8):1017-30.

34. Robbie GJ, Zhao L, Mondick J, Losonsky G, Roskos LK. Population pharmacokinetics of palivizumab, a humanized anti-respiratory syncytial virus monoclonal antibody, in adults and children. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012 Sep;56(9):4927-36.
35. Sharma S, Eckert D, Hyams JS, Mensing S, Thakkar RB, Robinson AM, et al. Pharmacokinetics and exposure-efficacy relationship of adalimumab in pediatric patients with moderate to severe Crohn's disease: results from a randomized, multicenter, phase-3 study. *Inflammatory bowel diseases*. 2015 Apr;21(4):783-92.
36. Stroh M, Winter H, Marchand M, Claret L, Eppler S, Ruppel J, et al. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Atezolizumab in Metastatic Urothelial Carcinoma. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2017 Aug;102(2):305-12.
37. Ternant D, Karmiris K, Vermeire S, Desvignes C, Azzopardi N, Bejan-Angoulvant T, et al. Pharmacokinetics of adalimumab in Crohn's disease. *European journal of clinical pharmacology*. 2015 Sep;71(9):1155-7.
38. Wang B, Yan L, Yao Z, Roskos LK. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Benralizumab in Healthy Volunteers and Patients With Asthma. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2017 Apr;6(4):249-57.
39. Xu Z, Vu T, Lee H, Hu C, Ling J, Yan H, et al. Population pharmacokinetics of golimumab, an anti-tumor necrosis factor-alpha human monoclonal antibody, in patients with psoriatic arthritis. *Journal of clinical pharmacology*. 2009 Sep;49(9):1056-70.
40. Xu ZH, Lee H, Vu T, Hu C, Yan H, Baker D, et al. Population pharmacokinetics of golimumab in patients with ankylosing spondylitis: impact of body weight and immunogenicity. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2010 Sep;48(9):596-607.
41. Zhu Y, Hu C, Lu M, Liao S, Marini JC, Yohrling J, et al. Population pharmacokinetic modeling of ustekinumab, a human monoclonal antibody targeting IL-12/23p40, in patients with moderate to severe plaque psoriasis. *Journal of clinical pharmacology*. 2009 Feb;49(2):162-75.
42. Zhu YW, Mendelsohn A, Pendley C, Davis HM, Zhou H. Population pharmacokinetics of ustekinumab in patients with active psoriatic arthritis. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2010 Dec;48(12):830-46.
43. van Schouwenburg PA, Krieckaert CL, Rispens T, Aarden L, Wolbink GJ, Wouters D. Long-term measurement of anti-adalimumab using pH-shift-anti-idiotypic antigen binding test shows predictive value and transient antibody formation. *Annals of the rheumatic diseases*. 2013 Oct;72(10):1680-6.
44. Ungar B, Chowers Y, Yavzori M, Picard O, Fudim E, Har-Noy O, et al. The temporal evolution of antidrug antibodies in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab. *Gut*. 2014 Aug;63(8):1258-64.
45. Gibiansky L, Passey C, Roy A, Bello A, Gupta M. Model-based pharmacokinetic analysis of elotuzumab in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2016 Jun;43(3):243-57.
46. Nader A, Beck D, Noertersheuser P, Williams D, Mostafa N. Population Pharmacokinetics and Immunogenicity of Adalimumab in Adult Patients with Moderate-to-Severe Hidradenitis Suppurativa. *Clinical pharmacokinetics*. 2017 Sep;56(9):1091-102.
47. Diao L, Hang Y, Othman AA, Nestorov I, Tran JQ. Population Pharmacokinetics of Daclizumab High-Yield Process in Healthy Volunteers and Subjects with Multiple Sclerosis: Analysis of Phase I-III Clinical Trials. *Clinical pharmacokinetics*. 2016 Aug;55(8):943-55.
48. Kakkar T, Sung C, Gibiansky L, Vu T, Narayanan A, Lin SL, et al. Population PK and IgE pharmacodynamic analysis of a fully human monoclonal antibody against IL4 receptor. *Pharmaceutical research*. 2011 Oct;28(10):2530-42.
49. Zhu R, Zheng Y, Dirks NL, Vadhavkar S, Jin JY, Peng K, et al. Model-based clinical pharmacology profiling and exposure-response relationships of the efficacy and biomarker of lebrikizumab in patients with moderate-to-severe asthma. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2017 Oct;46:88-98.

50. Brandse JF, Mould D, Smeekes O, Ashruf Y, Kuin S, Strik A, et al. A Real-life Population Pharmacokinetic Study Reveals Factors Associated with Clearance and Immunogenicity of Infliximab in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2017 Apr;23(4):650-60.
51. Petitcollin A, Leuret O, Tron C, Lemaitre F, Verdier MC, Paintaud G, et al. Modeling Immunization To Infliximab in Children With Crohn's Disease Using Population Pharmacokinetics: A Pilot Study. *Inflammatory bowel diseases*. 2018 Jul 12;24(8):1745-54.
52. Garces S, Demengeot J. The Immunogenicity of Biologic Therapies. *Current problems in dermatology*. 2018;53:37-48.
53. Brandse JF, Mathot RA, van der Kleij D, Rispens T, Ashruf Y, Jansen JM, et al. Pharmacokinetic Features and Presence of Antidrug Antibodies Associate With Response to Infliximab Induction Therapy in Patients With Moderate to Severe Ulcerative Colitis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2016 Feb;14(2):251-8 e1-2.
54. Moots RJ, Xavier RM, Mok CC, Rahman MU, Tsai WC, Al-Maini MH, et al. The impact of anti-drug antibodies on drug concentrations and clinical outcomes in rheumatoid arthritis patients treated with adalimumab, etanercept, or infliximab: Results from a multinational, real-world clinical practice, non-interventional study. *PLoS one*. 2017;12(4):e0175207.
55. van Brummelen EM, Ros W, Wolbink G, Beijnen JH, Schellens JH. Antidrug Antibody Formation in Oncology: Clinical Relevance and Challenges. *The oncologist*. 2016 Oct;21(10):1260-8.
56. Arstikyte I, Kapleryte G, Butrimiene I, Venalis A. Influence of Immunogenicity on the Efficacy of Long-Term Treatment with TNF alpha Blockers in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis Patients. *BioMed research international*. 2015;2015:604872.
57. Pascual-Salcedo D, Plasencia C, Ramiro S, Nuno L, Bonilla G, Nagore D, et al. Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2011 Aug;50(8):1445-52.
58. Yan L, Wang B, Chia YL, Roskos LK. Population Pharmacokinetic Modeling of Benralizumab in Adult and Adolescent Patients with Asthma. *Clinical pharmacokinetics*. 2019 Mar 11.
59. Xu Z, Seitz K, Fasanmade A, Ford J, Williamson P, Xu W, et al. Population pharmacokinetics of infliximab in patients with ankylosing spondylitis. *Journal of clinical pharmacology*. 2008 Jun;48(6):681-95.

Tables

Table 1. Summary of the characteristics of time-varying population PK models for mAbs

| mAb | Target | Disease | T-varying model | Parameter | Time to half-change (days) | Magnitude of change (initial / final) | Interpretation | Ref no |
|---------------|--------------|-----------------------|------------------------------|-----------|----------------------------|---|--|--------|
| Daratumumab | CD38 | MM | First-order decrease (Eq. 1) | Vm | 126.64 | Disappearance of the non-linear clearance | Decrease of the TMDD | [13] |
| Durvalumab | PD-L1 | Various solid tumours | Sigmoid-Emax (Eq. 2) | CL | 173.10 | 0.83 | Decrease of the cachexia and of the TMDD | [12] |
| Gemtuzumab | CD33 | AML | First-order decrease (Eq. 1) | CL | 3.07 | 10.51 | Decrease of the TMDD | [15] |
| Gemtuzumab | CD33 | AML | First-order decrease (Eq. 1) | CL | 0.92 | 24.50 | Decrease of the TMDD | [16] |
| h-ALG | LT | Kidney transplant | Hyperbolic decrease (Eq. 3) | V | 44.80 | 11.20 | Decrease of the TMDD | [14] |
| Nivolumab | PD-1 | Various solid tumours | Sigmoid-Emax (Eq. 2) | CL | 58.75 | 0.74 | Decrease of the cachexia | [10] |
| Obinutuzumab | CD20 | BCL | First-order decrease (Eq. 1) | CL | 19.30 | 3.79 | Decrease of the TMDD | [9] |
| Pembrolizumab | PD-1 | NSCLC and melanoma | Sigmoid-Emax (Eq. 2) | CL | 67.40 | 0.78 | Decrease of the cachexia and of the TMDD | [11] |
| Rituximab | CD20 | NHL | First-order decrease (Eq. 1) | CL | NR | 5.21 | Decrease of the TMDD | [8] |
| Rituximab | CD20 | CLL | First-order decrease (Eq. 1) | CL | 34.65 | 8.37 | Decrease of the TMDD | [6] |
| Rituximab | CD20 | DLBCL | First-order decrease (Eq. 1) | CL | 4.85 | 2.10 | Decrease of the TMDD | [7] |
| Infliximab | TNF α | IBD | Linear increase | CL | NA | +12.7% / year | Unknown | [19] |
| Certolizumab | TNF α | IBD | Linear increase | CL | NA | +14.3% / year* | Unknown | [17] |

MM, multiple myeloma ; AML, acute myeloid leukemia ; BCL, B-cell lymphoma ; NSCLC, non small-cell lung cancer ; NHL, non-Hodgkin lymphoma ; CLL, chronic lymphocytic leukemia ; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma ; NR: Not Reported.

*The clearance increase was of first-order, but very slow; it was therefore approximated with a linear increase in this table.

Table 2. Summary of the characteristics of population PK models describing effects of the ADAs

| mAb | Target | Disease | Model | Clearance increase | Clearance Increase (fold) | Type | IIV | Time-varying | ADA assay | Positivity rate (% patients) | Ref no |
|----------------|----------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------|-----|--------------|-----------------|------------------------------|--------|
| Adalimumab | TNF- α | Crohn's disease | Multiplicative, NR | x5.5 | 5.50 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 13.85% | [37] |
| Adalimumab | TNF- α | IBD | Additive, Eq. 4 | +108% | 2.08 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 3.30% | [35] |
| Adalimumab | TNF- α | HS | Multiplicative, Eq. 4, time-dependent | x6.8 if time > 21 days | 6.80 | Categorical | No | Yes* | Bridging ELISA | 6.02% | [46] |
| Adalimumab | TNF- α | IBD | Additive, Eq. 4 | +314% | 4.14 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 17.71% | [26] |
| Amatuximab | Mesothelin | MPM | Multiplicative, NR | x1.49 if ADA titer >64 | 1.49 | Categorical | No | No | NR | NR | [32] |
| AMG-317 | IL-4R α | Healthy / Asthma | Additive, Equivalent to Eq. 4 | +16% | 1.16 | Categorical | No | Yes | ECL immunoassay | NR | [48] |
| Atezolizumab | PD-L1 | MUC | Additive, NR | +15.9% | 1.16 | Categorical | No | No | 3-stage method | 36.45% | [36] |
| Benralizumab | CD125 | Healthy / Asthma | Multiplicative, Eq. 5 | x1.52 | 1.52 | Categorical | No | No | NR | 9.50% | [38] |
| Benralizumab | CD125 | Asthma | Additive, Equivalent to Eq. 4 | 124% | 2.24 | Categorical | No | No | NR | 15.62% | [58] |
| Certolizumab | TNF- α | Crohn's disease | Separate, Eq. 6 | 4-fold higher | 4.00 | Categorical | Yes | Yes | Bridging ELISA | 6.44% | [24] |
| Certolizumab | TNF- α | Crohn's disease | Additive, ADA-concentration weighted | +0.57 x ADA $c^{0.0566}$ | Variable | Continuous | No | Yes | Bridging ELISA | 6.44% | [17] |
| Daclizumab HYP | CD26 | Healthy / Multiple sclerosis | Additive, NR | +19% | 1.19 | Categorical | No | Yes | 3-stage method | 16.83% | [47] |
| Durvalumab | PD-L1 | Various solid tumours | Additive, Eq. 4 | +23.4% | 1.23 | Categorical | No | No | ECL immunoassay | 3.12% | [12] |

| | | | | | | | | | | | |
|--------------|----------------------|---------------------|---|------------------------|----------|---------------|-----|-----|------------------------------------|--------|------|
| Elotouzumab | CD319 | Multiple Myeloma | Post-hoc sigmoid, additive, reversible, depending on ADA status | +110% | Variable | Categorical | Yes | Yes | ECL immunoassay | 20.27% | [45] |
| Golimumab | TNF- α | Psoriatic arthritis | Multiplicative, Eq. 5 | x1.1 | 1.10 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 3.86% | [39] |
| Golimumab | TNF- α | AS | Multiplicative, Eq. 5 | x1.36 | 1.36 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 3.53% | [40] |
| Infliximab | TNF- α | IBD | Separate, Eq. 6 | 2.67-fold higher | 2.67 | Categorical | Yes | No | Bridging ELISA | 15.15% | [25] |
| Infliximab | TNF- α | AS | Additive, Eq. 4 | +41.9% | 1.42 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 8.39% | [59] |
| Infliximab | TNF- α | IBD | Multiplicative, Eq. 5 | x1.471 | 1.47 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 6.85% | [31] |
| Infliximab | TNF- α | IBD | Multiplicative, Eq. 5 | x1.291 | 1.29 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 9.68% | [30] |
| Infliximab | TNF- α | IBD | Additive, Eq. 4 | +159% | 2.59 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 31.48% | [29] |
| Infliximab | TNF- α | IBD | Multiplicative, Eq. 5 | x1.722 | 1.72 | Categorical | No | No | Radioimmunoassay | 4.76% | [28] |
| Infliximab | TNF- α | Crohn's disease | Multiplicative, time-varying, independent from ADA-status | x2.5 at average | Variable | Continuous | Yes | Yes | Bridging ELISA | 15.00% | [51] |
| Infliximab | TNF- α | IBD | Time-to-event, with individual time-varying estimation of titer | x2 for a titer of 100 | Variable | Continuous | No | Yes | Radioimmunoassay | 22.59% | [50] |
| Lebrikizumab | IL-13 | Asthma | Multiplicative, Eq. 5 | x1.04 | 1.04 | Categorical | No | Yes | 3-stage method | NR | [49] |
| LY21899102 | IL-1 β | T2DM, RA | Additive, Eq. 4 | +37.6% | 1.38 | Categorical** | No | No | Bridging ELISA and ECL immunoassay | 17.71% | [27] |
| Natalizumab | α 4 β 1 | Multiple sclerosis | Multiplicative, Eq. 5 | x2.54 | 2.54 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | NR*** | [33] |
| Palivizumab | RSV | Healthy / RSV | Multiplicative, Eq. 5 | x1.21 if ADA titer >80 | 1.21 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 4.80% | [34] |
| Ustekinumab | IL-12/IL-23 | Psoriasis | Additive, Eq. 4 | +35.5% | 1.36 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 3.20% | [41] |
| Ustekinumab | IL-12/IL-23 | Psoriatic arthritis | Additive, Eq. 4 | +42.1% | 1.42 | Categorical | No | No | Bridging ELISA | 9.23% | [42] |

IBD: Inflammatory Bowel Diseases; HS: Hidradenitis Suppurativa; MPM: Malignant Pleural Mesothelioma; MUC: Metastatic Urothelial Carcinoma; AS: Ankylosing Spondyloarthritis; T2DM: Type 2 Diabetes Mellitus; RSV: Syncithial Respiratory Virus; ADA: ADA concentration ; IIV : Inter-Individual Variability ; ECL: Electrochimoluminescence; NR: not reported.

*The ADA status was positive or negative for all the study period but the effects of ADA positivity was accounted for only from the 21st day of treatment.

**The ADA titer was available but was not retained in the final model, and ADA were coded as a categorical covariate.

*** The exact count of ADA-positive samples or patients is not reported; 114 observations <LLOQ were excluded due to persistant ADA.

4.2. Etude 1. Modélisation de l'immunisation contre l'infliximab et relation concentration-effet de l'infliximab en phase d'induction chez des enfants atteints de maladie de Crohn

Article publié dans Inflammatory Bowel Diseases

DOI: 10.1093/ibd/izy129

4.2.1. Résumé

Introduction : Les anticorps anti-médicaments (*Anti-Drug Antibodies* ou ADA) sont responsables d'une augmentation importante de la clairance de l'infliximab, entraînant un sous-dosage et un risque d'échappement. Cette étude pilote avait pour objectif de développer un modèle pharmacocinétique capable de détecter et de décrire les augmentations de clairance dues à la formation d'ADA.

Méthodes : L'étude a été conduite chez 20 enfants atteints de maladie de Crohn (MC) suivis pendant la première année de traitement par infliximab. Les concentrations résiduelles d'infliximab ont été relevées à chaque cure, ainsi que la présence d'ADA, la CRP et le PCDAI (*Paediatric Crohn's Disease Activity Index*). Un modèle pharmacocinétique compartimental avec clairance temps-dépendante a été développé pour détecter et décrire les augmentations de clairance, indépendamment de la connaissance du statut immunogène. Les facteurs associés aux variations de clairance et la relation entre concentration, clairance et réponse clinique ont été explorés.

Résultats : Le modèle a détecté des augmentations importantes de clairance chez 4 patients. Ces patients avaient des réponses précoces suboptimales, avec un PCDAI et une CRP plus élevés que chez les répondeurs ($p = 0.0086$ et $p = 0.028$, respectivement). Des ADA ont été détectés chez deux d'entre eux. Une augmentation de plus de 1.72 fois la clairance basale et une concentration résiduelle $<12 \mu\text{g/mL}$ à S2 étaient prédictives d'une rechute précoce dans un modèle de Cox multivarié ($p = 0.001$ et $p = 0.0048$, respectivement).

Conclusion : Ce modèle de clairance temps-dépendant, étant capable de détecter des augmentations de clairance, pourrait permettre une détection précoce de l'immunisation contre l'infliximab et aider à l'ajustement posologique chez les patients atteints de MC. De plus, ces résultats suggèrent que les variations de clairance de l'infliximab pourraient être un marqueur prédictif de réponse. Ces résultats doivent cependant être confirmés dans une cohorte plus grande et les facteurs prédictifs des augmentations de clairance doivent être explorés.

Modeling Immunization To Infliximab in Children With Crohn's Disease Using Population Pharmacokinetics: A Pilot Study

Antoine Petitcollin, PharmD,^{*,†,‡} Oriane Leuret, MD,[§] Camille Tron, PharmD,^{*,†,‡} Florian Lemaitre, PharmD, PhD,^{*,†,‡} Marie-Clémence Verdier, PharmD, PhD,^{*,†,‡} Gilles Paintaud, MD, PhD,[¶] Guillaume Bouguen, MD, PhD,^{||,**} Stéphanie Willot, MD,[§] Eric Bellissant, MD, PhD,^{*,†,‡} and David Ternant, PharmD, PhD[¶]

Background: Antidrug antibodies (ADAs) dramatically increase infliximab clearance and are responsible for underexposure to the drug, leading to treatment failure. This pilot study aimed at developing a population pharmacokinetic model to detect and describe an early increase in infliximab clearance due to ADA.

Methods: Twenty children with Crohn's disease (CD) were followed for 1 year or until treatment failure. Infliximab trough concentration, ADA, C-reactive protein (CRP), and Paediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI) were recorded at each visit. A time-varying clearance population pharmacokinetic model was built to detect and describe an increase in infliximab clearance, independent from ADA testing. Factors associated with clearance variation and the relationships between infliximab concentrations, clearance variation, and clinical response were investigated.

Results: The model detected important increases in clearance in 4 patients. These patients had suboptimal early response, with higher mean PCDAI ($P = 0.0086$) and CRP ($P = 0.028$) compared with other patients. Two of them had detectable ADA. Clearance increase as described by the model and lower infliximab trough concentration at week 2 were associated with poorer outcomes in a multivariate Cox model ($P = 0.001$ and $P = 0.0048$, respectively).

Conclusions: Being able to detect an increase in infliximab clearance, this model could allow the early detection of immunization to infliximab and therefore could help with dose adjustment in patients with CD. Moreover, the results suggest that clearance variations could be used as a predictive marker of clinical response. These findings need to be confirmed in a larger cohort, however, and predictive factors of clearance increase have to be investigated.

Key Words: infliximab, Crohn's disease, antidrug antibodies, population pharmacokinetics, therapeutic drug monitoring

INTRODUCTION

Infliximab is a chimeric murine-human monoclonal IgG1 κ that binds specifically to circulating and tissue human tumour necrosis factor α (TNF α). In the 2 past decades, it has revolutionized the management of inflammatory bowel diseases (IBDs), including Crohn's disease (CD).¹ Despite the

labeling of several novel anti-TNF α monoclonal antibodies, infliximab is still widely used, notably in patients with flares or severe disease, because of its fast action, compared with subcutaneous-administered drugs such as adalimumab and golimumab, or in patients in whom a previous therapy with subcutaneous anti-TNF has failed.

Patients are susceptible to producing antidrug antibodies (ADAs), which dramatically increase the clearance of infliximab and can result in underexposure and treatment failure.^{2,3} ADA development might also be associated with more frequent adverse events such as perfusion-induced reactions and autoimmune disorders^{4,5} and might decrease the success rate and increase the risk of infusion reaction after a drug holiday.⁶

Conflicts of interest: The research team of G.P. has received grants for research projects from Novartis, Roche Pharma, Sanofi-Genzyme, Chugai, and Pfizer. The other authors declare no conflicts of interest.

Supported by: No funding source declared.

Address correspondence to: Antoine Petitcollin, PharmD, Laboratory of Biological Pharmacology, Rennes University Hospital, 2 rue Henri Le Guilloux, 35033 Rennes, France (antoine.petitcollin@chu-rennes.fr).

© 2018 Crohn's & Colitis Foundation. Published by Oxford University Press. All rights reserved. For permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com.

doi: 10.1093/ibd/izy129
Published online 18 May 2018

Received for publications November 15, 2017; Editorial Decision February 19, 2018.

From the *Pharmacoepidemiology and Drug Information Center, Department of Clinical and Biological Pharmacology and Pharmacovigilance, Rennes University Hospital, Rennes, France; †Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine, Rennes 1 University, Rennes, France; ‡CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Inserm, Rennes, France; §Paediatric Medicine Unit, Tours University Hospital, Tours, France; ¶Laboratory of Pharmacology-Toxicology, CNRS, GICC UMR 7292, Tours University Hospital, François-Rabelais University of Tours, Tours, France; ||Department of Gastroenterology, Rennes University Hospital, Rennes, France; **CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Inserm U991, Rennes, France

Author contributions: S.W. and D.T. designed the study. S.W. and O.L. provided medical care to the patients. O.L. retrieved the clinical and biological data. D.T. and A.P. were in charge of infliximab concentration measurements. A.P. performed statistical and pharmacokinetic analysis. A.P., D.T., and G.B. drafted the manuscript. S.W., D.T., C.T., G.P., M.C.V., F.L., and E.B. revised the draft and participated in the writing of the final manuscript, the interpretation of the data, and the discussion of the results. All authors revised the manuscript for important intellectual content and approved the manuscript in its submitted form. A.P. is the guarantor of the article.

Moreover, immunization is frequent. A recent meta-analysis performed on 2382 adults with CD reported rates of immunization of 12.8% and 20.0% in the groups with and without immunomodulators, respectively.⁷

To attempt overcoming immunization, it is possible to increase the dose or reduce the interval between administrations to saturate ADA,⁸ or to use an immunomodulator such as azathioprine to decrease ADA production, with inconsistent results.^{2,9} Overcoming immunization to infliximab is particularly challenging because ADAs are often discovered late in treatment, usually at the time of disease relapse, and in most cases infliximab is discontinued. Hence, immunization to infliximab is not only a source of treatment failure but also leads to an early exhausting of the therapeutic arsenal by inducing anticipated treatment withdrawal and switch.

Therapeutic drug monitoring of infliximab can help physicians optimize the dose regimen and serves to point out unexpected low concentrations suspicious of ADA formation.¹⁰ Because of analytical interferences, most assays (referred to as “drug-sensitive”) allow the detection of ADA only when plasma infliximab is low, or even undetectable.¹¹ At this stage, infliximab concentrations are already infra-therapeutic, and immunization is well established. In this context, being able to predict early immunization is of particular importance.

There is increasing evidence that numerous factors are responsible for variations of clearance of therapeutic antibodies in the time course of treatment. The influence of ADAs is of particular importance as they dramatically increase the clearance of infliximab. ADAs are rarely present at the initiation of infliximab, and immunization against infliximab occurs most in the weeks after treatment beginning, and thus infliximab elimination is lower at the beginning of treatment. Then if immunization occurs, there is a progressive increase in clearance due to the fast elimination of ADA-bound infliximab.

In this pilot study, we aimed at (1) describing the variations of infliximab clearance in a cohort of children with CD using population pharmacokinetic modeling with time-varying clearance, (2) identifying factors associated with these variations of clearance, especially those that suggest early immunization to infliximab, and (3) exploring the relationship between infliximab concentrations, clearance variations, and clinical outcomes.

METHODS

Patients and Study Design

This was an observational, single-center pilot study. The study included 20 children hospitalized in the Paediatric Medicine Unit and treated with infliximab for CD. Infliximab was infused at a dose of 5 mg/kg every 8 weeks after an induction phase with infusions at weeks 0, 2, and 6. Blood samples

for determination of infliximab trough concentrations and ADA testing were drawn at baseline, weeks 2, 6, and 14, and at each infliximab infusion thereafter for 1 year, until week 52. Infliximab concentrations were determined using a fully validated enzyme-linked immunosorbent assay method.¹² The detection of ADA was performed with an enzyme-linked immunosorbent assay method described previously.¹³ Because this ADA assay is “drug sensitive,” that is, ADA cannot be measured in the presence of infliximab, only sera with infliximab levels <1 µg/mL were tested for ADA.

Demographics and biologics were recorded at baseline and throughout follow-up. Clinical response was assessed by the Paediatric Crohn’s Disease Activity Index (PCDAI). The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines.

Pharmacokinetic Analysis

Population pharmacokinetic compartmental modeling was performed using Monolix 4.2.3 (Lixsoft, Orsay, France). A 1-compartment structural model with first-order elimination was implemented and parametrized in terms of clearance (CL) and central volume of distribution (V). These pharmacokinetic parameters were assumed to be log-normally distributed. The influence of relevant demographic (age, sex, body weight), biological (C-reactive protein [CRP], albumin), and disease-related (PCDAI, use of immunomodulators) covariates on the value of infliximab pharmacokinetic parameters was tested using the likelihood ratio test at a risk α of 10% at the univariate step, and then 1% at the backward multivariate step. Continuous covariates were power-transformed and centered on their median.

Modeling of the Time-Varying Clearance of Infliximab

We postulated that at baseline, a patient i had a risk to develop ADA, thereafter denoted as $baserisk_i$, that increases linearly with time t with a slope of value $beta_i$ (Eq. 1 and Fig. 1A). This linear risk function of time was logit-transformed so that the value of the risk varied between 0 (no influence of ADA) and 1 (full effect of immunization) (Eq. 2 and Fig. 1B). Infliximab clearance in the patient i could be then modeled as a baseline value CL_{base_i} susceptible to vary with time of a factor CL_{var_i} , as follows (Eq. 3 and Fig. 1C):

$$risk_i(t) = -baserisk_i + beta_i \cdot t \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\text{logit}[risk_i(t)] = \frac{\exp^{risk_i(t)}}{1 + \exp^{risk_i(t)}} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$CL_i(t) = CL_{base_i} \cdot CL_{var_i}^{\text{logit}[risk_i(t)]} \quad (\text{Eq. 3})$$

With this model, it is possible to describe increases ($CL_{var_i} > 1$, eg, in case of immunization to infliximab), decreases ($CL_{var_i} < 1$, eg, in case of transient ADA or faster elimination due to high amounts of TNF α at the beginning of the treatment), or absence of variation in infliximab clearance ($CL_{var_i} = 1$). For example, in a patient developing ADA who doubles infliximab clearance, $CL_{var_i} = 2$. The shape of clearance variations depends on the initial risk (ie, $base_{risk_i}$), which determines the time of onset of clearance variation, and on the rate of risk increase (ie, $beta_i$), which determines the speed at which the clearance varies from its initial value (CL_{base_i}) to its final value ($CL_{base_i} \cdot CL_{var_i}$).

The predictive performance of this time-varying model was compared with that of a classical static-clearance model by comparing the values of Akaike's Information Criterion (AIC). The goodness of fit was also assessed for each model by plotting predicted vs observed concentrations and by graphical inspection of the residuals. The precision of parameter estimation was determined by the relative standard error calculation by stochastic approximation.

Study of the Factors Associated With Clearance Variations

We investigated whether clinical and biological factors could explain clearance variations by plotting the values of CL_{var_i} vs the values of baseline CRP and PCDAI and early variations of CRP and PCDAI at weeks 2, 6, and 14.

To explore the factors associated with the development of an immunization to infliximab, the values of CRP and PCDAI in the early weeks of treatment (ie, at weeks 2, 6, and 14) of ADA-positive patients were compared with those of patients negative for ADA.

Moreover, we postulated that important increases in clearance as described by the time-varying model could reflect immunization occurrence. Buurman et al. previously reported a median clearance increase of 1.72-fold in ADA-positive patients.¹⁴ Therefore, patients in whom the time-varying model detected an increase in infliximab clearance ≥ 1.72 -fold compared with the baseline value (ie, $CL_{var_i} \geq 1.72$) were considered as having "probable" immunization. Probable immunization was confronted to ADA testing. Values of CRP and PCDAI in the early weeks of treatment (ie, at weeks 2, 6, and 14) in the patients having actual immunization (ie, positive ADA) or probable immunization were compared with those of patients without immunization.

Concentration-Effect Relationship

Remission was defined as PCDAI ≤ 10 . First loss of response was defined as the first recurrence of a PCDAI value > 10 after obtaining remission. Survival analysis was performed to determine the association of baseline characteristics and early infliximab concentrations with the probability of sustained remission (ie, maintaining PCDAI ≤ 10). Optimal early infliximab concentration was explored using recursive partitioning, a statistical method that allows the determination of the optimal threshold of a continuous variable (here, infliximab concentration) to discriminate 2 groups with respect to another variable (here, the rate of patients with sustained remission).

Statistical Analysis

Continuous variables were expressed as median (min-max) values and compared using Wilcoxon's rank-sum test. Categorical variables were described as number and percentage

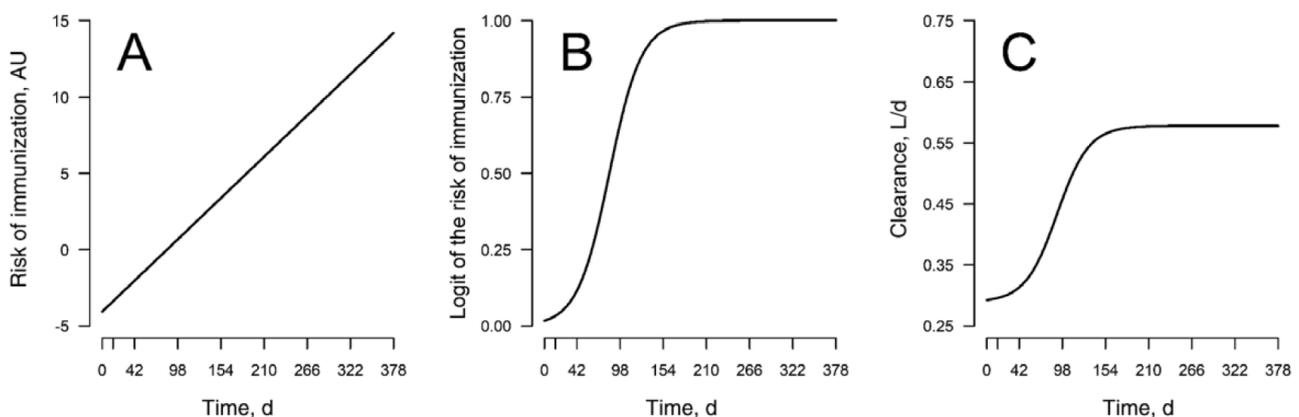


FIGURE 1. Description of the time-varying clearance model. A, The linear function describing the increase in the risk of immunization over time. The risk is expressed in arbitrary units (AU), but the values of the risk over time are important as they determine the shape of the logit-transformation. B, The logit-transformation of the risk of immunization, which allows expression of the risk of immunization as a probability (ie, comprised between 0 = no immunization and 1 = full effect of immunization). C, The effects of immunization over the clearance value. When logit(risk) = 0, the value of the clearance is equal to CL_{base} (here, 0.283 L/d in a typical individual). When logit(risk) = 1, the value of the clearance is equal to $CL_{base} * CL_{var}$. In this example, $CL_{var} = 2$, meaning that when the full effect of immunization is reached, CL_{base} is doubled (ie, when logit(risk) = 1, $CL = 0.588$ L/d).

and compared using the chi-square or Fisher exact test, as appropriate.

Survival analysis was performed with Kaplan-Meier curves and univariate comparisons with a log-rank test. All variables with univariate tests giving a P value <0.1 were included in a multivariate Cox model. The final multivariate model was chosen after backward stepwise selection of significant variables. A P value <0.05 was considered significant. All statistical analyses were performed with R 3.0.2.

RESULTS

Study Population

The median (min–max) age at baseline among the 20 children included in the study was 13.4 (6.7–16.2) years (Table 1). Body weight was 36.9 (25.8–50.6) kg at inclusion, and the sexes were almost equally represented (55% male). Disease activity at inclusion was mild in most patients with a PCDAI of 30 (15–60). Immunomodulators (ie, azathioprine or methotrexate) were used in 85% of patients. Three patients tested positive for ADA (see details below). The median infliximab trough at steady state (from week 14) was 1.18 $\mu\text{g/mL}$ in patients who tested positive for ADA vs 3.48 $\mu\text{g/mL}$ in those who tested negative for ADA ($P < 0.001$).

Pharmacokinetic Analysis

A total of 145 infliximab concentrations were used to build the pharmacokinetic model. A 1-compartment model with time-varying clearance as described above predicted the data well. The diagnostic plots showed no obvious model misspecification or bias (Fig. 2). All the parameters were estimated with acceptable accuracy, as were their interindividual variabilities, except for the baseline risk of immunization ($baserisk_i$),

TABLE 1: Patient Characteristics (n = 20)

| | |
|---|------------------|
| Age at baseline, y | 13.4 (6.7–16.2) |
| Male sex, No. | 11 (55) |
| Weight at baseline, kg | 36.9 (25.8–50.6) |
| Baseline PCDAI | 30 (15–60) |
| Baseline CRP, $\mu\text{g/mL}$ | 22.4 (1–79.9) |
| Baseline serum albumin, g/L | 38 (32–49) |
| Immunomodulator use, No. | 17 (85.0) |
| Azathioprine | 15 (88.2) |
| Methotrexate | 2 (11.8) |
| Positivity of ADA during the study, No. | 3 (15) |
| Infliximab trough at w2, $\mu\text{g/mL}$ | 16.1 (0–28.4) |
| Infliximab trough at w6, $\mu\text{g/mL}$ | 9.2 (0.1–31.6) |
| Median infliximab trough from w14, $\mu\text{g/mL}$ | 3.2 (0.0–9.0) |

Data are expressed as median (min–max) or number (percentage).

for which the interindividual variability was poorly estimated and was therefore fixed to 0 (Table 2).

There was wide variability in the clearance-time profiles, with 4 patients presenting an increase in their baseline clearance above 1.72-fold that resulted in very low infliximab trough concentration ($<0.5 \mu\text{g/mL}$) (Figs. 3A and 4). Two of these patients tested positive for ADA. The 2 other patients also had very low infliximab concentrations but tested negative for ADA. There were also patients in whom clearance decreased significantly (Fig. 3B). In 1 of these patients, who had been previously treated with infliximab, ADAs were positive at week 2 and then were not detectable anymore. Infliximab was undetectable at week 2 in this patient and became measurable thereafter. In the remaining patients, the values of clearance variations (CL_{var_i}) were close to 1, and thus no modification of infliximab clearance during the observation period was detected by the model (Fig. 3C). Baseline clearance was negatively correlated with baseline serum albumin level ($P = 0.007$). No other covariate was identified. In particular, baseline CRP and baseline PCDAI were not associated with the parameters describing clearance modifications (CL_{var_i} or $beta_i$).

The prediction of infliximab concentrations using this time-varying clearance model was greatly improved compared with a static-clearance model, as attested by the wide decrease of the AIC ($\Delta\text{AIC} = -67.9$) and the comparison of the plots of observed vs predicted concentrations (Fig. 2A and B).

Study of the Factors Associated With Clearance Variations

No correlation between clearance variations and the value of baseline CRP or baseline PCDAI was observed, in accordance with the covariate research. However, all the patients having probable or actual immunization ($CL_{var_i} \geq 1.72$ +/- positive ADA) had detectable CRP at weeks 2, 6, and 14, with an average value over these 3 visits higher than in nonimmunized patients ($P = 0.028$) (Fig. 5). Similarly, all these patients had a poor clinical response to infliximab, with an average PCDAI value over weeks 2, 6, and 14 of 20.0 ($P = 0.0086$ vs nonimmunized patients) (Fig. 5). No link was found, however, between the rate of clearance increase ($beta_i$) and the values of CRP or PCDAI.

Concentration-Effect Relationship

The median time to first response was 17.5 days, and the median time to first relapse was 118 days from infliximab initiation. The probability of maintaining remission at 1 year was 42.7% (95% confidence interval, 25.3%–71.9%).

In univariate analysis, the probability of sustained remission increased with infliximab levels at weeks 2 ($P = 0.012$) and 6 ($P = 0.018$) and was inversely related with CL_{var_i} ($P < 0.001$).

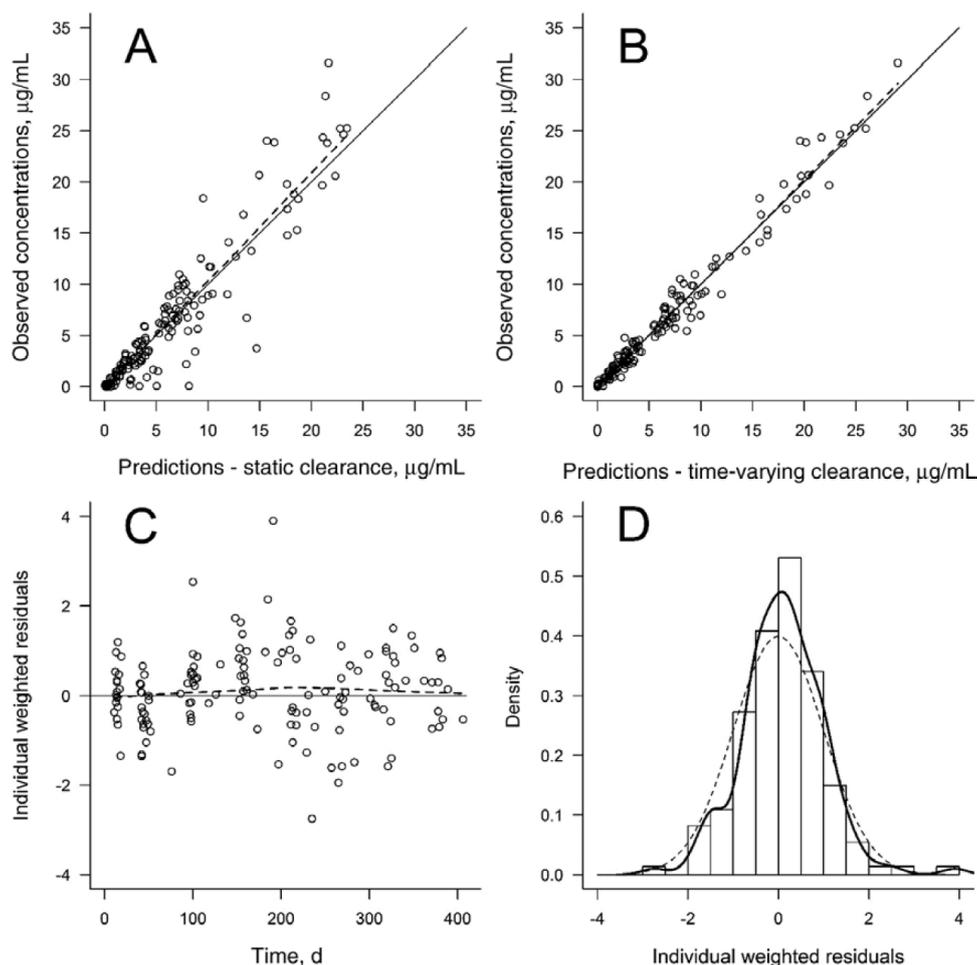


FIGURE 2. Diagnostic plots. A, Observed vs individual-predicted concentrations (static-clearance model). B, Observed vs individual-predicted concentrations (time-varying clearance model). C, Individual weighted residuals (IWR) vs time. D, Distribution of the IWR. (A) shows the predictive performance of a simple 1-compartment model with static clearance of infliximab, whereas (B) shows the predictive performance of the model with the time-varying clearance. This depicts the great improvement of predictive performances of the model with the addition of the time-varying clearance. (C and D) show the absence of predictive bias of the time-varying model, with no specific pattern over time and a symmetric Gaussian distribution of residuals.

Actual or probable immunization as defined above was also associated with poorer outcome ($P < 0.001$). Sex, age, baseline CRP, and PDAI did not influence the response; neither did immunomodulator use (Table 3). Recursive partitioning revealed that an infliximab trough concentration above 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ at week 2 or above 11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ at week 6 was associated with a higher probability of sustained remission ($P = 0.0022$ and $P = 0.026$, respectively). The mean concentration at steady state (ie, the mean of the trough concentrations calculated from week 14) was also associated with better outcome ($P = 0.0025$), and a mean value of 3.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ was predictive of sustained remission ($P < 0.001$).

Some of the variables tested at the univariate step were not independent of others. There was a link between the value of CL_{var} and proven or probable immunization, as a value of $CL_{var} > 1.72$ defines probable immunization. Similarly, trough concentrations at weeks 2 and 6 were logically correlated to

each other. There was also a link between concentrations at weeks 6, mean concentrations at steady state, and the value of CL_{var} . Only trough at week 2 and CL_{var} were not correlated, as changes in clearance had not occurred at this point. So the only independent predictors of sustained remission confirmed by the multivariate analysis were CL_{var} (hazard ratio [HR], 9.22; $P = 0.001$) and trough infliximab concentration at week 2 (HR, 0.83; $P = 0.0048$) (Table 3 and Fig. 6).

DISCUSSION

This study is the first to describe the real-time variations of infliximab pharmacokinetics and especially clearance increases associated with immunization. Furthermore, this study has focused on children, for whom data on infliximab pharmacokinetics are sparse. Our results show a wide interindividual variation in infliximab clearance within the first weeks

TABLE 2: Pharmacokinetic Parameters of the Time-Varying Clearance Model

| | Parameter Description | Value | Precision of the Estimates, RSE % |
|--------------------------|---|--------|-----------------------------------|
| Fixed effects | | | |
| V, L | Volume of distribution | 4.86 | 11 |
| $CL_{base}, L/d^{-1}$ | Baseline clearance | 0.289 | 9 |
| $\beta_{albumin}$ | Effect of albumin on clearance | -2.33 | 37 |
| baserisk | Intercept (risk of immunization) | 4.07 | 15 |
| beta | Slope (risk of immunization) | 0.0484 | 16 |
| CL_{var} | Clearance variation magnitude | 1.01 | 28 |
| Random effects | | | |
| $\omega_{V}, \%$ | BSV of the volume of distribution | 32.0 | 33 |
| $\omega_{CL}, \%$ | BSV on the baseline clearance | 37.2 | 20 |
| $\omega_{baserisk}, \%$ | BSV of the intercept (risk of immunization) | 0 | Fixed |
| $\omega_{beta}, \%$ | BSV of the slope (risk of immunization) | 62.6 | 21 |
| $\omega_{CLvar}, \%$ | BSV of the clearance variation magnitude | 67.4 | 30 |
| Residual error | | | |
| $\sigma_{add}, \mu g/mL$ | Additive error magnitude | 0.253 | 23 |
| $\sigma_{prop}, \%$ | Proportional error magnitude | 18.8 | 12 |

Abbreviations: BSV, between-subject variability; RSE, relative standard error.

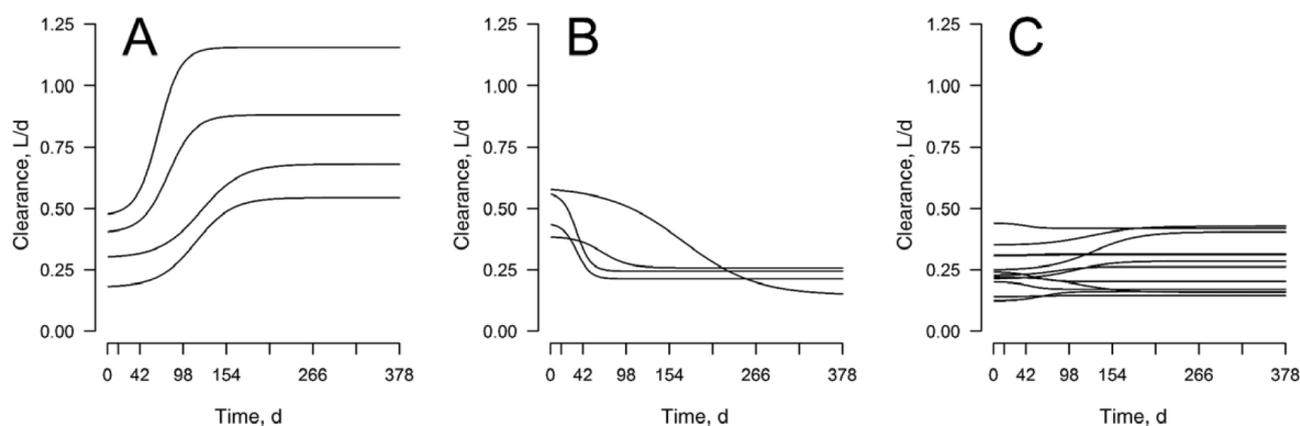


FIGURE 3. Plots of clearance-time profiles. The curves show the evolution of the clearance estimated by the pharmacokinetic model along the observation period in the 20 children of the study. Patients are displayed in 3 distinct plots. A, Patients with clearance increase >1.72 fold, defined as “probably immunized.” B, Patients with a clearance decrease $>33\%$. C, Patients with no obvious clearance change during their follow-up. Of note, the patients with a clearance increase >1.72 -fold have the highest final clearance values of the patients in the study.

of treatment, which is clinically relevant because early exposure to infliximab is associated with sustained remission at 1 year.

The present values of the pharmacokinetic parameters are in accordance with previous population pharmacokinetic studies in adults^{8,14} and children.¹⁵ A 1-compartment model best fitted the data, as expected with a data set of trough concentrations, and increasing baseline albumin was associated with decreasing baseline infliximab clearance. This is usually reported and was attributed to the fact that albumin concentration is a marker of both specific (target-mediated) and nonspecific (FcRn-related)

clearance of infliximab.^{8,15} We found no other covariate explaining the interindividual variability of the parameters, even though some of them were previously reported to influence the pharmacokinetics, such as body weight or sex for clearance.^{8,14,15} This may probably be explained by the small number of patients in our study and the consecutive lack of power.

Previous studies have already shown that the pharmacokinetics of monoclonal antibodies is time-dependent. This was reported for rituximab and obinutuzumab in B-cell malignancies^{16,17} and for nivolumab in various solid

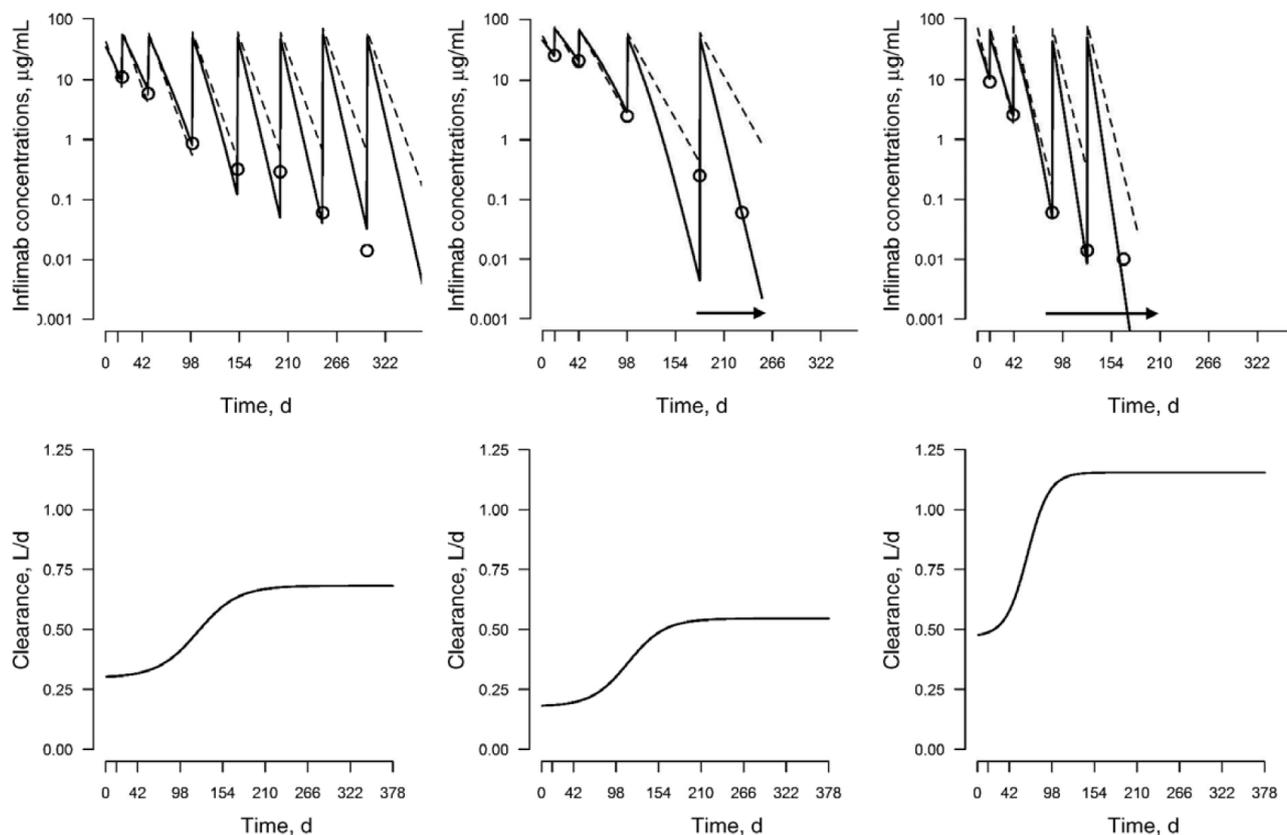


FIGURE 4. Representative individual fits. The full lines in the concentration-time profiles represent the predicted concentrations with the time-varying clearance model, and the dashed lines represent the predicted concentrations with a static-clearance model. Open circles are observed concentrations. The arrows (when present) indicate positivity of the ADA assay. Plots on the lower part of the figure show the evolution of the clearance of infliximab corresponding to the concentration-time profile above. ADAs were positive in the patients represented in the middle and on the right of the figure, for whom treatment was discontinued. ADAs were negative in the patients represented on the left side of the figure, but a large clearance increase was detected by the model.

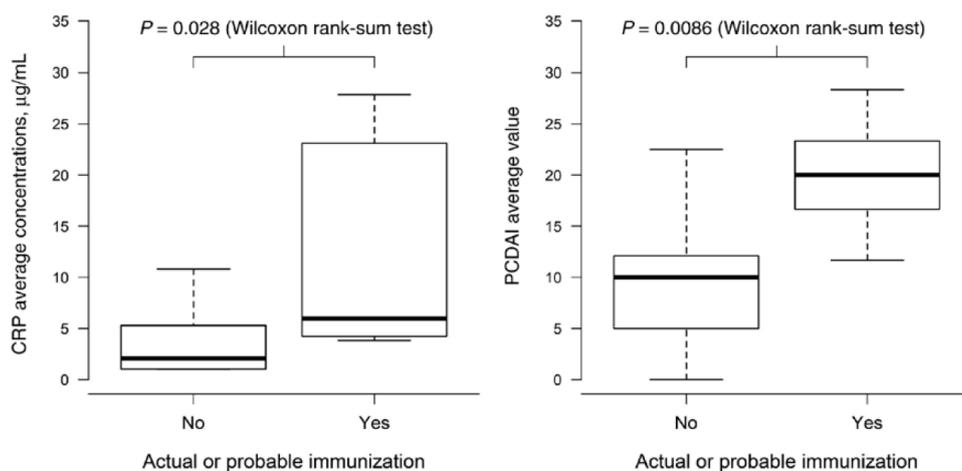


FIGURE 5. Comparison of early CRP and PCDAI in patients with actual or probable immunization with nonimmunized patients. CRP and PCDAI are expressed as the mean of the values recorded at weeks 2, 6, and 14.

tumors.¹⁸ The increase in clearance of infliximab in the presence of ADA is well known and has been reported in several clinical pharmacokinetic studies both in rheumatic diseases

and IBD,^{14, 15, 19-22} but to date it has not been described using a time-varying model. A recent report in a large cohort of adults with IBD also described the risk of immunization as

TABLE 3: Analysis of the Factors Associated With Sustained Remission at 1 Year

| Variable | Univariate | Multivariate Analysis (Cox) | |
|---|------------|-----------------------------|-------------------|
| | <i>P</i> | <i>P</i> | HR (95% CI) |
| Age | 0.13 | | |
| Male sex | 0.16 | | |
| Baseline PCDAI | 0.12 | | |
| Baseline CRP (continuous) | 0.35 | | |
| Baseline CRP ≥ 17 $\mu\text{g/mL}$ | 0.075 | | |
| Immunomodulator use | 0.99 | | |
| Estimated value of CL_{var} | 0.00059 | 0.001 | 9.22 (2.45–34.70) |
| Infliximab trough at S2 (continuous) | 0.012 | 0.0048 | 0.83 (0.74–0.95) |
| Infliximab trough at S2 ≥ 12 $\mu\text{g/mL}$ | 0.0022 | | |
| Infliximab trough at S6 (continuous) | 0.018 | | |
| Infliximab trough at S6 ≥ 11 $\mu\text{g/mL}$ | 0.026 | | |
| Mean trough at steady state (continuous) | 0.0025 | | |
| Mean trough at steady state ≥ 3.2 $\mu\text{g/mL}$ | 0.00037 | | |
| Actual or probable immunization | 0.00012 | | |

Abbreviation: CI, confidence interval.

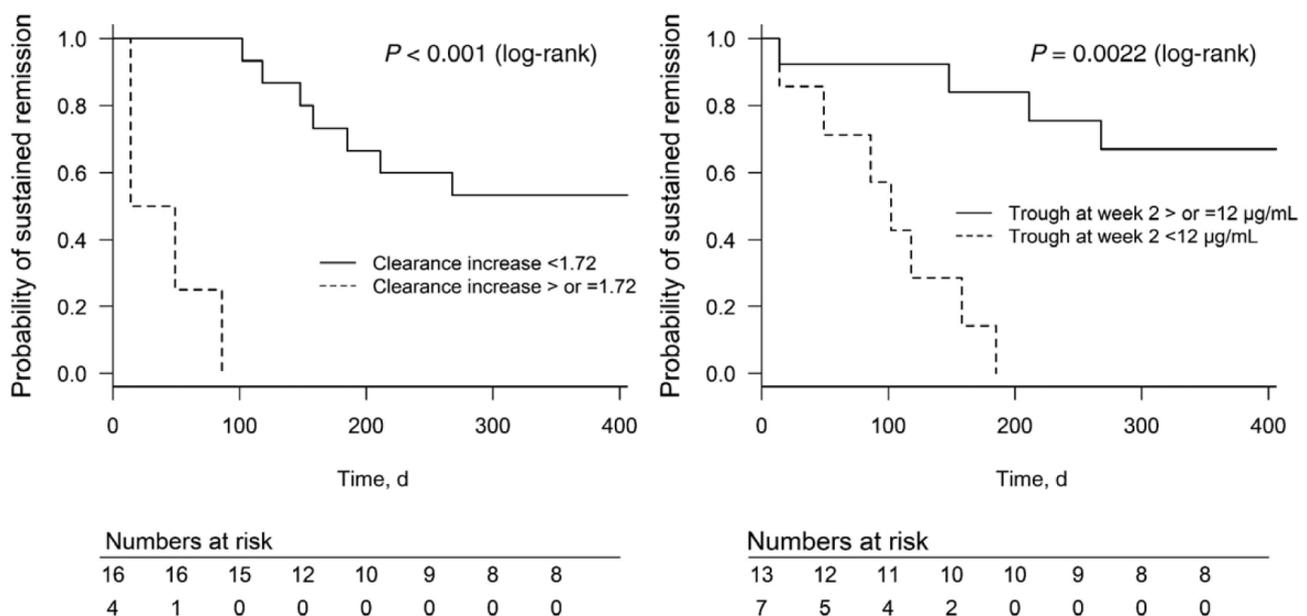


FIGURE 6. Kaplan-Meier curve for probability of sustained remission. On the left-hand side, a Kaplan-Meier curve shows a shorter time to relapse in patients with a clearance increase ≥ 1.72 (ie, $CL_{var} \geq 1.72$). On the right-hand side, it is shown that time to relapse is shorter in patients with early infliximab trough at week 2 (< 12 $\mu\text{g/mL}$).

a function of the time spent with infliximab concentrations below 3 $\mu\text{g/mL}$.⁸ In the present study, the pharmacokinetic model was clearly improved with the use of a time-varying clearance. The model allowed for identification and description of important clearance increases (greater than 1.7-fold) in 4 children that are likely to be due to immunization

to infliximab. Two of these patients tested positive for ADA and had proven immunization. The 2 remaining children tested negative for ADA, which indicates that the use of a time-varying model could be more sensitive to the detection of immunization to infliximab. Further explorations are needed to support this hypothesis.

Another possible cause of increased clearance of infliximab is the increase of the antigenic mass. It was shown previously that the elimination of anti-TNF α antibodies was increased in a case of severe inflammation, because of an increase in the amount of TNF α available for binding that thus increased specific (target-mediated) elimination.^{23–26} However, clearance variations due to the antigenic mass are more likely to occur at the beginning of the treatment because of high amounts of TNF α that will progressively decrease thereafter. Thus, a decrease in the elimination rate of infliximab can be observed in the early weeks of treatment in certain patients. This is probably what was observed in the present study, as some of the children had very early decreases of infliximab clearance. Conversely, high increases in clearance occurring later (from week 14) are more likely related to ADA production. Notably, the patients with clearance increases >1.72 , whom we considered “probably immunized,” had the highest clearance values of all the patients of the study. This further supports the hypothesis that these clearance increases are likely to describe the effects of ADA. Conversely, patients with a clearance at steady state of <0.5 L/d were not likely to have low trough concentrations.

A limitation of our study is that the ADA assay we used was drug-sensitive, meaning that ADAs were not detectable in presence of infliximab due to analytic interferences. Because our model was built independently of ADA measurements, the use of a drug-sensitive assay did not impact its performance in describing concentrations and clearance variations. However, the use of a drug-tolerant assay probably would have allowed detection of more samples positive for ADAs, which may have modified the evaluation of the performance of our model in detecting immunizations. Therefore, our model should be tested in other cohorts, with ADA measured using a drug-tolerant assay.

No predictive factor of immunization (proven by ADA detection or suspected because of clearance increase >1.72 -fold) was identified in the variables we tested, likely because of a lack of power. However, children who did not respond optimally in the early induction phase (PCDAI >10 and/or detectable CRP at weeks 2, 6, and 14) had lower infliximab concentrations and seemed to be more susceptible to developing ADA. This is supported by the results of several studies that showed that underexposure to infliximab is associated with a higher probability of developing ADA.^{8, 21, 27} This is also consistent with our results, which show that early concentrations of infliximab are linked to the risk of relapse, as are the mean trough concentrations at steady state. This has been reported in several other studies in adults, but this is the first report in children. Interestingly, the value of trough concentration at steady state that we found to be associated with the maintenance of the clinical response (ie, 3.2 $\mu\text{g/mL}$) is very close to that reported recently by Brandse and colleagues, who showed that the cumulative time spent below 3 $\mu\text{g/mL}$ was linked to the risk of immunization. We also found that, as expected, the magnitude of the clearance increase (ie, CL_{var}) was predictive of

remission, with high increase in clearance leading to low infliximab concentrations associated with early relapse and indicating probable immunization. This result is particularly interesting because it raises the hypothesis that the efficacy of drug monitoring could be improved by the estimation of the clearance of the patients from the values of the measured concentrations. It would allow detection of unexpected increases in the rate of elimination of infliximab that are probably linked to immunization and associated with poorer outcomes. Such a hypothesis must, however, be validated in a larger cohort of patients, and we wish now to strengthen our results in a prospective study to assess the factors predictive of clearance variations using this novel pharmacokinetic approach, and to determine whether quantification of clearance variations could be predictive of immunization and clinical response.

CONCLUSION

The results of this pilot study show that the pharmacokinetics of infliximab in children with CD varies with time. Early variations of clearance result in significant changes in drug concentrations and ultimately influence clinical response to infliximab. The present model allowed description of these changes in infliximab clearance. No definitive conclusions can be drawn from such a low number of patients, but the results of this study raise the hypothesis that the monitoring of clearance variations could be of higher interest than monitoring of trough drug concentration alone. Being able to detect increases in infliximab clearance, this model could help to detect early immunization against infliximab and therefore help in the dosing optimization strategy of infliximab in children. Moreover, the fact that infliximab pharmacokinetics is highly variable in the early phase of treatment should be kept in mind, and proactive—rather than reactive—drug monitoring seems warranted to optimize dosing.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partly supported by the French Higher Education and Research Ministry under the program ‘Investissements d’avenir’ Grant Agreement: LabEx MABImprove ANR-10-LABX-53-01.

The authors wish to sincerely thank all physicians and nurses who were involved in patients’ care, and the patients themselves. The authors also wish to thank Prof. H. Watier for antidrug antibodies assays.

REFERENCES

1. Sofia MA, Rubin DT. The impact of therapeutic antibodies on the management of digestive diseases: history, current practice, and future directions. *Dig Dis Sci*. 2017;62:833–842.
2. Nanda KS, Cheifetz AS, Moss AC. Impact of antibodies to infliximab on clinical outcomes and serum infliximab levels in patients with inflammatory bowel disease (IBD): a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:40–47; quiz 48.
3. Baert F, Noman M, Vermeire S, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn’s disease. *N Engl J Med*. 2003;348:601–608.
4. O’Meara S, Nanda KS, Moss AC. Antibodies to infliximab and risk of infusion reactions in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20:1–6.

5. Hofmekler T, Bertha M, McCracken C, et al. Infliximab optimization based on therapeutic drug monitoring in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64:580–585.
6. Baert F, Drobne D, Gils A, et al. Early trough levels and antibodies to infliximab predict safety and success of reinitiation of infliximab therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12:1474–1481.e2; quiz e91.
7. Qiu Y, Mao R, Chen BL, et al. Effects of combination therapy with immunomodulators on trough levels and antibodies against tumor necrosis factor antagonists in patients with inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017;15:1359–1372.e6.
8. Brandse JF, Mould D, Smeekes O, et al. A real-life population pharmacokinetic study reveals factors associated with clearance and immunogenicity of infliximab in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23:650–660.
9. Van Assche G, Magdelaine-Beuzelin C, D'Haens G, et al. Withdrawal of immunosuppression in Crohn's disease treated with scheduled infliximab maintenance: a randomized trial. *Gastroenterology.* 2008;134:1861–1868.
10. Vande Castele N, Ferrante M, Van Assche G, et al. Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2015;148:1320–9.e3.
11. Marini JC, Sendek J, Cornillie F, et al. Comparisons of serum infliximab and antibodies-to-infliximab tests used in inflammatory bowel disease clinical trials of Remicade®. *Aaps J.* 2017;19:161–171.
12. Ternant D, Mulleman D, Degenne D, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of infliximab. *Ther Drug Monit.* 2006;28:169–174.
13. Magdelaine-Beuzelin C, Vermeire S, Goodall M, et al. IgG1 heavy chain-coding gene polymorphism (G1M allotypes) and development of antibodies-to-infliximab. *Pharmacogenet Genomics.* 2009;19:383–387.
14. Buurman DJ, Maurer JM, Keizer RJ, et al. Population pharmacokinetics of infliximab in patients with inflammatory bowel disease: potential implications for dosing in clinical practice. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42:529–539.
15. Fasanmade AA, Adedokun OJ, Blank M, et al. Pharmacokinetic properties of infliximab in children and adults with Crohn's disease: a retrospective analysis of data from 2 phase III clinical trials. *Clin Ther.* 2011;33:946–964.
16. Li J, Zhi J, Wenger M, et al. Population pharmacokinetics of rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Pharmacol.* 2012;52:1918–1926.
17. Gibiansky E, Gibiansky L, Carlile DJ, et al. Population pharmacokinetics of obinutuzumab (GA101) in chronic lymphocytic leukemia (CLL) and non-Hodgkin's lymphoma and exposure-response in CLL. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2014;3:e144.
18. Bajaj G, Wang X, Agrawal S, et al. Model-based population pharmacokinetic analysis of nivolumab in patients with solid tumors. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2017;6:58–66.
19. Fasanmade AA, Adedokun OJ, Ford J, et al. Population pharmacokinetic analysis of infliximab in patients with ulcerative colitis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009;65:1211–1228.
20. Brandse JF, Mathôt RA, van der Kleij D, et al. Pharmacokinetic features and presence of antidrug antibodies associate with response to infliximab induction therapy in patients with moderate to severe ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2016;14:251–258.e1.
21. Ducourau E, Mulleman D, Paintaud G, et al. Antibodies toward infliximab are associated with low infliximab concentration at treatment initiation and poor infliximab maintenance in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:R105.
22. Ben-Horin S, Yavzori M, Katz L, et al. The immunogenic part of infliximab is the F(ab')₂, but measuring antibodies to the intact infliximab molecule is more clinically useful. *Gut.* 2011;60:41–48.
23. Passot C, Mulleman D, Bejan-Angoulvant T, et al. The underlying inflammatory chronic disease influences infliximab pharmacokinetics. *Mabs.* 2016;8:1407–1416.
24. Ternant D, Ducourau E, Fuzibet P, et al. Pharmacokinetics and concentration-effect relationship of adalimumab in rheumatoid arthritis. *Br J Clin Pharmacol.* 2015;79:286–297.
25. Ternant D, Karmiris K, Vermeire S, et al. Pharmacokinetics of adalimumab in Crohn's disease. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015;71:1155–1157.
26. Vande Castele N, Mould DR, Coarse J, et al. Accounting for pharmacokinetic variability of certolizumab pegol in patients with Crohn's disease. *Clin Pharmacokinet.* 2017;56:1513–1523.
27. Bendtzen K, Geborek P, Svenson M, et al. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor alpha inhibitor infliximab. *Arthritis Rheum.* 2006;54:3782–3789.

4.2.2. Commentaires sur l'article 1.

Comme cela a été présenté dans la revue de la littérature (voir 4.1), la plupart des modèles pharmacocinétiques publiés à ce jour décrivent un effet « on-off » de l'influence des ADA, sans tenir compte ni de leur titre, ni du moment de l'immunisation, ni de la variabilité inter-individuelle de leur effet sur la clairance du médicament. Notre étude présente ainsi l'un des seuls modèles empiriques développés pour décrire les variations de clairance de l'infliximab liées à la présence d'ADA en clinique, avec celui publié par Brandse et collègues sur l'infliximab (Brandse 2017).

Dans leur étude, Brandse et collègues proposent de modéliser le risque d'immunisation comme une fonction du temps passé sous un seuil immunogène, estimé à 3 µg/mL. La probabilité cumulée d'immunisation augmente donc avec le temps passé sous ce seuil immunogène. Dans notre étude, le principe de base est similaire, c'est-à-dire que le risque d'immunisation augmente linéairement avec le temps ; la variabilité du risque d'immunisation entre les individus est quantifiée par la variabilité inter-individuelle du risque à la *baseline* et de la pente de croissance du risque avec le temps.

Notre étude présente quelques limites. La première est le faible effectif de patients, qui a résulté en des difficultés d'estimation de la variabilité inter-individuelle de certains paramètres pharmacocinétiques, notamment du risque d'immunisation à la *baseline*. Il est pourtant probable que ce risque ne soit pas identique chez tous les patients. L'absence de variabilité sur ce paramètre n'a pas permis d'en identifier les covariables potentielles. Aucune covariable n'a été identifiée concernant la pente de croissance du risque avec le temps. Un effectif de plus grande taille serait intéressant pour étudier les covariables de ces paramètres et ainsi déduire des facteurs associés à un risque accru d'immunisation.

Une seconde limite de l'étude est l'utilisation d'un test « *drug-sensitive* » pour la détection des ADA, qui a vraisemblablement résulté en une sous-estimation du pourcentage réel de patients immunisés. Cette faiblesse était connue et c'est justement le nombre élevé de faux négatifs qui a incité à la construction d'un modèle capable de décrire les augmentations de clairance dues aux immunisations en s'affranchissant des recherches d'ADA. Cependant, la conséquence est qu'il n'a pas été possible de prouver que les augmentations de clairance

estimées par le modèle étaient réellement liées à des immunisations. Néanmoins, ces augmentations de clairance étaient bien présentes et entraînaient des sous-expositions et un risque accru d'échappement secondaire.

De manière intéressante, on remarquera que le modèle avait été initialement développé pour décrire des immunisations mais qu'il décrit aussi chez certains patients une réduction importante de clairance en début de traitement. Deux explications principales sont possibles. La première est une réduction progressive de l'élimination médiée par la cible, qui peut être très importante en début de traitement (effet « d'éponge antigénique »). Fasanmade et collègues, avec leur modèle inter-occasion estimant une clairance différente en période d'induction et en entretien, avaient probablement décrit le même phénomène (Fasanmade 2011). Une seconde explication possible à la décroissance rapide de la clairance en début de traitement est la présence d'ADA pré-existants chez certains patients qui avaient déjà reçu de l'infliximab, et dont l'immunisation aurait été « surmontée ».

En définitive, ce modèle avait l'avantage de décrire pour la première fois des variations de clairance intra-individuelles, quel qu'en soit le sens (au contraire du modèle de Brandse et collègues qui ne tenait compte que des immunisations), en s'affranchissant de toute mesure extérieure (comme la recherche d'ADA), et de relier ces variations de clairance à la probabilité d'échappement secondaire au cours de la première année de traitement. Son principal défaut est probablement son caractère purement descriptif, ne permettant pas de déterminer des facteurs prédictifs de ces variations de clairance. Pourtant, il pose pour la première fois la question de l'intérêt d'un monitoring des traitements qui ne serait plus basé uniquement sur la mesure des concentrations résiduelles mais également sur l'évaluation de la clairance et de ses évolutions, comme un marqueur de l'évolution de l'activité de la maladie et donc de l'efficacité du traitement, et comme un marqueur de l'immunogénicité.

4.3. Etude 2. Facteurs prédictifs de rechute après désescalade du traitement par infliximab dans les MICI et intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique

Article publié dans *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*

DOI: 10.1111/apt.15046

4.3.1. Résumé

Introduction : Il existe peu de données disponibles concernant l'intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique (STP) de l'infliximab chez les patients bénéficiant d'une désescalade thérapeutique. Cette étude avait pour but de définir le taux de rechute après la désescalade et d'en étudier les facteurs prédictifs, dont le recours au STP chez des patients atteints de Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) en rémission.

Méthodes : L'étude a inclus tous les patients en rémission clinique et biologique suivis entre 2012 et 2017 dans notre centre et ayant bénéficié d'une désescalade de leur traitement par infliximab. Les patients ont été répartis en 2 groupes : ceux pour lesquels une mesure de concentration résiduelle d'infliximab avait été réalisée préalablement à la désescalade étaient considérés comme bénéficiant d'une désescalade guidée par le STP ; les autres ont été inclus dans un groupe sans recours au STP. Les données recueillies prospectivement ont été utilisées dans une analyse longitudinale des facteurs prédictifs de rechute après désescalade.

Résultats : au total, 146 désescalades ont été identifiées chez 96 patients (68% de maladie de Crohn, 32% de rectocolite hémorragique [RCH]). Cinquante-quatre désescalades (37%) ont été réalisées sans support du STP, et 92 (63%) ont été réalisées sur la base de la combinaison de la rémission clinico-biologique et d'une concentration résiduelle pré-désescalade > 7µg/ml. La probabilité cumulée de rechute post-désescalade était de 16% à 1 an et 47% à 2 ans. La RCH était associée à un risque de rechute plus élevé (HR = 3.2, P = 0.005). Au contraire, la combothérapie à l'instauration de l'infliximab (HR = 0.39, P = 0.0110) et la sélection des patients sur la base du STP (HR = 0.45, P = 0.024) étaient associés à un moindre risque de rechute post-désescalade. Les concentrations pré- et post-désescalade étaient globalement bien corrélées ; une réduction de la concentration résiduelle de moitié était observée suite à un allongement de l'intervalle d'injection de 2 semaines.

Conclusion : l'utilisation du STP pour évaluer la faisabilité de la désescalade semble être un prérequis pour réduire la probabilité de rechute post-désescalade.

Predictors of relapse following infliximab de-escalation in patients with inflammatory bowel disease: the value of a strategy based on therapeutic drug monitoring

Camille Lucidarme¹ | Antoine Petitcollin²  | Charlène Brochard³  |
Laurent Siproudhis³ | Marie Dewitte¹ | Amandine Landemaine¹ | Eric Bellissant² |
Guillaume Bouguen³ 

¹CHU Rennes, Univ Rennes, Rennes, France

²CHU Rennes, Univ Rennes, INSERM, Rennes, France

³CHU Rennes, Univ Rennes, INSERM, Institut NUMECAN (Nutrition Metabolisms and Cancer), Rennes, France

Correspondence

Guillaume Bouguen, Service des Maladies de l'Appareil Digestif, Rennes cedex, France.
Email: guillaume.bouguen@chu-rennes.fr

Summary

Background: There are limited data concerning infliximab drug monitoring during de-escalation of the treatment of inflammatory bowel disease (IBD).

Aim: To define the rate and the predictors of relapse following infliximab de-escalation in IBD patients in remission.

Methods: All IBD patients at a single referral centre in clinical and biological remission and in whom the dose of infliximab had been de-escalated were included. Patients in remission with a high trough level of infliximab (>7 mg/L) were considered to be trough level-based de-escalation patients. The data were retrieved from a prospective IBD database. Actuarial analysis was performed for statistical purposes.

Results: A total of 146 de-escalations were performed in 96 patients (Crohn's disease/ulcerative colitis: 68%/32%); 54 (37%) were based on clinical remission only, and 92 (63%) were based on clinical remission associated with a trough level above 7 mg/L. The cumulative probabilities of relapse following infliximab de-escalation were 16% and 47% at 1 and 2 years, respectively. Ulcerative colitis was associated with an increased risk of relapse (HR = 3.2, $P = 0.005$). Conversely, combination therapy at infliximab initiation (HR = 0.39, $P = 0.0110$) and trough level-based de-escalation were associated with decreased risk of relapse (HR = 0.45, $P = 0.024$). Trough levels before and after de-escalation were well correlated; a decrease by half was observed following a 2-week interval increase or a half-dose decrease.

Conclusion: The use of trough levels to assess the feasibility of dose de-escalation seems to be a prerequisite for decreasing the risk of relapse.

1 | INTRODUCTION

Ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) are chronic inflammatory bowel diseases (IBD) that result from immune dysregulation. Arguably, the development of tumour necrosis factor (TNF) antagonists revolutionised the management of immune-mediated chronic diseases over the past two decades.^{1,2}

While the efficacy of TNF antagonists has been widely observed, a number of concerns remain regarding their long-term use, such as treatment cost,³ risk of opportunistic infections, cancer, and lymphoma.^{4,5} Due to these concerns, the strategy of drug discontinuation has been discussed but is linked to a high rate of relapse related to the chronic nature of IBD.^{6,7} This increased risk of relapse often leads physicians to treat patients for extended periods of time, regardless of the risk of treatment, according to a favourable benefit-risk ratio. An alternative to treatment discontinuation might be dose de-escalation to decrease drug exposure, related risk, and cost-related treatment while maintaining clinical remission.

Drug monitoring is of growing interest to tailor anti-TNF treatment in light of the cumulative evidence of a strong association between trough level and treatment efficacy.^{8–11} Infliximab concentrations between 3 and 7 mg/L were reported as optimal cut-off values for patients with IBD in remission on a maintenance regimen.¹² This finding holds the possibility that therapeutic drug monitoring may be used to help clinical decision-making.^{13,14} Only one prospective study has tested dose de-escalation with infliximab but was underpowered,¹⁵ and treatment de-escalation remains a case-by-case decision.¹⁶

This study aimed to assess the rate of relapse following infliximab de-escalation in IBD patients in remission and predictors of relapse, including infliximab trough level, prior to de-escalation.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study population

From 2007, a tertiary referral centre database was set up to prospectively record data from all clinics with patients with an established diagnosis of IBD, including clinics administering infliximab infusion. The following key datapoints were recorded: sex, age at diagnosis, height, weight, smoking habits, luminal CD and UC phenotype according to the Montreal classification at diagnosis,¹⁷ treatments (including steroids, 5-ASA, immunosuppressants, TNF antagonists), and surgery. At each visit, CD activity was assessed using the Harvey-Bradshaw index,¹⁸ and UC activity was assessed according to the partial Mayo score.¹⁹ The date of infusion, the dose of infliximab received by the patient (mg/kg), the interval between infusions (weeks), the clinical activity score (Harvey-Bradshaw index for CD, partial Mayo score for UC), the haemogram and C-reactive protein (CRP), and the trough level of infliximab, when available, were recorded. Infliximab concentrations were determined using a fully validated enzyme-linked immunosorbent assay method.²⁰

For the current study, all visits of adult patients treated with infliximab for at least 1 year from 2012 to 2017 were extracted from the database. The extracted data included all patients who had at least an increase in interval infusion and/or a dose reduction in infliximab, regardless of the infliximab maintenance regimen. Only patients in clinical and biological IBD remission were included. Clinical remission was defined by a Harvey-Bradshaw index <4 for CD and a partial Mayo score <2 for UC. Only patients with a CRP below 5 mg/L were included. Patients with a mild increase in CRP were only included in case of associate evidence of mucosal healing defined by a faecal calprotectin below 150 µg/g and/or endoscopic evidence of mucosal healing (no ulceration for CD or Mayo endoscopic subscore ≤1) within 2 months.

Patients were willing to be registered in a prospective database for research use, and the study was approved by the "Commission Nationale Informatique et Liberté" (CNIL No. 1412467).

2.2 | Definitions

The therapeutic de-escalations were divided into two groups. Clinical-based de-escalation was defined as follows: the de-escalation decision was based on the only clinical and biological remission of the patient because of the trough level was unavailable or the trough level was within the normal range. Trough level-based de-escalation was defined as follows: the de-escalation decision was based on clinical and biological remission, and a trough level above 7 mg/L was measured within at least 6 months prior to de-escalation with a stable dose of infliximab. A trough level above 7 was considered because infliximab concentrations between 3 and 7 mg/L were reported to be optimal cut-off values for patients with IBD in remission on a maintenance regimen.¹²

The patients were able to experience several successive dose de-escalations, and the dose de-escalation of the patients was considered for further analysis.

The primary evaluation criterion was relapse defined by an increase in the clinical indices (at least an increase of two points for the partial Mayo score with at least one point for the bleeding score and at least two points for the Harvey-Bradshaw index) and/or a significant increase in the CRP level and/or onset of mucosal inflammation for patients with evidence of mucosal healing at infliximab de-escalation, implying the necessity of infliximab optimisation or a biological switch/swap.

2.3 | Statistics

Quantitative variables were described as medians and percentiles (interquartile range [IQR], 25% and 75%). Categorical variables were presented as counts and percentages of the cohort. Survival analysis was used to determine the probability of relapse following drug de-escalation. The cumulative probabilities of survival without this event were estimated using the Kaplan-Meier method. The time to relapse was defined as the delay between the date of anti-TNFα de-escalation and the date of relapse or the date of the last clinical visit or the date of new de-escalation. To identify predictors of relapse, univariate analyses using the log-rank test were performed. When considering continuous

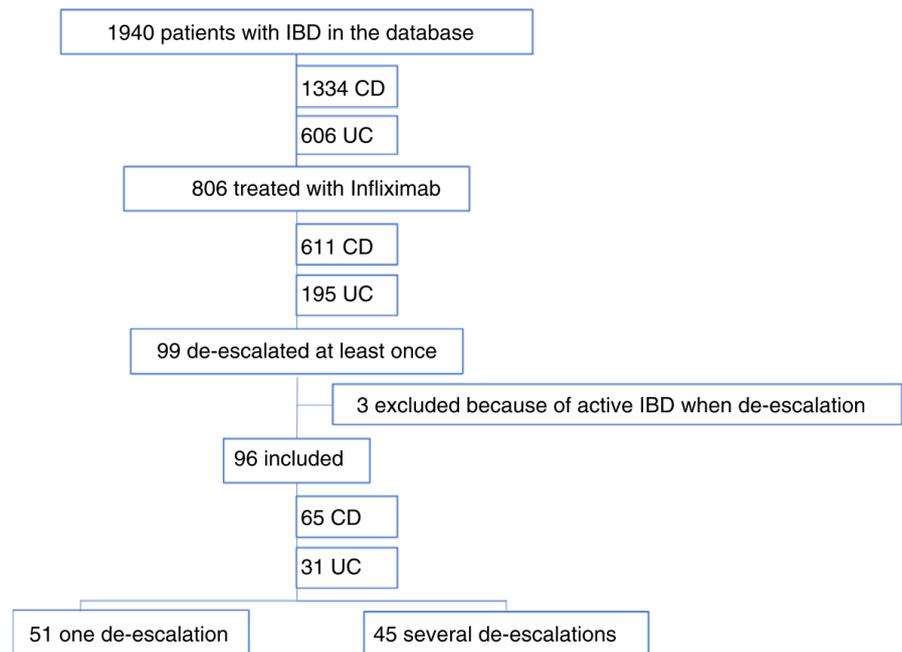


FIGURE 1 Flow chart (CD, Crohn's disease; IBD, inflammatory bowel disease; UC, ulcerative colitis)

variables, a Cox proportional model was used. Cut-off values were determined using receiver operating characteristic (ROC) analysis to identify the optimal cut-off value by using outcome as a classification variable. For multivariable analysis, variables associated by univariate analysis with $P < 0.2$ were integrated into a Cox proportional hazards regression model, and the results are shown as hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs). Statistical analyses were performed using JMP Pro 11.2 software (SAS Institute Inc, Cary, NC).

3 | RESULTS

3.1 | Study population

A total of 1940 IBD patients were enrolled in the database: 1334 (69%) CD patients and 606 (31%) UC patients. Infliximab was used in 806 (41%) patients. Among the infliximab users, 99 (12%) patients experienced at least one de-escalation. Only three of the patients were not in clinical and biological remission. Finally, 96 patients were included in the current study (Figure 1). There were 57 (59%) males and 39 (41%) females. Regarding the 65 (68%) patients with CD, 43 (66%) were B1 according to the Montreal classification, 27 (41%) previously underwent surgery, and 22 (33%) had perianal CD. Of the 31 (32%) patients with UC, 17 (54%) had pancolitis. The median duration of IBD and the median duration of anti-TNF treatment before the first de-escalation were 10 years and 3 years respectively. The baseline characteristics are presented in Table 1.

3.2 | Infliximab de-escalation

A total of 146 de-escalations were considered among the 96 patients (Figure 1). The clinical and biological characteristics of the patients at the time of de-escalation are presented in Table 2. The

decision for de-escalation was clinically based on 54 (37%) de-escalations and trough level-based for the 92 (63%) others. Only six patients in the clinical-based de-escalation group had available infliximab trough levels with a median level of 5.2 mg/L [4.3-6.4].

A prolongation of the infusion interval was performed for 112 (77%) de-escalations. Most de-escalations were a 2-week increase in the interval between infusions (90 (80%) of the 112 patients). A dose reduction in infliximab was performed for 32 (22%) de-escalations (mainly from 10 to 5 mg/kg). The de-escalation details are presented in Table 2.

3.3 | Relapse

Among the 146 de-escalations, 36 (25%) patients subsequently experienced relapse: 20 (37%) in the clinical-based de-escalation group, and 16 (17%) in the trough level-based de-escalation group ($P = 0.0078$). The median time of relapse was 52 weeks [37-66]. The cumulative probabilities of relapse following de-escalation were 4.2%, 15.5%, and 47.8% at 26 weeks, 52 weeks, and 104 weeks respectively (Figure 2).

At the time of relapse, trough levels after de-escalation were only available for 16 of the 36 relapses. The 16 patients who relapsed had detectable trough levels that precluded antidrug antibody measurements.

According to univariate analysis, the type of IBD and the combination therapy at infliximab initiation were associated with risk of relapse. UC patients had an increased risk of relapse compared with patients with CD, and conversely, combination therapy at infliximab initiation decreased the risk of relapse. The continuation of immunosuppressants at de-escalation was not associated with the risk of relapse. Within the trough level-based de-escalation group, the median trough level after de-escalation was 3.9 mg/L [2.5-6.4] among the patients who relapsed and 5.95 mg/L [2.5-6.4]

TABLE 1 Patient characteristics at the time of anti-TNF de-escalation

| | N = 96 |
|---|------------------------|
| Sex (Males/Females), n (%) | 57 (59)/39 (40) |
| Age, median [IQR] | 36 [29-46] |
| BMI, median [IQR] | 22.5 [20.1-25.9] |
| Smoking (Smokers/Ex-smokers/Non-smokers), n (%) | 17 (17)/20 (21)/59(61) |
| Duration of IBD before first de-escalation (y), median [IQR] | 9 [4.3-15.1] |
| Type of IBD (CD/UC), n (%) | 65 (68)/31 (32) |
| Prior treatments | |
| Previous bowel surgery, n (%) | 27 (28) |
| Previous treatment by mesalazine, n (%) | 45 (47) |
| Previous treatment by IS (azathioprine or methotrexate), n (%) | 60 (62) |
| Previous treatment by adalimumab, n (%) | 19 (20) |
| Combination therapy at infliximab initiation, n (%) | 63 (66) |
| Duration of anti-TNF before first de-escalation (y), median [IQR] | 2.6 [1.6-6.1] |
| IBD phenotype | |
| A1 <16 y, n (%) | 16 (17) |
| A2 17 y 40 y, n (%) | 70 (73) |
| A3>40 y, n (%) | 10 (10) |
| Crohn's disease characteristics at the time of de-escalation | |
| B1 inflammatory, n (%) | 48 (74) |
| B2 stricturing, n (%) | 11 (17) |
| B3 penetrating, n (%) | 6 (9) |
| Perianal disease, n (%) | 22 (33) |
| L1 ileal, n (%) | 11 (17) |
| L2 colonic, n (%) | 17 (26) |
| L3 ileocolonic, n (%) | 37 (57) |
| L4 isolated upper disease, n (%) | 11 (7) |
| Ulcerative colitis characteristics at the time of de-escalation | |
| E1 ulcerative proctitis, n (%) | 5 (16) |
| E2 left side UC, n (%) | 9 (29) |
| E3 extensive UC, n (%) | 17 (55) |

BMI, body mass index; CD, Crohn's disease; IBD, inflammatory bowel disease; IQR, interquartile range; IS, immunosuppressant; TNF, tumour necrosis factor; UC, ulcerative colitis.

among the other patients ($P = 0.04$). Overall, a level of infliximab above 3 mg/L following infliximab de-escalation was associated with less relapse but was not included in the multivariate analysis due to missing data.

According to multivariate analysis, relapse frequently occurred in UC patients ($HR = 3.2 [1.4-7.4]$, $P = 0.005$) but was uncommon when infliximab was introduced with a concomitant

TABLE 2 De-escalation scheme and patient characteristics at the time of de-escalation

| Type of de-escalation (N = 146) | |
|--|------------------|
| Decrease infliximab dose, n (%) | 32 (22) |
| 10→5 mg/kg | 30 (94) |
| 10→7.5 mg/kg | 2 (6) |
| Increase infusion interval, n (%) | 112 (77) |
| 1 wk | 17 (15) |
| 2 wk | 90 (80) |
| 4 wk | 5 (5) |
| Both dose and interval adjustment, n (%) | 2 (1) |
| Biology at the time of infliximab de-escalation | |
| Haemoglobin (g/dL), median [IQR] | 13.8 [13.6-14.1] |
| PNN (UI/mm ³), median [IQR] | 3365 [3220-3710] |
| Lymphocytes (UI/mm ³), median [IQR] | 2438 [2613-2262] |
| CRP (mg/L), median [IQR] | 2.4 [2.0-2.8] |
| TLI-based de-escalation group only (N = 92) | |
| Trough (mg/L) before de-escalation, median [IQR] | 13.4 [10.5-19.2] |
| Trough (mg/L) after de-escalation, median [IQR] | 5.6 [4.4-9.1] |

CD, Crohn's disease; CRP, C-Reactive protein; HBI, Harvey-Bradshaw index; IQR, interquartile range; PNN, polynuclear neutrophil; TLI, trough level of infliximab; TNF, tumour necrosis factor; UC, ulcerative colitis.

immunosuppressant ($HR = 0.41$ IC95% (0.21; 0.81), $P = 0.011$). Trough level-based de-escalation decreased the risk of relapse ($HR = 0.45 [0.22; 0.90]$, $P = 0.024$). All of the results are presented in Table 3 and Figure 2.

The two main modes of de-escalation, for example, a decreased dose from 10 to 5 mg/kg regardless of the interval between injections and an increase in the interval by 2 weeks, regardless of the dose trough level before and after de-escalation, were available for 69 cases. Trough level before and after de-escalation was well correlated (Spearman correlation $\rho = 0.49$, $P < 0.0001$ – trough level post-de-escalation = $-0.07 + 0.47^*$ trough level pre-de-escalation) (Figure 3). Additionally, the trough level after de-escalation was approximately half the trough level before de-escalation. The adjustment curve was broadly similar when separately considering patients with dose de-escalation from 10 to 5 without a change in the infusion interval and patients with an increased interval by 2 weeks without a change in the dose of infusion with a regression coefficient of 0.46 and 0.54 respectively.

4 | DISCUSSION

The risk of relapse related to secondary loss of response is high for IBD patients treated with infliximab on a maintenance regimen and could be even higher in cases of treatment de-escalation. Up to 40% of patients who are initially responsive to anti-TNF therapy will lose responsiveness during follow-up, with an annual risk for loss of

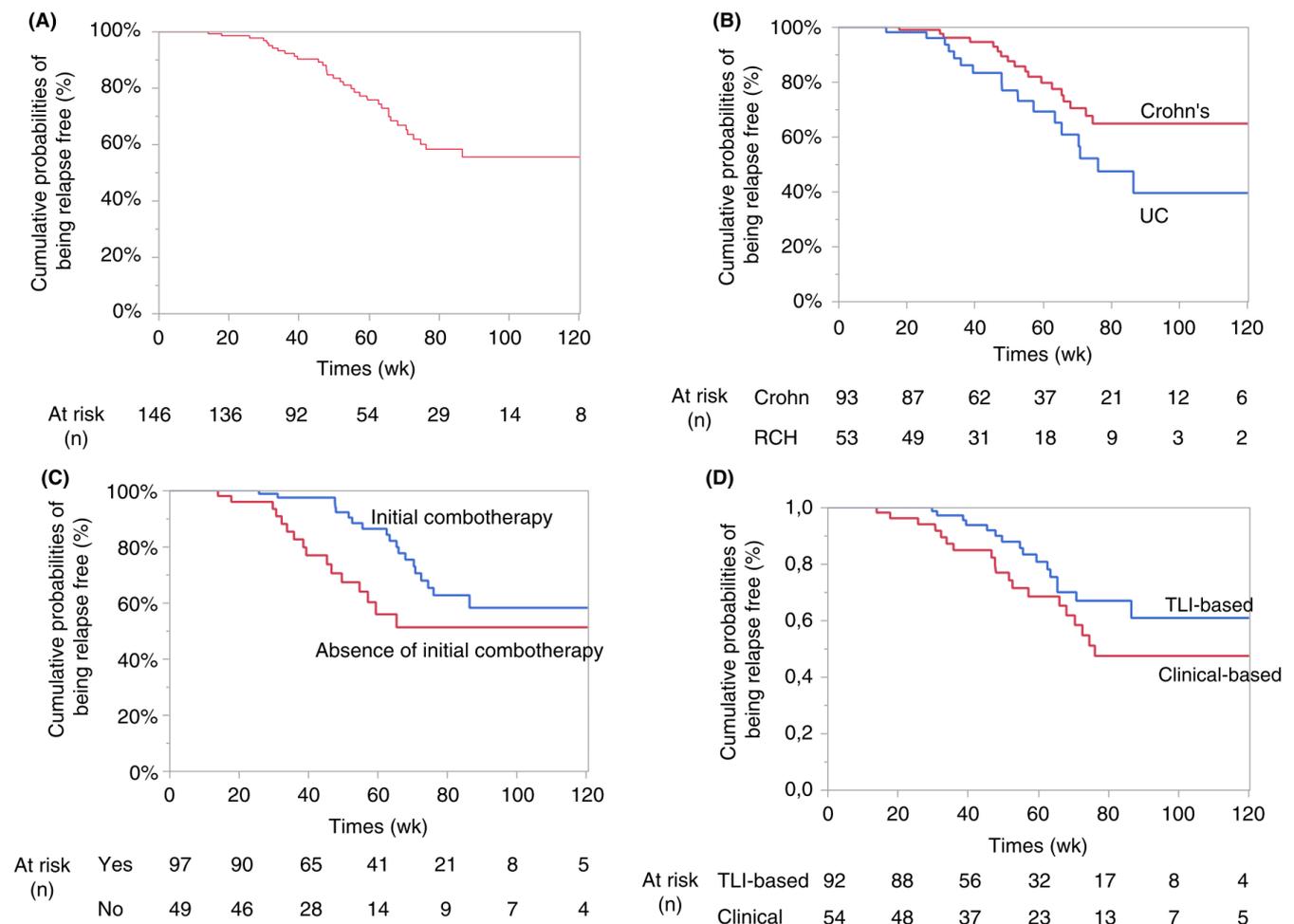


FIGURE 2 Cumulative probability of being relapse-free following infliximab de-escalation (A) and factors associated by multivariable analysis with the risk of relapse following infliximab de-escalation: type of disease (B), combination therapy at infliximab initiation (C), TLI-based de-escalation (D) (TLI, trough level of infliximab; UC, ulcerative colitis)

responsiveness of 13% per patient-year.^{21–23} The cumulative rates of relapses in the current study were 16% and 47% at 1 and 2 years, respectively, which is approximately similar to that observed in the cohort study. In the absence of a control group given the retrospective design of the study, these overall rates of relapse are primarily due to the usual risk of loss of responsiveness to infliximab rather than a consequence of drug de-escalation. Considering outcomes following anti-TNF discontinuation, the risk of relapse is even higher close to 50% at 1 year^{6,7,11} and 85% at 8 years²⁴ after anti-TNF discontinuation. Anti-TNF de-escalation seems otherwise to be a more sustainable strategy.

Most studies assessing the risk of relapse after infliximab therapy discontinuation have underlined the need for clinical and biological remission as a prerequisite.^{6,7} In the two studies assessing the risk of relapse following infliximab therapy de-escalation, deep remission before de-escalation was also noted as a protective factor.^{14,15} Regarding these convergent results, only patients in clinical and biological remission were selected in the current study to identify the predictive factors of relapse among this “lower risk of relapse” population group.

A drug de-escalation strategy remains an alternative to treatment cessation to decrease drug exposition and the risk of relapse. No cost analysis was performed in the current study, but the cost related to infliximab infusion was obviously decreased following dose de-escalation. The risk of lymphoma or skin cancer may be increased, but no dose effect has been reported.^{4,5} The increased risk of infection related to dose remains controversial. In a surgical series of 217 patients with IBD, postoperative infections were increased in patients with trough levels of infliximab above 3 µg/mL and even higher for patients with trough levels above 8 µg/mL.²⁵ A similar dose-effect was observed during spondyloarthritis.²⁶ In contrast, a recent cohort study on IBD patients did not reveal an increasing risk according to increasing trough levels of infliximab.²⁷

Loss of response to biologics is at least partly related to the development of antidrug antibodies, which reduces the odds of a clinical response by 67%.²⁸ The absence of measurable drug concentrations at the trough and the absence of combination therapy at infliximab initiation predispose patients to antidrug antibody formation owing to intermittent drug exposure throughout the entire dosing interval. Initial combination therapy was associated with a lower

TABLE 3 Factors associated with relapse following infliximab de-escalation by univariate and multivariate analyses

| Covariates | Univariate analysis P value | Multivariate analysis HR [95% CI] P value |
|---|--------------------------------|--|
| Demography | | |
| Sex (Male / Female) | 0.49 | |
| Age | 0.39 | |
| BMI | 0.98 | |
| Smoking | 0.12 | 1.82 [0.79;4.19], P = 0.154 |
| IBD phenotype | | |
| Type of IBD (UC/CD) | 0.03 | 3.2 [1.4-7.4], P = 0.005 |
| Montreal A (reference A1) | 0.14 | 1.61 [0.44-7.88], P = 0.49 |
| P diagnostic | 0.44 | |
| Previous therapeutics | | |
| Previous bowel surgery | 0.98 | |
| Previous treatment with 5-ASA | 0.36 | |
| Previous treatment with IS (azathioprine or methotrexate) | 0.67 | |
| Previous treatment with adalimumab | 0.11 | 2.05 [0.86-4.51], P = 0.09 |
| Combination therapy at IFX initiation | 0.02 | 0.39 [0.19-0.78], P = 0.011 |
| IBD evolution profile | | |
| Duration of IBD before first de-escalation | 0.79 | |
| Duration of anti-TNF before first de-escalation | 0.36 | |
| De-escalations characteristics | | |
| Dose of infliximab before de-escalation | 0.67 | |
| Infusion interval before de-escalation | 0.50 | |
| Haemoglobin at de-escalation | 0.79 | |
| PNN at de-escalation | 0.45 | |
| Lymphocytes at de-escalation | 0.14 | 0.03 [0.001-1.35], P = 0.07 |
| CRP when de-escalation | 0.67 | |
| TLI-based de-escalation (vs clinical-based) | 0.07 | 0.45 [0.22; 0.90], P = 0.024 |

BMI, body mass index; CD, Crohn's disease; CRP, C-reactive protein; IBD, inflammatory bowel disease; IFX, infliximab; IQR, interquartile range; PNN, polynuclear neutrophils; TLI, trough level of infliximab; TNF, tumour necrosis factor; UC, ulcerative colitis.

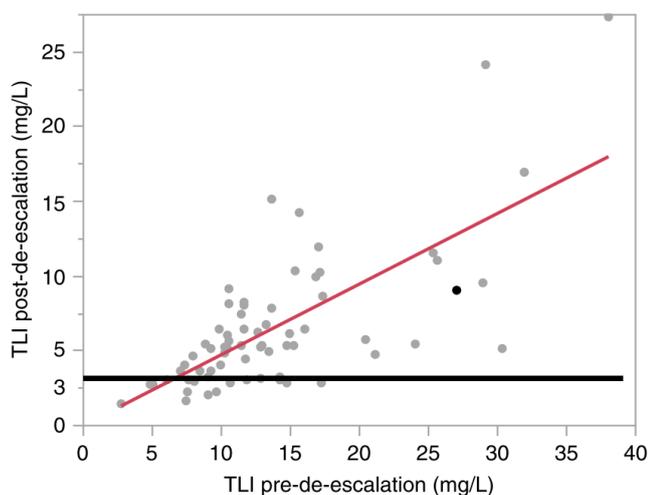


FIGURE 3 Correlation between TLI pre- and post-de-escalation (n = 69, Spearman correlation $\rho = 0.49$, $P < 0.0001$ – TLI after de-escalation = $-0.07 + 0.47 \times \text{TLI pre-de-escalation}$). The black line represents a trough level of 3 µg/mL. (TLI, trough level of infliximab)

risk of relapse, which underlies the importance of immunisation regarding the risk of relapse during infliximab treatment.⁹ The current study demonstrated the advantage of a trough level-based strategy owing to a reduction in the risk of low infliximab exposure, especially at the trough. In addition, trough level after de-escalation was associated with a lower risk of relapse, suggesting a low rate of immunisation. Antidrug antibodies were not assessed for all patients in relapse, and no rule for therapeutic correlation is currently available. The TAXIT trial for patients with supra-optimal concentrations before randomisation followed a similar scheme for de-escalation with a first reduction to 5 mg/kg (if patient on 10 mg/kg), after which the interval between infusions was prolonged by 2 weeks each time (to a maximum interval of 12 weeks).¹² In the Paul and colleagues' trial, only patients in remission on 10 mg/kg were included, and the de-escalation performed slower in steps of 1 mg/kg to avoid a low trough level of anti-TNF with the related risk of antidrug antibody formation in the absence of an available algorithm.²⁹ The correlation between trough level before and after de-escalation in the current

study supports that supratherapeutic trough level of infliximab for IBD patients in remission and allows infliximab de-escalation: the trough level post-escalation may be predictable by reducing the dose by half or increasing the interval between infusions by two weeks each time.

In line with current data, CD patients had fewer relapses than UC patients. In the prospective STORI trial, the incidence rate of relapse after anti-TNF discontinuation in patients with deep remission was less than 10% within 30 months.⁷ Conversely, a multinational retrospective cohort study on UC patients in deep remission reported a 17% annual risk of relapse per year, with more than 50% of patients relapsing in the long term. The incidence rate of relapse after anti-TNF discontinuation was approximately 23% at 1 year and 15% in cases of thiopurine introduction.³⁰

This study has several limitations that need to be taken into account. Due to the retrospective design of the study and the lack of systematic mucosal assessment by faecal calprotectin or endoscopy, deep remission could not be assessed in the current study for all patients and subsequently could not be integrated into the statistical analysis. Assessment of de-escalation, rather than patients, may have caused weighting in the statistical analysis because the same patient could be assessed several times. Forty-one (43%) patients underwent several de-escalations. However, most of the factors included were considered prospectively at the time of de-escalation according to the clinical record. Due to the retrospective design, no randomisation was performed to assign patients to trough level- or clinical-based de-escalation groups. Trough level-based de-escalation was subsequently retrospectively determined according to available data on the level of infliximab, specifically, by high trough levels of infliximab in this group. The effects of trough level-based de-escalation may be underestimated because patients without available trough levels of infliximab could have supratherapeutic trough levels before de-escalation. In addition, only patients followed-up during the study period were included, which introduced a selection bias because failure of previous attempts (eg, before 2012) to de-escalate in some patients may have influenced physician decision-making, namely, by avoiding additional de-escalation. The use of different de-escalation schedules precludes the definition of precise rules for de-escalation. Nevertheless, the record of the current study was a prospective study that objectively assessed a large number of 146 de-escalations in patients in clinical and biological remission. The correlation between trough level before and after de-escalation suggests that when spacing doses by 2 weeks or decreasing the dose from 10 to 5 mg/kg, the trough level of infliximab after de-escalation is half of the trough level pre-de-escalation. Because a trough level above 3 was strongly associated with the absence of relapse, these data may help physician decision-making at the time of de-escalation. However, a precise algorithm remains necessary to accurately predict trough level after de-escalation, regardless of the scheme of de-escalation.

In conclusion, the results of this study indicate that the risk of relapse following infliximab de-escalation is approximately three times less than after infliximab discontinuation and even less in

patients with CD treated first with a combination therapy. The use of infliximab trough level (above 7 mg/L) to assess the feasibility of dose de-escalation in patients in clinical and biological remission seems to be a prerequisite for decreasing the risk of relapse, and in particular, avoiding a trough level above 3 mg/L following infliximab de-escalation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Declaration of personal interests: GB received lecture fees from Abbvie, Ferring, MSD, Takeda, and Pfizer and consultant fees from Takeda and Janssen. LS received lecture fees from Abbvie, Ferring, and MSD. LS received consultant fees from Takeda and Ferring. CB received lecture fees from Ipsen. AP received lecture fees from Hospira. AL, CL, and MD declare no conflicts of interest.

Declaration of funding interests: None.

AUTHORSHIP

Guarantor of the article: None.

Author contributions: CL and GB involved in the concept and design of the study, and drafted or critically revised the article for important intellectual content; CL, AL, LS, CB, MD, EB, AP, and GB involved in acquisition of the data; CL, GB, and AP analysed and interpreted the data. The manuscript was approved by all authors.

ORCID

Antoine Petitcollin  <http://orcid.org/0000-0003-4811-0439>

Charlène Brochard  <http://orcid.org/0000-0001-7354-6301>

Guillaume Bouguen  <http://orcid.org/0000-0002-7444-5905>

REFERENCES

- Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet*. 2002;359:1541-1549.
- Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, et al. Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2004;350:876-885.
- van der Valk ME, Mangen MJ, Leenders M, et al. Healthcare costs of inflammatory bowel disease have shifted from hospitalisation and surgery towards anti-TNFalpha therapy: results from the COIN study. *Gut*. 2014;63:72-79.
- Lemaitre M, Kirchgessner J, Rudnichi A, et al. Association between use of thiopurines or tumor necrosis factor antagonists alone or in combination and risk of lymphoma in patients with inflammatory bowel disease. *JAMA*. 2017;318:1679-1686.
- Williams CJ, Peyrin-Biroulet L, Ford AC. Systematic review with meta-analysis: malignancies with anti-tumour necrosis factor-alpha therapy in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39:447-458.
- Bortlik M, Duricova D, Machkova N, et al. Discontinuation of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease patients: a prospective observation. *Scand J Gastroenterol*. 2016;51:196-202.

7. Louis E, Mary JY, Vernier-Massouille G, et al. Maintenance of remission among patients with Crohn's disease on antimetabolite therapy after infliximab therapy is stopped. *Gastroenterology*. 2012;142:63-70.
8. Ben-Horin S, Chowers Y, Ungar B, et al. Undetectable anti-TNF drug levels in patients with long-term remission predict successful drug withdrawal. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42:356-364.
9. Drobne D, Bossuyt P, Breynaert C, et al. Withdrawal of immunomodulators after co-treatment does not reduce trough level of infliximab in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13:514-521.
10. Felice C, Marzo M, Pugliese D, et al. Therapeutic drug monitoring of anti-TNF-alpha agents in inflammatory bowel diseases. *Expert Opin Biol Ther*. 2015;15:1107-1117.
11. Papamichael K, Vande Casteele N, Gils A, et al. Long-term outcome of patients with Crohn's disease who discontinued infliximab therapy upon clinical remission. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13:1103-1110.
12. Vande Casteele N, Ferrante M, Van Assche G, et al. Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2015;148:1320-1329.
13. Flamant M, Roblin X. Could therapeutic drug monitoring of anti-TNF-alpha be useful to consider a de-escalation of treatment? *Expert Opin Biol Ther*. 2015;15:1657-1660.
14. Papamichael K, Karatzas P, Mantzaris GJ. De-escalation of infliximab maintenance therapy from 8- to 10-week dosing interval based on faecal calprotectin in patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2016;10:371-372.
15. Amiot A, Hulin A, Belhassan M, et al. Therapeutic drug monitoring is predictive of loss of response after de-escalation of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2016;40:90-98.
16. Imperatore N, Testa A, Caporaso N, et al. Letter: anti-TNF dose de-escalation in Crohn's disease—a case-by-case decision. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;46:212.
17. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, et al. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut*. 2006;55:749-753.
18. Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet*. 1980;1:514.
19. Walmsley RS, Ayres RC, Pounder RE, et al. A simple clinical colitis activity index. *Gut*. 1998;43:29-32.
20. Ternant D, Mulleman D, Degenne D, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of infliximab. *Ther Drug Monit*. 2006;28:169-174.
21. Allez M, Karmiris K, Louis E, et al. Report of the ECCO pathogenesis workshop on anti-TNF therapy failures in inflammatory bowel diseases: definitions, frequency and pharmacological aspects. *J Crohns Colitis*. 2010;4:355-366.
22. Ben-Horin S, Chowers Y. Review article: loss of response to anti-TNF treatments in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33:987-995.
23. Gisbert JP, Panes J. Loss of response and requirement of infliximab dose intensification in Crohn's disease: a review. *Am J Gastroenterol*. 2009;104:760-767.
24. Reenaers C, Mary J-Y, Nachury M, et al. Long-term outcome after infliximab withdrawal for sustained remission in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2016;150:S72.
25. Lau C, Dubinsky M, Melmed G, et al. The impact of preoperative serum anti-TNFalpha therapy levels on early postoperative outcomes in inflammatory bowel disease surgery. *Ann Surg*. 2015;261:487-496.
26. Bejan-Angoulvant T, Ternant D, Daoued F, et al. Brief report: relationship between serum infliximab concentrations and risk of infections in patients treated for spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2017;69:108-113.
27. Drobne D, Kurent T, Golob S, et al. Success and safety of high infliximab trough levels in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2018;53:1-7.
28. Thomas SS, Borazan N, Barroso N, et al. Comparative immunogenicity of TNF inhibitors: impact on clinical efficacy and tolerability in the management of autoimmune diseases. A systematic review and meta-analysis. *BioDrugs*. 2015;29:241-258.
29. Paul S, Roblin X, Peyrin-Biroulet L. Letter: infliximab de-escalation based on trough levels in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42:939-940.
30. Casanova MJ, Chaparro M, Garcia-Sanchez V, et al. Evolution after anti-TNF discontinuation in patients with inflammatory bowel disease: a multicenter long-term follow-up study. *Am J Gastroenterol*. 2017;112:120-131.

How to cite this article: Lucidarme C, Petitcollin A, Brochard C, et al. Predictors of relapse following infliximab de-escalation in patients with inflammatory bowel disease: the value of a strategy based on therapeutic drug monitoring. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019;49:147–154. <https://doi.org/10.1111/apt.15046>

4.3.2. Commentaires sur l'article 2.

Comme cela a été évoqué, les échappements secondaires au cours du traitement par anti-TNF α sont courants. Dans le cadre de la prise en charge des MICI, la persistance des traitements est donc une des problématiques centrales. En effet, l'arsenal thérapeutique jusqu'à récemment se limitait aux glucocorticoïdes, à l'azathioprine, à l'acide 5-aminosalicylique (5-ASA) et aux anti-TNF α . Ponctuellement, les immunosuppresseurs comme le tacrolimus ou la ciclosporine peuvent être utilisés, mais comme les glucocorticoïdes systémiques, leur usage à long terme est associé à de nombreux effets indésirables parfois irréversibles. C'est pourquoi le maintien d'un traitement efficace par anti-TNF α le plus longtemps possible est une nécessité, pour ralentir l'épuisement de l'arsenal thérapeutique chez ces patients qui sont traités tout au long de leur vie.

La progression des connaissances sur la relation concentration-effet des anti-TNF α a permis de montrer que les sous-expositions étaient une cause fréquente d'échappement secondaire. Ces sous-expositions résultaient soit d'immunisations, soit de sous-dosages liés par exemple à un poids corporel élevé ou à une masse antigénique importante. Grâce au STP, il était possible de mettre en évidence ces sous-exposition et de tenter de les surmonter par des augmentations posologiques afin de restaurer des concentrations efficaces. Les modalités d'augmentation de posologie ne font toujours pas consensus aujourd'hui ; il est possible d'augmenter la dose par administration, de réduire l'intervalle entre deux administrations, ou de moduler dose et intervalle en même temps. Les deux approches ont une efficacité similaire et le choix dépend de l'appréciation du clinicien et de l'avis du patient, notamment en ce qui concerne la fréquence des injections d'infliximab qui doivent être effectuées en hospitalisation de jour et nécessitent donc que le patient se déplace.

Rapidement, l'efficacité des anti-TNF α et leur relative sécurité d'utilisation a fortement augmenté le volume de prescription, en parallèle de l'augmentation de la durée des traitements et de l'augmentation de la dose cumulée administrée à chaque patient au cours de sa vie. La maîtrise des coûts de traitement par biothérapies est alors devenue un aspect important de la prise en charge des MICI. De plus, il est apparu évident que les besoins en médicament n'étaient pas aussi importants pour maintenir la rémission que pour l'induire (voir 1.2.2.1).

C'est dans ce contexte complexe que la question de la désescalade thérapeutique s'est posée. Comme pour l'intensification de traitement, les modalités ne font pas consensus, une réduction de dose ou un allongement de l'intervalle d'administration semblant équivalents. Cependant, la désescalade expose au risque de sous-dosage, avec une perte d'efficacité par sous exposition et/ou une augmentation du risque d'immunisation par passage sous le seuil immunogène.

L'étude présentée ici a été réalisée sur des données recueillies prospectivement chez l'ensemble des patients atteints de MICI traités par infliximab suivis dans le service de gastro-entérologie du CHU de Rennes. Elle est le reflet de la pratique courante, et notamment de l'absence de consensus qui existait concernant le recours à un STP proactif ou réactif jusqu'à la mise en place du dosage systématique de la concentration résiduelle d'infliximab à chaque visite pour tous les patients à l'été 2016. C'est cette absence de consensus qui a permis de comparer la probabilité de rechute entre les patients qui avaient été sélectionnés sur la base des données clinico-biologiques seules *versus* ceux qui avaient bénéficié en plus du STP.

Ce travail montre comment le STP a permis de sélectionner plus efficacement les patients traités par infliximab éligibles à la désescalade, en mettant en évidence les surexpositions évidentes et en récusant au contraire les patients qui risqueraient d'être sous-exposés suite à la désescalade. Elle confirme une efficacité équivalente des diverses modalités de désescalade (dose, intervalle ou mixte) et montre que des paramètres comme la combothérapie ou la maladie (MC ou RCH) influencent le risque de rechute.

Cette étude montre également la concentration résiduelle suite à la désescalade est globalement divisée par deux. Ce résultat était attendu, car les désescalades étaient majoritairement des divisions par 2 de la dose administrée ou des allongements de l'intervalle d'administration de 2 semaines, soit une demi-vie. Mais on voit bien sur la figure 3 de l'article qu'il existe une grande variabilité pharmacocinétique à l'origine de la dispersion des données. Cette variabilité pharmacocinétique rend difficile la prévision de l'évolution des concentrations suite à la désescalade.

De plus, le seuil de concentration pris pour sélectionner les patients dans le groupe STP (>7 µg/mL) était basé sur une étude précédemment réalisée qui a proposé un intervalle de

concentrations résiduelles entre 3 et 7 µg/mL pour maintenir l'efficacité du traitement (Vande Casteele 2015). Si ce seuil de 7 µg/mL permettait de limiter le risque de passer sous le seuil de 3µg/mL après désescalade, il ne tenait pas compte de la variabilité pharmacocinétique et certains patients ayant une clairance élevée pouvaient être sous exposés après la désescalade.

En résumé, cette étude est l'une des seules qui se soit intéressée à la désescalade thérapeutique et à l'apport du STP pour maximiser les chances de succès. Elle confirme les données de l'étude TAXIT (Vande Casteele 2015) et les données de Paul et collègues (Paul 2015) concernant la faisabilité de la désescalade, mais apporte en plus la preuve que la désescalade devrait être guidée par le STP. Récemment, une étude a simulé que la désescalade basée sur la mesure des concentrations résiduelles permettrait de réaliser des économies substantielles en termes de cout de traitement (Attar 2019), ce qui était l'un des buts premiers de la désescalade ; notre étude n'a pas évalué l'impact économique de la désescalade mais cet aspect devrait être pris en compte dans de futures études. Enfin, notre étude apporte une vision à long terme du devenir de ces patients puisque la majorité ont été suivis jusqu'à rechute ou arrêt du traitement, et elle apporte une étude des facteurs prédictifs de rechute post désescalade.

Cependant, les résultats présentés ici ont amené à se poser d'autres questions, comme le choix du seuil de concentration pour sélectionner les patients éligibles, la concentration cible post-désescalade chez ces patients en rémission qui pourraient nécessiter une exposition modérée, ou encore l'influence des caractéristiques pharmacocinétiques individuelles sur le résultat de la désescalade, puisque la concentration résiduelle semble un déterminant majeur du succès de la désescalade. C'est ce qui a motivé la réalisation de la troisième étude de ce travail de thèse.

4.4. Etude 3. Modélisation de la pharmacocinétique à long terme et relation concentration-effet de l'infliximab en traitement d'entretien chez des adultes atteints de MICI bénéficiant d'une désescalade

Article publié dans *Clinical Pharmacology & Therapeutics*

DOI: 10.1002/cpt.1429

4.4.1. Résumé

Introduction : Il existe peu de données concernant la pharmacocinétique et la relation concentration-effet à long terme de l'infliximab en traitement d'entretien dans les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI), notamment dans le contexte de désescalades thérapeutiques. Cette étude avait pour objectif d'explorer le lien entre les concentrations résiduelles, les paramètres pharmacocinétiques, et la probabilité de rechute après désescalade dans une cohorte prospective d'adultes atteints de MICI en « vraie vie ».

Méthodes : Quatre-vingt-onze patients ont été inclus dans l'étude. Un modèle pharmacocinétique de population avec clairance variant au cours du temps a été construit et utilisé pour estimer les paramètres pharmacocinétiques individuels et les concentrations résiduelles à chaque visite. Ces paramètres ont été inclus dans un modèle de Cox pour explorer les facteurs de risque de rechute après désescalade du traitement par infliximab.

Résultats : Le volume de distribution, la clairance et la concentration résiduelle avant désescalade, ainsi que la concentration résiduelle moyenne post-désescalade, étaient associés au risque de rechute. Dans un modèle multivarié, les facteurs prédictifs indépendants de rechute à la désescalade étaient la RCH et/ou le tabagisme actif ($p=0.0093$), une CRP plus élevée ($p=0.00064$) et une concentration moyenne post-désescalade $<2.4 \mu\text{g/mL}$ ($p=0.0001$). Les patients avec une résiduelle pré-désescalade $>5.7 \mu\text{g/mL}$ avaient un risque moindre de rechute. La clairance de l'infliximab était hautement variable au cours du temps et était influencée par la dose, le co-traitement par immunomodulateurs, le score clinique et la durée de traitement.

Conclusion : Le recours au suivi thérapeutique pharmacologique semble nécessaire pour guider la désescalade, non seulement pour évaluer l'éligibilité des patients, mais également pour s'assurer du maintien de concentrations suffisantes après la désescalade. Cela est particulièrement vrai considérant le caractère hautement variable de la clairance au cours du temps, qui rend difficile la prévision de l'évolution des concentrations.

Pharmacokinetic Parameters of Infliximab Influence the Rate of Relapse After De-Escalation in Adults With Inflammatory Bowel Diseases

Antoine Petitcollin^{1,2,3,*}, Charlene Brochard^{4,5}, Laurent Siproudhis^{4,5}, Camille Tron^{1,2,3}, Marie-Clémence Verdier^{1,2,3}, Florian Lemaitre^{1,2,3}, Camille Lucidarme⁵, Guillaume Bouguen^{4,5} and Éric Bellissant^{1,2,3}

This study aimed at exploring the link among individual concentrations, pharmacokinetic parameters, and the probability of relapse after de-escalation in a real-world prospective cohort of patients with inflammatory bowel disease (IBD) who underwent infliximab treatment de-escalation. Ninety-one patients were included. A time-varying compartment model was used to estimate individual pharmacokinetic parameters and trough concentrations. A Cox model was implemented to explore the parameters influencing the probability of relapse after de-escalation. Volume, clearance, and trough before and after de-escalation were linked to the relapse risk at the univariate step. Independent predictors of relapse were tobacco use and/or ulcerative colitis ($P = 0.0093$), a higher C-reactive protein (CRP; $P = 0.00064$), and an infliximab trough $< 2.4 \mu\text{g/mL}$ after de-escalation ($P = 0.0001$). Patients with trough $> 5.7 \mu\text{g/mL}$ are eligible to de-escalation, but infliximab pharmacokinetics is highly variable in time. Therefore, drug monitoring is mandatory after de-escalation to maintain trough $> 2.4 \mu\text{g/mL}$. Clearance monitoring seems an appealing approach for patient selection and relapse prediction.

Study Highlights

WHAT IS THE CURRENT KNOWLEDGE ON THIS TOPIC?

✓ The pharmacokinetics and concentration–effect relationship of infliximab was never studied in patients with inflammatory bowel disease (IBD) undergoing treatment de-escalation. Recent data suggest that the pharmacokinetic parameters, especially the clearance, may be predictive of the clinical response independently from trough concentration.

WHAT QUESTION DID THIS STUDY ADDRESS?

✓ The pharmacokinetics of infliximab in patients with IBD who underwent treatment de-escalation was described using a time-varying clearance model, and the value of trough concentrations and individual clearance in predicting the success of treatment de-escalation was explored.

WHAT DOES THIS STUDY ADD TO OUR KNOWLEDGE?

✓ There is a wide intra-individual variability of infliximab pharmacokinetics in patients with IBD, partially explained by disease-related parameters. Trough concentration and clearance before de-escalation, IBD type, tobacco use, and C-reactive protein are strong predictors of relapse after de-escalation.

HOW MIGHT THIS CHANGE CLINICAL PHARMACOLOGY OR TRANSLATIONAL SCIENCE?

✓ The results of this study suggest that monitoring the evolution of the clearance of the patients may help to monitor treatment efficacy and risk of relapse, being a reflection of the disease activity through target-mediated drug disposition.

Infliximab is a chimeric murine–human monoclonal immunoglobulin G1 κ that targets circulating and tissue human tumor necrosis factor α (TNF α). It has proven effective in the management of chronic inflammatory bowel diseases (IBDs), namely

Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC).¹ However, the use of infliximab is associated with an increased risk of cancer, lymphoma, and opportunistic infections,^{2,3} raising the question of how to reduce these risks in patients with long-term

¹Department of Clinical and Biological Pharmacology, Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology, and Drug Information Center, Rennes University Hospital, Rennes, France; ²Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine, Rennes 1 University, Rennes, France; ³CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Inserm, Rennes, France; ⁴CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, NUMECAN (Nutrition, Metabolism, and Cancer) Institute, Inserm, Rennes, France; ⁵Department of Gastroenterology, Rennes University Hospital, Rennes, France. *Correspondence: Antoine Petitcollin (antoine.petitcollin@chu-rennes.fr)

Received December 28, 2018; accepted February 22, 2019. doi:10.1002/cpt.1429

maintenance infliximab treatment. Drug discontinuation has been proposed but led to a high relapse rate.^{4–7} Alternatively, treatment de-escalation by lowering the dose or increasing the interval between infusions allows decreasing drug exposure while maintaining efficacy. Recent data support the relevancy of de-escalation, as higher infliximab levels were reported to be linked to an increased risk of infections.⁸ However, data regarding the predictive factors of maintenance of the response after de-escalation of infliximab in IBD are sparse. Amiot and colleagues⁹ reported that discrepancies between blind (i.e., based only on clinical data and C-reactive protein (CRP)) and therapeutic drug monitoring (TDM)-based dose adjustments led to poorer outcomes after de-escalation. More recently, we demonstrated that TDM-guided selection of the patients before de-escalation led to a lower risk of relapse.¹⁰ In this retrospective study, the TDM-based selection of the patients laid on a minimal value of 7 µg/mL before de-escalation, as in the literature¹¹ and in accordance with the current knowledge of infliximab pharmacokinetics. However, trough concentrations were not available in all the patients and we were unable to assess the predictive value of the trough concentration on the de-escalation outcomes or to determine an optimal concentration threshold of infliximab before and/or after de-escalation associated with a lower relapse rate. Furthermore, no data are available regarding the predictive value of individual pharmacokinetic characteristics on the probability of success of the de-escalation. Identifying these pharmacokinetic characteristics seems an appealing approach because they are closely linked to the activity of the disease, and recent data suggest that monitoring of infliximab clearance along with the concentrations may be superior to concentrations alone in predicting the success of the treatment.¹² Moreover, the long-term pharmacokinetics of infliximab has never been described in patients with IBD with sustained remission who underwent a de-escalation, although infliximab pharmacokinetics may be different in this population compared with patients with an active disease, with a direct impact on the modalities of dose adjustments. The use of population pharmacokinetic modeling can help address these questions and refine the exploration of the predictive factors of relapse at de-escalation.

This study aimed at (i) describing the long-term pharmacokinetics of infliximab in a real-world cohort of adults with IBD in deep remission who underwent a de-escalation and (ii) exploring whether pharmacokinetic parameters and infliximab trough concentrations were associated with successful de-escalation.

RESULTS

Study population

The study included 91 patients followed up between 2012 and 2017, with a median (interquartile range (IQR)) follow-up time of 3.75 years (2.79–4.82 years). Overall, 155 infliximab de-escalations and 44 relapses were recorded. A single de-escalation was performed in 43 patients (47.3%), 36 patients (39.6%) experienced 2 de-escalations, and 12 patients (13.1%) had > 2 de-escalations during their follow-up; 38 patients (40.9%) experienced 1 relapse,

and 4 (4.3%) experienced > 1 relapse. The median (IQR) time to relapse (all confounded) was of 280 days (190–416 days) after de-escalation. The characteristics of the subjects are summarized in **Table 1**.

Table 1 Patient characteristics (n = 91)

| | |
|---|------------------|
| Age at first de-escalation (years) | 36.9 (29.6–46.2) |
| Male sex | 39 (42.9) |
| Weight at first de-escalation (kg) | 66 (60–69) |
| BMI at first de-escalation (kg/m ²) | 23.5 (21.2–26.6) |
| Smoking | |
| Current smokers | 17 (18.7) |
| Ex-smokers | 19 (20.9) |
| Nonsmokers | 55 (60.4) |
| Age at diagnosis | |
| A1 < 16 years | 15 (16.5) |
| A2 17–40 years | 66 (72.5) |
| A3 over 40 years | 10 (11.0) |
| CD phenotype | 62 (68.1) |
| B1 Nonstricturing, nonpenetrating | 43 (69.3) |
| B2 Stricturing | 12 (19.4) |
| B3 Penetrating | 7 (11.3) |
| Perineal disease (additional to B1, B2, or B3) | 21 (33.9) |
| L1 Ileal | 10 (16.1) |
| L2 Colonic | 18 (29.1) |
| L3 Ileocolonic | 34 (54.8) |
| L4 Upper disease (additional to L1, L2, or L3) | 12 (19.4) |
| UC phenotype | 29 (31.9) |
| E1 Ulcerative proctitis | 5 (17.2) |
| E2 Left-side UC | 9 (31.0) |
| E3 Extensive | 15 (51.8) |
| Disease duration at first de-escalation (years) | 9.1 (4.1–14.5) |
| Duration of infliximab therapy at first de-escalation (years) | 2.9 (1.5–6.0) |
| Previous treatment by glucocorticoids | 50 (54.9) |
| Previous treatment by 5-asa | 44 (48.4) |
| Previous treatment by immunomodulators | 57 (62.6) |
| Previous treatment by adalimumab | 12 (13.2) |
| Previous bowel surgery | 28 (30.8) |
| De-escalation characteristics | |
| Total number of de-escalations | 155 |
| Number of de-escalation per patient | 1 (1–2) |
| Type of de-escalation | |
| Dose reduction | 35 (22.6) |
| Infusion interval increase | 114 (73.5) |
| Mixed (dose and interval) | 6 (3.9) |
| Combination therapy at de-escalation | 34 (21.9) |

Data are expressed as median (first quartile–third quartile) or number (percentage). Disease phenotype is described following the Montreal classification for inflammatory bowel diseases.

5-asa, 5-aminosalicylic acid; BMI, body mass index; CD, Crohn's disease; UC, ulcerative colitis.

Table 2 Results of the pharmacokinetic analysis

| | Parameter description | Value | Precision of the estimates (RSE %) | Shrinkage (%) |
|--|---|--------|------------------------------------|---------------|
| Fixed effects | | | | |
| V (L) | Volume of distribution | 11.5 | 5 | |
| CL _{base} (L/day) | Baseline clearance | 0.273 | 7 | |
| $\beta_{\text{DiseaseUC}}$ | Effect of disease on clearance (ref CD) | 0.377 | 29 | |
| β_{CRP} | Effects of CRP on clearance | 0.0654 | 15 | |
| β_{DOSE} | Effects of dose on clearance | -0.267 | 22 | |
| $\beta_{\text{ActivityUC}}$ | Effect of Mayo score (UC patients only) | 0.0934 | 30 | |
| FactAZA | Effect of azathioprine cotreatment on clearance | 0.849 | 2 | |
| Slope (L/day/year) | Linear clearance increase | 0.0348 | 9 | |
| β_{WT} | Effects of weight variation on clearance increase | 31.1 | 31 | |
| Base risk | Intercept (risk of immunization) | 10.9 | 5 | |
| Beta | Slope (risk of immunization) | 0.0526 | 21 | |
| CL _{var} | Clearance variation magnitude | 1 | Fixed | |
| Random effects | | | | |
| ω_{V} (%) | BSV of the volume of distribution | 25.4 | 15 | 49 |
| ω_{CL} (%) | BSV on the baseline clearance | 44.3 | 10 | 18 |
| $\omega_{\beta\text{DOSE}}$ (%) | BSV of the effects of the dose on clearance | 33.3 | 19 | 45 |
| ω_{slope} (%) | BSV on the linear clearance increase | 32.0 | 26 | 68 |
| ω_{beta} (%) | BSV of the slope (risk of immunization) | 102.0 | 17 | 59 |
| ω_{CLvar} (%) | BSV of the clearance variation magnitude | 40.4 | 11 | 23 |
| Residual error | | | | |
| σ_{add} ($\mu\text{g/mL}$) | Additive error magnitude | 0.446 | 22 | 13 |
| σ_{prop} (%) | Proportional error magnitude | 20.6 | 6 | |

AZA, azathioprine; BSV, between-subject variability; CD, Crohn's disease; CL, clearance; CRP, C-reactive protein; RSE, relative standard error; UC, ulcerative colitis.

Pharmacokinetic analysis

A total of 607 infliximab concentrations were used to build the pharmacokinetic model. A one-compartment model with time-varying clearance predicted the data well.

The screening of the time-varying covariates revealed that infliximab clearance increased with body weight ($P < 0.0001$), CRP ($P = 0.0017$), and disease activity ($P = 0.00022$). The influence of the activity was, however, quantifiable only in patients with UC. Azathioprine cotreatment was associated with a slower clearance and was also included as a time-varying covariate in the model ($P = 0.0018$). Overall, 54 increases in infliximab dose were recorded in 44 patients, which were strongly associated with clearance variations (difference in the objective function value (ΔOFV) = -23.1; $P < 0.0001$). In a typical patient, there was a decrease in the clearance of infliximab of 16.9% when increasing the dose from 5 to 10 mg/kg. All these covariates were retained in the model with an overall ΔOFV of -93.2 compared with the base model (Table 2).

The addition of a linear increase of the clearance with time (denoted as $\text{slope}_{\text{CL}_t}$) greatly improved the full time-varying covariates model ($\Delta\text{OFV} = -75.4$) but resulted in the effect of body weight on clearance not being significant anymore, probably indicating a

redundancy of $\text{slope}_{\text{CL}_t}$ and body weight in describing intra individual clearance variation.

The majority of the remaining concentrations that were not well predicted were properly described after the addition a logit-risk model, as previously described,¹² with a decrease of Akaike's information criterion of -64. Of note, only one sample was tested positive for antidrug antibodies (ADAs) and, thus, the effect of this covariate was not assessed.

Eventually, the screening of the static covariates revealed a higher clearance in patients with UC ($P = 0.00023$). Because the patients were followed over a long period, some of them had important changes of their corpulence consecutively to disease improvement or worsening. A linear mixed effect model was built to determine the slope of the body weight variations with time over the observation period. The slope of body weight variation partially explained the interindividual variability of the linear increase in clearance (decrease of the unexplained variability of $\text{slope}_{\text{CL}_t}$ from 29.9% to 18.8%; $P = 0.0012$).

The diagnostic plots showed no obvious model misspecification or bias (Figure 1), as well as the visual predictive checks (Figure 2). Some typical individual fits are presented in Figure 3 with a representation of the evolution of the clearance with time.

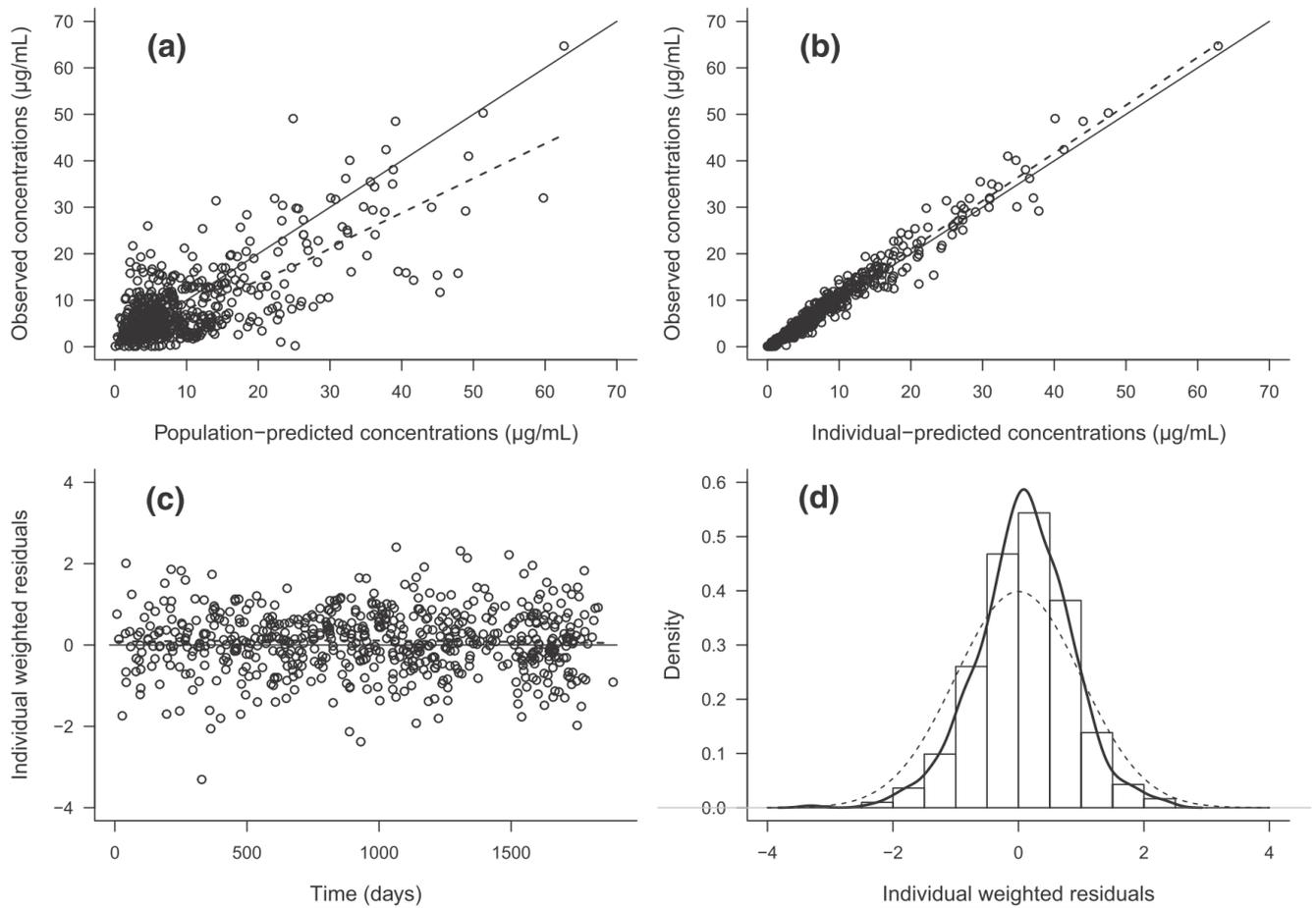


Figure 1 Diagnostic plots. (a) Observed vs. population-predicted concentrations. (b) Observed vs. individually predicted concentrations. (c) Individual weighted residuals vs. time. (d) Distribution of the individual weighted residuals.

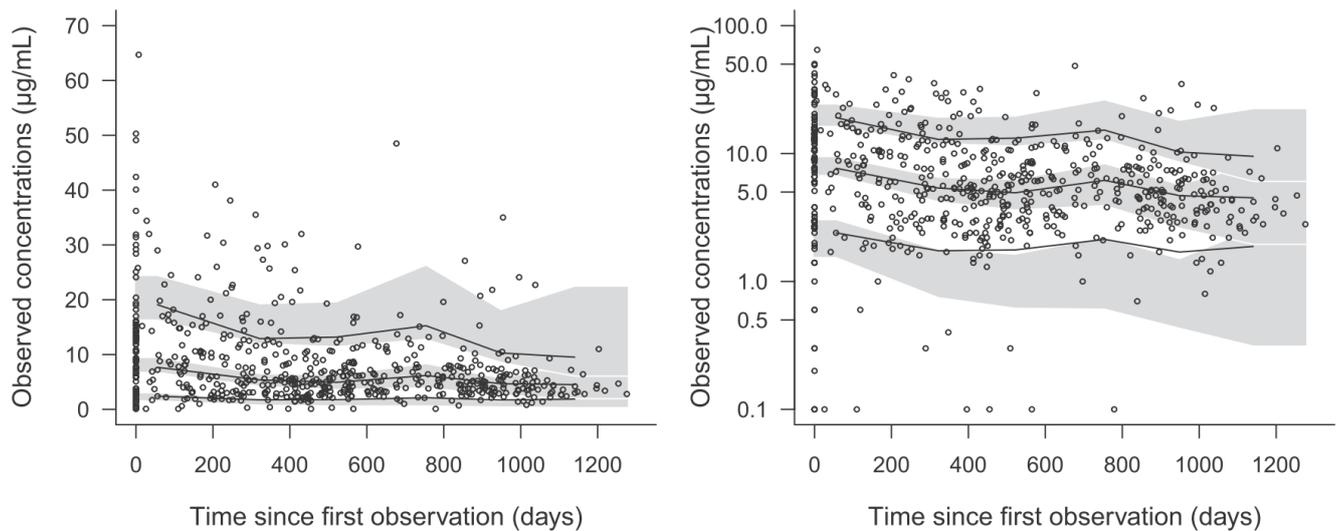


Figure 2 Visual predictive checks. The gray shaded areas represent the 90% confidence interval of the predictions at the 5, 50, and 95th percentile. The full lines represent the 5, 50, and 95th percentile of the observations. Open circles are the observed concentrations.

Study of the predictive factors of de-escalation outcome

In the univariate analysis, the probability of relapse after infliximab de-escalation was not influenced by treatment history,

demographics, or biologics, apart from the CRP, which increasing value at the time of the de-escalation increased the risk of subsequent relapse ($P = 0.0019$). Smokers had a higher risk of relapse

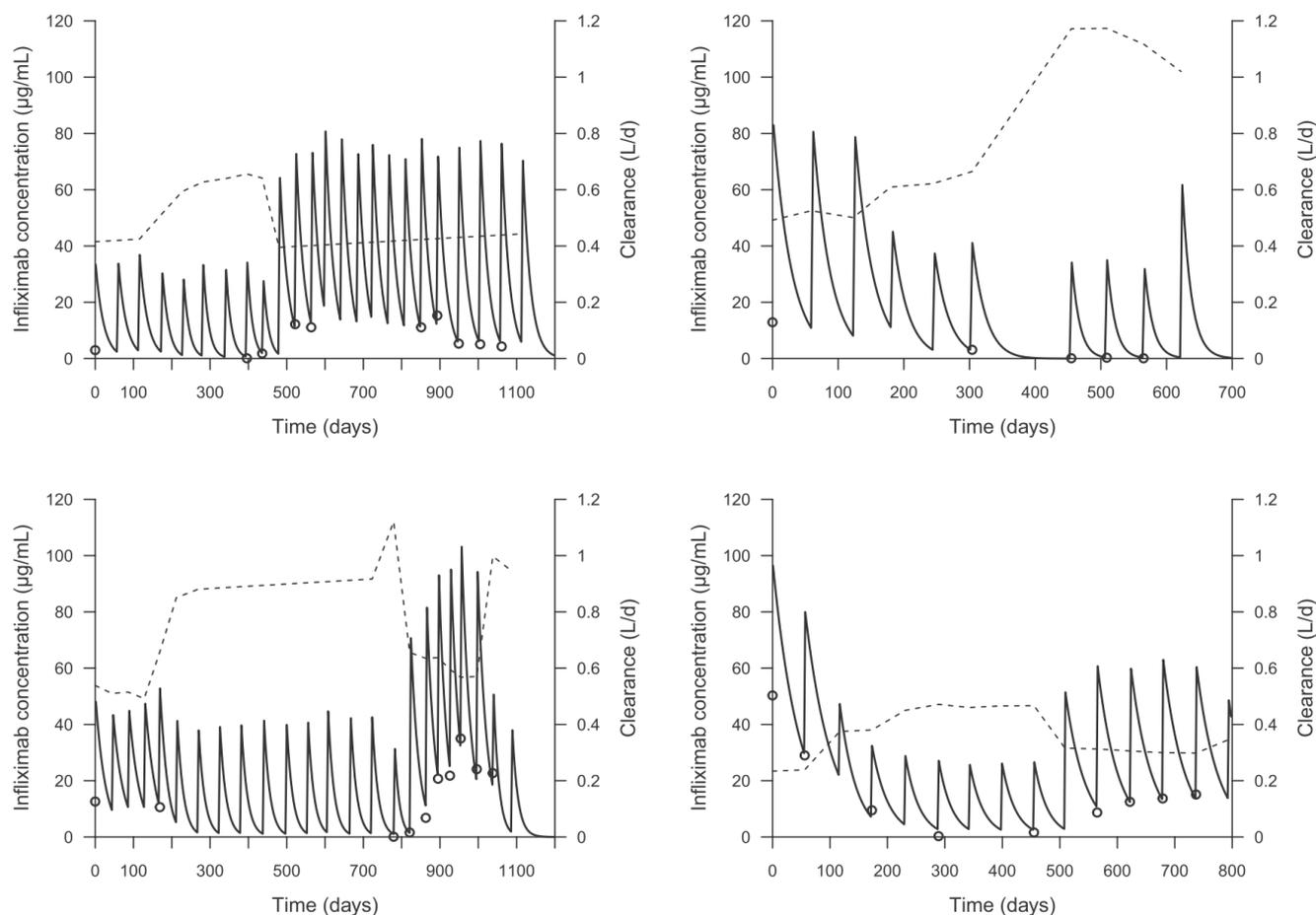


Figure 3 Representative individual fits. The full line represents the individually predicted concentration vs. time. Open circles are the observed concentrations. The dashed line represents the value of the clearance vs. time (the values of the clearance are reported on the right-hand axis). The patient on the upper right was tested positive to antidrug antibodies at time 455.

($P = 0.012$). The disease type did not influence the probability of relapse, but further investigations revealed that the combined effects of smoking status and disease were linked to the probability of relapse, with a higher risk in smoking patients with CD ($P = 0.0026$) and nonsmoking patients with UC ($P = 0.021$). After gathering the groups with comparable risks, patients with UC (whatever the smoking status) and smoking patients with CD had a significant higher risk of relapse after de-escalation ($P = 0.0031$; **Figure 4**). Conversely, a younger age at diagnosis was slightly associated with a decreased risk of relapse ($P = 0.047$).

Regarding the pharmacokinetic parameters, a higher volume of distribution was associated with a decreased risk of relapse ($P = 0.0075$), and a higher individual clearance at the time of the de-escalation was associated with poorer outcomes ($P < 0.0001$). Optimal discriminating thresholds were found at 11.3 L ($P = 0.0008$) and 0.31 L/day ($P = 0.0005$), respectively (**Figure 4**). In total, 2,254 trough concentrations were estimated, with a median (IQR) value of 8.0 µg/mL (4.2–14.9 µg/mL). The probability of relapse increased with infliximab levels at de-escalation ($P = 0.014$), with an optimal discriminating threshold of < 5.7 µg/mL at trough just before de-escalation being strongly predictive of the risk of relapse after de-escalation ($P < 0.0001$; **Figure 4**). The

mean trough concentration calculated from the first trough after de-escalation to the censoring time was also predictive of the risk of relapse of the de-escalation, with an optimal discriminating threshold of 2.4 µg/mL ($P < 0.0001$; **Figure 4**).

After backward selection of the variables, the CRP value at de-escalation, the combined disease/smoking status, and the average trough of infliximab after de-escalation were retained as independent predictors of the success of de-escalation (**Table 3**).

DISCUSSION

This study described the long-term pharmacokinetics of infliximab in adult patients with IBD using a time-varying model, emphasizing the wide inter individual and intra-individual variability of the clearance over an extended follow-up period. Moreover, this is the first population pharmacokinetic study to focus on treatment de-escalation. Our results show that infliximab concentrations and individual pharmacokinetic parameters are strongly associated with the clinical outcome after de-escalation.

The values of the estimated pharmacokinetic parameters are in accordance with previous compartment pharmacokinetic studies in adults.^{13–16} The data were best described by a one-compartment model with linear elimination. This was expected with a dataset

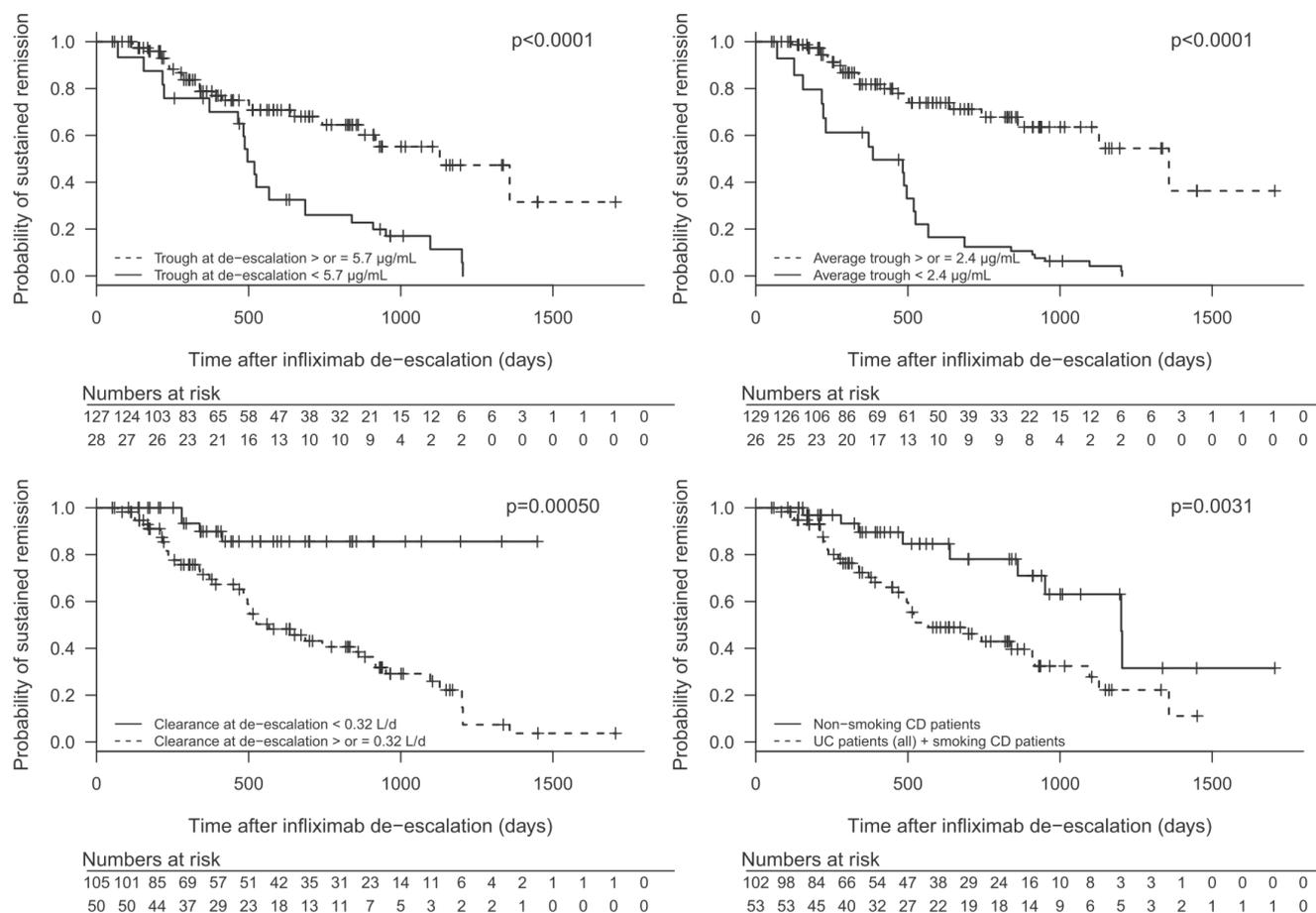


Figure 4 Kaplan–Meier curves for probability of sustained remission after de-escalation. CD, Crohn’s disease; UC, ulcerative colitis.

constituted mainly from trough concentrations, which precluded the identification of the distribution process and of the nonlinear component of infliximab clearance.

Monoclonal antibodies display a target-mediated elimination. For anti-TNF antibodies, such as infliximab, this implies that the subjects with an active disease producing high amounts of TNF α have a faster clearance than the patients in remission. Inversely, the blockade of the effects of TNF α by infliximab induces a decrease in the disease-related inflammation, a consecutive decrease in the production of TNF α , and ultimately results in a decrease in the clearance of the drug. The fluctuations of the disease activity result, therefore, in variations in infliximab exposure, which are themselves responsible for fluctuations of the disease activity. The influence of several parameters reflecting the inflammation level on the clearance of infliximab has been reported in the literature. In particular, a positive correlation between CRP or disease activity and infliximab clearance has been evidenced.^{14,17} Our results are in accordance with this knowledge. However, this influence was characterized using the baseline value of CRP and/or disease activity, and the follow-up of the patients was shorter. In the present study, we have used the clinical scores and the CRP as time-varying covariates. Thus, a CRP of 100 mg/L increased infliximab clearance by 21.6%. Partial Mayo scores of 3 and 10 resulted in an increase in the

clearance of 10% and 25%, respectively. Conversely, there was no detectable influence of the Harvey Bradshaw Index (HBI) on infliximab clearance, probably because the HBI correlates poorly with mucosal inflammation.¹⁸ Patients with UC had a 45.8% faster clearance, in line with a previous pharmacokinetic study.¹⁹ Patients receiving azathioprine co treatment had a 15.1% decrease in infliximab clearance, which confirms previous reports on the effects of combotherapy.^{20,21} This result may be explained by the immunosuppressive effects of azathioprine, which decrease the risk of immunization to infliximab and the activity of the disease, and consequently the target-mediated elimination of infliximab. Similarly, there was a decrease in infliximab clearance following a dose increase, which was less expected. We hypothesized this was due to the improvement of the disease which led to less target-mediated elimination, rather than because of nonlinearity of elimination. Of note, nonlinearity was never reported in previous compartment models describing infliximab pharmacokinetics, which comforts our results. These different results emphasize the great influence of the disease activity on infliximab clearance, and they also underline the wide intra-individual variability of infliximab clearance throughout the treatment (**Figure 3**).

Additionally, previous studies have shown that the pharmacokinetics of monoclonal antibodies is time-dependent notably in

cancer diseases.^{22–24} There is less evidence in inflammatory diseases. It has been shown in adult patients with IBD with maintenance infliximab treatment that there was a negative correlation between the number of infusions and infliximab trough concentrations, independently from CRP and clinical score values, accordingly to our results.²⁵ In the present study, we modeled a slow linear increase in clearance with time, of 0.0348 L/day per year of treatment in a typical subject. Other models, such as the sigmoid- E_{\max} model, were tested since they are more physiological and they were used in previous studies. However, because the shape of the increase in clearance was very close to linear and because this reduced the number of parameters to estimate, a linear model was preferred. This slow increase in clearance was partially correlated to the increase of the body weight. Indeed, in some patients who lost weight, this linear increase was slower but still present. This was never reported before in compartment analysis, but it is important to remain aware of this phenomenon, as it may contribute to explain some relapses in patients under long-term maintenance treatment due to a slow evolution toward underexposure to infliximab.

There was a possible, but not systematic, sharp change in clearance in some patients (11/93; 11.8%). The logit-risk model used here to describe the fast changes in infliximab clearance was already tested in a cohort of children with IBD and is useful to describe immunizations to infliximab as well as transient periods of higher clearance, for example, during the induction phase.¹² Of note, in the present study, only one patient tested positive for ADA. In this patient, the logit-risk model detected a clearance increase of 1.9-fold prior to ADA positivity, indicating that the model described the immunization process well in this patient. The rate of immunization in the present cohort also may have been lower than in the general IBD population, because the patients were selected for treatment de-escalation.

Eventually, the implementation of this complex pharmacokinetic model allowed precise estimations of infliximab trough concentrations, which was a prerequisite for the second part of the study. The survival analysis showed that higher infliximab concentrations were strong predictors of the success of the de-escalation, with a threshold of 5.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ before de-escalation and of 2.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ on average after de-escalation. Consistently, the median trough concentration at the censor time was 2.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in relapsing patients, compared with 5.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in the others ($P < 0.0001$, Wilcoxon rank-sum test), which confirms the role of the exposure in the maintenance of the response.

We chose to keep only the average concentration after de-escalation into the multivariate analysis because the concentrations pre-de-escalation and post-de-escalation were strongly correlated. This choice is questionable, but we felt that the concentration after de-escalation was more suited as it reflects the actual exposure to infliximab after the de-escalation, whatever the concentration before the de-escalation, the individual pharmacokinetic characteristics and/or the modality of the de-escalation (dose, interval, or mixed), with several possibilities of dose and/or interval modifications. However, in a typical subject, a 2-week increase in the infusion interval or a twofold decrease in the dose will approximately result in a twofold decrease in the trough after de-escalation, provided there

is no disease flare or immunization that would result in increased clearance. Thus, in stable patients, de-escalation can be considered if trough infliximab is above 5.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

A higher clearance and a higher linear increase in clearance were logically associated with an increased probability of relapse. These results support our hypothesis that measuring infliximab clearance could be of interest to improve the monitoring of the treatment.¹² A higher volume of distribution was also associated with lower relapse rates. This was unexpected as a higher volume of distribution would result in lower circulating concentrations. The trough concentration values at de-escalation in patients with a volume ≥ 11.4 L or < 11.4 L were not different though ($P = 0.08$, Wilcoxon rank-sum test), because of the variability of the dose regimen and of the clearance values. This probably indicates that the effect of volume rather denotes a difference in the distribution process of infliximab. Thus, patients with a higher volume of distribution would have a higher tissue penetration with better efficacy of the drug, which could explain a lower risk of relapse after de-escalation.

The other factors linked with a higher risk of relapse at de-escalation were UC diagnosis, current smoking, and a higher CRP at de-escalation. These last results are in line with the current knowledge of IBD and are also very close to those reported in a previous study in patients undergoing treatment escalation. In this study, predictors of long-term response were CD diagnosis, non-smoking status, and a normal CRP.²⁶

The therapeutic implications of our results are multiple. First, the wide intra-individual variability of infliximab clearance warrants a pro active TDM, in particular, in case of disease flare, to ensure a sufficient exposure. Moreover, the slow increase in clearance we evidenced may lead to underexposure after several years of treatment even in patients in remission. Second, the use of TDM may help to a better selection of the patients eligible to de-escalation. Patients with CD, nonsmokers, and with low CRP are at lower risk of relapse, but the recourse to TDM increases the probability of success of de-escalation by selecting only patients who have sufficient concentration before de-escalation (i.e., > 5.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Multiple concentrations should be obtained after de-escalation to ensure a sufficient exposure by maintaining trough concentrations above 2.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ultimately, the measurement of clearance using compartment modeling may guide dosing adaptations at de-escalation. Indeed, lower increases in the dosing interval are required in “high clearers” to avoid underexposure.

CONCLUSION

The results of this study show that the pharmacokinetics of infliximab in adult patients with IBD varies with time. Clearance variations are closely related to the disease activity, the level of inflammation, and the treatment, but there are also unexplained variations, such as a slow linear increase that remains only partially explained by body weight variations. Infliximab trough concentrations at de-escalation above 5.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and after de-escalation above 2.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ were associated with better clinical outcomes, as well as a lower clearance and a higher volume of distribution. Nonsmoking, a diagnosis of CD, and a low CRP at de-escalation were also predictive of a better

Table 3 Factors influencing the rate of relapse after infliximab de-escalation

| Variable | Univariate analysis | | Multivariate analysis (Cox) | |
|---|---------------------|----------------------|-----------------------------|----------------------|
| | HR (95% CI) | P value ^a | HR (95% CI) | P value ^a |
| Demographics and disease history and phenotype | | | | |
| Age | 1.00 (0.98–1.03) | 0.69 | | |
| Male sex | 1.40 (0.79–2.48) | 0.25 | | |
| Tobacco (nonsmokers vs. current or former) | 0.48 (0.27–0.85) | 0.012 | | |
| Disease (UC vs. CD) | 1.32 (0.77–2.29) | 0.31 | | |
| Disease and tobacco | | | | |
| CD, nonsmoker (reference) | 1 | – | | |
| CD, smoker or former | 3.29 (1.52–7.15) | 0.0026 | | |
| UC, nonsmoker | 2.34 (1.14–4.82) | 0.021 | | |
| UC, smoker or former | 2.82 (1.01–7.85) | 0.048 | | |
| UC (all) + smokers with CD | 2.77 (1.41–5.44) | 0.0031 | 2.83 (1.29–6.23) | 0.0093 |
| Age at diagnosis (< 16 years vs. ≥ 16 years) | 0.31 (0.10–0.99) | 0.047 | | |
| Previous treatment by glucocorticoids | 1.09 (0.62–1.92) | 0.77 | | |
| Previous treatment by 5-asa | 1.33 (0.75–2.40) | 0.34 | | |
| Previous treatment by immunomodulators | 0.95 (0.52–1.75) | 0.88 | | |
| Previous treatment by adalimumab | 1.25 (0.60–2.57) | 0.55 | | |
| Previous bowel surgery | 1.30 (0.69–2.45) | 0.42 | | |
| Clinical and biological characteristics and treatments at the time of the de-escalation | | | | |
| Disease duration | 1.00 (0.96–1.05) | 0.83 | | |
| Duration of infliximab therapy | 0.98 (0.89–1.09) | 0.76 | | |
| Clinical score ≥ 1 | 1.71 (0.85–3.42) | 0.13 | | |
| CRP | 1.06 (1.02–1.11) | 0.0019 | 1.10 (1.04–1.17) | 0.00064 |
| Hemoglobin | 0.90 (0.69–1.17) | 0.42 | | |
| Neutrophil count | 1.00 (0.99–1.00) | 0.67 | | |
| Lymphocytes count | 0.72 (0.53–1.01) | 0.059 | | |
| Immunomodulator use | 1.19 (0.59–2.39) | 0.62 | | |
| Pharmacokinetic characteristics | | | | |
| Volume of distribution (continuous) | 0.81 (0.70–0.95) | 0.0075 | | |
| Volume of distribution ≥ 11.4 L | 0.33 (0.17–0.63) | 0.00081 | | |
| Clearance at the time of the de-escalation (continuous) | 38.73 (8.11–185) | < 0.0001 | | |
| Clearance at the time of the de-escalation ≥ 0.31 L/hour | 5.83 (2.16–15.8) | 0.00050 | | |
| Slope of linear clearance increase (continuous) ^b | 1.01 (1.01–1.03) | < 0.0001 | | |
| Slope of linear clearance increase ≥ 0.032 L/day/year | 1.16 (0.64–2.08) | 0.63 | | |
| Infliximab trough at de-escalation (continuous) | 0.94 (0.90–0.99) | 0.014 | | |
| Infliximab trough at de-escalation ≥ 5.7 µg/mL | 0.34 (0.21–0.57) | < 0.0001 | | |
| Average trough after de-escalation (continuous) | 0.86 (0.74–1.00) | 0.051 | | |
| Average trough after de-escalation ≥ 2.4 µg/mL | 0.20 (0.12–0.33) | < 0.0001 | 0.27 (0.14–0.52) | 0.00010 |
| Infliximab trough at censor time (continuous) | 0.85 (0.74–0.98) | 0.023 | | |
| Infliximab trough at censor time ≥ 2.2 µg/mL | 0.22 (0.13–0.36) | < 0.0001 | | |

Bold values denote significant P-values < 0.05.

AZA, azathioprine; CD, Crohn's disease; CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; HR, hazard ratio; UC, ulcerative colitis.

^aWald test.

^bHR is given for slope × 1,000, to avoid unreadable values of HR and 95% CI due to the small values of the slope.

outcome. These results may help with the screening of the patients eligible to de-escalation and physicians' decision making but also emphasize the need of a proactive drug monitoring of

infliximab concentrations. A prospective assessment of model-based dosing adaptations to increase the probability of maintenance of the remission is now warranted.

PATIENTS AND METHODS

Patients and study design

This was an observational, “real-world,” monocentric study, with a retrospective analysis of prospectively recorded clinical and biological data. The database was approved by the Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL #1412467). The study included 91 adult patients with IBD treated with intravenous infliximab who needed treatment intensification to obtain remission and who subsequently underwent treatment de-escalation. The decision of de-escalation was taken by senior physicians experienced in the management of IBD. Patients were eligible to de-escalation if they were in clinical remission, defined as an HBI < 4 for CD or a partial Mayo score < 2 for UC and if they were in biological remission, defined as a CRP < 5 mg/L at the time of the evaluation. De-escalation consisted either of a dose reduction to a minimum of 5 mg/kg of infliximab and/or an increase in the interval between infusions of 1 to 4 weeks, to a maximum interval of 12 weeks.

Infliximab trough concentrations were measured before and/or after de-escalation and/or along the treatment period at the discretion of the clinician, using a validated Enzyme-Linked Immunosorbent Assay method.²⁷ The detection of ADA was performed with an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay method previously described.²⁸ This ADA assay is “drug sensitive” (i.e., ADA cannot be measured in the presence of infliximab), thus only sera with infliximab level < 0.1 µg/mL were tested for ADA.

Demographics and biologics were recorded at baseline and throughout follow-up at each infusion. The complete history of the treatment was retrieved as well. The clinical response after de-escalation was assessed by the HBI²⁹ or the partial Mayo Score³⁰ with respect to the IBD. The success of the de-escalation was defined as the absence of recurrence of clinical and/or endoscopic symptoms, as well as the absence of biological signs of underlying inflammation. Failure was defined as the necessity, based on the aforementioned criteria, to increase infliximab treatment or switch/swap to another treatment. The decision of considering the outcome of de-escalation as a failure was taken by the physician in charge of the patient, who subsequently adapted the treatment to induce remission of the disease.

Pharmacokinetic analysis

Population pharmacokinetic modeling was performed using Monolix version 4.3.3 (Lixoft, Orsay, France). A one-compartment structural model with zero-order infusion and first-order elimination was implemented and parametrized in terms of clearance (CL) and central volume of distribution. Nonlinear and mixed (linear and nonlinear) eliminations were tested. The pharmacokinetic parameters were assumed to be log-normally distributed:

$$\theta_i = \theta_{TV} \cdot e^{\eta_i}, \eta_i \sim N(0, \omega^2)$$

where θ_i is the estimated individual parameter for the i^{th} patient, θ_{TV} is the typical value, and η_i is the random effect for the i^{th} patient. The values of η_i were assumed to be normally distributed with a mean of 0 and a variance of ω^2 . For each parameter, ω^2 was fixed to 0 if the distribution of the η_i could not be estimated properly.

Additive, proportional, and combined additive-proportional residual error models were tested. The combined additive-proportional error model was implemented as follows:

$$Y_{O,ij} = Y_{P,ij} \cdot (1 + \varepsilon_{prop,ij}) + \varepsilon_{add,ij}, \varepsilon_{prop,ij} \sim N(0, \sigma_{prop}^2), \varepsilon_{add,ij} \sim N(0, \sigma_{add}^2)$$

where $Y_{O,ij}$ and $Y_{P,ij}$ are observed and predicted i^{th} measurements for the i^{th} patient, respectively, and $\varepsilon_{prop,ij}$ and $\varepsilon_{add,ij}$ are proportional and additive errors, with a mean of 0 and variances of σ_{prop}^2 and σ_{add}^2 , respectively.

Investigation of the effect of covariates

The effect of the following covariates on the pharmacokinetic parameters was investigated: age, gender, body weight, body mass index, presence of ADA, hemoglobin, neutrophil count, lymphocyte count, CRP, disease (CD or UC) and corresponding activity scores (HBI and partial Mayo score, respectively), disease phenotype and age at diagnosis according to the Montreal classification, disease duration, infliximab therapy duration, previous treatment by adalimumab, 5-aminosalicylic acid and/or glucocorticoids, concomitant use of azathioprine, prior bowel surgery, and tobacco use. Continuous covariates were power-transformed and centered on their median:

$$\theta_{TV} = \theta_0 \cdot \left(\frac{\text{COV}}{\text{med}(\text{COV})} \right)^{\beta_{\text{COV}}}$$

where θ_0 is the value of θ for a median subject, β_{COV} quantifies the influence of the covariate on θ , and $\text{med}(\text{COV})$ is the median value of the covariate in the study population. The influence of categorical covariates was tested with respect to a reference category:

$$\ln(\theta_{TV}) = \ln(\theta_{\text{CAT}=0}) + \beta_{\text{CAT}=i}$$

where $\theta_{\text{CAT}=0}$ is the value of θ_{TV} in an arbitrary reference category, and $\beta_{\text{CAT}=i}$ quantifies the influence of the i^{th} category on the value of θ_{TV} .

Modeling of the effects of the time-varying covariates

The poor predictive performance of a simple one-compartment model with static clearance suggested that infliximab pharmacokinetics varied with time, which was expected given the extended follow-up (median (minimum–maximum) of 3.75 years (0.93–5.34 years)). This was attributed to the variations of the activity of the disease and of the level of inflammation, disease flares, body weight variations, and/or immunization to infliximab. Therefore, CRP, body weight, body mass index, and clinical scores were tested as time-varying covariates. The influence of the co-treatment with azathioprine was tested as well, as a multiplicative factor on the clearance:

$$CL_i = CL_{\text{base}_i} \cdot \text{fact}_{\text{cotreat}}^{\text{AZA}}$$

where CL_i is the actual clearance of the i^{th} individual, CL_{base_i} is the clearance of the i^{th} individual without azathioprine, $\text{fact}_{\text{cotreat}}$ is a multiplicative factor that quantifies the influence of azathioprine co-treatment on CL_{base_i} , and AZA is an indicator variable taking the value 1 if azathioprine is present and 0 otherwise. As a first approach, the same type of equation was used to test the influence of ADA and of treatment intensification, defined as an increase of the dose of infliximab.

Modeling of the time-varying clearance of infliximab

Despite the use of time-varying covariates, there were still important prediction errors. In particular, there was an overestimation bias that increased with time. As this was already reported before in noncompartment analysis²⁵ and suggested by the present data, a time-varying clearance model was implemented that describes a linear increase in clearance with time:

$$CL_i(t) = CL_i + \text{slope}_{CL_i} \cdot \frac{t}{365.25}$$

where $CL_i(t)$ is the value of infliximab clearance of the i^{th} individual at time t (in days), and slope_{CL_i} represents the absolute value of the clearance increase over a year.

Nevertheless, there remained some changes in infliximab concentrations that could still not be described with the model above. There were obvious increases in clearance followed by very low concentrations, strongly suggesting the occurrence of an immunization but without

ADA evidence. Therefore, a logit model was used to detect and describe the clearance variations that were not explained by the aforementioned time-varying model, as we previously reported.¹² Briefly, this model is constituted of a linear risk function of time which is logit-transformed as follows:

$$\text{Risk}_i(t) = -\text{baserisk}_i + \text{beta}_i \cdot t$$

$$\text{Logit}[\text{risk}_i(t)] = \frac{\exp \text{risk}_i(t)}{1 + \exp \text{risk}_i(t)}$$

where baserisk_i and beta_i denote the intercept and the slope of the risk function in the i^{th} individual, respectively. The logit of the risk, ranging between 0 and 1, is then applied as a power function of a multiplicative term (CL_{var_i}) that quantifies the magnitude of the clearance variation:

$$\text{CL}_i(t) = \text{CL}_{\text{base}_i} \cdot \text{CL}_{\text{var}_i}^{\text{logit}[\text{risk}_i(t)]}$$

CL_{var_i} is assumed to be log-normally distributed and its typical value is assumed to be equal to 1, meaning that in a typical individual, no change in the clearance is observed.

Model comparison and covariate selection

The objective function was defined as the $-2 \log$ -likelihood (-2LL) and the ΔOFV was used for model comparison and covariate selection. Nested and non nested models were compared with the likelihood ratio test and Akaike's information criterion, defined as $-2\text{LL} + 2p$ (where p denotes the number of estimated parameters), respectively.

The screening of the relevant time-varying covariates was performed before including the time-varying clearance described above, to avoid rejecting a significant covariate, which effect would be inappropriately described by these time-varying functions. The effects of the static covariates were tested after implementing the effects of the time varying covariates and the time-varying clearance. Relevant covariates were selected using the likelihood ratio test at the univariate step with a risk α of 10%, and were then retained in the full model if their removing resulted in a significant increase of the OFV at a risk α of 1%. The covariate selection was also based on the reduction of the unexplained variability of the parameters, and on the value of the Wald test that verifies whether the values of β_{COV} or $\beta_{\text{CAT}=i}$ are significantly different from 0.

The parameters were estimated using the stochastic approximation-maximization algorithm with simulated annealing. The relative standard errors were calculated by stochastic approximation. The model comparison and selection procedures were also based on the inspection of the observed vs. individual predicted concentrations, the distribution of the individual weighted residuals, and the inspection of the predictions vs. time plot. Prediction-corrected visual predictive checks were examined, based on 500 simulated replicates of the dataset. The individual parameters were determined by the Empirical Bayes Estimates calculation and were used to estimate the values of the trough concentrations before each infusion.

Investigation of the factors influencing the outcome of infliximab de-escalation

A survival analysis was performed in order to investigate predictive factors of relapse. Because some patients had several consecutive de-escalations, an individual-clustered analysis with repeated events was used. The analysis was performed with Kaplan–Meier curves and univariate comparisons with the Wald test, which does not assume the independence of the observations within a cluster. The numerical variables were tested as continuous covariates, and the trough concentration and pharmacokinetic parameters were also transformed into binomial

covariates using recursive partitioning if they gave a P value < 0.05 under their continuous form.

All the variables with univariate tests giving a P value < 0.2 were included in a multivariate Cox model. The final multivariate model was chosen after backward selection of significant uncorrelated variables. A P value < 0.05 was considered as significant.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank all physicians and nurses who were involved in patients' care, as well as the patients themselves. The authors also wish to thank Professor H. Watier for antidrug antibodies assays, and Dr C. Lebert for providing data on infliximab treatment supply.

FUNDING

No funding was received for this work.

CONFLICT OF INTEREST

G.B. received lecture fees from Abbvie, Ferring, MSD, Takeda, and Pfizer and consulting fees from Takeda and Janssen. L.S. received lecture fees from Abbvie, Ferring, and MSD. L.S. received consultant fees from Takeda and Ferring. A.P. received lecture fees from Abbvie. All other authors declared no competing interests for this work.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

A.P., G.B., and E.B. wrote the manuscript, G.B., L.S., and A.P. designed the research, G.B., L.S., C.B., C.L., M.-C.V., F.L., A.P., and C.T. performed the research, A.P. and G.B. analyzed the data, A.P., M.-C.V., F.L., and C.T. contributed new reagents/analytical tools.

© 2019 The Authors *Clinical Pharmacology & Therapeutics* © 2019 American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics

- Sofia, M.A. & Rubin, D.T. The impact of therapeutic antibodies on the management of digestive diseases: history, current practice, and future directions. *Dig. Dis. Sci.* **62**, 833–842 (2017).
- Williams, C.J., Peyrin-Biroulet, L. & Ford, A.C. Systematic review with meta-analysis: malignancies with anti-tumour necrosis factor-alpha therapy in inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **39**, 447–458 (2014).
- Lemaitre, M. *et al.* Association between use of thiopurines or tumor necrosis factor antagonists alone or in combination and risk of lymphoma in patients with inflammatory bowel disease. *JAMA* **318**, 1679–1686 (2017).
- Louis, E. *et al.* Maintenance of remission among patients with Crohn's disease on antimetabolite therapy after infliximab therapy is stopped. *Gastroenterology* **142**, 63–70 e5 (2012); quiz e31.
- Bortlik, M. *et al.* Discontinuation of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease patients: a prospective observation. *Scand. J. Gastroenterol.* **51**, 196–202 (2016).
- Reenaers, C. *et al.* Outcomes 7 years after infliximab withdrawal for patients with Crohn's disease in sustained remission. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **16**, 234–243 e2 (2018).
- Fiorino, G. *et al.* Discontinuation of infliximab in patients with ulcerative colitis is associated with increased risk of relapse: a multinational retrospective cohort study. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **14**, 1426–1432 e1 (2016).
- Bejan-Angoulvant, T. *et al.* Brief report: Relationship between serum infliximab concentrations and risk of infections in patients treated for spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol.* **69**, 108–113 (2017).
- Amiot, A. *et al.* Therapeutic drug monitoring is predictive of loss of response after de-escalation of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* **40**, 90–98 (2016).
- Lucidarme, C. *et al.* Predictors of relapse following infliximab de-escalation in patients with inflammatory bowel disease: the value of a strategy based on therapeutic drug monitoring. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **49**, 147–154 (2019).

11. Vande Casteele, N. *et al.* Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* **148**, 1320–1329 e3 (2015).
12. Petitcollin, A. *et al.* Modeling immunization to infliximab in children with Crohn's disease using population pharmacokinetics: a pilot study. *Inflamm. Bowel Dis.* **24**, 1745–1754 (2018).
13. Brandse, J.F. *et al.* A real-life population pharmacokinetic study reveals factors associated with clearance and immunogenicity of infliximab in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* **23**, 650–660 (2017).
14. Buurman, D.J., Maurer, J.M., Keizer, R.J., Kosterink, J.G. & Dijkstra, G. Population pharmacokinetics of infliximab in patients with inflammatory bowel disease: potential implications for dosing in clinical practice. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **42**, 529–539 (2015).
15. Aubourg, A., Picon, L., Lecomte, T., Bejan-Angoulvant, T., Paintaud, G. & Ternant, D. A robust estimation of infliximab pharmacokinetic parameters in Crohn's disease. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **71**, 1541–1542 (2015).
16. Fasanmade, A.A. *et al.* Population pharmacokinetic analysis of infliximab in patients with ulcerative colitis. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **65**, 1211–1228 (2009).
17. Ternant, D. *et al.* Pharmacokinetics and concentration-effect relationship of adalimumab in rheumatoid arthritis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **79**, 286–297 (2015).
18. Peyrin-Biroulet, L. *et al.* Defining disease severity in inflammatory bowel diseases: current and future directions. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **14**, 348–354 e17 (2016).
19. Passot, C. *et al.* The underlying inflammatory chronic disease influences infliximab pharmacokinetics. *MAbs* **8**, 1407–1416 (2016).
20. Ternant, D. *et al.* Relationship between inflammation and infliximab pharmacokinetics in rheumatoid arthritis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **78**, 118–128 (2014).
21. Yarur, A.J. *et al.* Concentrations of 6-thioguanine nucleotide correlate with trough levels of infliximab in patients with inflammatory bowel disease on combination therapy. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **13**, 1118–1124 e3 (2015).
22. Li, J. *et al.* Population pharmacokinetics of rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Pharmacol.* **52**, 1918–1926 (2012).
23. Gibiansky, E., Gibiansky, L., Carlile, D.J., Jamois, C., Buchheit, V. & Frey, N. Population pharmacokinetics of obinutuzumab (GA101) in chronic lymphocytic leukemia (CLL) and non-Hodgkin's lymphoma and exposure-response in CLL. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* **3**, e144 (2014).
24. Bajaj, G., Wang, X., Agrawal, S., Gupta, M., Roy, A. & Feng, Y. Model-based population pharmacokinetic analysis of nivolumab in patients with solid tumors. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* **6**, 58–66 (2017).
25. Marits, P. *et al.* Trough s-infliximab and antibodies towards infliximab in a cohort of 79 IBD patients with maintenance infliximab treatment. *J. Crohns Colitis* **8**, 881–889 (2014).
26. Katz, L. *et al.* Doubling the infliximab dose versus halving the infusion intervals in Crohn's disease patients with loss of response. *Inflamm. Bowel Dis.* **18**, 2026–2033 (2012).
27. Ternant, D. *et al.* An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of infliximab. *Ther. Drug Monit.* **28**, 169–174 (2006).
28. Magdelaine-Beuzelin, C. *et al.* IgG1 heavy chain-coding gene polymorphism (G1 m allotypes) and development of antibodies-to-infliximab. *Pharmacogenet. Genomics* **19**, 383–387 (2009).
29. Harvey, R.F. & Bradshaw, J.M. A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet* **1**, 514 (1980).
30. Lewis, J.D., Chuai, S., Nessel, L., Lichtenstein, G.R., Aberra, F.N. & Ellenberg, J.H. Use of the noninvasive components of the Mayo score to assess clinical response in ulcerative colitis. *Inflamm. Bowel Dis.* **14**, 1660–1666 (2008).

4.4.2. Commentaires sur l'article 3.

Dans ce troisième travail, la modélisation pharmacocinétique a été utilisée pour faire une description de la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle de l'infliximab et de ses sources sur une période suivie longue (médiane de 3,75 années), chez des patients ayant bénéficié de multiples ajustements de posologie. C'était une étude « en vraie vie » reflétant la réalité de l'utilisation de l'infliximab en pratique courante. Les données de pharmacocinétique ont ensuite été utilisées pour faire une analyse de la relation concentration-effet dans le cadre spécifique de la désescalade.

L'étude de la variabilité intra-individuelle a permis de mettre en évidence les fluctuations parfois importantes de clairance au cours d'un traitement par infliximab et d'en étudier les causes. Certaines de ces causes étaient attendues car elles avaient déjà été décrites, comme l'influence d'un co-traitement par azathioprine ou des facteurs reflétant la masse antigénique comme la CRP et les scores cliniques. Cependant, c'était la première fois que ces facteurs étaient utilisés sous forme de covariables changeant au cours du temps. De manière intéressante, l'HBI utilisé dans la MC n'influencait pas la clairance, alors que le Mayo score utilisé dans la RCH avait une influence significative. Ce résultat inattendu montre que l'HBI est peut-être un marqueur peu corrélé à la masse antigénique dans la MC. Il a d'ailleurs été démontré que l'HBI était peu corrélé à l'inflammation muqueuse (Peyrin-Biroulet 2016). Buurman et collègues ont rapporté une influence de l'HBI sur le volume de distribution de l'infliximab ; cette différence avec nos résultats est probablement liée au fait que dans leur étude, les patients étaient en phase d'induction, donc très inflammatoires (Buurman 2015). Dans ce contexte, l'HBI pouvait être corrélé à l'inflammation, et un effet de « pompe antigénique » a probablement été observé. Au contraire, la plupart des patients de notre étude étaient en rémission pendant la plus grande partie de leur suivi.

Un second résultat inattendu dans notre étude était une réduction de la clairance avec l'augmentation de la dose. Ce résultat peut suggérer une non-linéarité pharmacocinétique, phénomène qui n'a jamais été observé avec l'infliximab en clinique. Cependant, il est probable qu'il s'agissait plutôt d'un effet de réduction de la clairance liée à une réduction de l'inflammation et donc de la masse antigénique et de l'exsudation colique. Cela est d'autant plus probable que les augmentations de dose étaient pratiquées presque exclusivement

chez des patients en échappement qui nécessitaient une intensification de traitement. Il est intéressant de constater que cet effet de la dose a pu être gardé dans le modèle multivarié, suggérant une certaine indépendance avec l'influence de la CRP et du score Mayo qui étaient pourtant élevés chez les patients en échappement. Ces résultats sont par ailleurs en contradiction avec ceux de Berends et collègues, qui ont retrouvé une clairance plus élevée chez les patients ayant une posologie plus élevée d'adalimumab (Berends 2018). Dans leur étude, posologie élevée et activité de la maladie étaient corrélés et ils n'ont conservé que la posologie dans le modèle multivarié. Une autre étude a montré une disparition des ADA et une augmentation de la concentration suite à l'augmentation de posologie de l'adalimumab, suggérant qu'il est possible de « surmonter » l'immunisation (Echarri 2019). Ce phénomène pourrait expliquer l'apparente réduction de clairance que nous avons observée avec l'augmentation de la dose.

Enfin, un dernier résultat intéressant dans notre étude est l'inclusion de deux fonctions temps-dépendantes dans le modèle. Une première fonction était la même que celle utilisée dans l'étude 1 ; elle a permis de décrire des augmentations importantes de clairance fortement évocatrices d'immunisation, ou au contraire des réductions importantes de clairance notamment suite à des intensifications de traitement, qui évoquent des immunisations « surmontées ». Comme dans la première étude, l'absence de données fiables concernant la détection des ADA ne permet pas de vérifier ces hypothèses. Cependant, l'utilisation de cette fonction temps-dépendante dans une cohorte presque 5 fois plus importante a permis de valider son utilité pour décrire des variations de clairance observées, mais dont l'origine ne peut être expliquée par les covariables disponibles.

La seconde fonction temps-dépendante décrivait une croissance linéaire de la clairance de l'infliximab au cours du temps. Cette observation est la première pour l'infliximab, mais un phénomène similaire a été décrit pour le certolizumab (Vande Casteele 2017). Son origine est partiellement expliquée par les variations de poids corporel des patients, mais même chez les patients dont le poids tendait à diminuer, cette augmentation progressive restait présente. A nouveau, cela illustre bien la complexité de la variabilité pharmacocinétique de l'infliximab. Chez un patient atteint de MICI, la guérison s'accompagne d'une reprise de poids, ce qui augmente la clairance non-spécifique. Pourtant, la guérison réduit l'inflammation systémique, l'exsudation et la masse antigénique, et donc réduit la clairance

non-spécifique (pour les deux premières) et spécifique (pour la dernière). En parallèle, on peut supposer l'apparition progressive d'une immunisation à bas bruit au cours du traitement, cohérente avec l'augmentation de la probabilité cumulée d'immunisation avec le temps, et augmentant progressivement la clairance. Au final, la somme de tous ces facteurs est une augmentation lente de la clairance avec le temps. Au-delà de la description et de l'explication de ce phénomène, les implications en clinique sont importantes : l'échappement secondaire à long terme paraît inévitable, l'histoire naturelle du traitement allant vers la sous-exposition à cause de cette augmentation lente de clairance. Ce phénomène est par ailleurs cohérent avec la fréquence plus élevée d'ADA chez les patients âgés (Paul 2019).

La seconde partie de l'étude s'est concentrée sur la relation concentration-effet de l'infliximab en situation de désescalade, pour répondre aux questions posées par l'étude présentée en 4.3. La modélisation pharmacocinétique était particulièrement adaptée car elle a permis d'estimer les concentrations résiduelles à toutes les visites chez tous les patients inclus, en particulier lorsque des dosages n'avaient pas été réalisés juste avant et juste après la désescalade. Ces concentrations estimées ont pu servir à l'étude de l'influence de la concentration sur la probabilité de rechute post-désescalade.

De façon attendue, nous avons retrouvé qu'une exposition minimale était requise avant la désescalade, afin d'assurer le maintien de concentrations suffisantes après la désescalade. Nous avons également pu estimer qu'une concentration post-désescalade inférieure à 2.4 µg/mL était associée à un risque accru de rechute. La clairance estimée au moment de la désescalade influençait également la probabilité de rechute, puisqu'elle est le déterminant de la concentration tant en pré- qu'en post-désescalade. Deux points ici paraissent importants à noter.

D'une part, la concentration résiduelle minimale efficace post-désescalade était légèrement plus faible que retrouvée habituellement (≈ 3 µg/mL). Cela s'explique probablement par le fait que les patients sélectionnés pour la désescalade étaient en rémission, ce qui est cohérent avec la notion de besoins différents en médicament selon l'objectif thérapeutique. Ainsi, le maintien de la rémission requière une exposition plus faible que son induction (voir 1.2.2.1).

Ce résultat est également cohérent avec une étude qui a montré que des concentrations résiduelles comprises entre 2 et 3 $\mu\text{g/mL}$ pouvaient être suffisantes en l'absence de signe d'inflammation muqueuse (calprotectine fécale $<250\mu\text{g/g}$ de selles) (Roblin 2017).

D'autre part, dans l'étude précédente nous avons montré que la désescalade, en divisant la dose par deux ou en allongeant l'intervalle d'administration de deux semaines, aboutissait globalement à une division par deux de la concentration résiduelle. Cependant cette tendance générale était assortie d'une importante variabilité inter-individuelle. La linéarité pharmacocinétique de l'infliximab aux doses utilisées en clinique fait qu'une division de la dose par deux aboutit à une division de la résiduelle par deux, sans variabilité (tant que d'autres sources de variabilité ne changent pas). Par contre, la variabilité inter-individuelle de la clairance explique la variabilité de l'évolution de la concentration post-désescalade suite à un allongement de l'intervalle d'injection. Il semble donc que l'évaluation de la concentration pré-désescalade seule soit insuffisante ; une évaluation de la clairance à l'instant de la désescalade serait également importante, car chez les patients qui ont une clairance élevée, le risque est d'obtenir des concentrations post-désescalade inférieures au seuil minimal requis.

Cela conforte l'hypothèse que nous avons formulée dans la première étude selon laquelle le monitoring des concentrations seules serait insuffisant, et devrait être complété par des évaluations individuelles de la clairance. En évaluant à la fois la clairance pré-désescalade et la concentration résiduelle pré-désescalade, il serait possible de proposer allongements d'intervalle d'administration adaptés individuellement à la clairance du patient. De plus, le monitoring régulier de la clairance post désescalade pourrait permettre de mettre en évidence des accélérations de clairance évocatrices d'une rechute ou d'une immunisation post-désescalade. Ce concept peut aussi être généralisé au suivi du traitement hors désescalade, puisque les variations intra-individuelles de la clairance sont le reflet global des variations d'activité de la maladie et du statut immunogène.

Enfin, cette étude pose une question qui reste à ce jour sans réponse définitive : les modalités de désescalade (dose et/ou intervalle d'injection) influencent-elles la probabilité de rechute post-désescalade ? La réponse est oui, dans la mesure où les modalités de désescalade influencent l'évolution de la concentration résiduelle post-désescalade. Lorsqu'une évaluation de la clairance est impossible, une désescalade de dose est préférable

car l'évolution de la concentration résiduelle sera proportionnelle à la réduction de dose et donc facilement prévisible. Cependant, en termes d'efficacité, les modalités de désescalade paraissent importer peu tant que la concentration résiduelle post-désescalade reste supérieure au seuil minimal requis pour le maintien de la rémission.

4.5. Etude 4. Relation entre exposition cumulée à l'infliximab en traitement d'entretien et risque infectieux chez des patients adultes atteints de MICI

Article soumis pour publication dans *the American Journal of Gastroenterology*

4.5.1. Résumé

Introduction : Le traitement par infliximab est associé à un risque accru d'infections chez les patients atteints de Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI). Cependant, la relation entre la concentration résiduelle et le risque infectieux reste controversé. Cette étude visait à rechercher les facteurs augmentant le risque infectieux chez des patients adultes atteints de MICI traités par infliximab, en incluant les données de pharmacocinétique.

Méthodes : Entre novembre 2016 et avril 2017, les patients en traitement d'entretien par infliximab ont été inclus et suivis prospectivement à chaque visite. Les événements infectieux ont été relevés et les concentrations résiduelles mesurées. L'exposition à l'infliximab a été estimée par le calcul de l'aire sous la courbe des concentrations (ASC), à l'aide d'un modèle pharmacocinétique compartimental. L'exposition cumulée (cASC) sur 6 mois a été estimée en additionnant les ASC à chaque perfusion.

Résultats : Au total, 209 patients ont été inclus, d'âge moyen 39 ans, dont 102 hommes (49%) et 159 patients atteints de maladie de Crohn (76%). Cinquante-quatre patients (26%) étaient sous combothérapie. La concentration résiduelle moyenne était de 5.46 µg/mL et la cASC de 3938 (±1427) µg.j/mL. Au total, 215 infections ont été relevées sur 640 visites. Cent vingt-trois patients (59%) ont déclaré au moins une infection. En analyse multivariée, trois facteurs étaient indépendamment associés avec la survenue d'au moins une infection : le tabagisme (OR = 2.05, p = 0.046), la survenue d'une poussée de la maladie (OR = 2.71, p = 0.006) et une cASC élevée (>3234 µg.d/dL) (OR = 2.02, p = 0.02). La concentration résiduelle n'était pas associée au risque infectieux.

Conclusion : Environ deux tiers des patients ont développé au moins une infection au cours de la période de suivi. Nos résultats montrent que l'exposition cumulée à l'infliximab est associée au risque infectieux. Ces données encouragent à envisager une désescalade thérapeutique dès que possible chez les patients en rémission pour réduire le risque de survenue d'infection.

HIGH INFlixIMAB EXPOSURE INCREASES THE RISK OF INFECTION

Short title: Infliximab exposure and infection

Amandine Landemaine¹, Antoine Petitcollin², Charlène Brochard³, Céline Miard¹, Marie Dewitte¹, Eric Le Balc'h¹, Eric Bellissant², Laurent Siproudhis³, Guillaume Bouguen³

¹ CHU Rennes, Univ Rennes, F-35000 Rennes, France

² CHU Rennes, Univ Rennes, INSERM, CIC1414, F-35000 Rennes, France

³ CHU Rennes, Univ Rennes, INSERM, CIC1414, Institut NUMECAN (Nutrition Metabolism and Cancer), F-35000 Rennes, France

Correspondence:

Guillaume Bouguen, MD, PhD

Service des Maladies de l'Appareil Digestif

2 rue Henri le Guillou 35033 Rennes cedex, FRANCE

Telephone (0033)-2-99-28-43-17 / Fax (0033)-2-99-28-41-89

Email: guillaume.bouguen@chu-rennes.fr

Word count (excluding title page, abstract, references, figures and tables): 5489

Conflicts of Interest: **GB** received lecture fees from Abbvie, Ferring, MSD, Takeda and Pfizer and consultant fees from Takeda, Janssen. **LS** received lecture fees from Abbvie, Ferring and MSD. **LS** received consultant fees from Takeda and Ferring. **CB** received lecture fees from Ipsen. **AP** received lecture fees from Hospira. **AL, CM, MD** and **EB** declare no conflict of interest.

Authors' contributions: conception and design of the study: AL, GB ; acquisition of data: AL, CM, LS, CB, MD, EB, AP, GB ; analysis and interpretation of data AL, GB, AP ; drafting the article: AL GB ; and revising it critically for important intellectual content: all authors. The manuscript was approved by all authors.

ABSTRACT

Background and aims:

Infliximab (IFX) increases the risk of infection in patients with inflammatory bowel diseases (IBD), but the relationship between drug concentration and infections remains controversial. The study aimed to assess factors associated with infection among IFX-treated patients, including pharmacokinetic data.

Methods:

IBD patients receiving the IFX maintenance regimen from November 2016 to April 2017 were prospectively followed at each infusion visit. IFX exposure was estimated by the area under the curve (AUC) of the drug concentration using pharmacokinetic modelling, and the individual exposure over the 6-month period was estimated by the sum of the AUC (Σ AUC).

Results:

A total of 209 patients were included: 102 men (49%), mean age 39 years old, 159 Crohn's disease (76%); 54 (26%) patients received a combination therapy. The mean infliximab trough level was 5.46 mg/L, and the mean Σ AUC was 3938 (\pm 1427) mg.d/L. A total of 215 infections were collected from 640 infusion visits. At least one infection occurred in 123 patients (59%). Three factors were independently associated with infection after a multivariate analysis: smoking (OR=2.05, p =0.046), IBD flare-up (OR=2.71, p =0.006) and a high Σ AUC of IFX (>3234 mg.d/L) (OR=2.02, p =0.02). The Σ AUC was higher in patients with the occurrence of an infection (p =0.04) and correlated with the number of infections (p =0.04). The trough concentration of IFX alone was not associated with infection.

Conclusion:

Almost two-thirds of patients treated with infliximab developed an infection, and this risk was individually related to increased drug exposure. These results encourage starting therapeutic de-escalation for patients in remission.

Key words: Infliximab, Crohn's disease, Ulcerative Colitis, Infection, Drug monitoring

What is already known about this subject?

Anti-TNF treatments increase the risk of infection.

A trough level of infliximab above 3 µg/mL during maintenance therapy is consensually admitted to be associated with clinical remission.

No superior margin of infliximab trough level is clearly defined.

What are the new findings?

Chronic elevated exposure to infliximab increases the risk of infection, particularly in patients in clinical and biological remission.

How might it impact on clinical practice in the foreseeable future?

The dosage adjustment of infliximab should be dynamic to achieve the optimal benefit/risk ratio. For patients in remission, a decrease in the dosing regimen of infliximab maintenance treatment should be performed to decrease the risk of infection.

INTRODUCTION

Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) are both chronic idiopathic and disabling inflammatory bowel diseases (IBD). Over the last twenty years, the advent of tumour necrosis factor alpha (TNF α)-neutralizing agents, namely, infliximab (IFX) and adalimumab, revolutionized the outcome of IBD refractory to standard medications.(1,2)

Although the efficacy of TNF antagonists is widely observed, a number of concerns remain regarding potential serious adverse events, especially infections and malignancies.(3) The first randomized clinical trials assessing the efficacy of IFX in IBD reported any type of infection in broadly half of the patients but did not detect any increase in infections or serious infections compared to placebo.(4) More recently, data from the TREAT registry (The Crohn's Therapy, Resource, Evaluation, and Assessment Tool), a large US-based prospective registry of patients with CD, indicated an increased risk of serious infection with IFX, but not with immunomodulators.(5) In a nationwide population-based study involving French IBD patients,(6) anti-TNF monotherapy was associated with a higher risk of serious, bacterial and mycobacterial infections compared to that in patients unexposed to immunosuppressant as well as patients treated with thiopurine monotherapy. The combination therapy was associated with an even higher risk of serious and opportunistic infection compared to monotherapy with either anti-TNF or thiopurine.

Regarding this increased risk of infection with anti-TNF treatment, no clear relationship between the degree of drug exposure and this risk was observed. Therapeutic drug monitoring (TDM) with trough levels of IFX (TLI) is considered a promising tool to guide dose adjustments of anti-TNF treatment because of a strong association between TLI and treatment efficacy.(7–9) A TLI above 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ during maintenance therapy is consensually admitted to be associated with clinical remission with a possible concentration-response effect according to the outcome measure, regardless of the occurrence of side effects.(10–12) A first report in spondyloarthritis observed an increased risk of a first infectious event for patients treated with IFX with recurrent high TLI (mean of the last 3 trough $>11.3 \mu\text{g}/\text{mL}$). (13) However, that result was not reproduced in a recent cohort study of IBD patients, which observed similar rates of infectious events between patients with TLI above or below 7 $\mu\text{g}/\text{mL}$.(14) The latter study was unfortunately retrospective, with a large amount of lacking data and irregular follow-up that precluded an assessment of the true exposure to the drug. In these studies, the exposure to

IFX was approximated by the TLI. However, the same value of TLI may reflect different exposures to the drug, depending on the treatment modalities (dose and infusion interval). The actual exposure over a treatment period can be estimated by the cumulated area under the concentration curve. To date, the relationship between exposure and the occurrence of infection has never been explored.

Thus, the present study aimed to assess the relationship between exposure to IFX and the risk of infection in IBD patients under a maintenance regimen as well as predictors of infectious events.

MATERIALS AND METHODS

Study Population

From the 1st November 2016 to the 30th April 2017, data from all adult patients with an established diagnosis of CD or UC and treated with IFX in a single centre were prospectively recorded over this six-month period. For the current study, all patients receiving IFX therapy for at least four months (maintenance regimen) and without IFX discontinuation during the study period were included.

The following key data were recorded at inclusion: sex, age at diagnosis, height, weight, smoking habits, luminal CD and UC phenotypes according to the Montreal classification (15) at diagnosis, start date for IFX treatment, previous and concomitant medications (including steroids, 5-ASA and immunosuppressants) and surgical history.

During the study period, clinical and biological data were prospectively recorded at each IFX infusion: the dose of IFX received at the last and current visits (mg/kg), the interval between infusions (weeks), the clinical disease activity indices, the occurrence of infections since the last visit infusion and the use of antibiotics, the trough concentration of IFX (mg/L), the haemogram, the C-reactive-protein (CRP, mg/L) and albumin (g/L) concentrations.

The disease activity was assessed using the Harvey-Bradshaw Index (HBI) (16) for CD and the Partial Mayo score (PMS) (17) for UC. The clinical remission was defined by an HBI < 4 for CD or a PMS < 2 for UC. Active disease for a patient was defined as at least one clinical relapse during the study period, corresponding to at least one recorded HBI ≥ 4 or PMS ≥ 2.

Infectious events were reported by the patients at each IFX infusion and were categorized by localization and type of pathogenic organisms according to a systematic questionnaire; rhinolaryngological infections were considered bacterial when an antibiotic treatment was used. Infections related to CD, such as (perianal) abscesses were not considered.

The TLI was measured with an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) fully validated following the FDA guidelines for bioanalytical analysis,⁽¹⁸⁾ just before IFX administration. The intra-day and inter-day bias (relative error) and precision (coefficient of variation) of the method were below 20%.

Patients were willing to be registered in a prospective database for research use, and the study was approved by the “Commission Nationale Informatique et Liberté” (CNIL No1412467). All authors had access to the study data and reviewed and approved the final manuscript.

Pharmacokinetic modelling

Because of the multiple IFX infusion modalities that exist in a real-world cohort of IBD patients, the same value of TLI can be found in patients with different exposures as assessed by the area under the concentration-time curve (AUC), as illustrated in Figure 1. Therefore, we estimated the actual exposure to IFX over the study period by calculating the cumulated AUC (Σ AUC). A Bayesian estimation of individual pharmacokinetic parameters at each infusion interval was performed using a previously published model.⁽¹⁹⁾ Briefly, this model consisted of a one-compartment compartment model with first order elimination; the estimation of the individual parameters was refined by the use of the relevant individual characteristics that were identified to influence the value of the pharmacokinetic parameters (covariates), and an inter-infusion variability was added to account for the changes in clearance during the observation period. The AUC representing the exposure over an infusion interval was derived from the dose and the estimated value of the clearance of IFX. The Σ AUC over the observation period was obtained by summing the AUCs of all the infusions of the study period in a given individual. Pharmacokinetic modeling was conducted with Monolix 4.3.3. (Lixoft, France). The individual parameters were estimated by determination of the Empirical Bayes Estimates (EBE). The 1-compartment model used for AUC calculation may lead to a systematic overestimation of the cAUC. Other published models (including 2-compartment models) were tested and were well correlated (Supplementary Figure 1).

End points

The primary end point was factors associated with the occurrence of at least one infection over the study period. Secondary end points were factors associated with infectious events between infusions and factors associated with higher Σ AUC of IFX.

Statistics

Quantitative variables were described as the mean \pm standard deviation (S.D.). Categorical variables were presented as counts and percent of the cohort. For group comparisons, univariate analysis was performed using the Wilcoxon test for quantitative variables, and a chi-square test (or Fischer test as appropriate) was used for qualitative variables. All significant variables with a p-value <0.2 at the univariate step were integrated into a binary logistic regression model for multivariate analysis. When considering the continuous variables for multivariate analysis, cutoff values were determined by using receiver operating characteristic (ROC) analysis to reduce the risk of bias related to arbitrarily defined cutoffs and to identify the optimal cutoff by using each outcome as a classification variable. A p-value <0.05 was considered significant. Statistical analyses were performed using JMP Pro 13.2 software (SAS Institute Inc., Cary, NC).

RESULTS

Study population

A total of 288 adult IBD patients were treated with IFX during the study period. Among them, 245 patients were treated for at least 4 months at baseline and were under a maintenance regimen. During the 6-month follow-up, 36 patients discontinued IFX infusions for various reasons and were excluded. Finally, 209 patients were included in the current study (Figure 2).

There were 102 (49%) males with a mean age (\pm SD) of 39 (\pm 14) years old and 50 (24%) current smokers. A combination therapy with immunosuppressants was ongoing for 54 (26%) patients. The mean duration of IBD at inclusion was 12.4 (\pm 7.7) years. A total of 54 (26%) and 50 (24%) patients had previously undergone bowel surgery and perianal surgery, respectively. Regarding the 159 (76%) CD patients, 100 (62%) were B1 according to the Montreal

classification, and 60 (37%) had perianal disease. Among the 50 (24%) patients with UC, 21 (42%) had pancolitis. The baseline characteristics of the patients are depicted in Table 1.

Infliximab infusions and disease outcome during the study period

A total of 640 infusions were administered to the 209 patients. Each patient had a mean of 3.1 (± 0.7) infusion visits during a mean follow-up of 24.7 (± 3.5) weeks.

Regarding the scheme of IFX infusions (Supplementary Table 1), 100 (48%) patients at baseline were treated with the classical maintenance regimen of 5 mg/kg every 8 weeks. The treatment regimen was optimized in dose and/or frequency for 64 (31%) patients. A longer dosing interval was ongoing for 42 (20%) patients, and 3 (1.4%) patients had an alternative treatment scheme with a longer interval but a higher dose of IFX. Among the study population, 176 (84%) patients maintained the same treatment regimen over the study period. Optimization or de-escalation of the IFX regimen was performed in 17 (8.2%) and 16 (7.7%) patients, respectively.

A sustained clinical remission of IBD was observed in 152 (73%) patients. Among the 57 (27%) patients who had at least one period of active IBD ($\text{HBI} \geq 4$ or $\text{PMS} \geq 3$), 9 (16%) had chronic active disease, whereas 48 (84%) experienced one or more clinical relapses. Clinical disease activity was reported in 83 infusion visits (13% of 640), corresponding to mild disease ($4 \leq \text{HBI} < 9$ or $2 \leq \text{PMS} < 5$), moderate disease ($9 \leq \text{HBI} \leq 12$ or $5 \leq \text{PMS} \leq 7$) or severe active disease ($\text{HBI} > 12$ or $\text{PMS} > 7$) in 82% (68/83), 14% (12/83) and 3.6% (3/83), respectively. Only five patients received glucocorticoids during the study period. (Supplementary Table 1)

Biological data indicated a mean TLI of 5.5 (± 4.3) $\mu\text{g/mL}$ and a mean albumin concentration of 43.6 (± 2.8) g/L. The mean ΣAUC of IFX per patient was calculated at 3938 (± 1427) mg/dL. (Supplementary Table 2)

Infectious events

A total of 215 infections were reported among the 640 infusion visits, corresponding to 205.7 infections per 100 patient-years. At least one infectious event was documented in 59% of patients (123/209): a single infectious event was collected in 59 (28%) patients during the study and two or more infections were identified in 64 (31%) patients. Antibiotics were prescribed to treat infections in 46 (22%) patients.

Broadly two-thirds of infections were viral (67%), 29% were bacterial and 9% were fungal. The main sites of infection were the ear, nose and throat (ENT - 122 infections [52%]). Most bacterial infections were related to the ENT for 43% (27/63) of reported infections, and 33% (21/63) were mucocutaneous. Among the 143 viral infections, two-thirds were related to the ENT (93 [65%]), 17% (25) were gastroenteritis and 13% (18) were influenza or influenza-like illnesses. Fungal infections were urogenital in 75% (6/8). The characteristics of infections are presented in Table 2.

Factors associated with infection

The risk of infection was studied for each patient over the 6-month period (Table 3). The use of systemic corticosteroids was not considered for statistical purposes (only 5 cases). No difference in the rate of infections was observed according to the type of IBD (58% of patients with CD [92/159] and 62% of patients with UC [31/50]). At the univariate step, three parameters were significantly associated with infection: ongoing smoking ($p=0.066$), active disease ($p=0.0010$) and a high Σ AUC of IFX ($p=0.040$). After multivariate analysis using dichotomized variables, ongoing smoking (OR=2.05; CI95[1.01-4.16]; $p=0.046$), active disease (OR=2.71; CI95[1.32-5.54]; $p=0.0060$) and a high Σ AUC (>3234 mg.d/L) (OR=2.02; CI95[1.11-3.65], $p=0.020$) were significantly associated with an increased risk of infection.

Regarding the disease activity, patients with active disease were more likely than patient in clinical remission to have a high Σ AUC >3234 mg.d/L (43 *versus* 13 patients, $p=0.005$). They were also more likely to have an optimized IFX treatment by either increasing the infused dose or decreasing the interval between two injections ($p=0.01$). When stratifying patients based on disease activity, the risk of infection remained significantly associated with a high Σ AUC among patients in clinical remission (61% of patients with Σ AUC >3234 mg.d/L experienced

any infection vs 41%, $p=0.01$), whereas no significant association between the risk of infection and Σ AUC was found in flaring up patients ($p=0.64$).

Further analysis of the association between Σ AUC of IFX and the different components of infection were performed. The mean Σ AUC of IFX was significantly higher among the group of patients with infections (4105.5 [± 1476.6] versus 3697.9 [± 1324.9] mg.d/L, $p=0.04$) (Figure 3). Moreover, the Σ AUC was significantly and positively correlated with the number of infections ($p=0.04$) (Figure 3), the number of viral infections ($p=0.04$) and was also linked to the occurrence of any viral infections ($p=0.01$). The Σ AUC was not associated with a higher risk of bacterial infections ($p=0.26$), the need for antibiotics ($p=0.05$) nor with fungal infections ($p=0.08$).

When considering the link between TLI and the occurrence of at least one infection between two infusion visits (Supplementary Figure 2), no association was observed across the 640 infusion visits during the study period: mean TLI of 5.46 (± 4.28) mg/L among the 435 infusion visits without infectious events and 5.48 (± 4.30) mg/L for the 135 infusion visits with the report of an infectious event since the last infusion ($p=0.83$).

Factors associated with high Σ auc

A higher Σ AUC of IFX (>3234 mg.d/L) was more frequently observed in recently treated patients ($p=0.03$) and in patients receiving combination therapy ($p=0.02$). It was also linked to a higher dose of infused IFX ($p<0.0001$), a shorter interval between infusions ($p=0.0003$) and a higher TLI over the observation period ($p<0.0001$). (Supplementary Table 3)

DISCUSSION

In the present study, a higher cumulative exposure to IFX was significantly associated with a two-fold increase in the risk of infection in IBD patients. Our data consolidate the retrospective report by Bejan-Angoulvant et al.(13) involving 201 IFX-treated patients with spondyloarthritis, which suggested an increased risk of a first infectious event in patients with a mean of the last 3 TLIs greater than the median (>11.3 $\mu\text{g/mL}$), reflecting a high exposure to IFX. In our cohort of 209 IBD patients treated with an IFX maintenance regimen and followed for a predefined period of time, almost two-thirds of patients (123 [59%]) experienced at least

one infectious event, and 215 infections were reported among the 640 infusion visits. This is in line with the prevalence of infection observed in randomized controlled trials: in the SONIC trial,(20) infections of any type occurred in 46.0% of IFX-treated patients.

The first data about infections in IBD patients treated with IFX from the phase 3 trials suggested there was no increase in infections compared to placebo.(4) Of note, these trials are powered to assess the efficacy but not the safety of the treatment. More recent studies detected an increased risk of serious and opportunistic infections with IFX treatment compared to treatment with other non-biological medications in CD, with an even higher risk associated with combination therapy. (5,6) Most available data on infections with IFX in IBD patients compared IFX to placebo(4) or to another conventional non-biological medication,(5,6) while the relationship between the risk of infection and the serum IFX concentrations remains unclear. Contrary to Bejan-Angoulvant et al.,(13) two studies of the safety of IFX in IBD patients found no increased occurrence of infection with high TLI (> 7 or 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$). (14,21) However, the study design of both studies was not adapted to assess this relationship, and only one value of TLI was used to assess the risk of infection over a four- or six-month period. Interestingly, we found no association between TLI and the occurrence of infections between the two infusions. This suggests that the TLI remains insufficient to assess the long-term drug exposure required to find an association.

Knowing that highly exposed patients have a greater risk of infection suggests de-escalating IFX dosage (by decreasing the dose or increasing the infusion interval) according to disease activity. A recent retrospective study of IBD patients observed a cumulative rate of relapse of 16% at one year after IFX de-escalation,(22,23) which is three times less than after IFX discontinuation. Furthermore, the authors suggest that a TLI-based strategy for de-escalation among selected patients in deep remission may reduce the risk of low IFX exposure and relapse. Moreover, the present pharmacokinetic approach suggests some way to adapt IFX treatment: for a similar TLI, adjustment of the interval rather than the dose infused would result in lower ΣAUC .

The main strength of this work was to use the ΣAUC to assess IFX exposure. This is the first study dedicated to investigating the risk of infection with IFX therapy that used the cumulated AUC over a predefined period of time rather than punctual TLI.(13,14) A pharmacokinetic modelling was performed for computation of the ΣAUC of IFX for each patient. Due to the

different IFX treatment modalities, in terms of dose and dosing interval, two patients can have the same TLIs but different levels of drug exposure, corresponding to different values of AUC. Additionally, the AUC improves the assessment of the individual exposure to a drug compared to the trough concentration. Moreover, the Σ AUC was currently taken into account to encompass the 6-month period of exposure to the drug, while the TLI only partially reflects the exposure from the last infusion.

Several other factors have been reported to increase the risk of infection in IBD patients. Data analysis from the TREAT Registry,(5) which enrolled 6273 CD patients, including 3420 treated with IFX, found moderate-to-severe disease severity and the intake of corticosteroids to be strong predictors of serious infection. In our study, we confirmed an association between disease activity and the occurrence of infections. We observed that patients with active disease were more likely to have higher Σ AUC of IFX that was related to an optimization of infliximab. Importantly, the increasing risk of infection associated with high Σ AUC remained for patients in remission. However, most studies that found a positive association between IBD remission and TLI are retrospective,(7,8,24) and a prospective study on the proactive management of drug administration remains negative.(25) Of note, in the current study, flaring patients were more likely to have optimization of the IFX regimen.

Some limitations need to be taken into account. The 1-compartment model used for AUC calculation may overestimate drug exposure. However, the objective of this work was to explore whether the exposure could be linked to the risk of infection. In this regard, as long as the method used for the estimation of the AUC is the same in all the patients of the study, the systematic over-estimation bias does not impact the main result, that is a higher cumulated exposure over a period is associated with a higher rate of infection. In addition, the results were similar using other pharmacokinetic models. Contrary to Bejan-Angoulvant and colleagues, the infliximab exposure (AUC) during a period of time was taken into account rather than the first infection following infliximab treatment that may question the causality. Of note, not only the occurrence of an infection but also the number of infections was increased in the present study. After an infection event does not cause the infection. The SAUC has to precede the infection for being the cause of the infection. In this prospective work, infectious events were self-reported, introducing a risk of memory bias. However, in a pooled analysis across the five pivotal phase 3 IBD trials,(4) the infection rate was estimated at 49.8% in all IFX-

treated IBD patients, which is slightly less than the incidence of 59% in the current study and underlines the exhaustive declaration of infections. Furthermore, we prospectively collected all types of infections, unlike many studies that focus on the occurrence of serious and/or opportunistic infections with IFX.(5,6,26,27) The definition of disease activity may be questionable as it was only based on subjective clinical scores and did not take into account biomarkers and endoscopic assessment. The CRP was not used for that purpose because it is increased by current infection.

In conclusion, high exposure to IFX increases the risk of infection. There are important implications for patients treated with IFX. Whereas several recent studies advocate the benefits of IFX optimization to provide better control of inflammation in IBD,(12,14,28) the potential gain of efficacy should also be weighed against the increased risk of infection. Our findings may encourage clinicians to consider drug de-escalation when feasible for patients in clinical remission to avoid infections.

REFERENCES

1. Rungoe C, Langholz E, Andersson M, et al. Changes in medical treatment and surgery rates in inflammatory bowel disease: a nationwide cohort study 1979-2011. *Gut* 2014; 63: 1607–1616.
2. Schnitzler F, Fidder H, Ferrante M, et al. Long-term outcome of treatment with infliximab in 614 patients with Crohn's disease: results from a single-centre cohort. *Gut* 2009; 58: 492–500.
3. Hyrich KL, Silman AJ, Watson KD, et al. Anti-tumour necrosis factor alpha therapy in rheumatoid arthritis: an update on safety. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1538–1543.
4. Lichtenstein GR, Rutgeerts P, Sandborn WJ, et al. A pooled analysis of infections, malignancy, and mortality in infliximab- and immunomodulator-treated adult patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1051–1063.
5. Lichtenstein GR, Feagan BG, Cohen RD, et al. Serious infection and mortality in patients with Crohn's disease: more than 5 years of follow-up in the TREAT™ registry. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1409–1422.
6. Kirchgesner J, Lemaitre M, Carrat F, et al. Risk of Serious and Opportunistic Infections Associated With Treatment of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2018; 155: 337-346.e10.
7. Adedokun OJ, Sandborn WJ, Feagan BG, et al. Association between serum concentration of infliximab and efficacy in adult patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2014; 147: 1296-1307.e5.
8. Cornillie F, Hanauer SB, Diamond RH, et al. Postinduction serum infliximab trough level and decrease of C-reactive protein level are associated with durable sustained response to infliximab: a retrospective analysis of the ACCENT I trial. *Gut* 2014; 63: 1721–1727.
9. Lau C, Dubinsky M, Melmed G, et al. The impact of preoperative serum anti-TNF α therapy levels on early postoperative outcomes in inflammatory bowel disease surgery. *Ann Surg* 2015; 261: 487–496.
10. Vande Casteele N, Ferrante M, Van Assche G, et al. Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2015; 148: 1320-1329.e3.
11. Amiot A, Hulin A, Belhassan M, et al. Therapeutic drug monitoring is predictive of loss of response after de-escalation of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2016; 40: 90–98.
12. Roblin X, Boschetti G, Duru G, et al. Distinct Thresholds of Infliximab Trough Level Are Associated with Different Therapeutic Outcomes in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Prospective Observational Study. *Inflamm Bowel Dis* 2017; 23: 2048–2053.
13. Bejan-Angoulvant T, Ternant D, Daoued F, et al. Brief Report: Relationship Between Serum Infliximab Concentrations and Risk of Infections in Patients Treated for Spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol* 2017; 69: 108–113.
14. Drobne D, Kurent T, Golob S, et al. Success and safety of high infliximab trough levels in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2018; 53: 940–946.
15. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol* 2005; 19 Suppl A: 5A-36A.
16. Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet Lond Engl* 1980; 1: 514.
17. Lewis JD, Chuai S, Nessel L, et al. Use of the Non-invasive Components of the Mayo Score to Assess Clinical Response in Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1660–1666.
18. *Guidance for industry: bioanalytical method validation. www.fda.gov.*
19. Ternant D, Passot C, Aubourg A, et al. Model-Based Therapeutic Drug Monitoring of Infliximab Using a Single Serum Trough Concentration. *Clin Pharmacokinet* 2018; 57: 1173–1184.

20. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2010; 362: 1383–1395.
21. Greener T, Kabakchiev B, Steinhart AH, et al. Higher Infliximab Levels Are Not Associated With an Increase in Adverse Events in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2018; 24: 1808–1814.
22. Lucidarme C, Petitcollin A, Brochard C, et al. Predictors of relapse following infliximab de-escalation in patients with inflammatory bowel disease: the value of a strategy based on therapeutic drug monitoring. *Aliment Pharmacol Ther* 2019; 49: 147–154.
23. Petitcollin A, Brochard C, Siproudhis L, et al. Pharmacokinetic parameters of infliximab influence the rate of relapse after de-escalation in adults with inflammatory bowel diseases. *Clin Pharmacol Ther*. Epub ahead of print 12 March 2019. DOI: 10.1002/cpt.1429.
24. Reinisch W, Colombel J-F, Sandborn WJ, et al. Factors associated with short- and long-term outcomes of therapy for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc* 2015; 13: 539-547.e2.
25. D'Haens GR, Vermeire S, Lambrecht G, et al. 692 Drug-Level Based Dosing Versus Symptom-Based Dose Adaptation in Patients With Crohn's Disease: A Prospective, Randomized Multicenter Study (TAILORIX). *Gastroenterology* 2016; 150: S143.
26. Ford AC, Peyrin-Biroulet L. Opportunistic infections with anti-tumor necrosis factor- α therapy in inflammatory bowel disease: meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1268–1276.
27. Nyboe Andersen N, Pasternak B, Friis-Møller N, et al. Association between tumour necrosis factor- α inhibitors and risk of serious infections in people with inflammatory bowel disease: nationwide Danish cohort study. *BMJ* 2015; 350: h2809.
28. Davidov Y, Ungar B, Bar-Yoseph H, et al. Association of Induction Infliximab Levels With Clinical Response in Perianal Crohn's Disease. *J Crohns Colitis* 2017; 11: 549–555.

TABLES AND FIGURES LEGENDS

Table 1: Patients' characteristics at baseline

Table 2: Prevalence and type of infections reported by patients treated with infliximab during the study

Table 3: Factors associated with infection over the 6-month period by univariate and multivariate analyses

Figure 1: Comparative concentration-time profiles of infliximab and corresponding cumulated exposure. The upper plot shows the simulated concentration-versus-time curves in a 70-kg patient receiving either 5 mg/kg q6w (full line) or 10 mg/kg q8w (dashed line). The lower plot shows the corresponding cumulative AUC for each regimen. Note that the C_{min} values are equivalent with both regimens, whereas the cumulative exposure is higher with the 10mg/kg q8w regimen.

Figure 2: Flow chart

Figure 3: Association of the 6-month cumulative area under the concentration-time curve of infliximab exposure (Σ AUC) and the risk of infection. The histograms show the association of the mean Σ AUC with the risk of any infection ($p=0.04$) (**A**) and with the number of infections reported ($p=0.04$) (**B**).

Supplementary Figure 1: Correlation between several methods of AUC estimation. **AUC1** according to the Fasanmade 2-compartment model (Fasanmade AA et al, *Clin Ther.*2011;33:946-64) **AUC2** according to the Buurman 2-compartment model (Buurman DJ, et al. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42:529-39) **AUC3** according to the Ternant 1-compartment model (Ternant D, et al. *Clin Pharmacokinet* 2018; 57:1173–84). **AUC4 and 5** correspond to homemade 1-compartment model. (Abbreviation : Corr., correlation using the spearman test)

Supplementary Figure 2: Association between infections and trough concentration of infliximab

Supplementary Table 1: Infliximab treatment regimen variation over the study period

Supplementary Table 2: Factors associated with a high 6-month cumulative AUC of Infliximab

Supplementary Table 3: Biology over the study period

Table 1 : Patients' characteristics at baseline

| | |
|--|------------------------------|
| | N = 209 |
| Sex (Male / Female) – n (%) | 102 (49) / 107 (51) |
| Age – mean (\pm SD) | 39 (\pm 14) |
| Type of IBD (CD / UC) – n (%) | 159 (76) / 50 (24) |
| Duration of IBD (years) – mean (\pm SD) | 12.4 (\pm 7.7) |
| BMI – mean (\pm SD) | 25.0 (\pm 5.2) |
| Smoking (Smokers / Ex-smokers / No-smokers) – n (%) | 50 (24) / 40 (19) / 119 (57) |
| IBD Phenotype | N = 209 |
| A1 < 16 years – n (%) | 34 (16) |
| A2 > 17 years < 40 years – n (%) | 148 (71) |
| A3 > 40 years – n (%) | 27 (13) |
| CD characteristics at the time of inclusion | N = 159 |
| B1 inflammatory – n (%) | 100 (62) |
| B2 stricturing – n (%) | 33 (21) |
| B3 penetrating – n (%) | 26 (16) |
| p perianal disease – n (%) | 60 (37) |
| L1 ileal – n (%) | 31 (19) |
| L2 colonic – n (%) | 38 (24) |
| L3 ileocolonic – n (%) | 90 (57) |
| L4 isolated upper disease – n (%) | 20 (13) |
| UC characteristics at the time of inclusion | N = 50 |
| E1 ulcerative proctitis – n (%) | 10 (20) |
| E2 left side UC – n (%) | 19 (38) |
| E3 extensive UC – n (%) | 21 (42) |
| Prior Surgery | N = 209 |
| Previous bowel surgery – n (%) | 54 (26) |
| Previous perineal surgery – n (%) | 50 (24) |
| Medical treatment | N = 209 |
| IFX duration at inclusion (years) – mean (\pm SD) | 5.0 (\pm 3.7) |
| Combination therapy with IS – n (%) | 54 (26) |
| - Methotrexate – n (%) | 12 (6) |
| - Thiopurine – n (%) | 42 (20) |

Abbreviations: BMI. Body Mass Index ; CD. Crohn's

Table 2: Prevalence and type of infections reported by patients treated with infliximab during the study

| Any infections | |
|--|------------------------------|
| | N=640 infusion visits |
| ≥ 1 Infectious event – n (%) | 205 (32) |
| | N=209 patients |
| Infections per patient – mean (± SD) | 1 (± 1.1) |
| Patients concerned by infections – n (%) | 123 (59) |
| 1 infection | 59 (28) |
| 2 infections | 39 (19) |
| 3 infections | 22 (11) |
| 4 infections | 3 (1.4) |
| Antibiotic therapy | 46 (22) |
| ≥ 2 antibiotic therapies | 8 (3.8) |
| | N=215 infections |
| Bacterial infections – n (%) | 63 (29) |
| Viral infections – n (%) | 143 (67) |
| Fungal infections – n (%) | 9 (4.1) |
| <u>Site of infection – n (%) :</u> | |
| ENT | 122 (57) |
| Gastrointestinal | 26 (12) |
| Cutaneo-mucosal | 26 (12) |
| Influenza or influenza-like illnesses | 18 (8.4) |
| Urogenital | 10 (4.7) |
| Dental | 5 (2.3) |
| Ophtalmic | 5 (2.3) |
| Pulmonary | 3 (1.4) |

Abbreviations : ENT, otorhinolaryngological

Table 3: Factors associated with infection over the 6-month period by univariate and multivariate analyses

| Covariates | Univariate analysis | Multivariate analysis | |
|--|---------------------|-----------------------|---------|
| | p value | OR [95% CI] | p value |
| Sex (Male) | 0.57 | | |
| BMI | 0.77 | | |
| Smoker | 0.06 | 2.05 [1.01-4.16] | 0.046 |
| IBD Phenotype | | | |
| Type of IBD (CD / UC) | 0.60 | | |
| Montreal A (reference A1) | 0.37 | | |
| <u>Crohn's Disease</u> | | | |
| Montreal B | 0.27 | | |
| Montreal L | 0.80 | | |
| Montreal L4 | 0.45 | | |
| Montreal p | 0.37 | | |
| <u>Ulcerative colitis</u> | | | |
| Montreal E | 0.53 | | |
| Prior Surgery | | | |
| Previous bowel surgery | 0.33 | | |
| Previous perineal surgery | 0.24 | | |
| Medical treatment | | | |
| Duration of IFX therapy | 0.28 | | |
| Combination therapy with IS | 0.8 | | |
| Disease Activity (≥ 1 relapse) | 0.001 | 2.71 [1.32-5.54] | 0.006 |
| Biology | | | |
| Mean albumin concentration | 0.75 | | |
| Σ AUC for IFX (> 3234 mg.h/L for MA) | 0.04 | 2.02 [1.11-3.65] | 0.020 |

Abbreviations : BMI, Body Mass Index ; CD, Crohn's Disease ; IBD, inflammatory bowel disease ;

Figure 1: Comparative concentration-time profiles of infliximab and corresponding cumulated exposure. The upper plot shows the simulated concentration-versus-time curves in a 70-kg patient receiving either 5 mg/kg q6w (full line) or 10 mg/kg q8w (dashed line). The lower plot shows the corresponding cumulative AUC for each regimen. Note that the Cmin values are equivalent with both regimens, whereas the cumulative exposure is higher with the 10mg/kg q8w regimen.

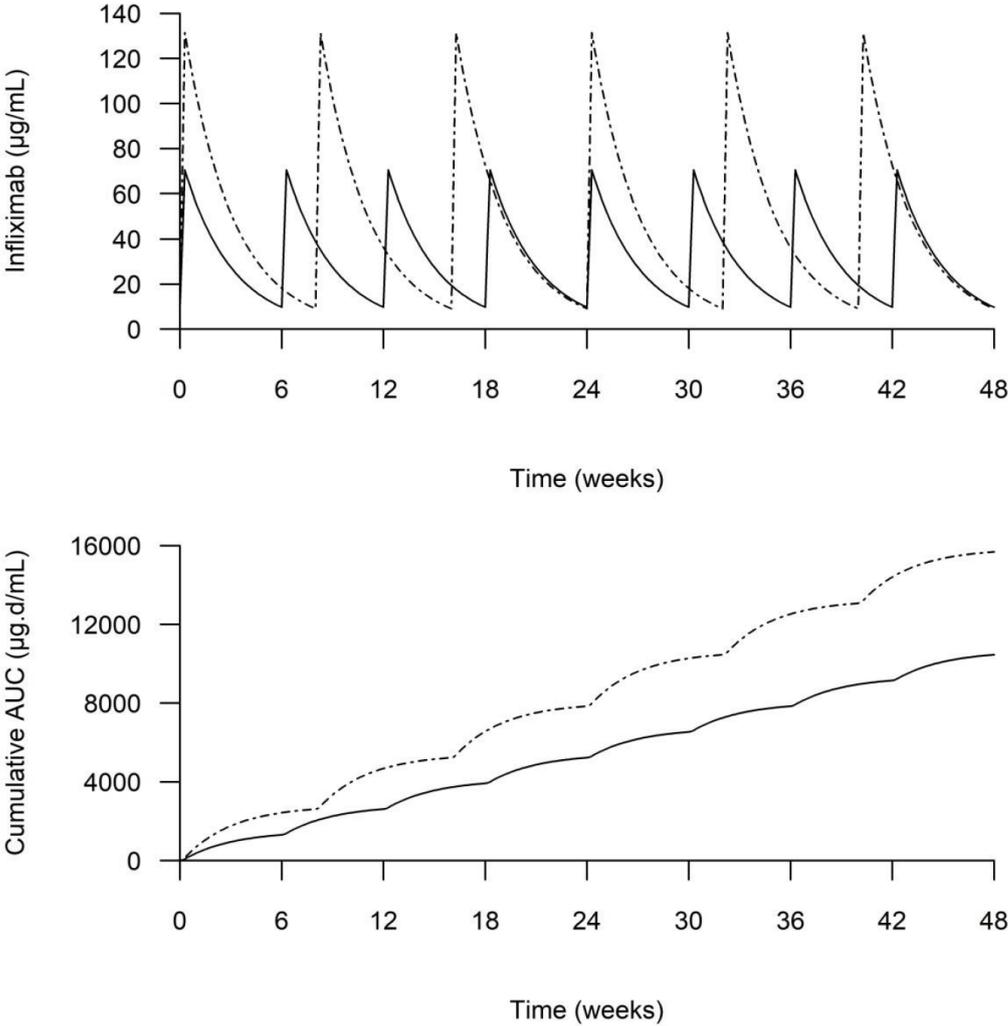


Figure 2: Flow chart

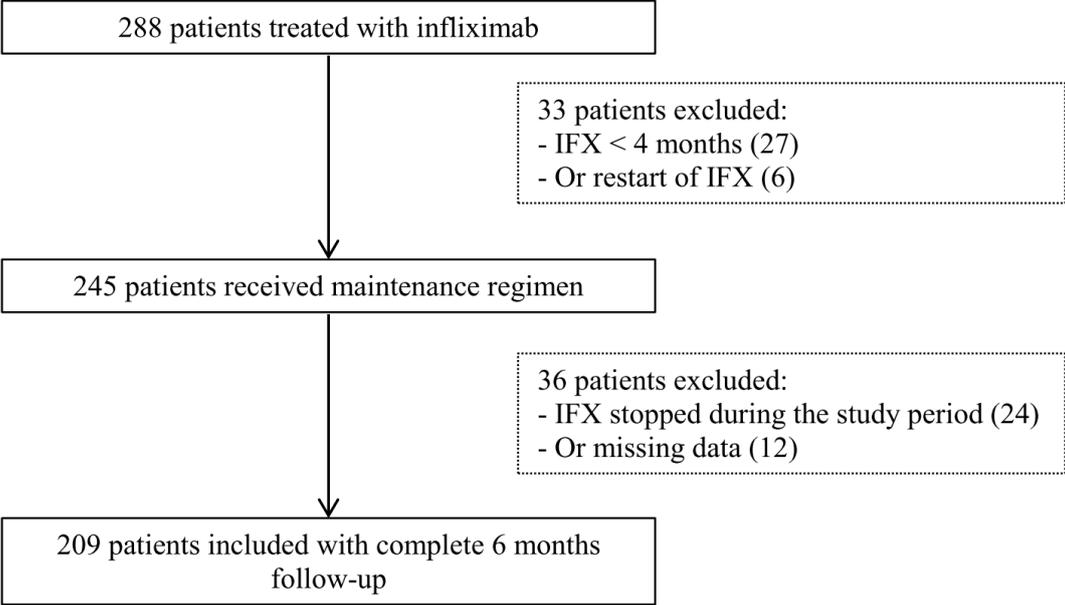
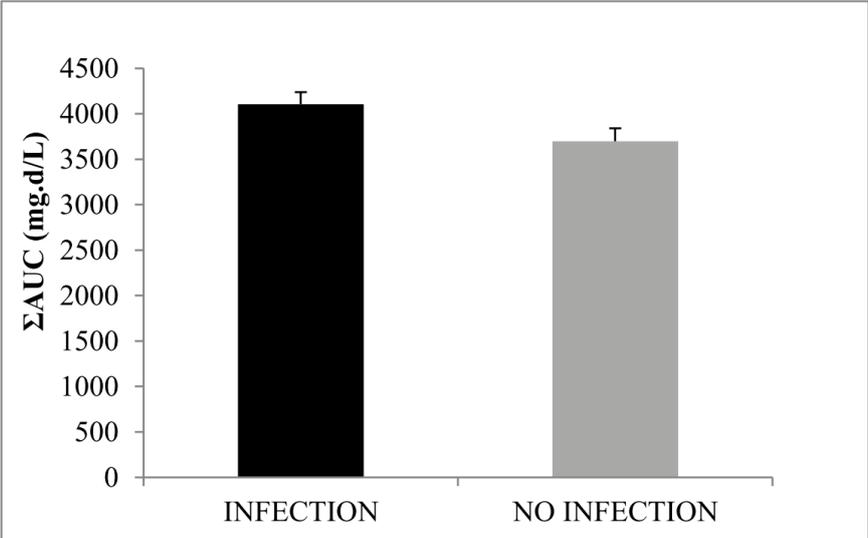
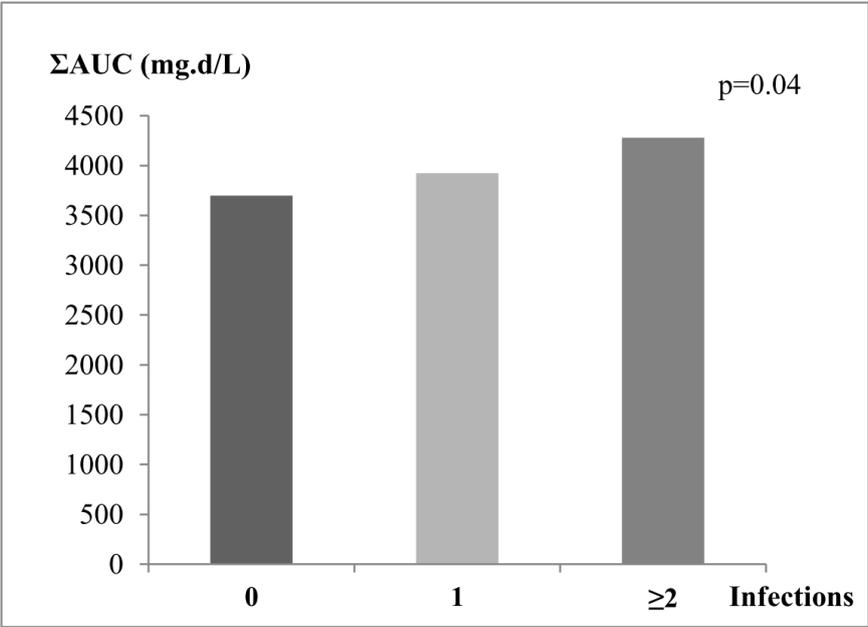


Figure 3: Association of the 6-month cumulative area under the concentration-time curve of infliximab exposure (Σ AUC) and the risk of infection. A. The histograms show the association of the mean Σ AUC with the risk of any infection ($p=0.04$) (A) and with the number of infections reported ($p=0.04$) (B).

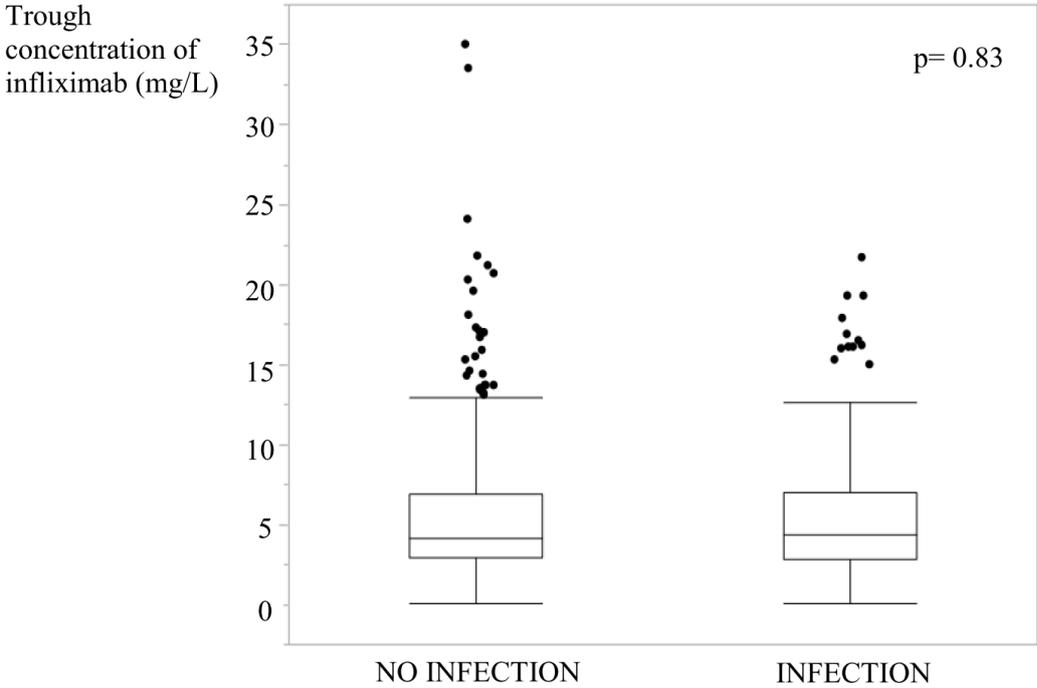
A



B



Supplementary Figure 1: Association between infections and trough concentration of infliximab



Supplementary Table 1: Infliximab treatment regimen variation over the study period

| | | |
|--|------------------------------|-----------------|
| Maintenance regimen of Infliximab at baseline - n (%) | | |
| | | N=209 |
| Recommended regimen (5 mg/kg every 8 weeks) | | 100 (48) |
| Alternative regimen | | 109 (52) |
| 5mg/kg | / less than 8 weeks | 21 (10) |
| | / more than 8 weeks | 42 (20) |
| 7,5 mg/kg | / 8 weeks | 4 (1.9) |
| 10 mg/kg | / 8 weeks | 24 (11) |
| | / less than 8 weeks | 15 (7.2) |
| | / more than 8 weeks | 3 (1.4) |
| Scheme of Infliximab during the follow-up - n (%) | | |
| | | N=209 |
| Constant maintenance regimen | | 176 (84) |
| Intensification | | 17 (8.1) |
| | increased dose | 6 (2.9) |
| | increased frequency | 11 (5.3) |
| De-escalation | | 16 (7.7) |
| | decreased dose | 9 (4.3) |
| | decreased frequency | 6 (2.9) |
| | decreased dose and frequency | 1 (0.5) |
| Disease activity during the follow-up | | |
| | | N=209 |
| Steroid use during the study period – n (%) | | 5 (2.4) |
| Disease Activity (≥ 1 relapse during the study) | | 56 (27) |

Supplementary Table 2: Factors associated with a high 6-month cumulative AUC of Infliximab

| | N=209 |
|---|-------------------|
| Hemoglobin (g/dl) – mean (± SD) | 14.1 (±1.4) |
| PMNs (UI/mm ³) – mean (± SD) | 3936 (±1400) |
| Lymphocytes (UI/mm ³) – mean (± SD) | 2268 (±844) |
| Platelets (UI/mm ³) – mean (± SD) | 287231.5 (±74543) |
| CRP (mg/L) – mean (± SD) | 4.3 (±6.1) |
| Albumin – mean (± SD) | 43.6 (±2.8) |
| IFX trough concentration (mg/L) – mean (± SD) | 5.46 (±4.30) |
| ΣAUC of IFX (mg.d/L) – mean (± SD) | 3938 (±1427) |

Abbreviations : AUC : Area Under the concentration versus time Curve ; CRP, C-Reactive protein ; IFX, Infliximab ; PNN, polymorphonuclear neurophils; SD, Standard deviation

Supplementary Table 3: Biology over the study period

| | ΣAUC (mg.d/L) | | p-value |
|--|-------------------------|--------------------------|----------------|
| | < 3234 (n=81) | > 3234 (n=128) | |
| Medical treatment | | | |
| IFX duration at inclusion (years) – mean (±SD) | 5.72 (3.71) | 4.6 (3.6) | 0.03 |
| Combination therapy with IS – n (%) | 14 (17) | 40 (31) | 0.02 |
| Dose (mg/kg) – mean (±SD) | 5.1 (0.67) | 6.5 (2.2) | <0.0001 |
| Intervalle (weeks) – mean (±SD) | 8.82 (1.51) | 7.9 (1.45) | 0.0003 |
| Biology during the study period | | | |
| IFX trough concentration (mg/L) – mean (±SD) | 3.3 (1.77) | 6.6 (3.9) | <0.0001 |

Abbreviations: IBD, inflammatory bowel disease; IFX, Infliximab; IS, Immunosuppressant; ΣAUC, 6-month cumulative Area Under the concentration versus time Curve; SD, standard deviation

4.5.2. Commentaires sur l'article 4.

Comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, le maintien d'un traitement efficace le plus longtemps possible est une des problématiques centrales dans la prise en charge des MICI. Cela impose de recourir à des intensifications de traitement lorsque les patients rechutent ou sont insuffisamment contrôlés. Une fois que la rémission est obtenue, des arguments économiques (prix des traitements), organisationnels (planning des hospitalisations de jour pour les administrations des perfusions) et de confort du patient (fréquence des injections) imposent de recourir à la désescalade.

L'argument économique a virtuellement disparu depuis la mise sur le marché des biosimilaires de l'infliximab. Dans ce contexte, on peut se poser la question de l'intérêt de réduire un traitement, au risque de voir la maladie rechuter. Cette question semble pertinente car la marge thérapeutique de l'infliximab est large et le surdosage ne semble pas poser de problèmes de sécurité. Une première réponse pourrait être le principe de précaution, surexposer chroniquement un patient paraissant inutile. Une seconde réponse est apparue suite à une étude publiée dans la spondylarthrite ankylosante montrant un lien entre concentrations résiduelles chroniquement élevées et risque infectieux (Bejan-Angoulvant 2017).

Dans cette étude, nous avons recherché si ce résultat pouvait être confirmé dans une cohorte de patients atteints de MICI traités par infliximab recevant un traitement d'entretien. Nos résultats confirment la relation qui existe en l'exposition à l'infliximab et le risque d'infection. Cependant, nos résultats diffèrent de ceux présentés par Bejan-Angoulvant et collègues sur plusieurs points.

En première approche, nous avons recherché s'il existait un lien entre la concentration résiduelle moyenne sur une période de 6 mois et le nombre d'épisodes infectieux, mais nous n'avons pas pu mettre en évidence de relation statistiquement significative. Nous avons alors émis l'hypothèse que la variabilité des modalités posologiques pouvait expliquer ce résultat contre-intuitif. En effet, les modulations de la dose et de l'intervalle d'injection font que les patients peuvent avoir une concentration résiduelle équivalente tout en ayant des expositions (estimées par l'aire sous la courbe des concentrations) différentes. La

modélisation pharmacocinétique a donc été utilisée pour estimer l'exposition cumulée des patients sur la période de l'étude.

Les ASC cumulées estimées sur 6 mois étaient significativement corrélées au risque de développement d'au moins une infection opportuniste par régression logistique. Cependant, un score clinique plus élevé était également prédictif d'un risque accru d'infection, et le score clinique était corrélé positivement à l'exposition. Ce résultat indique probablement que les posologies avaient été augmentées chez les patients ayant une réponse non optimale. Bien que les deux paramètres restaient significativement corrélés au risque de développer au moins une infection dans le modèle multivarié, cette corrélation entre le score clinique et l'activité de la maladie empêchait d'estimer l'effet propre de l'exposition sur le risque infectieux. Nous avons alors conduit une analyse en sous-groupe chez les patients en rémission qui a montré que le risque infectieux restait positivement corrélé à une ASC cumulée plus élevée.

Nous avons estimé les ASC cumulées par méthode bayésienne en utilisant un modèle monocompartimental précédemment publié, car le jeu de données était constitué uniquement de concentrations résiduelles. Néanmoins, nous avons également estimé les ASC cumulées avec d'autres modèles, dont 2 modèles bicompartimentaux, qui ont confirmé la relation entre l'exposition cumulée et le risque infectieux. En particulier, il existait une relation entre exposition cumulée et nombre cumulé d'infections sur la période d'observation.

Summary of univariate analysis: cAUC versus infections

| | Structural model | Link | | |
|----------------|------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| | | Logit (binomial), continuous | Logit (binomial), dichotomized | Log (Poisson), continuous |
| <i>Model</i> | | | | |
| Buurman | 2-CP | 0.12 | 0.026 | 0.0095 |
| Fasanmade | 2-CP | 0.13 | 0.019 | 0.022 |
| Ternant | 1-CP | 0.080 | 0.0057 | 0.014 |
| <i>De novo</i> | 1-CP | 0.12 | 0.011 | 0.023 |

Tableau 7: Résultats de l'étude univariée du lien entre ASC cumulée et risque infectieux avec différentes méthodes d'estimation de l'ASC et différentes approches statistiques.

ASC cumulée sous forme continue ou dichotomisée selon un seuil, régression logistique ou régression de Poisson.

Les résultats d'estimation de l'ASC cumulée par les différentes approches étaient fortement corrélés et les résultats de l'analyse du lien entre ASC cumulée et risque infectieux étaient également très proches.

On notera que l'analyse par régression de Poisson a permis de mettre en évidence un lien entre l'ASC cumulée et le nombre d'infections, ce qui suppose que le risque infectieux augmente d'autant plus que l'exposition est importante. Cela se voit très bien quand on regarde le nombre moyen d'infection par groupe d'exposition.

Le défaut principal de cette étude est probablement de ne pas avoir permis une analyse par approche de type survie. Cela était impossible vu le *design* de l'étude qui ne permettait pas de connaître la date exacte de survenue de l'infection entre deux perfusions.

Cette étude est la première à rapporter l'existence d'une relation entre l'exposition cumulée et le risque infectieux dans les MICI. En plus de confirmer les résultats de l'étude de Bejan-Angoulvant et collègues dans les rhumatismes inflammatoires chroniques, elle permet de répondre à la question qui s'était posée dans notre étude précédente : les modalités de désescalade ont-elles une importance ?

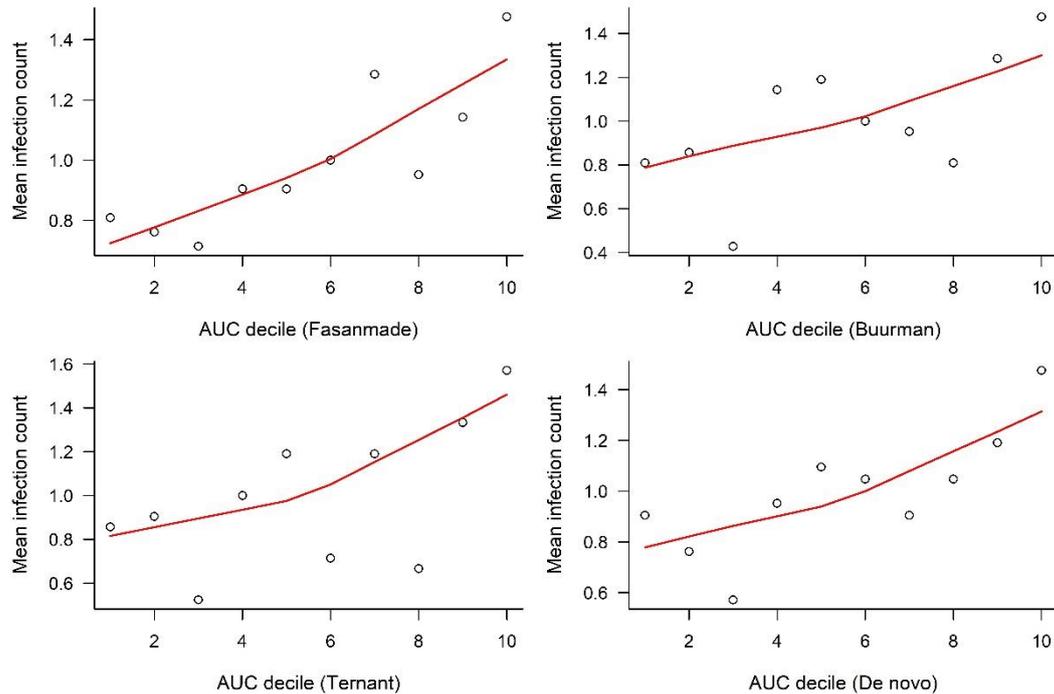


Figure 46: Relation entre le décile d'ASC cumulée sur la période d'étude et le nombre moyen d'infections par patient, avec différentes méthodes d'estimation de l'ASC cumulée.

$p < 0.001$ pour tous.

Il semble que les modalités de désescalade n'influencent pas le risque de rechute post-désescalade tant que la concentration résiduelle reste suffisante pour maintenir la rémission. Par contre, les modalités de désescalade influencent l'exposition cumulée du patient ; chez un patient médian avec une demi-vie d'élimination de 14 jours recevant 10 mg/kg toutes les 6 semaines, une réduction de dose de 10mg/kg à 5 mg/kg semble préférable à un allongement de l'intervalle d'injection de 2 semaines car l'exposition cumulée sera plus faible avec la première option. La réciproque est vraie également en situation d'intensification de traitement : une augmentation de dose augmente plus l'exposition cumulée et donc le risque infectieux qu'une réduction de l'intervalle d'injection.

Un second message important de cette étude est que la désescalade doit être envisagée dès que possible, car une surexposition inutile augmente le risque infectieux. Bien que nous n'ayons pas mis en évidence de relation entre durée de rémission avant la désescalade et risque de rechute post-désescalade, il est probable que cette question se pose dans l'avenir si la désescalade précoce devient un objectif du traitement par infliximab.

En conclusion, cette étude apporte pour la première fois un début de recommandation concernant les modalités d'adaptation posologique de l'infliximab, et pourra servir de base pour des études futures. En effet, si l'exposition cumulée influence le risque infectieux, il est possible qu'elle influence également l'efficacité. De plus, les résultats de cette étude pourront servir de point de départ pour la définition d'une limite haute de l'intervalle de concentrations thérapeutiques de l'infliximab, qui jusqu'à aujourd'hui ne comportait qu'une limite basse associée à l'efficacité et au risque d'immunisation.

5. DISCUSSION

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la pharmacologie des anti-TNF α , et plus particulièrement de l'infliximab, dans la prise en charge des MICI. Les travaux présentés ici sont le fruit d'une collaboration étroite entre cliniciens et biologistes dans l'objectif de mieux comprendre la pharmacologie de ces médicaments et d'en améliorer l'utilisation. Nous nous sommes particulièrement intéressés à la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle et à la relation concentration-effet de l'infliximab.

5.1. Variabilité pharmacocinétique intra-individuelle

La variabilité pharmacocinétique inter-individuelle des anticorps thérapeutiques est désormais bien connue. L'étude de ses sources est utile dans la mesure où la concentration plasmatique des anticorps thérapeutiques est reliée à leur effet thérapeutique. Cependant, l'existence d'une variabilité pharmacocinétique intra-individuelle est au contraire peu rapportée. Dans la revue de la littérature que nous avons réalisée, nous n'avons retrouvé que 13 articles de modélisation compartimentale qui décrivaient une variabilité pharmacocinétique intra-individuelle des anticorps thérapeutiques en dehors des augmentations de clairance liées à leur immunogénicité (voir 4.1). Hormis les travaux présentés ici, une unique publication sur le certolizumab a rapporté l'existence d'une variabilité intra-individuelle des anti-TNF α au cours du temps.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons pu montrer que la pharmacocinétique de l'infliximab était sujette à une grande variabilité à l'échelle intra-individuelle. Cette variabilité était expliquée par des covariables multiples, communes avec la variabilité inter-individuelle : l'activité clinique, la CRP, le co-traitement par azathioprine, ou encore l'immunisation. Ces covariables sont des marqueurs indirects de l'élimination spécifique ou non spécifique de l'infliximab, et la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle semble donc provenir essentiellement de variations de clairance.

Nous avons pu mettre en évidence que ces variations de clairance intervenaient tout au long du traitement par infliximab, tant au cours de l'induction dans les premières semaines ou

mois qui suivent le début du traitement que plusieurs années après, au gré des échappements secondaires, poussées de la maladie et nouvelles inductions de rémission. Les variations de clairance semblent ainsi suivre l'histoire naturelle de la maladie, évoluant par poussées, avec une alternance de périodes d'activité et de rémission.

Les conséquences en pratique clinique courante sont importantes. En effet, la variabilité intra-individuelle de la clairance de l'infliximab, et probablement aussi des autres anti-TNF α avec les mêmes sources de variabilité, implique une adaptation constante du traitement à l'activité de la maladie.

5.2. Immunogénicité et variabilité pharmacocinétique

L'immunisation contre les anticorps thérapeutiques en général et contre l'infliximab en particulier reste une question délicate. Il est désormais bien établi que le risque d'immunisation augmente avec le temps, car la probabilité cumulée de développer des ADA augmente avec la durée du traitement. On retrouve également plusieurs rapports qui établissent une forte augmentation de la clairance, conduisant à des sous-expositions et des échappements de traitement, en cas d'immunisation. Des auteurs ont proposé d'inclure le statut immunogène dans les algorithmes décisionnels (Vande Casteele 2013), mais cela implique d'être en mesure de le déterminer. Pourtant, la détection de l'immunisation, la mesure de son effet neutralisant et la quantification de son effet sur la clairance restent difficiles, et au final la conduite à tenir face à une immunisation reste incertaine et fortement dépendante des performances analytiques de la technique de dosage des ADA. Il en résulte également une grande hétérogénéité de prise en charge entre les centres qui découle directement de l'hétérogénéité des techniques disponibles.

Récemment, le consortium européen ABIRISK (Anti-Biopharmaceutical Immunization: Prediction and Analysis of Clinical Relevance to Minimize the Risk) a établi que chez les patients traités pour un rhumatisme inflammatoire chronique, le risque d'immunisation contre l'infliximab était augmenté chez les fumeurs et les patients ayant une maladie plus ancienne (Quistrebert 2019). Dans les MICI, il est établi que le risque est plus élevé durant la première année (Ungar 2014) et en cas de sous expositions répétées (ref). En dehors de ces éléments peu spécifiques, on dispose de peu de données sur les facteurs prédictifs

d'immunisation, et la signification de la présence d'ADA elle-même est variable puisque certaines immunisations peuvent être transitoires et apparemment sans conséquences sur l'efficacité clinique (Vande Casteele 2013, Roblin 2015), alors que dans d'autres cas l'immunisation conduit au mieux à la nécessité d'une intensification de traitement et au pire à un échappement insurmontable qui nécessite de changer de biothérapie (voir 1.2.3.2). Des marqueurs prometteurs sont à l'étude, comme des cellules T spécifiques de l'infliximab (Pratesi 2018), ou des facteurs génétiques prédisposant (Billiet 2015, Romero-Cara 2018), mais ils restent d'accès difficile dans le cadre d'un traitement de routine.

Dans de ce travail de thèse, nous avons mis au point puis validé un modèle pharmacocinétique qui permet de décrire des évolutions de clairance indépendamment de facteurs explicatifs. Les variations de clairance que nous avons pu mettre en évidence ont été parfois expliquées par la positivité des ADA, et la forme et l'intensité des augmentations de clairance sont compatibles avec les immunisations décrites dans les modèles cliniques. Nous n'avons pas été en mesure de trouver des covariables expliquant la variabilité inter-individuelle des paramètres décrivant cette fonction d'immunisation. La réalisation d'études à plus grande échelle serait utile et permettrait l'étude des facteurs prédictifs d'immunisation avec une approche différente et complémentaire à celles utilisées actuellement. De plus, ce modèle d'immunisation a l'avantage, de par sa construction, de décrire non seulement la présence d'une immunisation, mais également le moment de sa survenue. Ainsi, étudier les covariables associées aux paramètres de ce modèle permettrait non seulement de prédire l'immunisation mais aussi de prédire le moment de sa survenue. Il est cependant probable qu'une telle étude nécessite un nombre considérable de patients, et l'utilisation de tests « *drug-tolerant* » pour démontrer clairement que les variations de clairance décrites sont bien la conséquence d'immunisations. Par ailleurs, ce modèle pourrait être amélioré significativement par l'inclusion d'une réversibilité des variations de la clairance pour tenir compte des immunisations transitoires.

5.3. Vers un monitoring de la clairance ?

L'intérêt de la mesure des concentrations résiduelles dans le suivi des MICI est bien établi. Dans ce travail de thèse, à travers la description des variations de clairance à l'échelle intra-individuelle et de la possibilité de les estimer par des modèles adaptés, nous avons pu démontrer dans deux études différentes que la clairance est un facteur prédictif de réponse clinique, au même titre que la concentration dont elle est le déterminant. Nous émettons donc l'hypothèse que le suivi des patients pourrait être amélioré en utilisant non plus la concentration résiduelle seule, mais son évolution comme un marqueur prédictif de l'évolution de la réponse.

Cette hypothèse paraît intéressante dans la mesure où elle permet d'intégrer le caractère dynamique de la maladie et de la pharmacocinétique, toutes deux intimement liées, dans le suivi des patients. Ainsi, une concentration ponctuelle apparemment efficace peut signer un futur échappement de traitement si, comparée aux antécédents du patient, elle reflète une accélération de clairance. Un tel phénomène peut par exemple annoncer le développement d'une immunisation ou l'accélération de l'élimination spécifique en lien avec une augmentation de l'inflammation. Au contraire, suite à une intensification de traitement, l'augmentation progressive des concentrations peut signer une immunisation surmontée ou une réduction de l'élimination spécifique et donc de l'inflammation.

Le monitoring des concentrations comme marqueurs de la clairance pourrait permettre une anticipation des échappements futurs et ainsi permettre des adaptations de traitement en amont. Si cette hypothèse se confirme, elle aura des implications multiples dans la prise en charge des patients. Une adaptation précoce du traitement pourrait permettre d'éviter l'échappement ou de limiter la gravité de la poussée ; les conséquences seraient entre autres une réduction des hospitalisations, de la constitution de lésions intestinales irréversibles et des recours à la chirurgie. Le suivi de la clairance représenterait alors un atout majeur dans l'amélioration de la prise en charge des patients et de la sauvegarde de l'arsenal thérapeutique en augmentant la persistance des traitements. A l'inverse, la relation entre clairance et probabilité de succès de l'arrêt du traitement devrait être explorée, la concentration résiduelle prédisant le succès de l'arrêt (Flamant 2015). De plus, une telle approche serait probablement applicable à d'autres anticorps thérapeutiques et/ou à d'autres pathologies présentant les mêmes caractéristiques pharmacocinétiques.

5.4. STP proactif versus STP réactif et accès au STP

L'apport du STP proactif par rapport au STP réactif reste encore à démontrer aujourd'hui. Bien que certaines études aient démontré son intérêt (Roblin 2018), la question fait toujours débat et les *guidelines* internationales prônent encore à l'heure actuelle le STP réactif (Feuerstein 2017, Mitrev 2017).

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous n'avons pas directement démontré l'intérêt du STP proactif, mais plusieurs éléments plaident en sa faveur. L'hypothèse d'un suivi de l'évolution de la clairance implique des mesures régulières de la concentration résiduelle. De plus, dans le contexte de la désescalade thérapeutique, un suivi proactif est requis pour sélectionner les patients éligibles en pré-désescalade et pour s'assurer que l'exposition post-désescalade reste suffisante pour maintenir la rémission. Nous également pu démontrer que les concentrations précoces en phases d'induction étaient prédictives de la réponse, et que la clairance variait fortement à cette période ; à nouveau, un suivi proactif permettrait de détecter précocement les patients insuffisamment exposés, soit pour éviter un échappement secondaire, soit pour permettre d'induire la rémission. La question d'un suivi proactif chez des patients en rémission durable est ouverte ; néanmoins l'histoire naturelle des MICI oriente vers une rechute à plus ou moins long terme qui pourrait peut-être être détectée précocement par un STP proactif.

Au-delà de la question de l'intérêt d'un suivi proactif plutôt que d'un suivi réactif, le recours à l'une ou l'autre des stratégies pose des problèmes d'ordre économique et organisationnels. En France, à l'heure actuelle les dosages d'anti-TNF α (et d'anticorps monoclonaux en général) sont disponibles majoritairement dans les CHU. L'accès aux dosages est donc rendu difficile d'abord par le faible nombre de laboratoires en mesure de réaliser l'analyse. La mise sur le marché de plusieurs kits commerciaux a permis de rendre la mise à disposition des dosages plus facile pour les laboratoires de biologie médicale (LBM) qui ne sont pas spécialisés dans l'activité de dosage de médicaments. Cependant, ces kits sont souvent très onéreux et leur mise à disposition est rendue d'autant plus difficile que les dosages d'anticorps thérapeutiques sont toujours inscrits sur la liste complémentaire de la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM). En clair, cela signifie que ces actes ne peuvent être facturés que si le patient est hospitalisé. S'il est hospitalisé dans

l'établissement qui réalise le dosage, l'acte est pris en charge par la dotation dite « MIGAC » (Missions d'Intérêt Général et d'Aides à la Contractualisation) de l'établissement de santé. Si le dosage est réalisé dans un autre établissement, celui-ci doit facturer l'acte au demandeur. Si le patient n'est pas hospitalisé, l'acte n'est pas facturable. La réalisation de ces dosages en ville est donc impossible car le LBM, qu'il effectue le dosage lui-même ou qu'il l'externalise, ne pourra pas le facturer. Cette problématique est un peu moins handicapante pour l'infliximab, qui nécessite une hospitalisation pour la réalisation de l'administration, mais elle est un frein majeur au suivi des patients traités par les anti-TNF α administrés en SC comme l'adalimumab ou le golimumab.

Se pose ensuite la question de l'expertise de l'interprétation des résultats. Les travaux présentés dans le cadre de cette thèse illustrent la complexité de la pharmacocinétique et de la relation concentration-effet des anti-TNF α , qui rendent l'interprétation du dosage et le conseil d'adaptation posologique difficiles. La présence d'un expert semble donc nécessaire pour aider à l'interprétation des résultats, ce qui limite encore l'accès au dosage majoritairement aux CHU et à quelques centres périphériques.

Les techniques utilisées pour réaliser les dosages ne permettent pas de rendre les résultats le jour même du prélèvement. Autrement dit, les adaptations de posologies sont toujours décalées d'une administration. La vitesse relativement lente des évolutions de clairance rend en général ce problème peu handicapant ; néanmoins, il serait utile de pouvoir augmenter la posologie le jour même lorsque la concentration résiduelle mesurée est inférieure au seuil d'efficacité, pour réduire le risque d'échappement secondaire. Des kits immunochromatographiques permettent de réaliser des dosages au lit du patient, mais les performances analytiques sont moindres que celles des techniques habituellement utilisées, et la question de l'expertise dans l'interprétation du dosage et dans le conseil d'adaptation posologique restera présente. De plus ces tests relèvent de la biologie délocalisée et posent des problèmes spécifiques à ce type d'acte (accréditation, responsabilité). La place de ces kits est donc encore incertaine à l'heure actuelle.

Enfin, l'intérêt médico-économique du recours au STP a été démontré dans l'intensification de traitement (Roblin 2015, Guidi 2018), mais n'a pas été prouvé en clinique dans la désescalade. Une étude a néanmoins démontré par simulation une économie substantielle pour la désescalade guidée par le STP (Attar 2019).

5.5. Relation concentration-effet et adaptations posologiques

Dans ce travail de thèse, nous avons étudié la variabilité de la relation concentration-efficacité de l'infliximab dans plusieurs situations. Chez les enfants atteints de MICI en traitement d'entretien, la première année, le maintien d'une concentration résiduelle moyenne supérieure à 3.2 µg/mL était associée à un risque plus faible d'échappement secondaire. Lors de l'induction, des concentrations supérieures à 12µg/mL à S2 et 11µg/mL à S6 étaient requises. Chez l'adulte en traitement d'entretien, une concentration moyenne post-désescalade supérieure à 2.4µg/mL était associée à un moindre risque de rechute.

Ces éléments tendent à appuyer l'hypothèse selon laquelle les besoins en médicament sont différents en fonction de la période de traitement et pour des objectifs différents. Cela implique de fréquentes adaptations de posologie, sous forme d'intensification de traitement ou de désescalade. A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus concernant les modalités d'adaptation posologique (dose *versus* intervalle d'administration) en termes d'efficacité et de sécurité. Le dernier travail réalisé dans le cadre de cette thèse a permis de démontrer qu'il existe une relation entre l'exposition cumulée aux anti-TNF α et le risque d'infections opportunistes. Les implications sont importantes car elles fournissent pour la première fois une base pour guider les adaptations posologiques, privilégiant une désescalade aussi précoce que possible et une réduction préférentielle de la dose plutôt qu'un allongement de l'intervalle d'administration. Comme nous l'avons discuté, ces résultats doivent néanmoins être confirmés et confrontés à l'existence d'une éventuelle relation exposition-effet, qui n'a jamais été mise en évidence jusqu'alors. De plus, la question devra être explorée en ce qui concerne l'intensification de traitement ; dans ce contexte, l'approche par mesure de l'exposition peut revêtir un intérêt particulier car les patients nécessitant une intensification de traitement sont plus susceptibles d'avoir une clairance élevée, ce qui peut aboutir à des différences substantielles d'augmentation de l'exposition selon que l'intensification porte sur la dose ou sur l'intervalle d'injection.

5.6. Perspectives

Pour faire suite à ce travail de thèse, plusieurs travaux sont en cours actuellement au CHU de Rennes. Certaines questions qui ont été abordées ici pourront être étudiées grâce à la mise en place et à l'entretien d'une cohorte de patients pour lesquels les dosages d'infliximab sont réalisés de façon systématique avant chaque injection depuis 2016. Ces questions comprennent, par exemple, la valeur pronostique des évolutions de la clairance suite à une intensification de traitement, l'étude de la relation entre les évolutions de clairance systémique et la clairance fécale, ou encore l'intérêt de la mise en place d'un STP proactif avec suivi des évolutions de clairance *versus* STP proactif seul et/ou STP réactif.

Nous avons traité de la variabilité intra-individuelle de la pharmacocinétique et de la relation concentration effet des anti-TNF α , mais nous n'avons pas abordé la question de la variabilité inter-individuelle de la relation concentration-effet. Pourtant, l'existence de non-réponses primaires et d'échappements secondaires laissent penser qu'il pourrait exister une variabilité importante de réponse à concentration équivalente. Un travail est en cours actuellement en collaboration avec le laboratoire d'immunologie pour étudier les différents profils immunitaires (sous-populations lymphocytaire, cytokines circulantes) qui existent dans les MICI traitées par adalimumab, et qui pourraient expliquer les différences de réponse entre les individus dont l'exposition est contrôlée *via* la mesure des concentrations de médicament. Un travail équivalent est en cours également dans la polyarthrite rhumatoïde afin d'étudier les similitudes et les différences qui existent entre ces pathologies. Des résultats préliminaires suggèrent que les sous-populations lymphocytaires pourraient être des marqueurs de réponse dans la MC (voir annexe 1).

6. CONCLUSION

Dans ce travail, issu d'une étroite collaboration entre cliniciens et biologistes, nous avons pu mettre en évidence la grande variabilité de la pharmacocinétique et de la relation concentration-effet des anti-TNF α dans les MICI. Pour la première fois, nous avons décrit par modélisation compartimentale la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle de l'infliximab et étudié ses sources, démontrant l'étroite relation entre activité de la maladie et clairance. Nous avons également proposé un modèle capable de détecter les variations de clairance évocatrices d'immunisation indépendamment de la mise en évidence des anticorps anti-infliximab, permettant de s'affranchir du manque de sensibilité analytique de la recherche d'immunisation contre le médicament. Les variations de pharmacocinétique au cours du temps ont été confrontées à la réponse clinique, et nous avons montré que la clairance était prédictive de la réponse en induction et au cours de la désescalade thérapeutique. Nous avons donc proposé que le monitoring des traitements puisse inclure un suivi de l'évolution de la clairance comme marqueur précoce de l'activité de la maladie. Enfin, nous avons montré pour la première fois que l'exposition cumulée était reliée au risque d'infection opportuniste dans les MICI. Cela pose les bases de recommandations concernant les modalités d'adaptations posologiques qui font actuellement défaut. A terme, cela contribuera à la définition d'une limite supérieure de l'intervalle de concentrations thérapeutiques de l'infliximab qui n'existe pas jusqu'alors. L'ensemble des travaux présentés ici contribuent à améliorer notre connaissance de la pharmacologie des anti-TNF α et des anticorps thérapeutiques en général et ainsi à optimiser leur utilisation chez les patients.

7. BIBLIOGRAPHIE

- Abdiche, Y. N., Y. A. Yeung, J. Chaparro-Riggers, I. Barman, P. Strop, S. M. Chin, A. Pham, G. Bolton, D. McDonough, K. Lindquist, J. Pons and A. Rajpal (2015). "The neonatal Fc receptor (FcRn) binds independently to both sites of the IgG homodimer with identical affinity." *MAbs* **7**(2): 331-343.
- Amiot, A., A. Hulin, M. Belhassan, C. Andre, C. Gagniere, Y. Le Baleur, J. P. Farcet, J. C. Delchier and S. Hue (2016). "Therapeutic drug monitoring is predictive of loss of response after de-escalation of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission." *Clin Res Hepatol Gastroenterol* **40**(1): 90-98.
- Arjaans, M., T. H. Oude Munnink, S. F. Oosting, A. G. Terwisscha van Scheltinga, J. A. Gietema, E. T. Garbacik, H. Timmer-Bosscha, M. N. Lub-de Hooge, C. P. Schroder and E. G. de Vries (2013). "Bevacizumab-induced normalization of blood vessels in tumors hampers antibody uptake." *Cancer Res* **73**(11): 3347-3355.
- Arora, T., R. Padaki, L. Liu, A. E. Hamburger, A. R. Ellison, S. R. Stevens, J. S. Louie and T. Kohno (2009). "Differences in binding and effector functions between classes of TNF antagonists." *Cytokine* **45**(2): 124-131.
- Arora, Z. and B. Shen (2015). "Biological therapy for ulcerative colitis." *Gastroenterol Rep (Oxf)* **3**(2): 103-109.
- Atreya, R., M. Zimmer, B. Bartsch, M. J. Waldner, I. Atreya, H. Neumann, K. Hildner, A. Hoffman, R. Kiesslich, A. D. Rink, T. T. Rau, S. Rose-John, H. Kessler, J. Schmidt and M. F. Neurath (2011). "Antibodies against tumor necrosis factor (TNF) induce T-cell apoptosis in patients with inflammatory bowel diseases via TNF receptor 2 and intestinal CD14(+) macrophages." *Gastroenterology* **141**(6): 2026-2038.
- Attar, A., G. Duru, X. Roblin, B. Savarieau, P. Brunel, M. Lamure and L. Peyrin-Biroulet (2019). "Cost savings using a test-based de-escalation strategy for patients with Crohn's disease in remission on optimized infliximab: A discrete event model study." *Dig Liver Dis* **51**(1): 112-119.
- Aubourg, A., L. Picon, T. Lecomte, T. Bejan-Angoulvant, G. Paintaud and D. Ternant (2015). "A robust estimation of infliximab pharmacokinetic parameters in Crohn's disease." *Eur J Clin Pharmacol* **71**(12): 1541-1542.
- Bajaj, G., X. Wang, S. Agrawal, M. Gupta, A. Roy and Y. Feng (2017). "Model-Based Population Pharmacokinetic Analysis of Nivolumab in Patients With Solid Tumors." *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **6**(1): 58-66.
- Baverel, P. G., V. F. S. Dubois, C. Y. Jin, Y. Zheng, X. Song, X. Jin, P. Mukhopadhyay, A. Gupta, P. A. Dennis, Y. Ben, P. Vicini, L. Roskos and R. Narwal (2018). "Population Pharmacokinetics of Durvalumab in Cancer Patients and Association With Longitudinal Biomarkers of Disease Status." *Clin Pharmacol Ther* **103**(4): 631-642.
- Beaugerie, L., P. Seksik, H. Sokol and J. Cosnes (2014). "Rectocolite hémorragique : du diagnostic au traitement." *Hépatogastro* **21**: 190-200.
- Bejan-Angoulvant, T., D. Ternant, F. Daoued, F. Medina, L. Bernard, S. Mammou, G. Paintaud and D. Mulleman (2017). "Brief Report: Relationship Between Serum Infliximab Concentrations and Risk of Infections in Patients Treated for Spondyloarthritis." *Arthritis Rheumatol* **69**(1): 108-113.
- Ben-Horin, S., M. Waterman, U. Kopylov, M. Yavzori, O. Picard, E. Fudim, H. Awadie, B. Weiss and Y. Chowers (2013). "Addition of an immunomodulator to infliximab therapy eliminates antidrug antibodies in serum and restores clinical response of patients with inflammatory bowel disease." *Clin Gastroenterol Hepatol* **11**(4): 444-447.
- Bendtzen, K. (2015). "Immunogenicity of Anti-TNF-alpha Biotherapies: II. Clinical Relevance of Methods Used for Anti-Drug Antibody Detection." *Front Immunol* **6**: 109.
- Bendtzen, K. and C. Steenholdt (2017). "Letter: can addition of an immunomodulator really reverse antibody formation and loss of response in patients treated with adalimumab?" *Aliment Pharmacol Ther* **45**(5): 759-760.
- Bendtzen, K., C. Steenholdt, J. Brynskov, O. O. Thomsen and M. A. Ainsworth (2016). "Monitoring immunogenicity of protein-based TNF antagonists." *Frontline Gastroenterol* **7**(2): 152-154.

- Berends, S. E., A. S. Strik, J. C. Van Selm, M. Lowenberg, C. Y. Ponsioen, G. R. D'Haens and R. A. Mathot (2018). "Explaining Interpatient Variability in Adalimumab Pharmacokinetics in Patients With Crohn's Disease." Ther Drug Monit **40**(2): 202-211.
- Bian, S., M. Ferrante and A. Gils (2017). "Validation of a Drug-Resistant Anti-Adalimumab Antibody Assay to Monitor Immunogenicity in the Presence of High Concentrations of Adalimumab." AAPS J **19**(2): 468-474.
- Bihorel, S., J. Fiedler-Kelly, E. Ludwig, J. Sloan-Lancaster and E. Raddad (2014). "Population pharmacokinetic modeling of LY2189102 after multiple intravenous and subcutaneous administrations." AAPS J **16**(5): 1009-1017.
- Billiet, T., E. Dreesen, I. Cleynen, W. J. Wollants, M. Ferrante, G. Van Assche, A. Gils and S. Vermeire (2016). "A Genetic Variation in the Neonatal Fc-Receptor Affects Anti-TNF Drug Concentrations in Inflammatory Bowel Disease." Am J Gastroenterol **111**(10): 1438-1445.
- Billiet, T., N. Vande Castele, T. Van Stappen, F. Princen, S. Singh, A. Gils, M. Ferrante, G. Van Assche, I. Cleynen and S. Vermeire (2015). "Immunogenicity to infliximab is associated with HLA-DRB1." Gut **64**(8): 1344-1345.
- Bown, H. K., C. Bonn, S. Yohe, D. B. Yadav, T. W. Patapoff, A. Daugherty and R. J. Mersny (2018). "In vitro model for predicting bioavailability of subcutaneously injected monoclonal antibodies." J Control Release **273**: 13-20.
- Brandse, J. F., D. Mould, O. Smeeke, Y. Ashruf, S. Kuin, A. Strik, G. R. van den Brink and G. R. D'Haens (2017). "A Real-life Population Pharmacokinetic Study Reveals Factors Associated with Clearance and Immunogenicity of Infliximab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis **23**(4): 650-660.
- Brandse, J. F., G. R. van den Brink, M. E. Wildenberg, D. van der Kleij, T. Rispens, J. M. Jansen, R. A. Mathot, C. Y. Ponsioen, M. Lowenberg and G. R. D'Haens (2015). "Loss of Infliximab Into Feces Is Associated With Lack of Response to Therapy in Patients With Severe Ulcerative Colitis." Gastroenterology **149**(2): 350-355 e352.
- Buist, M. R., P. Kenemans, W. den Hollander, J. B. Vermorken, C. J. Molthoff, C. W. Burger, T. J. Helmerhorst, J. P. Baak and J. C. Roos (1993). "Kinetics and tissue distribution of the radiolabeled chimeric monoclonal antibody MOv18 IgG and F(ab')₂ fragments in ovarian carcinoma patients." Cancer Res **53**(22): 5413-5418.
- Buurman, D. J., J. M. Maurer, R. J. Keizer, J. G. Kosterink and G. Dijkstra (2015). "Population pharmacokinetics of infliximab in patients with inflammatory bowel disease: potential implications for dosing in clinical practice." Aliment Pharmacol Ther **42**(5): 529-539.
- Clarivet, B., P. Robin, Y. M. Pers, R. Ferreira, J. Lebrun, C. Jorgensen, D. Hillaire-Buys, V. Bres and J. L. Faillie (2016). "Tocilizumab and mesenteric arterial thrombosis: drug-drug interaction with anticoagulants metabolized by CYP 450 and/or by P-glycoprotein." Eur J Clin Pharmacol **72**(11): 1413-1414.
- Crowe, J. S., K. J. Roberts, T. M. Carlton, L. Maggiore, M. F. Cubitt, S. Clare, K. Harcourt, J. Reckless, T. T. MacDonald, K. P. Ray, A. Vossenkamper and M. R. West (2018). "Preclinical Development of a Novel, Orally-Administered Anti-Tumour Necrosis Factor Domain Antibody for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease." Sci Rep **8**(1): 4941.
- D'Haens, G., M. Ferrante, S. Vermeire, F. Baert, M. Noman, L. Moortgat, P. Geens, D. Iwens, I. Aerden, G. Van Assche, G. Van Olmen and P. Rutgeerts (2012). "Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease." Inflamm Bowel Dis **18**(12): 2218-2224.
- Desvignes, C., S. R. Edupuganti, F. Darrouzain, A. C. Duveau, A. Loercher, G. Paintaud and D. Mulleman (2015). "Development and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay to measure adalimumab concentration." Bioanalysis **7**(10): 1253-1260.
- Dignass, A., J. O. Lindsay, A. Sturm, A. Windsor, J. F. Colombel, M. Allez, G. D'Haens, A. D'Hoore, G. Mantzaris, G. Novacek, T. Oresland, W. Reinisch, M. Sans, E. Stange, S. Vermeire, S. Travis and G. Van Assche (2012). "Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current management." J Crohns Colitis **6**(10): 991-1030.
- Dirks, N. L. and B. Meibohm (2010). "Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies." Clin Pharmacokinet **49**(10): 633-659.

Dotan, I., Y. Ron, H. Yanai, S. Becker, S. Fishman, L. Yahav, M. Ben Yehoyada and D. R. Mould (2014). "Patient factors that increase infliximab clearance and shorten half-life in inflammatory bowel disease: a population pharmacokinetic study." Inflamm Bowel Dis **20**(12): 2247-2259.

Echarri, A., G. Molina, O. Sagastagoia, L. Fuster, R. Fraga and J. Cid (2019). "Letter: double-dose intensification - a quick way to reverse antibody formation and loss of response in patients treated with adalimumab." Aliment Pharmacol Ther **49**(6): 821-822.

Fakhoury, M., R. Negrulj, A. Mooranian and H. Al-Salami (2014). "Inflammatory bowel disease: clinical aspects and treatments." J Inflamm Res **7**: 113-120.

Fasanmade, A. A., O. J. Adedokun, M. Blank, H. Zhou and H. M. Davis (2011). "Pharmacokinetic properties of infliximab in children and adults with Crohn's disease: a retrospective analysis of data from 2 phase III clinical trials." Clin Ther **33**(7): 946-964.

Fasanmade, A. A., O. J. Adedokun, J. Ford, D. Hernandez, J. Johanns, C. Hu, H. M. Davis and H. Zhou (2009). "Population pharmacokinetic analysis of infliximab in patients with ulcerative colitis." Eur J Clin Pharmacol **65**(12): 1211-1228.

Ferri, N., S. Bellosta, L. Baldessin, D. Boccia, G. Racagni and A. Corsini (2016). "Pharmacokinetics interactions of monoclonal antibodies." Pharmacol Res **111**: 592-599.

Feuerstein, J. D., G. C. Nguyen, S. S. Kupfer, Y. Falck-Ytter, S. Singh and C. American Gastroenterological Association Institute Clinical Guidelines (2017). "American Gastroenterological Association Institute Guideline on Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease." Gastroenterology **153**(3): 827-834.

Firan, M., R. Bawdon, C. Radu, R. J. Ober, D. Eaken, F. Antohe, V. Ghetie and E. S. Ward (2001). "The MHC class I-related receptor, FcRn, plays an essential role in the maternofetal transfer of gamma-globulin in humans." Int Immunol **13**(8): 993-1002.

Flamant, M. and X. Roblin (2015). "Could therapeutic drug monitoring of anti-TNF-alpha be useful to consider a de-escalation of treatment?" Expert Opin Biol Ther **15**(11): 1657-1660.

Garces, S., M. Antunes, E. Benito-Garcia, J. C. da Silva, L. Aarden and J. Demengeot (2014). "A preliminary algorithm introducing immunogenicity assessment in the management of patients with RA receiving tumour necrosis factor inhibitor therapies." Ann Rheum Dis **73**(6): 1138-1143.

Garces, S. and J. Demengeot (2018). "The Immunogenicity of Biologic Therapies." Curr Probl Dermatol **53**: 37-48.

Garces, S., J. Demengeot and E. Benito-Garcia (2013). "The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis." Ann Rheum Dis **72**(12): 1947-1955.

Garg, A. and J. P. Balthasar (2007). "Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model to predict IgG tissue kinetics in wild-type and FcRn-knockout mice." J Pharmacokinet Pharmacodyn **34**(5): 687-709.

Gatault, P., G. Brachet, D. Ternant, D. Degenne, G. Recipon, C. Barbet, E. Gyan, V. Gouilleux-Gruart, C. Bordes, A. Farrell, J. M. Halimi and H. Watier (2015). "Therapeutic drug monitoring of eculizumab: Rationale for an individualized dosing schedule." MAbs **7**(6): 1205-1211.

Giragossian, C., T. Clark, N. Piche-Nicholas and C. J. Bowman (2013). "Neonatal Fc receptor and its role in the absorption, distribution, metabolism and excretion of immunoglobulin G-based biotherapeutics." Curr Drug Metab **14**(7): 764-790.

Glassman, P. M., L. Abuqayyas and J. P. Balthasar (2015). "Assessments of antibody biodistribution." J Clin Pharmacol **55 Suppl 3**: S29-38.

Gomollon, F., A. Dignass, V. Annese, H. Tilg, G. Van Assche, J. O. Lindsay, L. Peyrin-Biroulet, G. J. Cullen, M. Daperno, T. Kucharzik, F. Rieder, S. Almer, A. Armuzzi, M. Harbord, J. Langhorst, M. Sans, Y. Chowers, G. Fiorino, P. Juillerat, G. J. Mantzaris, F. Rizzello, S. Vavricka, P. Gionchetti and Ecco (2017). "3rd European

Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management." J Crohns Colitis **11**(1): 3-25.

Gower-Rousseau, C., A. Leroyer, M. Génin, G. Savoye, H. Sarter, B. Pariente, D. Turck and M. Fumery (2018). "Epidémiologie descriptive et évolution dans le temps et l'espace de l'incidence des maladies inflammatoires chroniques intestinales dans le Nord-Ouest de la France (1988-2014)." Bulletin d'épidémiologie hebdomadaire **13**: 228-236.

Guidi, L., D. Pugliese, T. Panici Tonucci, A. Berrino, B. Tolusso, M. Basile, L. Cantoro, P. Balestrieri, F. Civitelli, L. Bertani, M. Marzo, C. Felice, E. Gremese, F. Costa, F. Viola, M. Cicala, A. Kohn, A. Gasbarrini, G. L. Rapaccini, M. Ruggeri and A. Armuzzi (2018). "Therapeutic drug monitoring is more cost-effective than a clinically-based approach in the management of loss of response to infliximab in inflammatory bowel disease: an observational multi-centre study." J Crohns Colitis.

Hansel, T. T., H. Kropshofer, T. Singer, J. A. Mitchell and A. J. George (2010). "The safety and side effects of monoclonal antibodies." Nat Rev Drug Discov **9**(4): 325-338.

Harding, F. A., M. M. Stickler, J. Razo and R. B. DuBridge (2010). "The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions." MAbs **2**(3): 256-265.

Hebuterne, X., M. Lemann, Y. Bouhnik, O. Dewit, J. L. Dupas, M. Mross, G. D'Haens, K. Mitchev, E. Ernault, S. Vermeire, H. Brixi-Benmansour, T. G. Moreels, J. Y. Mary, P. Marteau and J. F. Colombel (2013). "Endoscopic improvement of mucosal lesions in patients with moderate to severe ileocolonic Crohn's disease following treatment with certolizumab pegol." Gut **62**(2): 201-208.

Ilan, Y., K. Shailubhai and A. Sanyal (2018). "Immunotherapy with oral administration of humanized anti-CD3 monoclonal antibody: a novel gut-immune system-based therapy for metaflammation and NASH." Clin Exp Immunol **193**(3): 275-283.

Jacobs, R., T. Langer-Jacobus, M. Duong, K. Stahl, H. Haller, R. E. Schmidt and M. Schiffer (2017). "Detection and quantification of rituximab in the human urine." J Immunol Methods **451**: 118-121.

Jain, R. K. (2013). "Normalizing tumor microenvironment to treat cancer: bench to bedside to biomarkers." J Clin Oncol **31**(17): 2205-2218.

Kaplon, H. and J. M. Reichert (2019). "Antibodies to watch in 2019." MAbs **11**(2): 219-238.

Keizer, R. J., A. D. Huitema, J. H. Schellens and J. H. Beijnen (2010). "Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies." Clin Pharmacokinet **49**(8): 493-507.

Kelly, R. L., Y. Yu, T. Sun, I. Caffry, H. Lynaugh, M. Brown, T. Jain, Y. Xu and K. D. Wittrup (2016). "Target-independent variable region mediated effects on antibody clearance can be FcRn independent." MAbs **8**(7): 1269-1275.

Kim, D. H. and J. H. Cheon (2017). "Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Recent Advances in Biologic Therapies." Immune Netw **17**(1): 25-40.

Kirchgesner, J., M. Lemaitre, A. Rudnichi, A. Racine, M. Zureik, F. Carbonnel and R. Dray-Spira (2017). "Therapeutic management of inflammatory bowel disease in real-life practice in the current era of anti-TNF agents: analysis of the French administrative health databases 2009-2014." Aliment Pharmacol Ther **45**(1): 37-49.

Kohler, G. and C. Milstein (1975). "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity." Nature **256**(5517): 495-497.

Kohn, T., L. T. Tam, S. R. Stevens and J. S. Louie (2007). "Binding characteristics of tumor necrosis factor receptor-Fc fusion proteins vs anti-tumor necrosis factor mAbs." J Invest Dermatol Symp Proc **12**(1): 5-8.

Korolkova, O. Y., J. N. Myers, S. T. Pellom, L. Wang and A. E. M'Koma (2015). "Characterization of Serum Cytokine Profile in Predominantly Colonic Inflammatory Bowel Disease to Delineate Ulcerative and Crohn's Colitides." Clin Med Insights Gastroenterol **8**: 29-44.

Latvala, S., B. Jacobsen, M. B. Otteneder, A. Herrmann and S. Kronenberg (2017). "Distribution of FcRn Across Species and Tissues." J Histochem Cytochem **65**(6): 321-333.

Levin, A. D., M. E. Wildenberg and G. R. van den Brink (2016). "Mechanism of Action of Anti-TNF Therapy in Inflammatory Bowel Disease." J Crohns Colitis **10**(8): 989-997.

Li, H., J. Yu, C. Liu, J. Liu, S. Subramaniam, H. Zhao, G. M. Blumenthal, D. C. Turner, C. Li, M. Ahamadi, R. de Greef, M. Chatterjee, A. G. Kondic, J. A. Stone, B. P. Booth, P. Keegan, A. Rahman and Y. Wang (2017). "Time dependent pharmacokinetics of pembrolizumab in patients with solid tumor and its correlation with best overall response." J Pharmacokinet Pharmacodyn **44**(5): 403-414.

Liu, L. (2018). "Pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins." Protein Cell **9**(1): 15-32.

Louis, E. (2018). "Stopping Biologics in IBD-What Is the Evidence?" Inflamm Bowel Dis **24**(4): 725-731.

Louis, E., C. Van Kemseke and C. Reenaers (2011). "Necessity of phenotypic classification of inflammatory bowel disease." Best Pract Res Clin Gastroenterol **25** Suppl 1: S2-7.

Magdelaine-Beuzelin, C., M. Ohresser and H. Watier (2009). "[Neonatal Fc receptor, key control of immunoglobulins biodistribution]." Med Sci (Paris) **25**(12): 1053-1056.

Magdelaine-Beuzelin, C., S. Vermeire, M. Goodall, F. Baert, M. Noman, G. V. Assche, M. Ohresser, D. Degenne, J. M. Dugoujon, R. Jefferis, P. Rutgeerts, M. P. Lefranc and H. Watier (2009). "IgG1 heavy chain-coding gene polymorphism (G1m allotypes) and development of antibodies-to-infliximab." Pharmacogenet Genomics **19**(5): 383-387.

McRae, B. L., A. D. Levin, M. E. Wildenberg, P. J. Koelink, P. Bousquet, I. Mikaelian, A. S. Sterman, S. Bryant, G. D'Haens, R. Kamath, J. Salfeld and G. R. van den Brink (2016). "Fc Receptor-mediated Effector Function Contributes to the Therapeutic Response of Anti-TNF Monoclonal Antibodies in a Mouse Model of Inflammatory Bowel Disease." J Crohns Colitis **10**(1): 69-76.

Melgar, S., M. M. Yeung, A. Bas, G. Forsberg, O. Suhr, A. Oberg, S. Hammarstrom, A. Danielsson and M. L. Hammarstrom (2003). "Over-expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis." Clin Exp Immunol **134**(1): 127-137.

Mitoma, H., T. Horiuchi, H. Tsukamoto, Y. Tamimoto, Y. Kimoto, A. Uchino, K. To, S. Harashima, N. Hatta and M. Harada (2008). "Mechanisms for cytotoxic effects of anti-tumor necrosis factor agents on transmembrane tumor necrosis factor alpha-expressing cells: comparison among infliximab, etanercept, and adalimumab." Arthritis Rheum **58**(5): 1248-1257.

Mitrev, N., N. Vande Casteele, C. H. Seow, J. M. Andrews, S. J. Connor, G. T. Moore, M. Barclay, J. Begun, R. Bryant, W. Chan, C. Corte, S. Ghaly, D. A. Lemberg, V. Kariyawasam, P. Lewindon, J. Martin, R. Mountfield, G. Radford-Smith, P. Slobodian, M. Sparrow, C. Toong, D. van Langenberg, M. G. Ward, R. W. Leong, I. B. D. S. Organisation and G. the Australian Inflammatory Bowel Diseases Consensus Working (2017). "Review article: consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases." Aliment Pharmacol Ther **46**(11-12): 1037-1053.

Mokrowiecka, A., P. Daniel, M. Slomka, P. Majak and E. Malecka-Panas (2009). "Clinical utility of serological markers in inflammatory bowel disease." Hepatogastroenterology **56**(89): 162-166.

Mooiweer, E., M. Severs, M. E. Schipper, H. H. Fidder, P. D. Siersema, R. J. Laheij and B. Oldenburg (2015). "Low fecal calprotectin predicts sustained clinical remission in inflammatory bowel disease patients: a plea for deep remission." J Crohns Colitis **9**(1): 50-55.

Mould, D. R. and B. Green (2010). "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies: concepts and lessons for drug development." BioDrugs **24**(1): 23-39.

Muralidharan, K. K., G. Kuesters, T. Plavina, M. Subramanyam, D. D. Mikol, S. Gopal and I. Nestorov (2017). "Population Pharmacokinetics and Target Engagement of Natalizumab in Patients With Multiple Sclerosis." J Clin Pharmacol **57**(8): 1017-1030.

Nadler, L. M., P. Stashenko, R. Hardy, W. D. Kaplan, L. N. Button, D. W. Kufe, K. H. Antman and S. F. Schlossman (1980). "Serotherapy of a patient with a monoclonal antibody directed against a human lymphoma-associated antigen." Cancer Res **40**(9): 3147-3154.

Nesbitt, A., G. Fossati, M. Bergin, P. Stephens, S. Stephens, R. Foulkes, D. Brown, M. Robinson and T. Bourne (2007). "Mechanism of action of certolizumab pegol (CDP870): in vitro comparison with other anti-tumor necrosis factor alpha agents." Inflamm Bowel Dis **13**(11): 1323-1332.

Ng, S. C., H. Y. Shi, N. Hamidi, F. E. Underwood, W. Tang, E. I. Benchimol, R. Panaccione, S. Ghosh, J. C. Y. Wu, F. K. L. Chan, J. J. Y. Sung and G. G. Kaplan (2018). "Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies." Lancet **390**(10114): 2769-2778.

Nimmerjahn, F. and J. V. Ravetch (2008). "Fcγ receptors as regulators of immune responses." Nat Rev Immunol **8**(1): 34-47.

Ovacik, M. and K. Lin (2018). "Tutorial on Monoclonal Antibody Pharmacokinetics and Its Considerations in Early Development." Clin Transl Sci **11**(6): 540-552.

Pallagi-Kunstar, E., K. Farkas, Z. Szepes, F. Nagy, M. Szucs, R. Kui, R. Gyulai, A. Balint, T. Wittmann and T. Molnar (2014). "Utility of serum TNF-alpha, infliximab trough level, and antibody titers in inflammatory bowel disease." World J Gastroenterol **20**(17): 5031-5035.

Papamichael, K., A. S. Cheifetz, G. Y. Melmed, P. M. Irving, N. Vande Casteele, P. L. Kozuch, L. E. Raffals, L. Baidoo, B. Bressler, S. M. Devlin, J. Jones, G. G. Kaplan, M. P. Sparrow, F. S. Velayos, T. Ullman and C. A. Siegel (2019). "Appropriate Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Agents for Patients With Inflammatory Bowel Diseases." Clin Gastroenterol Hepatol **17**(9): 1655-1668 e1653.

Papamichael, K., M. T. Osterman, C. A. Siegel, G. Y. Melmed, M. C. Dubinsky, J. F. Colombel, S. B. Hanauer and A. S. Cheifetz (2018). "Using Proactive Therapeutic Drug Monitoring of Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy in Inflammatory Bowel Disease: From an Old Concept to a Future Standard of Care?" Gastroenterology **154**(4): 1201-1202.

Pariante, B., J. Cosnes, S. Danese, W. J. Sandborn, M. Lewin, J. G. Fletcher, Y. Chowers, G. D'Haens, B. G. Feagan, T. Hibi, D. W. Hommes, E. J. Irvine, M. A. Kamm, E. V. Loftus, Jr., E. Louis, P. Michetti, P. Munkholm, T. Oresland, J. Panes, L. Peyrin-Biroulet, W. Reinisch, B. E. Sands, J. Schoelmerich, S. Schreiber, H. Tilg, S. Travis, G. van Assche, M. Vecchi, J. Y. Mary, J. F. Colombel and M. Lemann (2011). "Development of the Crohn's disease digestive damage score, the Lemann score." Inflamm Bowel Dis **17**(6): 1415-1422.

Passot, C., N. Azzopardi, S. Renault, N. Baroukh, C. Arnoult, M. Ohresser, M. Boisdron-Celle, E. Gamelin, H. Watier, G. Paintaud and V. Gouilleux-Gruart (2013). "Influence of FCGR2 gene polymorphisms on pharmacokinetics of therapeutic antibodies." MAbs **5**(4): 614-619.

Paul, S. and X. Roblin (2019). "Letter: immunogenicity of anti-TNF in elderly IBD patients." Aliment Pharmacol Ther **50**(3): 336.

Paul, S., X. Roblin and L. Peyrin-Biroulet (2015). "Letter: infliximab de-escalation based on trough levels in patients with inflammatory bowel disease." Aliment Pharmacol Ther **42**(7): 939-940.

Perše, M. and A. Unkovič (2018). "The Role of TNF in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease."

Peyrin-Biroulet, L. (2014). "Quand débuter un traitement anti-TNF ?" POST'U: 1-5.

Peyrin-Biroulet, L., J. Panes, W. J. Sandborn, S. Vermeire, S. Danese, B. G. Feagan, J. F. Colombel, S. B. Hanauer and B. Rycroft (2016). "Defining Disease Severity in Inflammatory Bowel Diseases: Current and Future Directions." Clin Gastroenterol Hepatol **14**(3): 348-354 e317.

Piche-Nicholas, N. M., L. B. Avery, A. C. King, M. Kavosi, M. Wang, D. M. O'Hara, L. Tchistiakova and M. Katragadda (2018). "Changes in complementarity-determining regions significantly alter IgG binding to the neonatal Fc receptor (FcRn) and pharmacokinetics." MAbs **10**(1): 81-94.

Porter, C., S. Armstrong-Fisher, T. Kopotsha, B. Smith, T. Baker, L. Kevorkian and A. Nesbitt (2016). "Certolizumab pegol does not bind the neonatal Fc receptor (FcRn): Consequences for FcRn-mediated in vitro transcytosis and ex vivo human placental transfer." J Reprod Immunol **116**: 7-12.

Pratesi, S., F. Nencini, F. Grosso, L. Dies, S. Bormioli, D. Cammelli, E. Maggi, A. Matucci, A. Vultaggio and A. Consortium (2018). "T Cell Response to Infliximab in Exposed Patients: A Longitudinal Analysis." Front Immunol **9**: 3113.

Quistrebert, J., S. Hassler, D. Bachelet, C. Mbogning, A. Musters, P. P. Tak, C. A. Wijbrandts, M. Herenius, S. A. Bergstra, G. Akdemir, M. Johannesson, B. Combe, B. Fautrel, S. Chollet-Martin, A. Gleizes, N. Donnellan, F. Deisenhammer, J. Davidson, A. Hincelin-Mery, P. Donnes, A. Fogdell-Hahn, N. De Vries, T. Huizinga, I. Abugessaisa, S. Saevarsdottir, S. Hacein-Bey-Abina, M. Pallardy, P. Broet, X. Mariette and A. Consortium (2019). "Incidence and risk factors for adalimumab and infliximab anti-drug antibodies in rheumatoid arthritis: A European retrospective multicohort analysis." Semin Arthritis Rheum **48**(6): 967-975.

Respaud, R., L. Vecellio, P. Diot and N. Heuze-Vourc'h (2015). "Nebulization as a delivery method for mAbs in respiratory diseases." Expert Opin Drug Deliv **12**(6): 1027-1039.

Ricciuto, A., J. Dhaliwal, T. D. Walters, A. M. Griffiths and P. C. Church (2018). "Clinical Outcomes With Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review With Meta-Analysis." J Crohns Colitis **12**(11): 1302-1315.

Roblin, X., A. Attar, M. Lamure, B. Savarieau, P. Brunel, G. Duru and L. Peyrin-Biroulet (2015). "Cost savings of anti-TNF therapy using a test-based strategy versus an empirical dose escalation in Crohn's disease patients who lose response to infliximab." J Mark Access Health Policy **3**.

Roblin, X., G. Boschetti, G. Duru, N. Williet, E. Deltedesco, J. M. Phelip, L. Peyrin-Biroulet, S. Nancey, B. Flourie and S. Paul (2017). "Distinct Thresholds of Infliximab Trough Level Are Associated with Different Therapeutic Outcomes in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Prospective Observational Study." Inflamm Bowel Dis **23**(11): 2048-2053.

Roblin, X., G. Duru, N. Williet, E. Del Tedesco, M. Cuilleron, C. Jarlot, J. M. Phelip, G. Boschetti, B. Flourie, S. Nancey, L. Peyrin-Biroulet and S. Paul (2017). "Development and Internal Validation of a Model Using Fecal Calprotectin in Combination with Infliximab Trough Levels to Predict Clinical Relapse in Crohn's Disease." Inflamm Bowel Dis **23**(1): 126-132.

Roblin, X., H. Marotte, M. Leclerc, E. Del Tedesco, J. M. Phelip, L. Peyrin-Biroulet and S. Paul (2015). "Combination of C-reactive protein, infliximab trough levels, and stable but not transient antibodies to infliximab are associated with loss of response to infliximab in inflammatory bowel disease." J Crohns Colitis **9**(7): 525-531.

Roblin, X., M. Rinaudo, E. Del Tedesco, J. M. Phelip, C. Genin, L. Peyrin-Biroulet and S. Paul (2014). "Development of an algorithm incorporating pharmacokinetics of adalimumab in inflammatory bowel diseases." Am J Gastroenterol **109**(8): 1250-1256.

Roblin, X., P. Riviere, M. Flamant, P. Veyrard, F. Poullenot, S. Paul and D. Laharie (2018). "Proactive Therapeutic Drug Monitoring of TNF Antagonists in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis.

Romero-Cara, P., D. Torres-Moreno, J. Pedregosa, J. A. Vilchez, M. S. Garcia-Simon, G. Ruiz-Merino, S. Moran-Sanchez and P. Conesa-Zamora (2018). "A FCGR3A Polymorphism Predicts Anti-drug Antibodies in Chronic Inflammatory Bowel Disease Patients Treated With Anti-TNF." Int J Med Sci **15**(1): 10-15.

Roopenian, D. C. and S. Akilesh (2007). "FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age." Nat Rev Immunol **7**(9): 715-725.

Rosales, C. and E. Uribe-Querol (2013). "Fc receptors: Cell activators of antibody functions." Advances in Bioscience and Biotechnology **4**: 21-33.

Rudnick, S. I., J. Lou, C. C. Shaller, Y. Tang, A. J. Klein-Szanto, L. M. Weiner, J. D. Marks and G. P. Adams (2011). "Influence of affinity and antigen internalization on the uptake and penetration of Anti-HER2 antibodies in solid tumors." Cancer Res **71**(6): 2250-2259.

- Ryman, J. T. and B. Meibohm (2017). "Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies." CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol **6**(9): 576-588.
- Sewell, F., K. Chapman, J. Couch, M. Dempster, S. Heidel, L. Loberg, C. Maier, T. K. Maclachlan, M. Todd and J. W. van der Laan (2017). "Challenges and opportunities for the future of monoclonal antibody development: Improving safety assessment and reducing animal use." MABs **9**(5): 742-755.
- Shah, D. K. and A. M. Betts (2013). "Antibody biodistribution coefficients: inferring tissue concentrations of monoclonal antibodies based on the plasma concentrations in several preclinical species and human." MABs **5**(2): 297-305.
- Sharma, S., D. Eckert, J. S. Hyams, S. Mensing, R. B. Thakkar, A. M. Robinson, J. R. Rosh, F. M. Ruemmele and W. M. Awani (2015). "Pharmacokinetics and exposure-efficacy relationship of adalimumab in pediatric patients with moderate to severe Crohn's disease: results from a randomized, multicenter, phase-3 study." Inflamm Bowel Dis **21**(4): 783-792.
- Shen, C., G. V. Assche, S. Colpaert, P. Maerten, K. Geboes, P. Rutgeerts and J. L. Ceuppens (2005). "Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept." Aliment Pharmacol Ther **21**(3): 251-258.
- Shen, Y., G. Li, C. Gu, B. Chen, A. Chen, H. Li, B. Gao, C. Liang, J. Wu, T. Yang, L. Jin and Y. Su (2017). "T0001, a variant of TNFR2-Fc fusion protein, exhibits improved Fc effector functions through increased binding to membrane-bound TNF α ." PLoS One **12**(5): e0177891.
- Suleiman, A. A., M. Minocha, A. Khatri, Y. Pang and A. A. Othman (2019). "Population Pharmacokinetics of Risankizumab in Healthy Volunteers and Subjects with Moderate to Severe Plaque Psoriasis: Integrated Analyses of Phase I-III Clinical Trials." Clin Pharmacokinet.
- Suzuki, M., C. Kato and A. Kato (2015). "Therapeutic antibodies: their mechanisms of action and the pathological findings they induce in toxicity studies." J Toxicol Pathol **28**(3): 133-139.
- Suzuki, T., A. Ishii-Watabe, M. Tada, T. Kobayashi, T. Kanayasu-Toyoda, T. Kawanishi and T. Yamaguchi (2010). "Importance of neonatal FcR in regulating the serum half-life of therapeutic proteins containing the Fc domain of human IgG1: a comparative study of the affinity of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins to human neonatal FcR." J Immunol **184**(4): 1968-1976.
- Tabrizi, M., G. G. Bornstein and H. Suria (2010). "Biodistribution mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies in health and disease." AAPS J **12**(1): 33-43.
- Ternant, D., A. Aubourg, C. Magdelaine-Beuzelin, D. Degenne, H. Watier, L. Picon and G. Paintaud (2008). "Infliximab pharmacokinetics in inflammatory bowel disease patients." Ther Drug Monit **30**(4): 523-529.
- Ternant, D., N. Azzopardi, W. Raoul, T. Bejan-Angoulvant and G. Paintaud (2019). "Influence of Antigen Mass on the Pharmacokinetics of Therapeutic Antibodies in Humans." Clin Pharmacokinet **58**(2): 169-187.
- Ternant, D., Z. Berkane, L. Picon, V. Gouilleux-Gruart, J. F. Colombel, M. Allez, E. Louis and G. Paintaud (2015). "Assessment of the Influence of Inflammation and FCGR3A Genotype on Infliximab Pharmacokinetics and Time to Relapse in Patients with Crohn's Disease." Clin Pharmacokinet **54**(5): 551-562.
- Ternant, D., E. Ducourau, P. Fuzibet, C. Vignault, H. Watier, T. Lequerre, X. Le Loet, O. Vittecoq, P. Goupille, D. Mulleman and G. Paintaud (2015). "Pharmacokinetics and concentration-effect relationship of adalimumab in rheumatoid arthritis." Br J Clin Pharmacol **79**(2): 286-297.
- Ternant, D., K. Karmiris, S. Vermeire, C. Desvignes, N. Azzopardi, T. Bejan-Angoulvant, G. van Assche and G. Paintaud (2015). "Pharmacokinetics of adalimumab in Crohn's disease." Eur J Clin Pharmacol **71**(9): 1155-1157.
- Ternant, D., D. Mulleman, D. Degenne, S. Willot, J. M. Guillaumin, H. Watier, P. Goupille and G. Paintaud (2006). "An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of infliximab." Ther Drug Monit **28**(2): 169-174.

Titz, B., R. M. Gadaleta, G. Lo Sasso, A. Elamin, K. Ekroos, N. V. Ivanov, M. C. Peitsch and J. Hoeng (2018). "Proteomics and Lipidomics in Inflammatory Bowel Disease Research: From Mechanistic Insights to Biomarker Identification." *Int J Mol Sci* **19**(9).

Tsumoto, K., Y. Isozaki, H. Yagami and M. Tomita (2019). "Future perspectives of therapeutic monoclonal antibodies." *Immunotherapy* **11**(2): 119-127.

Ueda, N., H. Tsukamoto, H. Mitoma, M. Ayano, A. Tanaka, S. Ohta, Y. Inoue, Y. Arinobu, H. Niuro, K. Akashi and T. Horiuchi (2013). "The cytotoxic effects of certolizumab pegol and golimumab mediated by transmembrane tumor necrosis factor alpha." *Inflamm Bowel Dis* **19**(6): 1224-1231.

Ungar, B., Y. Chowers, M. Yavzori, O. Picard, E. Fudim, O. Har-Noy, U. Kopylov, R. Eliakim, S. Ben-Horin and A. consortium (2014). "The temporal evolution of antidrug antibodies in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab." *Gut* **63**(8): 1258-1264.

Ungar, B., U. Kopylov, T. Engel, M. Yavzori, E. Fudim, O. Picard, A. Lang, N. Williet, S. Paul, Y. Chowers, A. Bar-Gil Shitrit, R. Eliakim, S. Ben-Horin and X. Roblin (2017). "Addition of an immunomodulator can reverse antibody formation and loss of response in patients treated with adalimumab." *Aliment Pharmacol Ther* **45**(2): 276-282.

van Brummelen, E. M., W. Ros, G. Wolbink, J. H. Beijnen and J. H. Schellens (2016). "Antidrug Antibody Formation in Oncology: Clinical Relevance and Challenges." *Oncologist* **21**(10): 1260-1268.

Van der Veldt, A. A., M. Lubberink, I. Bahce, M. Walraven, M. P. de Boer, H. N. Greuter, N. H. Hendrikse, J. Eriksson, A. D. Windhorst, P. E. Postmus, H. M. Verheul, E. H. Serne, A. A. Lammertsma and E. F. Smit (2012). "Rapid decrease in delivery of chemotherapy to tumors after anti-VEGF therapy: implications for scheduling of anti-angiogenic drugs." *Cancer Cell* **21**(1): 82-91.

van Schie, K. A., G. J. Wolbink and T. Rispens (2015). "Cross-reactive and pre-existing antibodies to therapeutic antibodies--Effects on treatment and immunogenicity." *MAbs* **7**(4): 662-671.

van Schouwenburg, P. A., G. M. Bartelds, M. H. Hart, L. Aarden, G. J. Wolbink and D. Wouters (2010). "A novel method for the detection of antibodies to adalimumab in the presence of drug reveals "hidden" immunogenicity in rheumatoid arthritis patients." *J Immunol Methods* **362**(1-2): 82-88.

Van Stappen, T., N. Vande Castele, G. Van Assche, M. Ferrante, S. Vermeire and A. Gils (2018). "Clinical relevance of detecting anti-infliximab antibodies with a drug-tolerant assay: post hoc analysis of the TAXIT trial." *Gut* **67**(5): 818-826.

Vande Castele, N., M. Ferrante, G. Van Assche, V. Ballet, G. Compernelle, K. Van Steen, S. Simoens, P. Rutgeerts, A. Gils and S. Vermeire (2015). "Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease." *Gastroenterology* **148**(7): 1320-1329 e1323.

Vande Castele, N., A. Gils, S. Singh, L. Ohrmund, S. Hauenstein, P. Rutgeerts and S. Vermeire (2013). "Antibody response to infliximab and its impact on pharmacokinetics can be transient." *Am J Gastroenterol* **108**(6): 962-971.

Vande Castele, N., D. R. Mould, J. Coarse, I. Hasan, A. Gils, B. Feagan and W. J. Sandborn (2017). "Accounting for Pharmacokinetic Variability of Certolizumab Pegol in Patients with Crohn's Disease." *Clin Pharmacokinet* **56**(12): 1513-1523.

Verstockt, B., B. Deleenheer, G. Van Assche, S. Vermeire and M. Ferrante (2017). "A safety assessment of biological therapies targeting the IL-23/IL-17 axis in inflammatory bowel diseases." *Expert Opin Drug Saf* **16**(7): 809-821.

Von Behring, E. and S. Kitasato (1890). "Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Tieren." *Dtsch Med Wochenschr* **16**: 1113-1114.

Vos, A. C., M. E. Wildenberg, I. Arijis, M. Duijvestein, A. P. Verhaar, G. de Hertogh, S. Vermeire, P. Rutgeerts, G. R. van den Brink and D. W. Hommes (2012). "Regulatory macrophages induced by infliximab are involved in healing in vivo and in vitro." *Inflamm Bowel Dis* **18**(3): 401-408.

Wade, J. R., G. Parker, G. Kosutic, B. G. Feagen, W. J. Sandborn, C. Laveille and R. Oliver (2015). "Population pharmacokinetic analysis of certolizumab pegol in patients with Crohn's disease." J Clin Pharmacol **55**(8): 866-874.

Wang, W., E. Q. Wang and J. P. Balthasar (2008). "Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics." Clin Pharmacol Ther **84**(5): 548-558.

Yarur, A. J., A. Jain, D. A. Sussman, J. S. Barkin, M. A. Quintero, F. Princen, R. Kirkland, A. R. Deshpande, S. Singh and M. T. Abreu (2016). "The association of tissue anti-TNF drug levels with serological and endoscopic disease activity in inflammatory bowel disease: the ATLAS study." Gut **65**(2): 249-255.

Yarur, A. J., M. J. Kubiliun, F. Czul, D. A. Sussman, M. A. Quintero, A. Jain, K. A. Drake, S. I. Hauenstein, S. Lockton, A. R. Deshpande, J. S. Barkin, S. Singh and M. T. Abreu (2015). "Concentrations of 6-thioguanine nucleotide correlate with trough levels of infliximab in patients with inflammatory bowel disease on combination therapy." Clin Gastroenterol Hepatol **13**(6): 1118-1124 e1113.

Zhang, Y. Z. and Y. Y. Li (2014). "Inflammatory bowel disease: pathogenesis." World J Gastroenterol **20**(1): 91-99.

ANNEXES

Annexe 1. Poster présenté à la SFPT 2018 sur la méthode de dosage de l'Infliximab.

Development and validation of a specific, high-range, high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for the therapeutic drug monitoring of infliximab

PS2-048

A. Petitcollin^{1,2,3}, C. Tron^{1,2,3}, S. Lalanne^{1,2,3}, C. Bognione-Kerrier^{1,2,3}, F. Lemaître^{1,2,3}, G. Bouguen^{4,5}, M.C. Verdier^{1,2,3}, E. Bellissant^{1,2,3}.

¹Rennes University Hospital, Department of Clinical and Biological Pharmacology and Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information Center – Rennes, France. ²Rennes 1 University, Faculty of Medicine, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes, France. ³Inserm, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes, France. ⁴Rennes University Hospital, Department of Gastroenterology, Rennes, France. ⁵Inserm U991, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes, France.

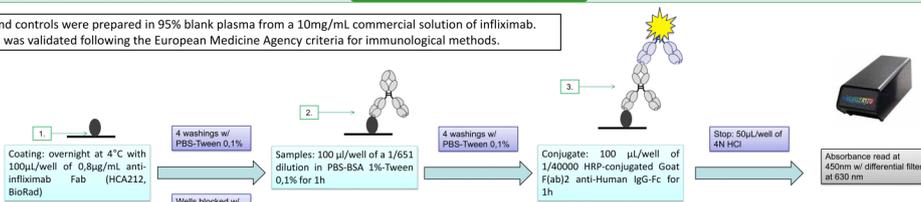
Introduction

Therapeutic drug monitoring (TDM) of infliximab is one of the cornerstones of the follow-up and optimization of the treatment in patients with inflammatory bowel diseases. However, the currently available infliximab assays suffer several limitations. Mass spectrometry is specific but may lack sensitivity, is expensive and often requires a long sample preparation. Commercial Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) are fast and sensitive, but they are also expensive and some of them show cross-reactivity with the other anti-TNF antibodies.

Here, we provide a **specific, sensitive, high-range and cheap ELISA method** for the TDM of infliximab in routine practice.

Methods

- Standards and controls were prepared in 95% blank plasma from a 10mg/mL commercial solution of infliximab.
- The method was validated following the European Medicine Agency criteria for immunological methods.



Results

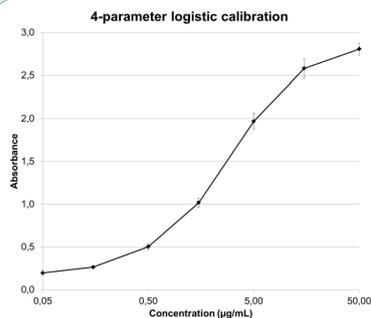


Fig 1. Calibration curve. The error bars represent the standard deviation of the absorbance measured on 6 different days.

The method fulfilled the acceptance criteria from the EMA guidelines.

- Bias and CV% within +/-20% of the nominal value
- Dilution linearity (up to 1/500) and parallelism (up to 1/100) were tested, with recovery within +/-20% of the nominal value

Interferences with rheumatoid factor were tested as well (data not shown) and revealed **no significant influence of high concentrations of rheumatoid factor**.

Concentrations of adalimumab up to 50 µg/mL were assayed to ensure the **absence of cross-reactivity**.

Key features of the assay

- Assay range : **0.2 – 20.0 µg/mL**
- Up to **35 patient** per assay
- Less than 4 hours** from first washing to the reading
- Parallelism up to 1/100**

Table 1. Precision and bias of the method

| Nominal value | Intraday (n=6) | | | Interday (n=6) | | |
|---------------|----------------|--------|------|----------------|--------|------|
| | Mean | Bias | CV% | Mean | Bias | CV% |
| Std 1 0,05 | 0,04 | -17,00 | 5,11 | 0,04 | -18,83 | 7,33 |
| Std 2 0,15 | 0,16 | 9,89 | 9,13 | 0,17 | 12,04 | 7,76 |
| Std 3 0,50 | 0,54 | 7,10 | 0,28 | 0,54 | 7,01 | 3,23 |
| Std 4 1,50 | 1,46 | -2,34 | 0,29 | 1,46 | -2,97 | 0,95 |
| Std 5 5,00 | 4,97 | -0,61 | 0,31 | 5,03 | 0,51 | 1,11 |
| Std 6 15,00 | 16,35 | 9,00 | 0,62 | 15,83 | 5,51 | 4,23 |
| Std 7 50,00 | 41,63 | -16,74 | 2,74 | 42,23 | -15,53 | 6,18 |
| QC1 0,20 | 0,22 | 10,67 | 8,93 | 0,23 | 13,31 | 7,72 |
| QC2 2,00 | 2,01 | 0,51 | 3,41 | 2,03 | 1,35 | 4,13 |
| QC3 10,00 | 11,05 | 10,46 | 7,22 | 11,33 | 13,32 | 5,88 |
| QC4 20,00 | 20,35 | 1,74 | 5,93 | 20,86 | 4,29 | 5,44 |

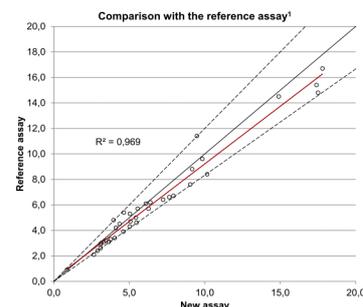


Fig 2. Plot of reference versus new assay measurements. The comparison was performed over 37 samples with detectable infliximab, plus 5 samples with undetectable infliximab in both assays.

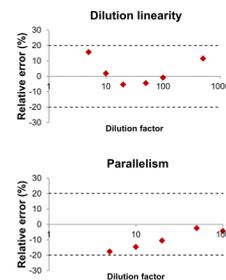


Fig 3. Dilution performances. Dilution linearity and parallelism.

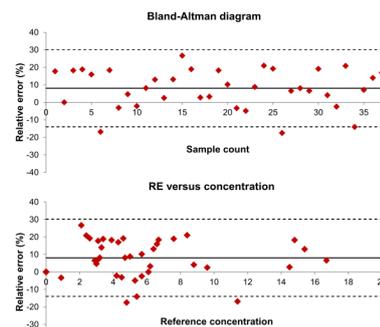


Fig 4. Bland-Altman diagram and evaluation of the relative error with the value of the measured concentration.

Conclusion

The method presented here allows **sensitive and specific** measurements of infliximab concentrations, with a high-throughput since up to 35 samples can be assayed in duplicate on a single 96-wells plate. **Linearity up to 20 µg/mL avoids necessity to re-analyze diluted samples** in most cases. The method is also very affordable with **reagents costs <2€ per patient**. It allows to perform routine TDM of infliximab without risking interferences with other anti-TNF. Moreover, this **standardized method can be applied to other monoclonal antibodies** by switching the anti-IFX coating Fab with another Fab of desired specificity. The validation of specific assays to determine plasma concentrations of **adalimumab and golimumab** are currently in progress in our lab.

References:

1. Ternant D, Mulleman D, Degenne D, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of infliximab. Ther Drug Monit. 2008;28:169–174.

Annexe 2. Poster présenté à la SFPT 2018 sur la modélisation du risque d'immunisation.



Population pharmacokinetics of infliximab and quantification of the risk of immunization towards infliximab in children with Crohn's disease

PM2 - 032

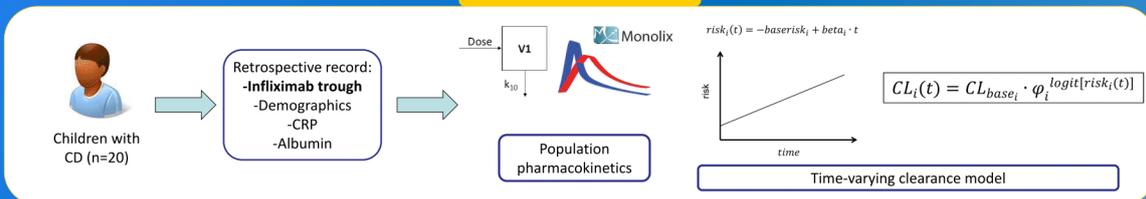
A. Petitcollin^{1,2,3}, S. Willot⁴, C. Tron^{1,2,3}, S. Lalanne¹, M.C. Verdier^{1,2,3}, F. Lemaître^{1,2,3}, E. Comets², G. Paintaud⁵, D. Ternant⁵.

¹Rennes University Hospital, Department of Clinical and Biological Pharmacology and Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information Center - Rennes (France), ²Rennes 1 University, Faculty of Medicine, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes (France), ³Inserm, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes (France), ⁴Tours University Hospital, Pediatric Medicine Unit - Tours (France), ⁵François-Rabelais University of Tours, CNRS, GICC UMR 7292, CHRU of Tours, Laboratory of Pharmacology-Toxicology - Tours (France).

Introduction

Infliximab is a chimeric monoclonal antibody binding to **TNF α** . Its use is limited by the development of **antibodies towards infliximab (ATI)** which dramatically increase its clearance, resulting in **underexposure and treatment failure** along with auto-immune disorders. The objective of this study was to quantify the risk of immunization towards infliximab and its impact on infliximab clearance in children with Crohn's Disease (CD).

Patients and methods



Results

A total of 147 concentrations were included into the pharmacokinetic analysis. A one-compartment model best fitted the data. **Predictive performances were greatly improved as compared with a static one-compartment model ($\Delta AIC = -67.6$)**. The results of the pharmacokinetic analysis are presented in table 1. The model allowed describing the increase of clearance ($2 < \phi < 3$) in two patients tested positive to ATI. Two other patients tested negative to ATI also showed important increases in clearance.

Diagnostic plots

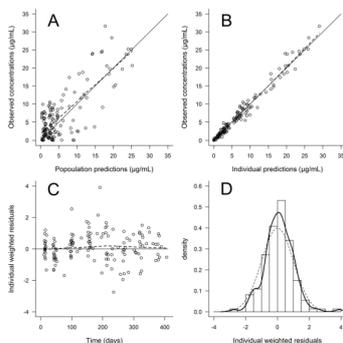
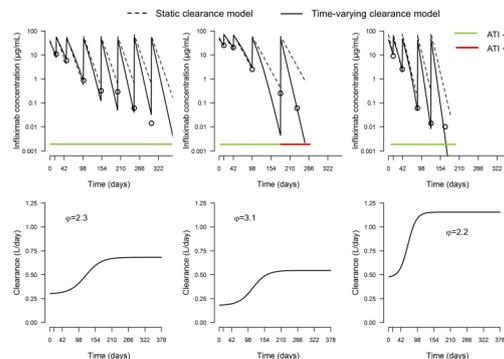


Table 1. Results of the pharmacokinetic analysis

| Parameter | Value | RSE (%) |
|---|--------|---------|
| Fixed effects | | |
| V (L) | 4.86 | 11 |
| CL _{base} (L.day ⁻¹) | 0.289 | 9 |
| $\beta_{albumin}$ | -2.33 | 37 |
| baserisk | 4.07 | 15 |
| beta | 0.0484 | 16 |
| ϕ | 1.01 | 28 |
| Random effects | | |
| IV on V (%) | 32.0 | 33 |
| IV on CL (%) | 37.2 | 20 |
| IV on beta (%) | 62.6 | 21 |
| IV on baserisk | 0 | fixed |
| IV on ϕ (%) | 67.4 | 30 |
| Residual error | | |
| Additive ($\mu\text{g/mL}$) | 0.253 | 23 |
| Proportional (%) | 18.8 | 12 |

RSE: Relative Standard Error; IV: Inter Individual Variability.

Individual fits: static clearance versus time-varying clearance



Discussion

The model allowed describing variations in infliximab clearance, which improved greatly the predictive performance. **Important increase in infliximab clearance were detected in patients tested positive to ATI, but also in two other patients in whom ATI were not evidenced.** This may be explained by the low sensitivity of the double-antigen ATI assay we used, with which detection of ATI is not possible in presence of detectable infliximab. This indicates negativity of the ATI assay should be interpreted with caution. No clinical or biological data were identified as relevant covariates of the parameters describing the risk of immunization.

Conclusion

The model we developed was able to **detect and quantify clearance increase** in patients on the basis of a time-dependent risk function. The sources of the wide interindividual variability in the rate of increase of the risk are still unknown. A prospective study with more patients would allow assessing the influence of relevant covariates on the parameters describing the evolution of the risk of immunization. This could help **early detection of immunization and determination of predictive factors of ATI development.**

Annexe 3. Poster présenté à la SFPT 2019 concernant la désescalade de l'infliximab.



Infliximab concentrations and pharmacokinetic parameters predict the success of treatment de-escalation in patients with inflammatory bowel diseases: a population pharmacokinetics study

PM2-003

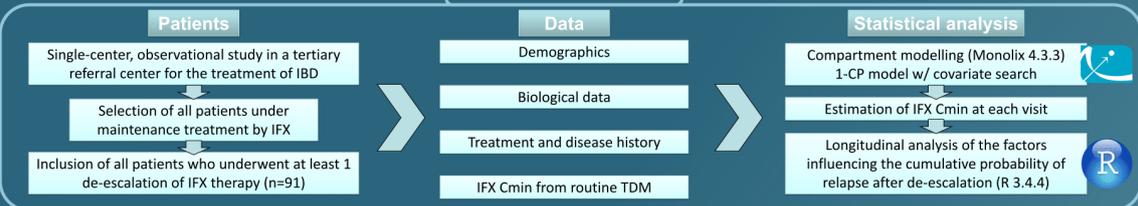
A. Petitcollin^{1,2,3}, C. Lucidarme^{4,5}, L. Siproudhis^{4,5}, C. Brochard^{4,5}, C. Tron^{1,2,3}, M.C. Verdier^{1,2,3}, F. Lemaître^{1,2,3}, G. Bouguen^{4,5}, E. Bellissant^{1,2,3}.

¹Rennes University Hospital, Department of Clinical and Biological Pharmacology and Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information Center – Rennes, France. ²Rennes 1 University, Faculty of Medicine, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes, France. ³Inserm, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes, France. ⁴Rennes University Hospital, Department of Gastroenterology, Rennes, France. ⁵Inserm U991, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes, France.

Introduction

There is increasing evidence that chronic overexposure to infliximab (IFX) is linked to a higher risk of developing adverse events such as cancer or infections. Therefore, IFX treatment de-escalation has become part of the standard of care in Inflammatory Bowel Diseases (IBD). Trough level of IFX (C_{min}) may help physician's decision-making before de-escalation, but data about the concentration-effect relationship in this setting are limited. This study aimed at (i) describing long-term IFX pharmacokinetics in this setting and (ii) exploring the link between individual concentrations and pharmacokinetic parameters and the probability of relapse after de-escalation.

Methods



Results

1. Patients

| | |
|---|--------------------|
| Age at first de-escalation (years) | 36.9 (29.6 - 46.2) |
| Male sex | 39 (42.9) |
| Weight at first de-escalation (kg) | 69 (50 - 90) |
| BMI at first de-escalation (kg/m ²) | 23.5 (21.2 - 26.8) |
| Smoking | |
| Current smokers | 17 (18.7) |
| Ex-smokers | 19 (20.9) |
| Non-smokers | 55 (60.4) |
| Age at diagnosis | |
| A1 <15 years | 15 (16.5) |
| A2 17-40 years | 66 (72.5) |
| A3 >40 years | 10 (11.0) |
| Crohn's Disease (CD) | 62 (68.1) |
| Ulcerative Colitis (UC) | 29 (31.9) |
| Disease duration at first de-escalation (years) | 9.1 (1.4 - 14.5) |
| Duration of infliximab therapy at first de-escalation (years) | 2.9 (1.5 - 6.0) |
| Previous treatment by glucocorticoids | 50 (54.9) |
| Previous treatment by 5-asa | 44 (48.4) |
| Previous treatment by immunomodulators | 57 (62.8) |
| Previous treatment by adalimumab | 12 (13.2) |
| Previous bowel surgery | 28 (30.8) |
| De-escalation characteristics | |
| Total number of de-escalations | 155 |
| Number of de-escalation per patient | 1 (1 - 2) |
| Type of de-escalation | |
| Dose reduction | 35 (22.6) |
| Infusion interval increase | 114 (73.5) |
| Mix (dose and interval) | 6 (3.9) |
| Combination therapy at de-escalation | 34 (21.9) |

Data are expressed as median (first quartile - third quartile) or number (percentage).

Key points

- 91 patients
- 155 de-escalations
- 52.7% with > 1 de-escalation
- 73.5% of infusion interval increase
- 21.9% under combotherapy
- 44 relapses post de-escalation
- 2.9 years of IFX at de-escalation
- 3.8 years of follow-up

2. Compartment modeling

| Parameter description | Value | RSE % |
|---|--|-----------|
| Fixed effects | | |
| V (L) | 11.5 | 5 |
| CL _{baseline} (L.day ⁻¹) | 0.273 | 7 |
| β _{inflamm} | Effect of disease on clearance (ref CD) | 0.377 29 |
| β _{CRP} | Effects of CRP on clearance | 0.0654 15 |
| β _{Mayo} | Effects of Mayo score on clearance | -0.267 22 |
| β _{azathioprine} | Effect of Mayo score (UC patients only) on clearance | 0.0634 30 |
| β _{actAZA} | Effect of azathioprine co-treatment on clearance | 0.849 2 |
| slope (L.day ⁻¹ .y ⁻¹) | Linear clearance increase | 0.0348 9 |
| β _{wt} | Effects of weight variation on CL increase | 21.1 31 |
| Intercept (risk of immunization) | | 10.9 5 |
| beta | Slope (risk of immunization) | 0.0526 21 |
| CL _{var} | Clearance variation magnitude | 1 fixed |
| Random effects | | |
| ω _v (%) | BSV of the volume of distribution | 0.254 15 |
| ω _{cl} (%) | BSV on the baseline clearance | 0.443 10 |
| ω _{inflamm} (%) | BSV of the effects of the disease on clearance | 0.333 19 |
| ω _{CRP} (%) | BSV on the linear clearance increase | 0.320 26 |
| ω _{Mayo} (%) | BSV of the slope (risk of immunization) | 1.020 17 |
| ω _{azathioprine} (%) | BSV of the clearance variation magnitude | 0.404 11 |
| Residual error | | |
| σ _{add} (log ₁₀) | Additive error magnitude | 0.446 22 |
| σ _{prop} (%) | Proportional error magnitude | 0.206 6 |

RSE: Relative Standard Error; BSV: Between-Subject Variability.

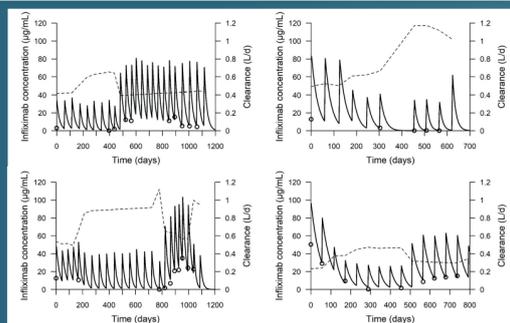
Key points

- 607 C_{min}
- 1-CP model with time-varying CL
- CL increase of =13%/year
- CL = 45% higher in UC than in CD
- CL =15% lower under Azathioprine
- CL increases with CRP
- CL increases with Mayo score
- CL decreases with IFX dose

3. IFX C_{min} prediction

Infliximab displays a large pharmacokinetic intra-individual variability:

- Clearance increases with disease activity, immunization, and time
- Clearance decreases with combotherapy, infliximab dose

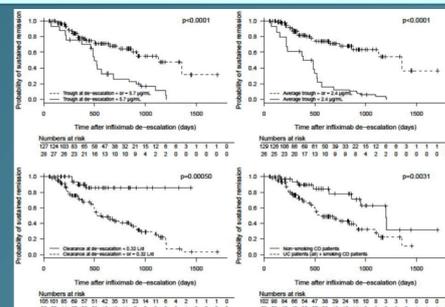


PK characteristics are linked with the risk of relapse because they determine the evolution of the C_{min}

4. Predictors of relapse

The relapse risk after de-escalation is increased (Cox proportional hazards):

- In all patients with UC and in smoking CD patients (HR=2.83, p=0.0093)
- In patients with a higher CRP (HR=1.1 per mg/L of CRP, p=0.00064)
- In patients with C_{min} at de-escalation < 2.4 µg/mL (HR=3.7, p=0.0001)



Conclusion

Pharmacokinetic parameters and values of C_{min} are linked to the risk of relapse after infliximab de-escalation. Patients with C_{min} >5.7µg/mL are eligible to de-escalation, but infliximab pharmacokinetics is highly variable in time and varies with disease activity. **Therapeutic drug monitoring is mandatory after de-escalation because of the wide intra-individual variability of IFX clearance** to maintain trough above 2.4µg/mL. These data also further support the relevance of monitoring infliximab clearance evolution rather than trough alone to optimize treatment adaptations.

Annexe 4. Poster présenté à la SFPT 2019 sur l'évolution des sous-populations lymphocytaires sous adalimumab.



Circulating T-cell subsets variations in the early period after adalimumab introduction in Crohn's disease: preliminary results of the PREMICI study

PM2-033

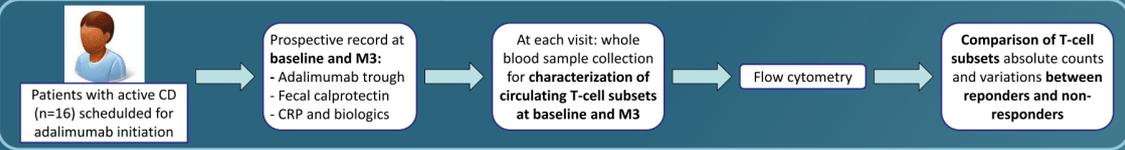
A. Petitcollin^{1,2,3}, M. De Saint Jore⁴, S. Rodriguez^{4,5}, C. Tron^{1,2,3}, M.C. Verdier^{1,2,3}, F. Lemaître^{1,2,3}, E. Bellissant^{1,2,3}, P. Amé^{4,5}, G. Bouguen^{4,5}

¹Rennes University Hospital, Department of Clinical and Biological Pharmacology and Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information Center - Rennes, France. ²Rennes 1 University, Faculty of Medicine, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes, France, ³Inserm, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes, France. ⁴Rennes University Hospital, STI, EFS, Inserm U1236. ⁵Inserm UMR1236-Rennes 1 University, Rennes, France.

Introduction

Anti-TNF antibodies such as adalimumab have proven efficient in the management of Crohn's disease (CD). However, their mechanisms of action are not fully understood and the reasons why some patients do not respond despite adequate exposure to the drug are unclear. The inflammatory role of T-cells in the mucosa has been studied, but exhaustive characterization of circulating T-cell subsets is lacking, and their predictive value of clinical response was not assessed. The objective of the present study was to explore the early variations of blood T-cells subsets in a selected population of exposure-controlled active CD patients treated with adalimumab.

Methods



Results

Data were available in 14 patients, of whom 7 (50%) were men, aged 37 years (range: 15-61). Seven (50%) were early responders (fecal calprotectin <200µg/g of stool at M3 of adalimumab treatment beginning). Adalimumab trough at M3 was higher in responders than in non-responders (10.9 vs 5.4 µg/mL, respectively, p=0.027).

Overall decrease of all the markers of inflammation between M0 and M3

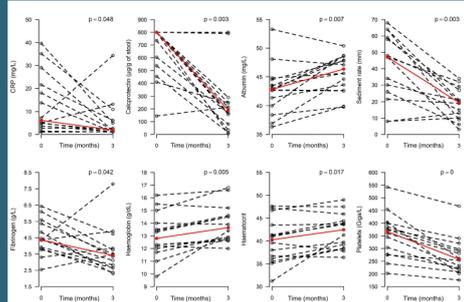


Figure 1. Evolution of several biological markers of inflammation in the whole study population between baseline and M3 of adalimumab therapy. Black dots and dashed lines represent individual evolutions, and the red dots and line denote the evolution of the median. P-values are computed with Wilcoxon rank-signed test for paired data.

Overall increase of absolute counts of CD4 T-cells, especially activated regulatory T-cells, memory T-cells, and Th1 and Tfh1 subsets

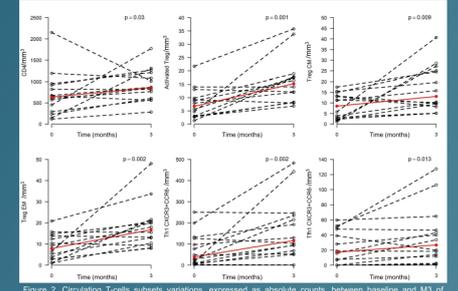


Figure 2. Circulating T-cells subsets variations, expressed as absolute counts, between baseline and M3 of adalimumab therapy. Black dots and dashed lines represent individual evolutions, and the red dots and line denote the evolution of the median. P-values are computed with Wilcoxon rank-signed test for paired data.

A higher adalimumab trough at M3 is associated with a stronger decrease of inflammation markers, especially fecal calprotectin, and is associated with a higher increase in the proportion of Th1 and Tfh1 cell subsets

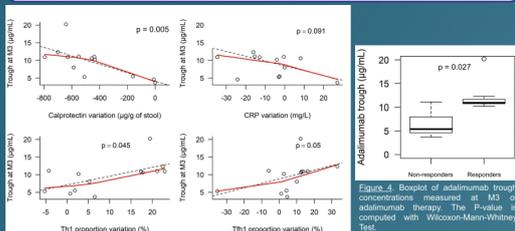


Figure 3. Variations of fecal calprotectin, blood CRP, and circulating Th1 and Tfh1 T-cells subsets proportions between baseline and M3 versus adalimumab trough concentration measured at M3. Open circles are individual values, dashed lines are linear correlations, and red lines are splines. P-values are computed with Spearman correlation test.

Responders had a higher increase of Th1 and Tfh1 subsets, in proportions as well as in absolute counts

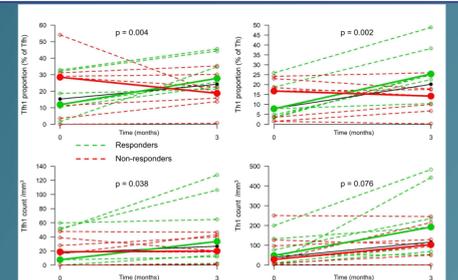


Figure 4. Boxplot of adalimumab trough concentrations measured at M3 of adalimumab therapy. The P-value is computed with Wilcoxon-Mann-Whitney test.

Discussion/Conclusion

These results demonstrate a rapid increase of total circulating CD4+ T cells as soon as the 3rd month of adalimumab therapy. More precisely, we observed a specific increase of activated and memory regulatory T cells, as well as Th1 and Tfh1 cells. More importantly, we revealed a **specific increase of Th1 and Tfh1 cells in the responders group**. Altogether, these data suggest i) an increase of the systemic pro-inflammatory response mediated by Th1, and ii) a modulation of B cell activation by the expansion of Tfh1 (the less efficient helper of B cells subset among Tfh cells), associated to adalimumab response. We could then hypothesize that Th1 and Tfh1 cells could be early predictors of biological response in CD. Moreover, **early responders had higher adalimumab trough concentrations**, suggesting the existence of a relationship between adalimumab exposure, Th1 and Tfh1 subsets variations, and the clinical response. These preliminary results will be soon reinforced with a comparison of T-cells subsets with non-treated healthy subjects and chronic inflammatory rheumatic diseases under adalimumab.

Annexe 5. Communication orale présentée à la SFPT 2019 sur le lien entre exposition et risque infectieux sous infliximab.

27/08/2019



LYON | Faculté de Médecine Lyon-Est | 12-14 juin 2019

CO-049. Population pharmacokinetics of infliximab in stable patients with inflammatory bowel diseases: cumulated exposure is associated with the risk of infection

A Petitcollin^{1,2,3}, A Landemaine^{4,5}, C Miard^{4,5}, C Brochard^{4,5}, M Dewitte^{4,5}, L Siproudhis^{4,5}, C Tron^{1,2,3}, F Lemaitre^{1,2,3}, MC Verdier^{1,2,3}, E Bellissant^{1,2,3}, G Bouguen^{4,5}.

¹Rennes University Hospital, Department of Clinical and Biological Pharmacology and Pharmacovigilance, Pharmacoepidemiology and Drug Information Center, Rennes, France.
²Rennes 1 University, Faculty of Medicine, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes, France.
³Inserm, CIC-P 1414 Clinical Investigation Center, Rennes, France.
⁴Rennes University Hospital, Department of Gastroenterology, Rennes, France.
⁵Rennes 1 University, NUMECAN Institute, Inserm CIC-P1414, Rennes, France.



BIRE
Biothérapies – inflammation – Rennes



Société Française de
Pharmacologie et de Thérapeutique



LYON | Faculté de Médecine Lyon-Est | 12-14 juin 2019

Rationale

- The importance of **monitoring infliximab trough concentrations** is now well established in IBD:
 - **Maximizing the rate of patients achieving clinical and endoscopic response**
 - Detecting very low concentrations leading to suspect **immunization to infliximab**
 - Accompanying treatment de-escalation in eligible patients
- However: few data are available regarding the **relationship between exposure and adverse effects**
 - Only a minimal acceptable trough concentration is available ($\approx 3\text{-}5\mu\text{g/mL}$), **no upper bound of therapeutic range**
 - A single study reported an **increased risk of a first infection in patients with repeated supra-therapeutic trough concentrations** in spondyloarthritis¹
 - No data are available in IBD

¹Bajan-Angoulvat T, et al, Arthritis Rheumatol. 2017 Jan;69(1):108-113.



Société Française de
Pharmacologie et de Thérapeutique



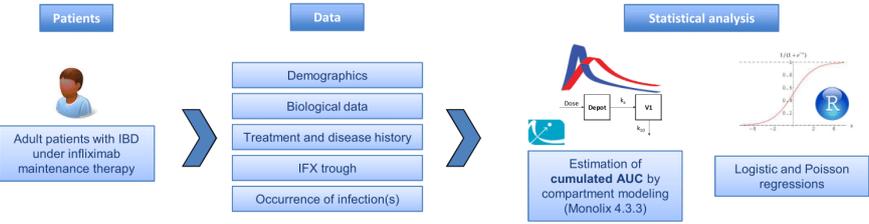
Objective

- To explore the relationship between cumulated exposure to infliximab and the risk of developing opportunistic infections in adult IBD patients




Methods

- Single-center, 6-months observational study in a tertiary referral center for IBD
 - At each visit, patients were asked for the occurrence of any infections in-between 2 infusions



Patients

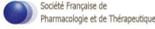
Adult patients with IBD under infliximab maintenance therapy

Data

- Demographics
- Biological data
- Treatment and disease history
- IFX trough
- Occurrence of infection(s)

Statistical analysis

- Estimation of cumulated AUC by compartment modeling (Monolix 4.3.3)
- Logistic and Poisson regressions

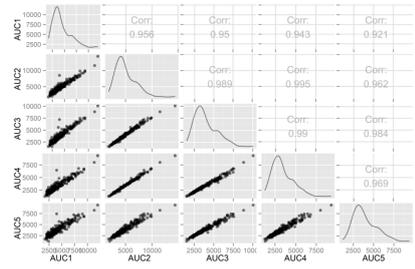




LYON | Faculté de Médecine Lyon-Est | 12-14 juin 2019

Main results – pharmacokinetic modelling

- 209 patients, 642 infliximab concentrations, 3 (range: 2-6) infusions / patient
 - Several methods of estimation, giving highly concordant results



Corr: 0.956, 0.95, 0.943, 0.924
 Corr: 0.989, 0.995, 0.952
 Corr: 0.99, 0.984
 Corr: 0.969

| Patients Characteristics | N = 209 |
|---|------------------------------|
| Sex (Male / Female) – n (%) | 102 (49) / 107 (51) |
| Age – mean (±SD) | 39 (± 14) |
| Type of IBD (CD / UC) – n (%) | 159 (76) / 50 (24) |
| Duration of IBD (years) – mean (±SD) | 12.4 (± 7.7) |
| BMI – mean (±SD) | 25.0 (± 5.2) |
| Smoking (Smokers / Ex-smokers / No-smokers) – n (%) | 50 (24) / 40 (19) / 119 (57) |
| Prior Surgery – n (%) | 104 (50) |
| IFX duration at inclusion (years) – mean (±SD) | 5.0 (± 3.7) |
| Combination therapy with IS – n (%) | 54 (26) |

Abbreviations: BMI, Body Mass Index; CD, Crohn's Disease; IFX, Infliximab; IS, Immunosuppressant; UC, Ulcerative Colitis





LYON | Faculté de Médecine Lyon-Est | 12-14 juin 2019

Main results – risks of infection

- 215 infections, 60.5% patients with 1 infections, 29.5% patients with >1 infections, 63.2% viral
 - No relationship between average C_{min} and risk of infection
 - BUT higher cumulated AUC is associated with increased risks of infection (viral > bacterial)**

Summary of univariate analysis: cAUC versus infections

| Structural model | Link | | | |
|------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------|
| | Logit (binomial), continuous | Logit (binomial), dichotomized | Log (Poisson), continuous | |
| <i>Model</i> | | | | |
| Buurman ¹ | 2-CP | 0.12 | 0.026 | 0.0095 |
| Fasanmade ¹ | 2-CP | 0.13 | 0.019 | 0.022 |
| Ternant ¹ | 1-CP | 0.080 | 0.0057 | 0.014 |
| De novo | 1-CP | 0.12 | 0.011 | 0.023 |

¹Buurman 2015 ²Fasanmade 2011 ³Ternant 2017

| Patients Characteristics | Univariate | Multivariate |
|--|---------------|--------------|
| Sex | 0.76 | |
| Age | 0.36 | |
| BMI | 0.46 | |
| Type of IBD (CD / UC) | 0.81 | |
| Smoking (Smokers vs Non/prior smokers) | 0.084 | |
| Prior Surgery | 0.29 | |
| IFX duration at inclusion (years) | 0.17 | |
| Combination therapy with IS – n (%) | 0.77 | |
| Non-null disease score | 0.005 | 0.017 |
| Average trough | 0.40 | |
| Cumulated AUC | 0.0057 | 0.021 |

Abbreviations: BMI, Body Mass Index; CD, Crohn's Disease; IFX, Infliximab; IS, Immunosuppressant; UC, Ulcerative Colitis

SFPT 2019
LYON | Faculté de Médecine Lyon-Est | 12-14 juin 2019

Discussion / conclusion

- **Limitations**
 - Self-declaration of infectious events
 - Study conducted during the flu period → overestimated rate of infection
 - Transposition of cumulated AUC in target C_{min}: depends on regimen (dose and interval of infusion)
- **Perspectives**
 - Results should be confirmed by a prospective study with longer follow-up and longitudinal analysis

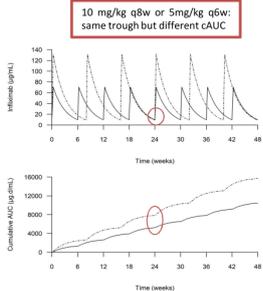
 Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique

SFPT 2019
LYON | Faculté de Médecine Lyon-Est | 12-14 juin 2019

Conclusion

- **First report of the existence of a link between exposure to infliximab and risk of opportunistic infections in IBD**
- About 10-20% of patients have a cAUC associated with significantly increased risks of infections
- Clinician should be encouraged to **de-escalate infliximab therapy as soon as possible**
 - **Favour dose decrease over infusion interval increase to reduce cumulated exposure**

10 mg/kg q8w or 5mg/kg q6w:
same trough but different cAUC



 Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique

Titre : Pharmacocinétique et relation concentration-effet des anti-TNF α dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Mots clés : anticorps thérapeutiques, infliximab, anti-TNF α , pharmacocinétique, pharmacologie, MICI

Résumé : Les anticorps thérapeutiques ont une pharmacocinétique complexe. Lorsque la masse antigénique augmente, les anticorps thérapeutiques sont éliminés plus vite ; ainsi une maladie active détermine une clairance élevée. De plus, les patients peuvent s'immuniser contre le médicament, produisant des anticorps responsables d'une élimination très accélérée.

Dans ce travail, nous avons étudié la variabilité de la pharmacocinétique et de la relation concentration-effet des anti-TNF α dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Nous avons décrit par modélisation compartimentale la variabilité pharmacocinétique intra-individuelle de l'infliximab et étudié ses sources, démontrant l'étroite relation entre activité de la maladie et clairance.

Nous avons également proposé un modèle capable de détecter les variations de clairance évocatrices d'immunisation indépendamment de la mise en évidence des anticorps anti-médicaments, permet-

tant de s'affranchir du manque de sensibilité analytique de la recherche d'immunisation.

Les variations de pharmacocinétique au cours du temps ont été confrontées à la réponse clinique, et nous avons montré que la clairance était prédictive de la réponse en induction et au cours de la désescalade thérapeutique. Nous avons donc proposé que le monitoring des traitements puisse inclure un suivi de l'évolution de la clairance comme marqueur précoce de l'activité de la maladie.

Enfin, nous avons montré que l'exposition cumulée était relié au risque d'infection opportuniste dans les MICI. Cela pose les bases de recommandations concernant les modalités d'adaptations posologiques qui font actuellement défaut.

L'ensemble des travaux présentés ici contribuent à améliorer notre connaissance de la pharmacologie des anti-TNF α et des anticorps thérapeutiques en général et ainsi à optimiser leur utilisation chez les patients.

Title : Pharmacokinetics and concentration-effect relationship of anti-TNF α in inflammatory bowel diseases

Keywords : therapeutic antibodies, infliximab, anti-TNF α , pharmacokinetics, pharmacology, IBD

Abstract : Therapeutic antibodies display complex pharmacokinetic properties. When the antigenic mass increases, they are eliminated faster, and thus an active disease is responsible for a fast clearance. Moreover, patients can produce antibodies to the drug, leading to a strongly accelerated clearance.

In this work, we studied the variability of the pharmacokinetics and of the concentration-effect relationship of anti-TNF α antibodies in inflammatory bowel diseases (IBD). The intra-individual variability of infliximab was described using compartmental modelling, and the relationship between disease activity and clearance was demonstrated at the individual level.

A model was built to detect clearance increases putatively linked to immunogenicity, independently from evidencing any anti-drug antibodies in blood samples, thus avoiding the analytical issues that

hampers the detection of immunization.

The time-varying pharmacokinetics was confronted to the clinical response, showing that clearance was predictive of the response in induction and de-escalation settings. Therefore, it was hypothesized that monitoring the clearance could help the follow-up of the disease, as an early marker of disease activity and evolution.

Last, it was shown that cumulated exposure to infliximab was linked to the risk of developing opportunistic infections. Based on this data, recommendations regarding the modalities of regimen adaptations could be built, that are currently lacking.

All the work presented here contribute to enhance our knowledge of the pharmacology of anti-TNF antibodies, but also of other therapeutic antibodies, and to improve their use in clinical settings.