



UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES
FACULTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
ÉCOLE DOCTORALE MÉDICAMENT, TOXICOLOGIE, CHIMIE, IMAGERIES

Année 2016

N°

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement par M^{elle} Mailys DE SOUSA MENDES
le 15 septembre 2016

Réalisée sous la direction du Professeur Stéphane BLANCHE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

Prédiction du passage transplacentaire *in-vivo* des médicaments à partir de modèles *ex-vivo*

JURY

M. le Professeur Stéphane BLANCHE	Directeur de thèse
M. le Docteur Etienne BRAIN	Rapporteur
M. le Docteur Stanislas GRASSIN DELYLE	Rapporteur
M. le Professeur Jean-Marc TRÉLUYER	Examineur
M. le Docteur Saïk URIEN	Examineur
M. le Docteur Xavier BOULENC	Examineur
M. le Docteur Laurent NGUYEN	Examineur

Remerciements

Je remercie le Dr Stéphane Blanche, mon directeur de thèse, de m'avoir accordé sa confiance et son soutien au cours de ces trois années de doctorat.

Je tiens à remercier le Pr Jean-Marc Tréluyer de m'avoir accueillie au sein de son unité de recherche. Je le remercie également pour ses conseils avisés, ainsi que pour son esprit d'initiative et d'entrepreneuriat.

Je remercie le Dr Saïk Urien, pour sa gentillesse, sa patience et pour m'avoir fait partager ses précieuses connaissances en modélisation et en rédaction. Merci d'avoir accepté d'être membre de mon jury.

J'adresse mes remerciements chaleureux à tous les membres du jury, au Dr Etienne Brain et au Dr Stanislas Grassin Delyle qui m'ont fait l'honneur d'être les rapporteurs de cette thèse, ainsi qu'aux Dr Xavier Boulenc et Laurent Nguyen qui ont accepté d'être examinateur de mon travail.

Je remercie tous les membres de l'EA 08 du Pavillon Tarnier et du service de pharmacologie clinique de l'hôpital Cochin pour ces trois années passées à leurs côtés.

Je souhaite remercier Dr Sihem Benaboud pour la pertinence de ses remarques ainsi que le Dr Déborah Hirt qui m'a donné l'opportunité et sa confiance pour réaliser cette thèse. Merci à Frantz et Naïm, pour ces moments de partage et de bonne humeur. Un grand merci à Silvia, Gabrielle, Yi pour leur aide précieuse. Enfin un énorme merci à Claire, Elodie et Floris pour m'avoir coachée et encouragée tout au long de cette thèse, pour le temps passé à me relire et me conseiller.

Je tiens également à remercier tous les membres du laboratoire de biomathématiques et de statistiques de la faculté de Pharmacie de Paris, pour leur accueil chaleureux au sein de l'équipe d'enseignement, pour tous leurs conseils partagés avec bienveillance, et pour m'avoir donné cette expérience d'enseignement qui fut un réel plaisir.

De même je souhaite remercier l'équipe de port royal pour leur aide et leur gentillesse.

Merci à l'équipe de « treeway summer challenge » pour ces 2 mois et demi qui m'ont beaucoup apporté que ce soit sur le plan personnel que professionnel.

Merci à mes amis de pharma pour ces superbes années. A l'équipe alréenne, Aymeric, Béné, Damien, Fanny, Guillaume, Gweltaz et Noémie, pour toutes ces bonnes soirées. A mes colocs Quentin, Daniela, Davy et Kevin pour m'avoir supporté ces trois années. A Milène ma presque coloc. A Justine pour cette belle amitié sur laquelle je peux toujours compter. Et enfin à ceux du master 2 PK, Elisa, Anne Cécile, Anne Sophie, Olivia et Jeremy.

Et enfin je tiens à remercier tout particulièrement ma sœur et ma mère, qui m'ont toujours encouragées et soutenues. Merci d'avoir toujours été là pour moi !

Sommaire

Remerciements	2
Sommaire	4
Liste des abréviations	12
Liste des Figures.....	17
Liste des tableaux	20
CHAPITRE I : INTRODUCTION.....	22
1. La pharmacocinétique.....	24
1.1 Définitions.....	24
1.1.1 Absorption	24
1.1.2 Distribution.....	25
1.1.3 Elimination	26
1.2 Analyse pharmacocinétique	31
1.2.1 Pharmacocinétique non compartimentale.....	31
1.2.2 Modélisation compartimentale classique.....	32
1.2.3 Pharmacocinétique de population.....	34

1.2.4	Pharmacocinétique basée sur la physiologie	35
2.	Modification physiologique survenant durant la grossesse et impact potentiel sur la pharmacocinétique	37
2.1	Absorption.....	37
2.2	Distribution	38
2.3	Elimination.....	39
3.	Passage transplacentaire : méthodes pour l'évaluer et le prédire	41
3.1	Généralités sur le placenta	41
3.2	Les différents modèles d'étude du passage transplacentaire	43
3.2.1	Cultures cellulaires	43
3.2.2	Modèle du cotylédon perfusé	44
3.2.3	Etude du passage transplacentaire in-vivo.....	45
3.3	Evolution de la physiologie fœtale pouvant influencer l'exposition fœtale	46
3.3.1	Echange placenta fœtus	47
3.3.2	Echange fœtus liquide amniotique	47
3.3.2.1	Production d'urine	48
3.3.2.2	Excrétion pulmonaire	49

3.3.2.3	Ingestion fœtale	49
3.3.2.4	Passage transmembranaire.....	49
3.3.3	Métabolisme	49
4.	Modèle PBPK chez la femme enceinte et son fœtus	50
4.1.1	Modifications physiologiques maternelles	50
4.1.2	Représentation du fœtus	50
4.1.2.1	Intégré à un tissu déjà existant.....	51
4.1.2.2	Unité foeto-placentaire	51
4.1.2.3	Placenta et fœtus	51
4.1.2.4	Placenta, fœtus, sang/plasma	52
4.1.2.5	Organisme fœtal complet.....	53
4.1.3	Intégration du passage transplacentaire	54
5.	Molécules étudiées	55
5.1	Mécanisme d'action et activité	55
5.2	Propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques	56
6.	But de la thèse.....	58

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	59
1. Démarche générale	60
1.1 Construction d'un modèle PBPK	63
1.2 Les paramètres du modèle.....	64
2. Modèle PBPK adulte	65
2.1 Structure.....	65
2.2 Paramètres.....	65
2.2.1 Physiologiques.....	65
2.2.2 Spécifiques aux molécules.....	67
2.2.2.1 Absorption	67
2.2.2.2 Distribution.....	67
2.2.2.2.1 Calcul des coefficients de partage	68
2.2.2.2.1.2 Cas particulier du ténofovir	70
2.2.2.3 Elimination	71
2.2.2.3.1.1 Clairance rénale	72
2.2.2.3.1.2 Clairance hépatique	72
2.3 Données de validation.....	74

3.	Modèle PBPK femme enceinte.....	75
3.1	Structure.....	75
3.2	Paramètres.....	76
3.2.1	Physiologiques.....	76
3.2.2	Spécifiques aux molécules.....	77
3.2.2.1	Absorption.....	77
3.2.2.2	Distribution.....	77
3.2.2.3	Elimination.....	77
3.2.2.3.1.1	Clairance rénale.....	77
3.2.2.3.1.2	Clairance hépatique.....	79
3.3	Données de validation.....	80
4.	Modèle PBPK fœtus.....	80
4.1	Structure.....	81
4.2	Paramètres.....	82
4.2.1	Physiologiques.....	82
4.2.2	Spécifiques aux molécules.....	83
4.3	Données de validation.....	84

5.	Modèle ex-vivo.....	85
5.1	Description du modèle ex-vivo.....	85
5.2	Méthode de dosage	89
5.3	Analyse des résultats.....	90
5.4	Modélisation de l'expérimentation ex-vivo.....	91
5.4.1	Généralités.....	91
5.4.1.1	Modèle structural.....	91
5.4.1.2	Modèle de variabilité.....	93
5.4.1.2.1.1	Variabilité interindividuelle.....	93
5.4.1.2.1.2	Variabilité résiduelle.....	93
5.4.1.3	Méthode d'estimation.....	94
5.4.1.4	Construction du modèle.....	94
5.4.1.5	Evaluation.....	95
5.4.1.5.1.1	Graphiques diagnostiques.....	95
5.4.1.5.1.2	“Relative Standard Error”.....	98
5.4.1.5.1.3	Visual Predictive Check	98
5.4.2	Cas du ténofovir et de l'emtricitabine	99

5.4.3	Cas de la névirapine.....	100
5.5	Intégration des paramètres placentaires dans les modèles	101
6.	Validation/vérification des modèles PBPK	102
7.	Simulations	102
CHAPITRE III : RESULTATS.....		104
1.	Prédiction de l'effet de la grossesse sur la pharmacocinétique de trois antiretroviraux excrétés par le rein	105
1.1	Objectifs.....	105
1.2	Résultats.....	106
1.3	Discussion	109
1.4	Article	110
2.	Prédiction de la pharmacocinétique fœtale en intégrant les résultats du modèle ex-vivo dans le modèle PBPK.....	111
2.1	Objectif	111
2.2	Résultats.....	112
2.3	Discussion	115
2.4	Article	117

3.	Prédiction du passage transplacentaire d'une molécule métabolisée.	120
3.1	Objectif	120
3.2	Résultats	120
3.3	Discussion	124
3.4	Article	125
CHAPITRE IV : DISCUSSION		126
1.	Prédiction de la pharmacocinétique de la femme enceinte.....	127
2.	Prédiction de la pharmacocinétique du fœtus.....	129
3.	Possible simplification de l'approche.....	132
4.	Perspectives	135
CHAPITRE IV: CONCLUSION		137
Bibliographie		141

Liste des abréviations

ε	Erreur résiduelle
η	Variabilité interplacentaire
θ	Valeur du paramètre estimé par une approche de population
3TC	Lamivudine
ADE	Absorption Distribution Elimination
ADN	Acide desoxyribonucléique
AG	Age gestationnel
ARN	Acide ribonucléique
A_{Ti}	Quantité présente dans le tissu (μmol)
AUC	<i>Area Under the Curve</i> , aire sous la courbe
CL	Clairance
CL_H	Clairance hépatique
CL_{int}	Clairance intrinsèque
CL_R	Clairance rénale
CL_{Rf}	Clairance rénale de filtration
$CL_{r_{\text{Foetus}}}$	Clairance rénale du foetus

CL_{Rs}	Clairance rénale de sécrétion
CL_{Rsa}	Clairance rénale de sécrétion apparente
CL_{TOT}	Clairance totale
C_{Ti}	Concentration tissulaire ($\mu\text{mol/L}$)
CYP450	Cytochrome P450
d.u	Dose unique
D_{cot}	Paramètre de diffusion par cotylédon
DFG	Débit de filtration glomérulaire
D_{pl}	Paramètre de diffusion par placenta
E	Coefficient d'extraction
eq	Etat d'équilibre, lorsque les concentrations moyennes ont atteintes un plateau
F	Biodisponibilité
Fa	Fraction disponible à l'absorption
f_{EW}	Fraction tissulaire en eau extracellulaire
Fhep	Fraction qui ne subit pas le premier passage hépatique
Fint	Fraction qui ne subit pas le premier passage intestinal
f_{IW}	Fraction tissulaire en eau intracellulaire
f_{NL}	Fraction tissulaire en lipide neutre

f_{NP}	Fraction tissulaire en phospholipide neutre
Fr	Fraction réabsorbée au niveau rénale
FTC	Emtricitabine
f_{TW}	Fraction tissulaire en eau total
f_u	Fraction libre
GC	<i>Gaz Chromatography</i> , chromatographie gazeuse
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IC	Indice de clairance
IMC	Indice de masse corporelle, $IMC = \text{Poids(kg)}/\text{Taille(m)}^2$
INNTI	Inhibiteur non-nucléosidique de la transcriptase inverse
INTI	Inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse
IV	Intra-veineuse
k_a	Constante de vitesse d'absorption
k_{int}	Passage intramembranaire
k_L	Sécrétion pulmonaire, orale et nasale
Km	Constante de Michaelis, représente l'affinité du transporteur ou de l'enzyme pour la molécule.
k_{PE}	Constante d'élimination placentaire
Kp_{PL}	Coefficient de partage placentaire

k _{sw}	Volume de liquide amniotique avalé sur 24h
LDD	Limite de détection (=LOQ <i>limite of Quantification</i>)
Log P	Logarithme du coefficient de partition octanol/eau
LOQ	<i>Limit Of Quantification</i>
MM	Masse molaire (g/mol)
MNG	Masse non graisseuse
MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem
n	Nombre d'individus
NCA	<i>Non compartmental analysis</i> , analyse non compartimentale
NVP	Névirapine
P	Poids
PBPK	<i>Physiologically based pharmacokinetics</i> , modélisation pharmacocinétique basée sur la physiologie
PD	Pharmacodynamie
PK	Pharmacocinétique
P _{ka}	Logarithme négatif de la constante d'acidité
PO	Per os, voie orale
P _{Ti}	Coefficient de partage du tissu (sans unité)
Q _H	Débit de perfusion hépatique

Q_{TI}	Débit de perfusion du tissu (L)
Rb	Coefficient de partage cellule sanguine/sang
RBC	<i>Red Blood Cells</i>
RSE	<i>Residual standard error</i>
SC	Surface corporelle
SE	<i>Standard error</i>
T	Taille
TFV	Ténofovir
TTF	Taux de transfert foetal
UPLC	<i>Ultra performance liquid chromatography</i>
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
V_m	Vitesse maximale, vitesse maximale de métabolisation ou de transport
VO	Voie Orale
V_{TI}	Volume tissulaire

Liste des Figures

Figure 1 : Expression des CYP450 au niveau du foie [8].	28
Figure 2 : Transporteurs rénaux [9].	30
Figure 3 : Cinétique monocompartimentale après administration en intraveineuse	33
Figure 4 : Cinétique bicompartimentale après administration en intraveineuse	33
Figure 5 : Schéma de la structure placentaire [32,34].	43
Figure 6 : Rapports de concentrations et d'exposition entre la mère et le fœtus	46
Figure 7 : Echange entre le fœtus et le liquide amniotique en fin de grossesse [49]	48
Figure 8 : Schéma de la représentation du fœtus selon Verner <i>et al.</i> [59].	52
Figure 9 : Schéma du fœtus selon Verner <i>et al.</i> [61].	53
Figure 10 : Schéma du fœtus selon Sweeney <i>et al.</i> [69].	54
Figure 11: Représentation schématique des étapes de la construction des modèles PBPK	62
.....	
Figure 12 : Représentation schématique d'un modèle PBPK chez la femme enceinte	63
Figure 13 : Structure du modèle foetal	81
Figure 14 : Schéma d'un circuit fermé de perfusion de cotylédon	86

Figure 15: Photo d'un placenta (côté foetal).....	87
Figure 16: Photo d'un cotylédon isolé (côté maternel).....	88
Figure 17 : Représentation schématique de l'expérience ex-vivo	92
Figure 18 : Graphique diagnostique, concentrations observées en fonction des concentrations prédites	96
Figure 19 : Graphique diagnostique, résidus en fonction des prédictions et du temps	97
Figure 20 : VPC d'un modèle décrivant l'évolution des concentrations en zidovudine après administration chez l'enfant.....	99
Figure 21 : Aires sous la courbe (AUC) et concentrations maximales, observations versus prédictions (Cmax).....	106
Figure 22 : Evolution de la clairance lors la grossesse	107
Figure 23 : Profil cinétique chez la femme enceinte après administration de ténofovir, lamivudine et emtricitabine.....	108
Figure 24 : Evolution des concentrations en fonction du temps lors de la perfusion de placentas	113
Figure 25 : Evolutions des concentrations plasmatiques maternelles, foetales et dans le liquide amniotique après administration d'emtricitabine et de ténofovir	114
Figure 26 : Analyse de sensibilité faite sur les paramètres de passage transplacentaire estimé ex-vivo	115

Figure 27 : « Visual prédictive check » du modèle ex-vivo.....	121
Figure 28 : Profil cinétique de la mère et de son foetus après administration d'une dose unique de 200 mg de névirapine	122
Figure 29 : Etude de sensibilité pour la névirapine	123
Figure 30 : Simplification du modèle - schéma (TDF-FTC)	133
Figure 31 : Modèle simplifié - ténofovir	134
Figure 32 : Modèle simplifié - emtricitabine	134
Figure 33 : Modèle simplifié – névirapine	135

Liste des tableaux

Tableau 1 : Comparaison modèle compartimentaux et modèle PBPK	36
Tableau 2: Molécules étudiées	56
Tableau 3: Résumé des caractéristiques des molécules	57
Tableau 4 : Données physiologiques masculines	66
Tableau 5 : Paramètres de transport hépatique pour le ténofovir estimé sur Simcyp®	71
Tableau 6 : Paramètres de clairance rénale du Ténofovir, lamivudine et emtricitabine	72
Tableau 7: Paramètres de clairance de la névirapine	73
Tableau 8 : Données de validation utilisées pour les modèles PBPK dans les populations non enceintes	74
Tableau 9 : Données physiologiques de la femme et femme enceinte.....	76
Tableau 10 : Hypothèses de modification de la clairance rénale durant la grossesse	78
Tableau 11: Evolution de la clairance de la névirapine lors de la grossesse.....	79
Tableau 12 : Données de validation pour les modèles chez la femme enceinte	80
Tableau 13 : Paramètres physiologiques foetaux	82
Tableau 14 : Composition du corps du fœtus en fin de grossesse.....	83

Tableau 15 : Données observées utilisées pour valider le modèle foetal.....	85
Tableau 16 : Méthodes de dosage utilisées pour les molécules étudiées ex-vivo.....	89
Tableau 17 : Les différents modèles d'erreurs résiduels	94
Tableau 18 : Paramètres de passage transplacentaire estimés ex-vivo	112
Tableau 19 : Paramètres de la névirapine estimés ex-vivo	120

CHAPITRE I : INTRODUCTION

La prise de médicament durant la grossesse est de plus en plus commune et souvent inévitable. Une récente étude épidémiologique a montré que jusqu'à 93% des femmes enceintes en France prenaient au moins un médicament [1]. Ces traitements peuvent avoir pour but de soigner la mère (ex : épilepsie, diabète, cancer...), le fœtus (ex : arythmie fœtale), ou les deux (ex : VIH). De plus les femmes enceintes peuvent être exposées à des toxiques environnementaux tels que le bisphénol A ou la fumée de cigarette. Beaucoup de ces composés peuvent traverser le placenta [2].

Il est essentiel de pouvoir prédire l'exposition du fœtus à ces différents composés afin d'anticiper la toxicité potentielle ou d'optimiser l'efficacité. L'exposition fœtale dépend de deux facteurs :

- L'exposition maternelle
- Le passage transplacentaire

Du fait des modifications physiologiques survenant lors de la grossesse, l'exposition maternelle peut être différente de celle d'une femme non enceinte [3]. Puisque les études cliniques chez la femme enceinte sont difficiles à réaliser, d'autres approches doivent être favorisées afin de prédire les expositions maternelles et fœtales avant toute administration de médicament à ces populations sensibles. D'une part les modifications physiologiques survenant lors de la grossesse peuvent être prises en compte pour essayer de prédire les changements d'exposition maternelle aux médicaments. D'autre part l'estimation du passage transplacentaire peut se faire grâce aux études chez l'animal ou aux tests *ex-vivo*.

1. La pharmacocinétique

1.1 Définitions

La pharmacocinétique (PK) est l'étude du devenir d'un médicament dans l'organisme. Le profil pharmacocinétique est l'évolution des concentrations de médicament dans les différents fluides et tissus de l'organisme en fonction du temps. Plusieurs phénomènes sont alors observés : l'absorption, la distribution et l'élimination (ADE). L'absorption correspond au passage de la substance dans la circulation sanguine depuis son site d'administration. La distribution s'intéresse à la pénétration de la molécule dans les fluides et/ou organes. L'élimination, quant-à elle, décrit les phénomènes qui permettent de purger l'organisme du médicament. L'élimination comprend, d'une part le métabolisme qui correspond aux réactions enzymatiques subies par la molécule et aboutissant à sa transformation en d'autres composés appelés métabolites. D'autre part, elle comprend l'excrétion qui décrit les voies de sortie de l'organisme du composé et/ou de ses métabolites comme l'excrétion urinaire ou biliaire [4].

1.1.1 Absorption

L'absorption d'une molécule dépend de ses propriétés physicochimiques et de l'état physiologique de l'intestin [5]. Elle est caractérisée par la quantité de substance qui accède à la circulation systémique et par la vitesse à laquelle elle l'atteint.

La biodisponibilité (F) représente la fraction d'une dose administrée, en général par voie orale, qui arrive jusqu'à la circulation systémique. Elle dépend de la fraction qui peut être absorbée (F_a), de la fraction qui ne subit pas de métabolisme intestinal (F_{int}) et de la fraction échappant à l'effet du premier passage hépatique (F_{hep}). Elle se définit selon l'équation suivante :

Équation 1

$$F = Fa * Fint * Fhep$$

Plusieurs modèles existent pour décrire l'absorption. Le plus souvent une absorption d'ordre 1, décrite par la constante de vitesse appelée k_a , est suffisante pour décrire l'absorption.

1.1.2 Distribution

Le médicament arrivant dans la circulation systémique est distribué de façon plus ou moins importante dans les espaces intravasculaire, interstitiel et intracellulaire. La distribution d'une molécule dépend de sa solubilité dans l'eau et dans les membranes cellulaires. Ainsi une molécule lipophile se distribue plus aisément dans les cellules tandis qu'une molécule hydrophile reste principalement dans l'espace extracellulaire. D'autre part les molécules peuvent se lier de façon plus ou moins importante aux protéines plasmatiques telles que l'albumine ou la glycoprotéine acide alpha-1 [4]. Cette liaison aux protéines plasmatiques ainsi que l'ionisation limitent l'entrée de ces molécules dans les tissus. De plus les grosses molécules ne diffusent pas librement et ont donc recours à un transport actif pour pénétrer dans la cellule. Certains transporteurs, dits d'influx vont faciliter l'entrée de la molécule dans un tissu tandis que d'autres, les transporteurs d'efflux, vont faciliter la sortie de la molécule. Le transport actif peut être complémentaire à la diffusion.

Les propriétés physicochimiques comme la lipophilie mesurée par le $\log P$, la taille de la molécule (masse molaire : MM), son ionisation, la liaison aux protéines plasmatiques et l'affinité pour certains transporteurs déterminent la distribution de la molécule dans l'organisme [4,6].

1.1.3 Elimination

La clairance est un paramètre clé de l'élimination (métabolisme + excrétion). Elle représente le volume sanguin épuré de la substance étudiée par unité de temps. Toutes les clairances rapportées dans cette thèse sont des clairances plasmatiques. La clairance totale (Cl_{Tot}) peut se décomposer en clairance hépatique (Cl_H) qui correspond à la transformation de la molécule mère en métabolite(s), et en clairance rénale (Cl_R), suivant cette relation.

Équation 2

$$Cl_{TOT} = Cl_R + Cl_H$$

D'autres organes comme les poumons ou le tractus digestif, peuvent également jouer un rôle dans l'élimination et donc avoir une clairance associée.

Clairance hépatique :

Le foie est le site principal du métabolisme. En effet ce tissu est très riche en diverses enzymes notamment les cytochromes P450 (CYP450). La clairance hépatique dépend du débit de perfusion hépatique (Q_H) et du coefficient d'extraction (E) :

Équation 3

$$Cl_H = Q_H * E$$

Le coefficient d'extraction est fonction de la clairance intrinsèque (Cl_{int}) et de la fraction libre (f_u) :

Équation 4

$$E = \frac{fu * Cl_{int}}{Q_H + fu * Cl_{int}}$$

La Cl_{int} dépend de la taille du foie et de la somme des activités enzymatiques. Plusieurs systèmes enzymatiques peuvent intervenir :

- Des réactions de phase I qui sont des réactions de fonctionnalisation principalement perpétuées par les CYP450.
- Des réactions de phase II qui sont des réactions de conjugaison.

Différents cytochromes existent en proportions variées, leurs expressions relatives sont représentées sur la Figure 1. Il existe une grande variabilité d'activité des CYP450, pouvant expliquer une part de la variabilité de clairance entre les individus [7]. Les métabolites sont généralement plus solubles que la molécule mère et donc plus facilement excrétés par le rein.

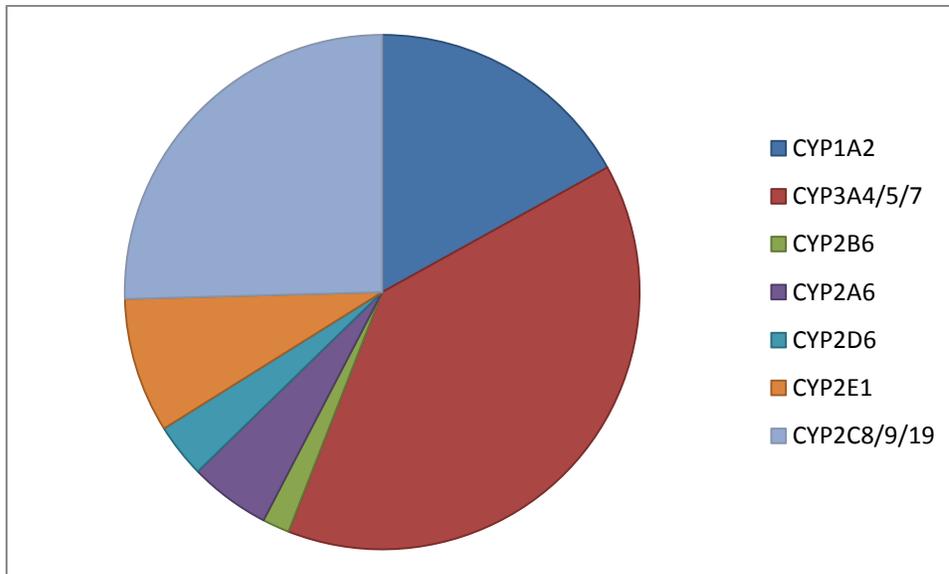


Figure 1 : Expression des CYP450 au niveau du foie [8].

Clairance rénale :

Les molécules hydrophiles de petites masses moléculaires vont être plus fréquemment éliminées de façon inchangée dans les urines. La clairance rénale dépend de trois paramètres, la filtration tubulaire (Cl_{Rf}), la sécrétion tubulaire (Cl_{Rs}) et la réabsorption tubulaire [4]. La réabsorption peut être exprimée comme une fraction de clairance (Fr).

Équation 5

$$Cl_R = (Cl_{Rf} + Cl_{Rs}) * (1 - Fr)$$

La clairance de filtration glomérulaire dépend du débit de filtration glomérulaire (DFG) et de la fraction libre (f_u). Si une molécule est fortement liée aux protéines plasmatiques, elle va être peu

filtrée. Si des pathologies augmentent ou diminuent le débit de filtration glomérulaire, la clairance de filtration sera modifiée.

Équation 6

$$Cl_{Rf} = fu * DFG$$

La clairance de sécrétion dépend de l'activité des transporteurs [9]. Cette sécrétion se déroule au niveau des cellules tubulaires, comme illustré sur la Figure 2. Les transporteurs sont relativement peu sélectifs et une compétition entre différents composés peut avoir lieu [4].

Les composés lipophiles sont soumis à une réabsorption importante et par conséquent sont peu éliminés par le rein. La réabsorption des acides et bases faibles est très influencée par le pH.

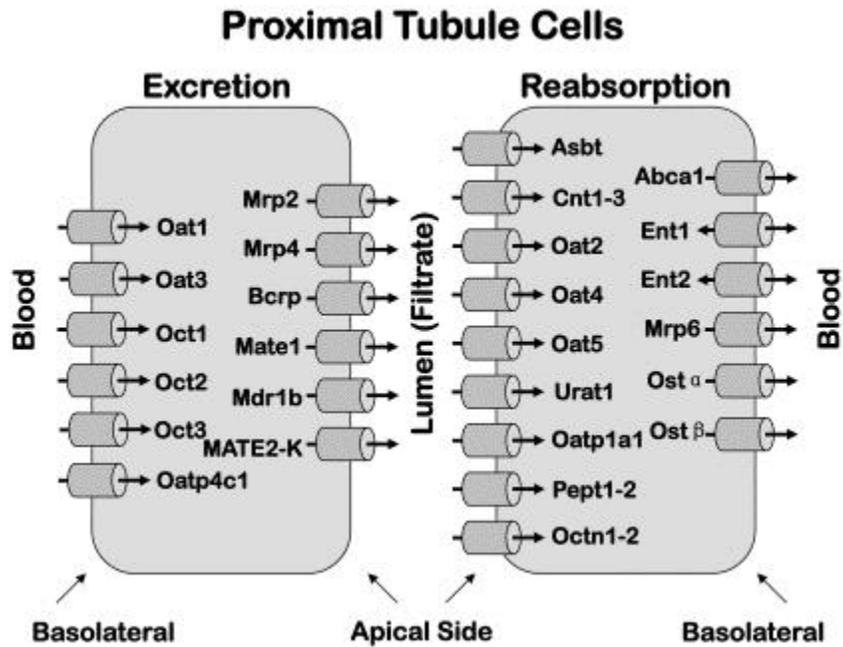


Figure 2 : Transporteurs rénaux [9].

Lorsqu'une molécule a une clairance rénale plus importante que le débit de filtration et qu'aucune information sur la réabsorption et la sécrétion réelle n'est connue, on définit une clairance de sécrétion apparente (Cl_{Rsa}). Cette clairance de sécrétion apparente est la différence entre la clairance de sécrétion réelle et la clairance de réabsorption comme expliqué dans l'équation 7.

Équation 7

$$Cl_R = fu * DFG + Cl_{Rsa}$$

1.2 Analyse pharmacocinétique

Grâce aux concentrations sanguines recueillies chez les patients, il est possible d'obtenir des profils pharmacocinétiques. Si les données le permettent, une analyse dite non compartimentale reposant sur la représentation graphique des résultats peut être faite.

La modélisation pharmacocinétique permet de décrire l'évolution des concentrations en fonction du temps grâce à des modèles mathématiques. Ces modèles sont une simplification de l'organisme vivant étudié. Ils permettent de mettre en évidence de façon simple les facteurs clés du comportement de la molécule dans l'organisme. Deux principales catégories de modèles pharmacocinétiques existent, les modèles dits compartimentaux et les modèles basés sur la physiologie (PBPK).

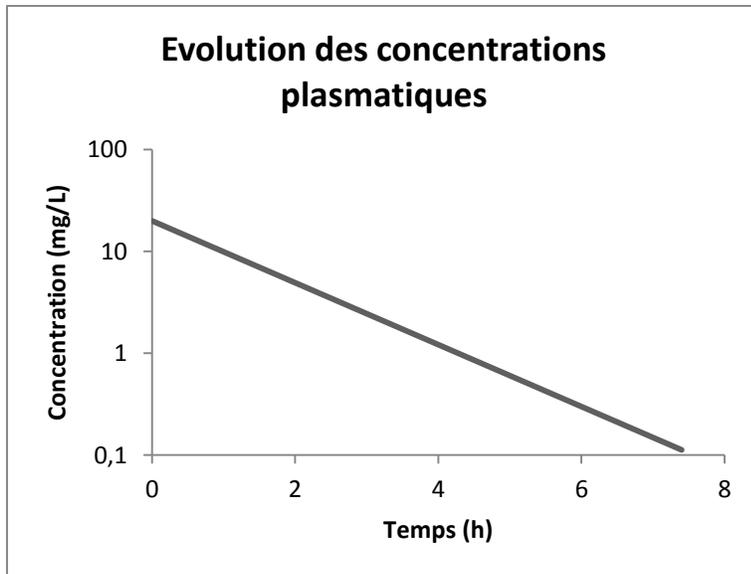
1.2.1 Pharmacocinétique non compartimentale

L'analyse non compartimentale (NCA) est basée sur la représentation graphique des concentrations en fonction du temps après administration. De nombreux prélèvements par patient sont nécessaires afin d'obtenir des paramètres pharmacocinétiques (PK) fiables. Il est alors possible d'estimer par la méthode des trapèzes des AUC (*Area Under the Curve*, aire sous la courbe) ainsi que de déterminer la demi-vie d'un composé.

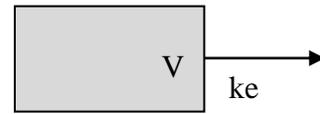
1.2.2 Modélisation compartimentale classique

La pharmacocinétique compartimentale est une approche dite "*topdown*", c'est à dire que les concentrations sanguines/plasmatiques vont déterminer un modèle mathématique permettant de décrire l'évolution de ces concentrations en fonction du temps.

La structure même du modèle et la valeur des paramètres dépendent des données observées. La Figure 3 illustre pour une administration intraveineuse, un modèle à un compartiment : les concentrations en échelle logarithmique décroissent selon une droite. La Figure 4 représente la cinétique pour un modèle à 2 compartiments, la courbe peut se décomposer en 2 droites. Un algorithme va permettre d'estimer les paramètres PK afin que la cinétique prédite par le modèle soit au plus proche des points expérimentaux observés. Pour une même molécule, un autre jeu de données donnera des valeurs de paramètres légèrement différentes.

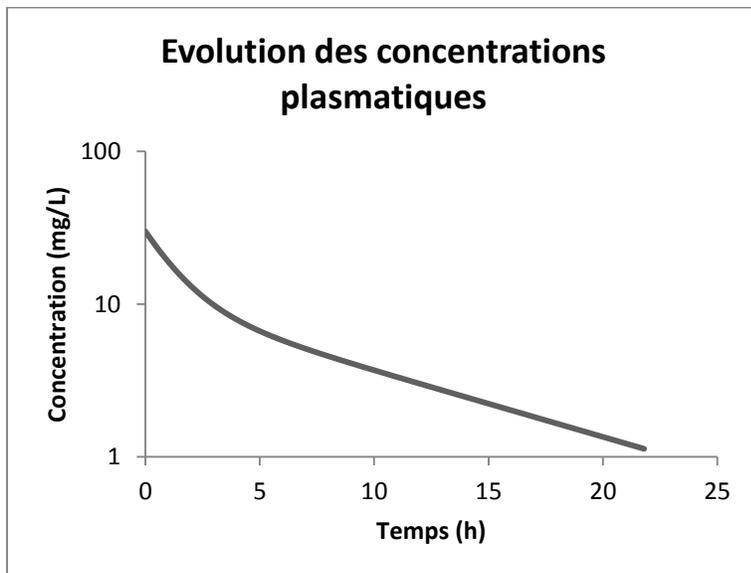


Exemple de modèle à 1 compartiment



V : Volume du compartiment central ; ke : constante d'élimination

Figure 3 : Cinétique monocompartimentale après administration en intraveineuse



Exemple de modèle à 2 compartiments

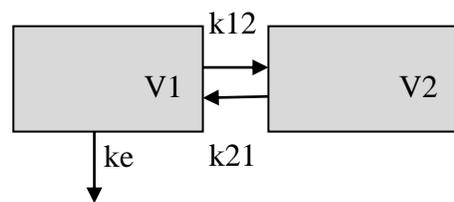


Figure 4 : Cinétique bicompartimentale après administration en intraveineuse

V : Volume du compartiment central ; V2 : volume du compartiment périphérique ; K12 et K21 : constante de transfert ; ke: constante d'élimination

Dans ce type de modèle, l'organisme est décrit par un ou plusieurs compartiments virtuels, sans correspondance physiologique. A chaque compartiment correspond une équation différentielle intégrant les vitesses d'entrée et de sortie de la substance du compartiment.

Afin de décrire la variabilité des paramètres PK par cette approche, il faut estimer les paramètres pour chaque individu et ensuite calculer la moyenne et l'écart-type. Cette approche nécessite un grand nombre de prélèvements par patient avec des schémas de prélèvements similaires.

1.2.3 Pharmacocinétique de population

La pharmacocinétique de population permet d'estimer en une seule étape les paramètres pharmacocinétiques individuels et ceux de population. C'est une approche statistique qui repose sur une modélisation non linéaire à effets mixtes [10]. Un modèle de population comprend des effets fixes (modèle de structure) et des effets aléatoires (modèles de variabilité interindividuelle et résiduelle). L'expression générale du modèle est la suivante :

$$C_{ij} = f(\theta, x_{ij}, z_i, \eta_i, \varepsilon_{ij})$$

Avec C_{ij} la $j^{\text{ème}}$ concentration du $i^{\text{ème}}$ individu mesurée au temps t_{ij} ; θ , le vecteur des paramètres du modèle; x_{ij} , les variables explicatives regroupant la dose administrée D_{ij} et le temps correspondant à la $j^{\text{ème}}$ concentration (t_{ij}); z_i , le vecteur des covariables; η_i , les effets aléatoires interindividuels et ε_{ij} , les erreurs résiduelles [11].

Le modèle cherche à décrire les variations de C_{ij} , qui est la variable dépendante du modèle, par celles de x_{ij} .

Cette approche permet de diminuer le nombre de prélèvements par patient et d'avoir des schémas de prélèvements et posologiques qui varient.

1.2.4 Pharmacocinétique basée sur la physiologie

Les modèles basés sur la physiologie (PBPK) diffèrent des modèles précédemment décrits par le fait qu'ils sont basés de façon plus importante sur la physiologie de l'organisme étudié. Les compartiments ne sont plus définis uniquement grâce aux données observées, mais sont associés à des organes ou groupes d'organes. Ils vont être décrits par le poids de l'organe et le flux sanguin arrivant à l'organe.

Cette une approche dite « bottom up ». Il est possible d'intégrer les résultats obtenus *in-vitro*. Du fait de sa structure basée sur l'anatomie et de l'intégration des facteurs déterminant la cinétique du composé étudié (affinité tissulaire, débit sanguin arrivant aux organes d'élimination...), l'extrapolation à d'autres schémas thérapeutiques ou populations est facilitée.

La comparaison des données prédites par le modèle aux données observées permet d'optimiser le modèle. Il peut être ensuite ré-évalué en vérifiant l'adéquation des prédictions avec les observations tirées d'autres schémas expérimentaux. Les modèles PBPK permettent d'obtenir des informations plus mécanistiques que les modèles compartimentaux. De plus, leur structure permet de s'intéresser à un tissu ou à un organe spécifique.

Ils sont en revanche plus complexes et nécessitent plus d'informations. En outre, l'évaluation objective des résultats des modèles PBPK est rendue difficile par le manque de données sur les concentrations tissulaires, qui faciliteraient la validation des modèles. Il y a peu

de méthodes de validation proposées par les autorités de santé, et peu de recommandations spécifiques, contrairement à d'autres approches.

Le Tableau 1 représente les principales différences entre les deux types de modèles : compartimentaux et modèles PBPK.

Tableau 1 : Comparaison modèles compartimentaux et modèles PBPK

Modèles compartimentaux	Modèles PBPK
Structure basée sur les données observées <i>in vivo</i>	Structure basée sur la physiologie de l'espèce étudiée
Pas de possibilité d'utiliser les données <i>in vitro</i>	Intégration possible des tests <i>in vitro</i> (métabolisation, liaisons protéiques, log P...)
Volumes virtuels	Volumes des compartiments = volume réel d'un organe ou groupe d'organes

2. Modification physiologique survenant durant la grossesse et impact potentiel sur la pharmacocinétique

De nombreuses modifications surviennent lors de la grossesse et certaines peuvent modifier la cinétique des médicaments. Comprendre l'origine des modifications pharmacocinétiques observées est d'un intérêt primordial afin de les anticiper pour pouvoir adapter la posologie des médicaments.

2.1 Absorption

Certaines pathologies associées à la grossesse peuvent perturber l'absorption. Ainsi les nausées et vomissements diminuent l'absorption. D'autre part la constipation qui provoque une diminution du transit et donc de l'absorption, a une prévalence augmentée durant la grossesse. Enfin l'augmentation du pH, associée au reflux gastro-intestinal, favorise l'ionisation des bases faibles ce qui va diminuer leur absorption [12]. En parallèle, quelques traitements pris classiquement durant la grossesse, comme les antiacides, peuvent provoquer des interactions [12], de même que le fer chélate certaines molécules limitant ainsi leur absorption.

Néanmoins, en dehors des pathologies, aucune augmentation significative de l'acidité n'a été démontrée [13,14]. La vidange gastrique n'est pas modifiée de façon significative [13,15] et seul un léger ralentissement du transit intestinal est observé en fin de grossesse [13,16]. Au cours de l'accouchement, le transit intestinal est ralenti, ceci est principalement dû à l'utilisation de dérivés morphiniques [12,15,17,18].

Dans l'ensemble, l'impact sur la vitesse d'absorption des molécules lors de la grossesse (en dehors de l'accouchement) est modéré [3]. D'autre part, certaines enzymes sont induites ou inhibées durant la grossesse [3,19,20]. Les molécules qui subissent un effet de premier passage intestinal et/ou hépatique peuvent donc potentiellement avoir une biodisponibilité modifiée.

2.2 Distribution

Durant la grossesse une augmentation du volume plasmatique et de l'eau extravasculaire est observée. L'eau totale contenue dans l'organisme est augmentée de 45 % en fin de grossesse par rapport à une femme non enceinte [13]. Ce phénomène engendre une augmentation de l'espace dans lequel les molécules hydrophiles se diluent. Une diminution des concentrations maximales plasmatiques est alors observée [21]. De même une augmentation du tissu adipeux d'environ 5 kg peut augmenter le volume de distribution des molécules lipophiles bien que les conséquences cliniques ne soient généralement pas significatives [21].

D'autre part, les concentrations en albumine sérique et glycoprotéine acide alpha-1 diminuent de 31 % et 19 % respectivement en fin de grossesse [13]. Ceci peut provoquer une augmentation de la fraction libre (= active) des molécules fortement liées aux protéines plasmatiques comme la phénytoïne [22]. Une augmentation des concentrations libres serait donc attendue. Cependant, dans le cas de la phénytoïne bien que la fraction libre augmente, les concentrations libres restent stables [22]. Il faut surtout prendre en compte ce phénomène en cas de surveillance des concentrations plasmatiques ou suivi thérapeutique (TDM) car ce sont généralement les concentrations totales qui sont mesurées.

2.3 Elimination

Les deux voies principales d'élimination sont le métabolisme hépatique et l'excrétion rénale. Les modifications de la clairance hépatique peuvent provenir de modification du flux sanguin hépatique, de la fraction libre ou de la clairance hépatique intrinsèque [3]. En effet, pour les molécules avec un ratio d'extraction important, dont la clairance dépend directement du flux sanguin hépatique, si ce dernier est augmenté la clairance le sera également [23]. Les données sur les modifications du débit hépatique durant la grossesse sont contradictoires. Plusieurs études ne montrent pas de différences significatives tandis que d'autres montrent une augmentation du débit hépatique qui pourrait être due à l'augmentation du débit provenant de la veine porte [13,24]. Il est probable que les modifications de clairance hépatique soient dues à des changements dans l'activité enzymatique, l'activité des transporteurs ou encore de la fraction libre [3]. L'augmentation d'œstrogène/progestérone induirait ou inhiberait certaines enzymes hépatiques de la classe des cytochromes P450 (CYP450) [21]. Les études sur ces modifications d'activité reposent généralement sur l'étude de la pharmacocinétique de molécules témoins principalement métabolisées par une isoenzyme. La clairance est calculée après administration de la molécule témoin à différentes périodes de la grossesse. La clairance de référence peut être mesurée avant la grossesse mais elle est bien souvent mesurée après l'accouchement. Par exemple, la caféine est un marqueur usuel de l'activité du CYP1A2, le midazolam du CYP3A4, le metoprolol du CYP2D6 et la phénytoïne du CYP2C9 [3]. Ainsi il y aurait une augmentation de l'activité enzymatique du CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 et CYP2B6 et une diminution de l'activité du CYP1A2 et CYP2C19 [3]. D'autre part, une augmentation de la clairance des produits métabolisés par l'UGT1A1 et UGT1A4 est également observée [25,26]. Il y a assez peu de données concernant ces modifications et il n'est pas évident d'isoler un phénomène parmi

d'autres. Ainsi, les concentrations totales en phénytoïne, molécule témoin de l'activité du CYP2C9, diminuent lors de la grossesse laissant supposer une augmentation de la clairance [22]. Or on a vu précédemment que la fraction libre augmentait, il est donc tout à fait envisageable de penser qu'une partie, si ce n'est la totalité, de l'augmentation de la clairance soit en fait due à l'augmentation de la fraction libre. C'est pourquoi certaines études ont pris en compte toutes les modifications physiologiques survenant au cours de la grossesse afin d'isoler l'effet de la modification de l'activité enzymatique [20,27–29]. Ces travaux ont permis d'avoir une idée plus précise de l'amplitude des modifications. Ainsi au troisième trimestre, l'activité enzymatique est augmentée d'environ 100 %, 90 %, 60 % et 100 %, pour le CYP2D6, 2B6, 2C9, et 3A4 et diminuée d'environ 70 % et 65 % pour le CYP2C9 et 1A2 respectivement [20,27–29].

L'augmentation de la filtration glomérulaire durant la grossesse, liée à l'augmentation du débit de perfusion rénal, augmente la clairance rénale. En effet le débit de filtration glomérulaire augmente de 19 %, 37 %, 40 % au 1er, 2ème et 3ème de grossesse tandis que le débit plasmatique rénal augmente de 38 %, 48 % et 31 % [3,13]. Les modifications de sécrétion rénale ne sont que peu documentées et augmenteraient durant la grossesse. Des études sur la metformine et la digoxine estiment que les activités de la glycoprotéine G (permeability-GlycoProtein = PgP) et des OCT (organic cation transporter) seraient augmentées [3]. D'autre part, chez la souris un lien entre le niveau d'œstrogène et l'ARNm de l'OAT5 et MRP3 a été montré tandis qu'aucun effet sur la PgP, MRP, OATP1A1, OATP1A3 et OCT2 n'a été mis en évidence [9]. D'un point de vue clinique, l'augmentation de la clairance rénale peut nécessiter un ajustement de dose afin de maintenir l'efficacité clinique. Par exemple, une étude pharmacocinétique chez 67 patientes enceintes recevant de la gentamicine pour morbidité fébrile a montré que 94 % des patientes

avaient une élimination plus rapide que celle normalement observée, ce qui a engendré un ajustement de dose pour certaines [30,31].

Les modifications de la pharmacocinétique des médicaments lors de la grossesse peuvent donc provenir de nombreux facteurs dont les interactions peuvent être complexes. Ces facteurs influencent à leur tour la cinétique (absorption, distribution, élimination). Les modèles PBPK essaient d'intégrer ces modifications afin de limiter les biais, en intégrant les altérations dans la composition du corps, la fonction des organes ou des fonctions biologiques. Il est alors théoriquement possible de prédire l'évolution de la pharmacocinétique au cours du temps.

3. Passage transplacentaire : méthodes pour l'évaluer et le prédire

3.1 Généralités sur le placenta

Le placenta est un organe transitoire qui connecte le fœtus en développement et la mère tout en conservant deux systèmes circulatoires distincts. Il régule le développement intra-utérin en contrôlant les échanges de divers nutriments, gaz, cytokines, hormones et facteurs de croissance [2]. Il est également l'interface de l'élimination des déchets fœtaux.

La structure du placenta est stable à partir de 5 mois et seul le volume augmente par la suite. A terme, le placenta a une forme de disque de 20 cm de diamètre et 3 cm d'épaisseur. Il pèse approximativement 500 g et couvre 25-30 % de la surface interne de l'utérus.

La barrière placentaire, représentée sur la Figure 5, consiste en une couche de cellules à plusieurs noyaux, appelé syncytiotrophoblaste, en vert sur le schéma [32]. On peut distinguer deux côtés :

- Le côté maternel est la partie externe du placenta, en contact avec le sang maternel. Il contient la plaque basale. Les veinules et artérioles maternelles vont échanger le sang dans des chambres intervillieuses. Ces chambres sont entièrement recouvertes de syncytiotrophoblaste dont les bordures en brosse sont en contact direct avec le sang [32]. Entre le syncytiotrophoblaste et les villosités chorales se trouve le cytotrophoblaste qui devient lacunaire à partir du 4^{ème} mois.
- Le côté fœtal contient la plaque chorale et les villosités chorales dans lesquelles sont intégrés les vaisseaux fœtaux spiralés [33]. Le sang fœtal arrive au placenta par les artères. Il circule dans les vaisseaux des villosités, où les échanges avec le sang maternel présent dans les chambres intervillieuses vont se faire. Le sang repart alors enrichi en oxygène par la veine ombilicale.

Le cotylédon est une unité fonctionnelle du placenta contenant toutes les villosités chorales provenant du même tronc.

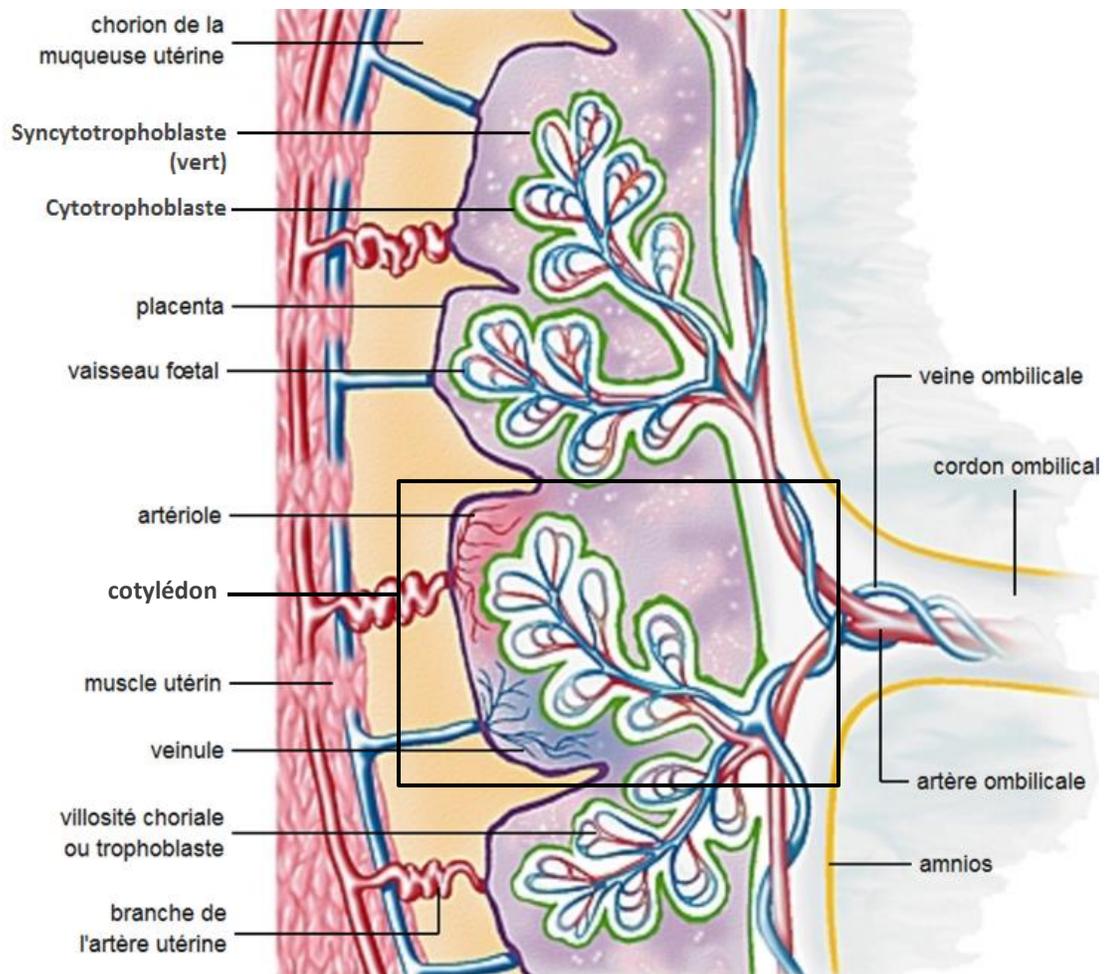


Figure 5 : Schéma de la structure placentaire [32,34]

3.2 Les différents modèles d'étude du passage transplacentaire

3.2.1 Cultures cellulaires

Les cellules les plus couramment utilisées sont BeWo, Jeg-3, JAR. Ce sont des cellules originaires d'un choriocarcinome [35]. Afin d'étudier le passage transplacentaire, il est nécessaire d'avoir une monocouche cellulaire à jonction serrée. Seules les souches BeWo ont prouvé leur capacité à être confluentes [32]. Les autres souches, telles que Jeg-3, JAR et les cellules

placentaires primaires peuvent être utilisées afin d'étudier un mécanisme particulier pouvant influencer le passage transplacentaire tel que l'influx, l'efflux, le métabolisme ou encore l'expression des gènes associés à ces fonctions [32,35].

Les cellules BeWo possèdent beaucoup des caractéristiques des cellules trophoblastiques humaines. Elles ressemblent à des cytotrophoblastes indifférenciés avec quelques syncytiotrophoblastes [35]. Le clone BeWo b30 est le plus utilisé pour l'étude du passage transplacentaire. Par contre, ce sont des cellules cancéreuses et certaines fonctions peuvent être altérées. En revanche, la culture de cellules primaires de placenta permet d'éviter ce biais. Celles-ci peuvent être isolées à différents moments de la grossesse, il est alors possible d'étudier l'évolution de certaines fonctions [35]. Cependant leur culture est laborieuse et elles ne forment pas une monocouche de cellules à jonctions serrées lors de leur culture sur membrane semi perméable [35].

Les cultures cellulaires ne contiennent qu'un seul type de cellules et ne permettent pas totalement de représenter la barrière transplacentaire. Il est possible d'isoler des tranches de tissu, mais comme il n'y a pas de membranes continues il n'est pas possible d'étudier le passage transplacentaire [35].

3.2.2 Modèle du cotylédon perfusé

Cette méthode est utilisée pour étudier les mécanismes et prédire le passage transplacentaire. C'est la seule technique qui permet d'étudier le passage transplacentaire dans un tissu humain organisé [35]. C'est une méthode non invasive et les placentas étant incinérés après l'accouchement, les problèmes éthiques sont donc minimes [32]. Le principal point faible de cette

technique est qu'elle ne permet pas d'étudier le premier trimestre de grossesse bien que ce soit une période critique du développement fœtal.

Cette technique consiste en l'isolation d'une unité fonctionnelle du placenta, le cotylédon. Les circulations fœtales et maternelles sont simulées en essayant d'être au plus proche des conditions physiologiques que ce soit au niveau des débits de perfusion, de la composition du milieu, du pH ou de la température. Selon les équipes et les molécules, de l'albumine peut être ajoutée dans le milieu soit, à des concentrations physiologiques soit à des concentrations plus faibles de 2 g/L [36–41].

En tant qu'organe isolé, le placenta ne peut pas refléter la pharmacocinétique in-vivo car il ne prend pas en compte les concentrations maternelles changeantes au cours du temps [35].

3.2.3 Etude du passage transplacentaire in-vivo

Le modèle animal a l'avantage d'être un système biologique complet qui n'expose pas les femmes enceintes à des toxiques potentiels. Néanmoins du fait des différences entre les espèces que ce soit au niveau de la durée de gestion, de la taille du placenta ou même de sa structure, l'extrapolation à l'Homme est délicate [32].

Afin d'estimer le passage transplacentaire in-vivo chez la femme enceinte il est possible de récupérer du sang de cordon ombilical et maternel à l'accouchement [32]. Bien souvent le passage transplacentaire est estimé par le ratio des concentrations. Ce ratio est hautement variable selon le délai entre la prise de médicament et l'accouchement/prélèvement comme l'illustre la Figure 6. Une approche de pharmacocinétique de population permet d'estimer des profils

pharmacocinétiques et donc de déterminer des rapports d'AUC qui sont moins variables et plus représentatifs du passage transplacentaire [42–45]. Bien que fiable, cette approche demande l'exposition de nombreuses femmes.

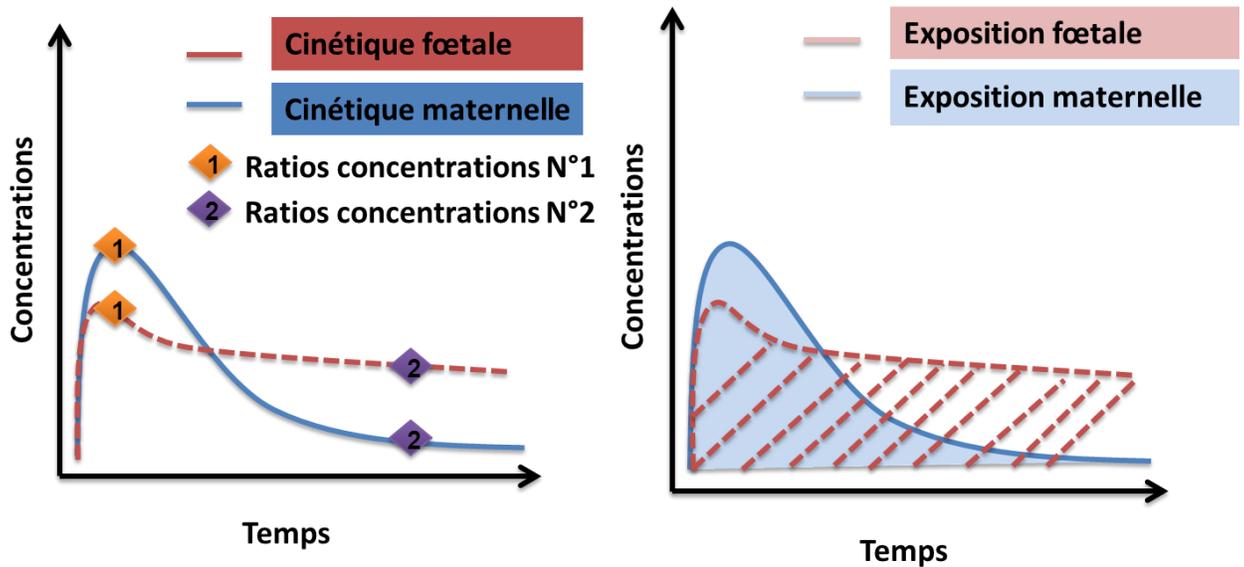


Figure 6 : Rapports de concentrations et d'exposition entre la mère et le fœtus

3.3 Evolution de la physiologie fœtale pouvant influencer l'exposition fœtale

La barrière placentaire évolue au cours de la grossesse et la surface d'échange augmente, ce qui pourrait potentiellement augmenter le passage transplacentaire et donc l'exposition fœtale. En parallèle, certaines modifications physiologiques fœtales peuvent impacter la pharmacocinétique chez le fœtus.

3.3.1 Echange placenta fœtus

Le flux sanguin cardiaque du fœtus augmente tout au long de la grossesse. Toutefois, si on le rapporte au poids fœtal, il reste relativement stable et est d'environ 400 ml/min/kg [46]. De même, la fraction de ce flux sanguin qui est attribuée au placenta évolue. Il est de 1/3 du flux sanguin total à la 17^{ème} semaine de gestation à 1/5^{ème} à terme [46].

3.3.2 Echange fœtus liquide amniotique

Le liquide amniotique contient les nutriments et les facteurs de croissance qui aident le développement fœtal et assurent une protection mécanique [47]. Son volume varie beaucoup durant la grossesse, il est de 41 ± 15 ml à la 9^{ème} semaine, 236 ± 78 ml à la 17^{ème} semaine et augmente jusqu'à 933 ± 196 ml à la 38^{ème} semaine. Il diminue en toute fin de grossesse et est d'environ 758 ± 132 ml à la 40^{ème} semaine. Durant le premier trimestre, le liquide amniotique est isotonique au plasma maternel ou fœtal [48]. Il serait un transsudat du plasma fœtal via la peau non kératinisée du fœtus ou de la mère à travers le placenta. Avec l'avancée de la grossesse sa composition change et est à environ 85-90 % de l'osmolalité du sérum maternel [48]. En effet après kératinisation de la peau le volume et la composition du liquide amniotique dépendent des différents échanges entre le liquide amniotique et les tissus environnants notamment de l'excrétion de l'urine fœtale [47,48]. Ces échanges sont représentés dans la Figure 7. De ce fait, le fœtus va éliminer les composés dans le liquide amniotique qui stocke les composés jusqu'à ce que le fœtus le réabsorbe.

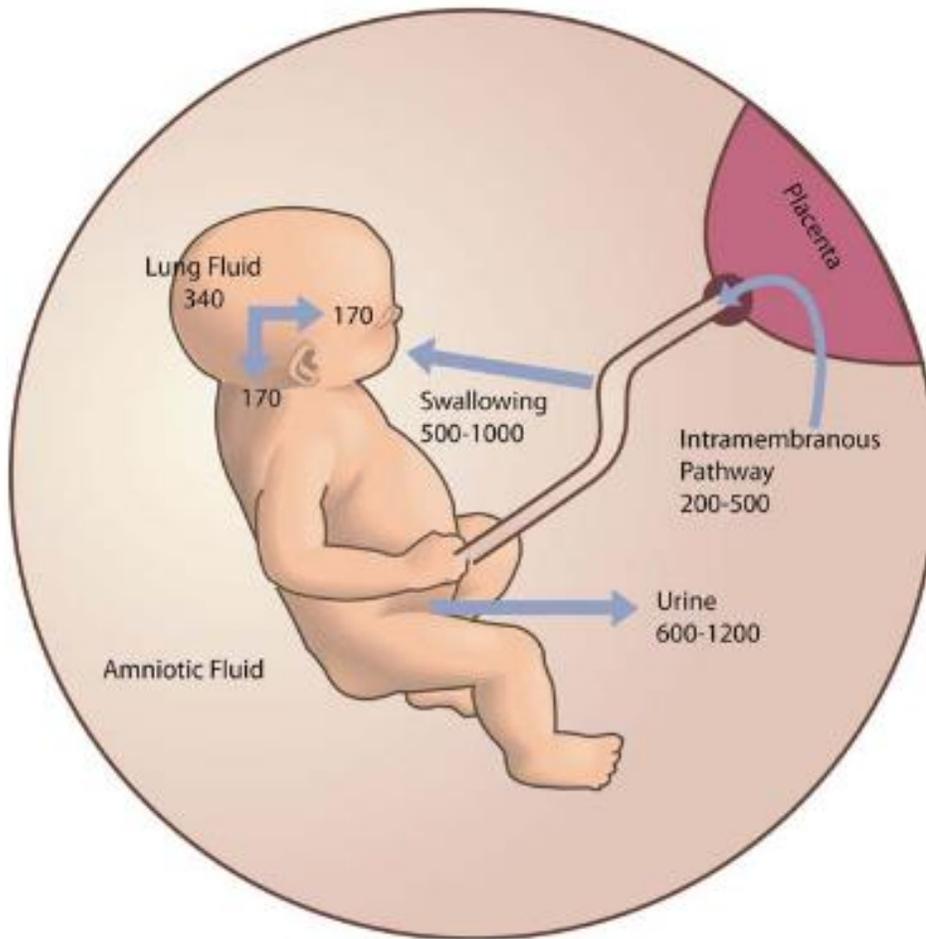


Figure 7 : Echange entre le fœtus et le liquide amniotique en fin de grossesse [49]

Les flèches représentent les voies d'échanges, les chiffres associés sont les volumes en ml par jour.

3.3.2.1 Production d'urine

La production de liquide amniotique dépend principalement de la production d'urine fœtale. Celle-ci est d'environ 300 ml/kg/jour ou 600 à 1200 ml/jour à terme [47]. Toutefois, l'excrétion urinaire de médicaments n'est pas forcément reflétée par l'excrétion d'urine. Le débit de filtration glomérulaire est estimé à 0.35 ± 0.22 ml/min à la 28ème semaine de gestation et 2.24 ± 1.58

ml/min à terme [50]. Le rein est assez peu perfusé si l'on compare ces débits, rapporté en kg, à ceux de la mère.

3.3.2.2 Excrétion pulmonaire

Les sécrétions orale, nasale, trachéale et pulmonaire contribuent également à la production de liquide amniotique et s'élèvent à 60-100 ml/kg/jour. Cependant la moitié de cette production est ingérée directement [47,48].

3.3.2.3 Ingestion fœtale

D'un autre côté le fœtus ingurgite le liquide amniotique, avec un débit de 200 à 250 ml/kg/jour [47].

3.3.2.4 Passage transmembranaire

Un passage non négligeable se fait entre le liquide amniotique et la circulation fœtale. La quantité de liquide passant à travers les membranes est hautement variable et a été estimée à 200-500 ml/j [47].

3.3.3 *Métabolisme*

Plusieurs études ont mis en évidence l'expression de CYP450 dans le foie du fœtus humain. Les isoenzymes identifiées sont le CYP1A1, 2C8, 2D6, 3A3/3A4 et 3A7. Le CYP 3A7 est spécifique du fœtus, mais elle aurait une activité moindre que le 3A4 [31]. Au final, le métabolisme hépatique fœtal est minime comparé à celui de la mère [31].

4. Modèle PBPK chez la femme enceinte et son fœtus

Bien qu'une bonne partie de ces modèles soit développée chez l'animal, de plus en plus de modèles décrivent l'impact de la grossesse sur la pharmacocinétique des femmes enceintes.

4.1.1 Modifications physiologiques maternelles

Selon les molécules étudiées, les auteurs se sont logiquement plus concentrés sur certaines modifications physiologiques que d'autres. Ainsi pour des molécules très fortement liées aux protéines plasmatiques, les concentrations plasmatiques de ces protéines sont primordiales [29,51–53]. De même pour les molécules métabolisées, il est nécessaire d'intégrer l'induction ou l'inhibition potentielle des différentes enzymes responsables [20,27–29,51–55]. En ce qui concerne la clairance rénale, il est généralement admis que celle-ci augmente durant la grossesse. En revanche, tous les auteurs ne sont pas d'accord sur l'ampleur de cette modification et notamment en ce qui concerne les phénomènes de sécrétion. Certains supposent que cette modification est inexistante ou négligeable alors que d'autres supposent une augmentation de l'activité des transporteurs [27,51,53].

4.1.2 Représentation du fœtus

Le fœtus peut être assimilé à un compartiment/tissu ou à un ensemble plus complexe de plusieurs compartiments.

4.1.2.1 Intégré à un tissu déjà existant

Le fœtus est supposé ne pas modifier la pharmacocinétique maternelle, et n'est donc pas intégré dans le modèle [52,56]. D'autres ont intégré le volume du placenta et du fœtus dans les tissus richement perfusés [57].

4.1.2.2 Unité foeto-placentaire

On considère le placenta, le liquide amniotique et le fœtus comme une seule unité appelée materno-fœtale [3,20,27–29,51,53]. L'affinité de la molécule pour ce compartiment est supposé identique à un autre tissu maternel comme le cerveau ou les muscles.

4.1.2.3 Placenta et fœtus

Le fœtus a également été représenté séparé du placenta comme illustré dans la Figure 8 [55,58,59]. L'échange entre le placenta et le fœtus se fait selon des constantes estimées dans une autre espèce tandis que l'échange entre le placenta et la mère dépend du débit de perfusion et de l'affinité de la molécule pour le tissu.

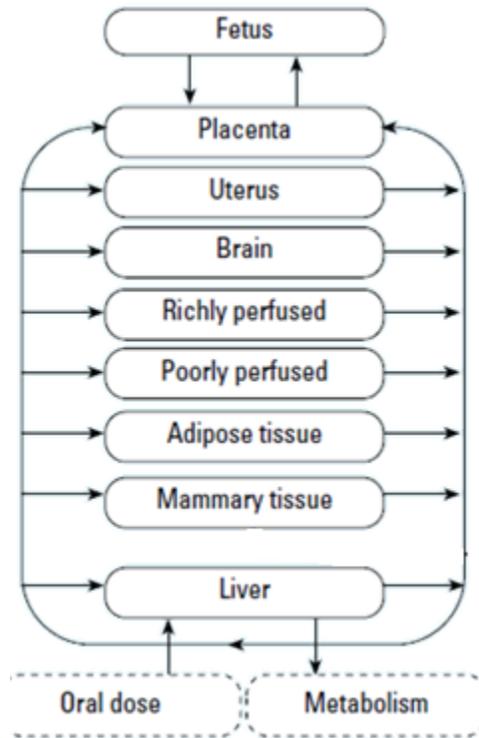


Figure 8 : Schéma de la représentation du fœtus selon Verner *et al.* [59].

4.1.2.4 Placenta, fœtus, sang/plasma

Lumen *et al.* ont séparé le sang fœtal du reste du corps. Verner *et al.* ainsi que Loccisiano *et al.* y ont ajouté les échanges avec le liquide amniotique qui ont été estimés chez le rat [60–62]. La Figure 9 illustre ce cas d’après Verner *et al.* [61].

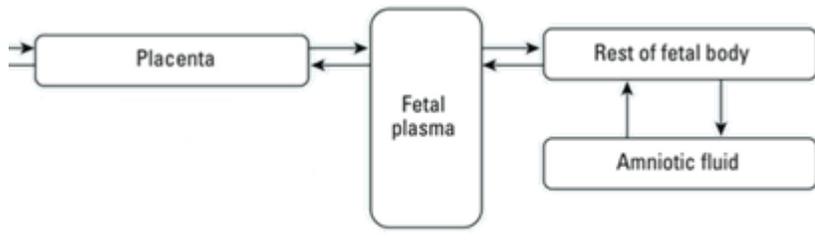


Figure 9 : Schéma du fœtus selon Verner *et al.* [61].

4.1.2.5 Organisme fœtal complet

Enfin, certains modèles PBPK ont un degré de précision semblable entre la description de la mère et du fœtus [55,63–67]. La taille des organes fœtaux en fonction du poids est décrite par des équations de Gompertz adaptées par Luecke *et al.*[64,68]. La Figure 10 est un exemple d'organisme fœtal décrit avec une précision similaire à celle de l'organisme maternel selon Sweeney *et al.* [69].

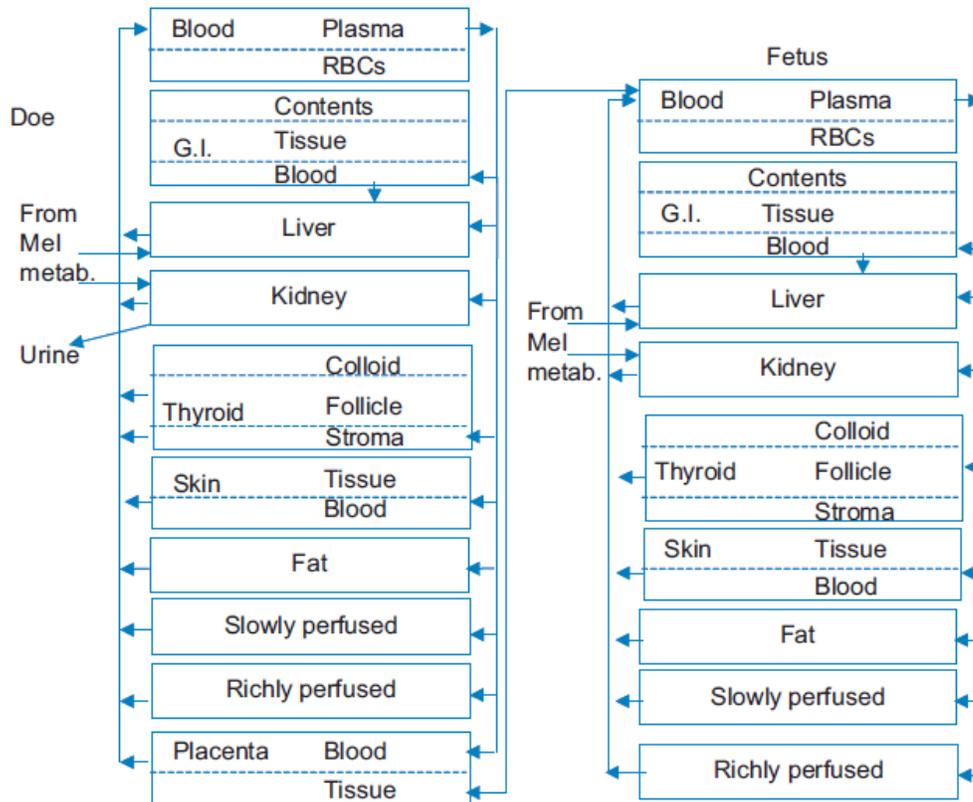


Figure 10 : Schéma du fœtus selon Sweeney *et al.* [69].

4.1.3 Intégration du passage transplacentaire

Dans la majorité des cas, le passage transplacentaire n'est pas étudié et la cinétique fœtale n'est pas prédite [3,20,27,29,51–53,59,66]. Dans les rares études où le passage transplacentaire est intégré, il est estimé à partir de données chez le rat [55,55,63,65]. Une seule étude a intégré les données de passage transplacentaire estimées grâce au model *ex-vivo* [70]. Les paramètres sont corrigés par un coefficient estimé chez le rat. Malheureusement, ils ne disposaient pas de données fœtales chez l'homme pour valider leur approche. A notre connaissance, une seule étude compare les concentrations prédites aux concentrations observées au niveau du cordon [65]. Cette étude de

Yoon *et al.* s'intéresse à l'exposition au manganèse durant la grossesse et le développement. C'est un modèle de toxicologie et donc la cinétique ressemble à celle que l'on pourrait avoir après une perfusion continue dont la dose n'est pas connue avec précision. Il n'y a par ailleurs aucune étude à ce jour comparant les prédictions à une cinétique fœtale complète chez l'homme.

5. Molécules étudiées

Les quatre molécules étudiées, le ténofovir (TFV), la lamivudine (3TC), l'emtricitabine (FTC) et la névirapine (NVP) sont des molécules antirétrovirales utilisées en cas d'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

5.1 Mécanisme d'action et activité

Les 4 molécules sont des inhibiteurs de la transcriptase inverse. Elles vont inhiber l'enzyme responsable de la rétro-transcription de l'ARN viral en ADN viral, la transcriptase inverse. Cette inhibition empêche l'intégration du génome viral dans le génome de la cellule hôte.

Le TFV, 3TC et FTC sont des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTIs). Après phosphorylation, le FTC et le 3TC, analogues de la desoxycytidine triphosphate, et le TFV, un analogue de désoxyadénosine triphosphate, entrent en compétition avec les nucléotides naturels pour la synthèse d'ADN viral [71–73]. Une fois intégrés, ils vont bloquer l'élongation de la chaîne d'ADN viral.

La névirapine (NVP) est un inhibiteur non-nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTIs). Ce sont des inhibiteurs non compétitifs, ils ne nécessitent pas d'étape de

phosphorylation intracellulaire car ils n’agissent pas directement au niveau du site catalytique de l’enzyme. En effet, ces molécules agissent en se fixant sur un site allostérique, proche du site catalytique. Cette fixation entraîne un changement de conformation de la transcriptase inverse, qui aboutit à une diminution de son activité [74].

Tableau 2 : Molécules étudiées

	Tenofovir	Lamivudine	Emtricitabine	Nevirapine
Classe	INTI			INNTI
Toxicité	rénale	sanguine, pancreas	pigmentation de la peau, troubles hépatiques	hépatique
Posologie usuelle	300 mg/j (=136 mg TFV)	150 mg 2 fois/j 300 mg/j	200 mg/j	200 mg x 2 fois/j

5.2 Propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques

Ce sont 4 molécules de faibles poids moléculaires qui ont une liaison aux protéines plasmatiques faible à modérée. Le TFV, le 3TC et le FTC sont des molécules hydrophiles majoritairement éliminées par le rein tandis que la NVP est lipophile et éliminée par le foie.

Le Tableau 3 résume les caractéristiques des molécules.

Tableau 3: Résumé des caractéristiques des molécules

	Tenofovir	Lamivudine	Emtricitabine	Nevirapine
M (g/mol)	287[71]	229[75]	247[72]	266 [76]
pKa	3.7-6.5[71]	4.5 [75]	2.65[72]	2.8 [77]
logP	-2.21[78]	-0.7 [73]	-0.43[72]	1.96 [79]
F	0.28 [80]	0.85[73]	0.93[72]	0.93 [79]
ka (h⁻¹)	0.56 [81]	1.04[44]	0.54[42]	0.67 [79]
fu	0.993[80]	0.84 ^a	0.96[72]	0.4 [79]
Rb (globule rouge/sang)	0.58 [82]	1.5[83]	1[72]	1.04 [84]
Vd (L/kg)	1.2 [71]	1.3 [75]	1.4 [72]	1.2 [76]
Transporteurs	MRP4, OAT1, OAT3 [85,86]	OCT1-3, BCRP, OAT1, MATE1, MATE2 [87-90]	OCT2, MRP4 [89,91]	ABCC10/MRP7 [92,93]
Source principale de clairance	Rénale			Hépatique (CYP)
Cl (L/h)	18.2 [94]	23.9 [95]	18.4 [72]	1.4 [77] (dose unique)

^a Simcyp

6. But de la thèse

Bien que les femmes enceintes soient exposées à de nombreux médicaments, il existe peu ou pas d'essais cliniques dans cette population pour vérifier l'efficacité de ces médicaments. Pourtant, les modifications physiologiques survenant durant cette période clé peuvent engendrer des changements pharmacocinétiques. Des modèles pharmacocinétiques basés sur la physiologie ont déjà intégré avec succès ces modifications. Toutefois vérifier la capacité de ces modèles à prédire la cinétique des femmes enceinte sur d'avantage de molécules est nécessaire, notamment en ce qui concerne certains phénomènes incertains. C'est le cas de la sécrétion rénale pour laquelle aucun consensus n'existe quant à son évolution durant la grossesse. De même peu de modèles ont étudié l'évolution de la clairance durant la grossesse pour des molécules métabolisées par différents cytochromes. Dans cette thèse nous avons étudié d'une part des molécules principalement éliminées par le rein et d'autre part une molécule métabolisée par les CYP3A4, 2B6 et 2D6, la névirapine.

Le modèle PBPK étant validé chez la femme enceinte, nous avons développé et validé une approche permettant de prédire la cinétique fœtale en fin de grossesse. Pour ceci nous avons combiné le modèle PBPK, qui permet de prendre en compte la physiologie maternelle et fœtale, à des paramètres de passage transplacentaire obtenus *ex-vivo* à partir de placentas humains perfusés. L'expérience *ex-vivo* est représentative des phénomènes de passage transplacentaire en fin de grossesse. Les molécules étudiées étaient choisies en fonction, d'une part, de leurs propriétés nous permettant d'explorer différents phénomènes et d'autres part par la disponibilité de prélèvement au sang de cordon rendant possible la validation de la méthode.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

Les analyses non compartimentale et compartimentale n'incorporent pas les différentes modifications physiologiques survenant durant la grossesse, c'est pourquoi des modèles mécanistiques intégrant toutes ces modifications sont souhaitables.

1. Démarche générale

Le développement des modèles PBPK s'est fait en plusieurs étapes représentées sur la Figure 11. La première consistait à collecter les informations nécessaires afin d'évaluer les organes et phénomènes qui jouent un rôle clé dans la pharmacocinétique du composé et ainsi choisir la structure du modèle. Par exemple, si un médicament est lipophile, l'intégration du tissu adipeux dans le modèle PBPK est primordiale. De plus, selon le but de la modélisation, un degré de précision différent pourra être nécessaire. Ainsi, si une molécule est connue pour être la cause d'une toxicité dans une région particulière du cerveau, il pourra être intéressant de séparer les différentes parties du cerveau. Cependant si aucun effet n'est connu il ne sera pas nécessaire de complexifier le modèle.

Si des données d'administration intraveineuse sont disponibles, l'étude du composé permet d'évaluer la capacité du modèle à décrire l'élimination et la distribution de ce composé indépendamment de son absorption. Ce point étant établi, l'évolution des concentrations après administration par voie orale peut être prédite et comparée aux concentrations observées. Différents schémas thérapeutiques ont été utilisés pour renforcer les validations. Lorsque les prédictions prédisent les données observées, le modèle est alors considéré comme validé et il peut être utilisé pour extrapoler les prédictions à une autre population. Dans ce travail, il s'agit des femmes enceintes. Les modifications physiologiques pouvant influencer la pharmacocinétique

ont été intégrées dans le modèle. Afin de le valider, les concentrations plasmatiques observées après administration chez les femmes enceintes sont comparées à celles prédites. En parallèle, le passage transplacentaire des molécules étudiées est étudié ex-vivo sur des placentas obtenus à terme, permettant l'estimation des paramètres de passage transplacentaire (D_{cot} : diffusion, k_{pPL} : coefficient de partage, k_{PE} : élimination placentaire...), le volume placentaire étant intégré dans le modèle PBPK. Ce modèle incluant les paramètres de passage transplacentaire est alors utilisé pour prédire la cinétique fœtale et l'évolution des concentrations dans le liquide amniotique.

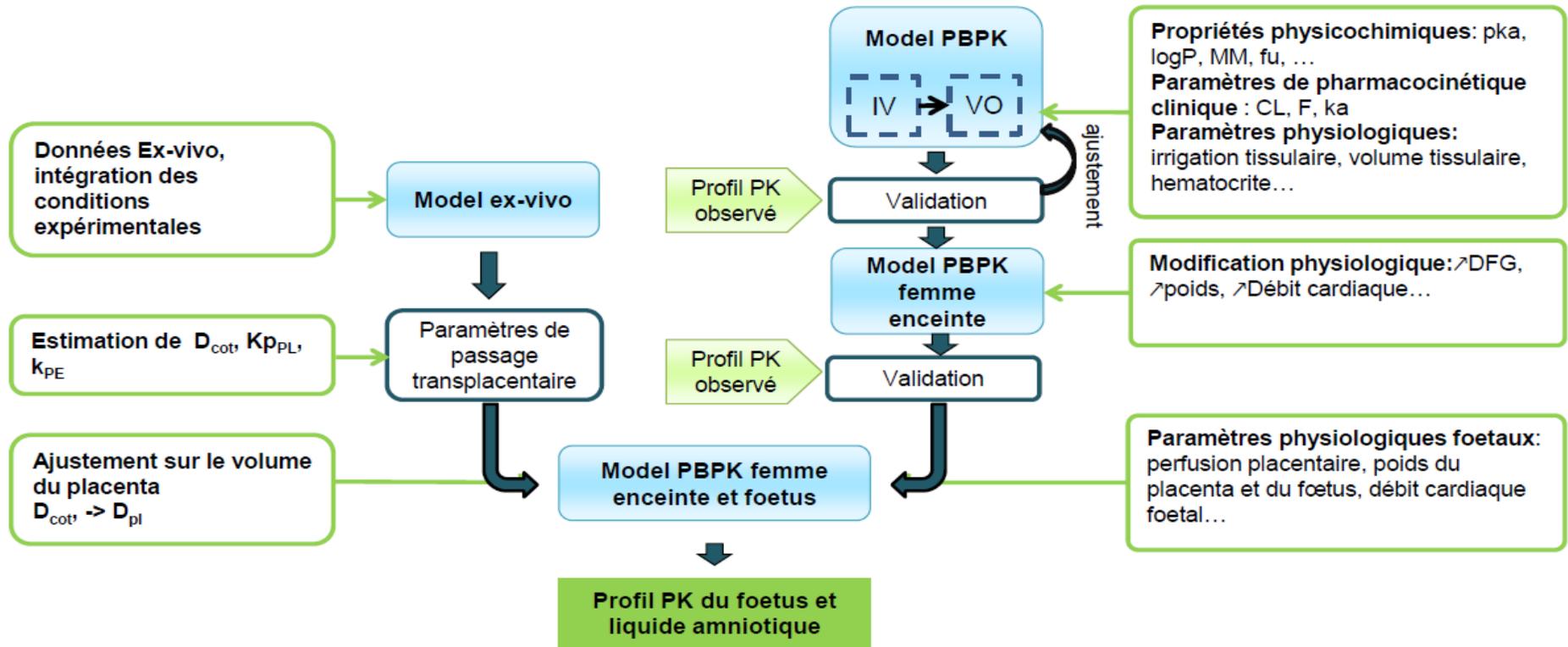


Figure 11: Représentation schématique des étapes de la construction des modèles PBPK

Pka: logarithme négatif de la constante d'acidité, *logP*: logarithme du coefficient de partition octanol/eau, *MM*: Masse molaire, *CL*: clairance, *F*: biodisponibilité, *ka*: constante de vitesse d'absorption, *DFG*: débit de filtration glomérulaire, *PK*: pharmacocinétique, *PBPK*: physiologically Based Pharmacokinetic, D_{cot} : paramètre de diffusion par cotylédon, Kp_{PL} : coefficient de partage placentaire, k_{PE} : constante d'élimination placentaire, D_{pl} : paramètre de diffusion par placenta

1.1 Construction d'un modèle PBPK

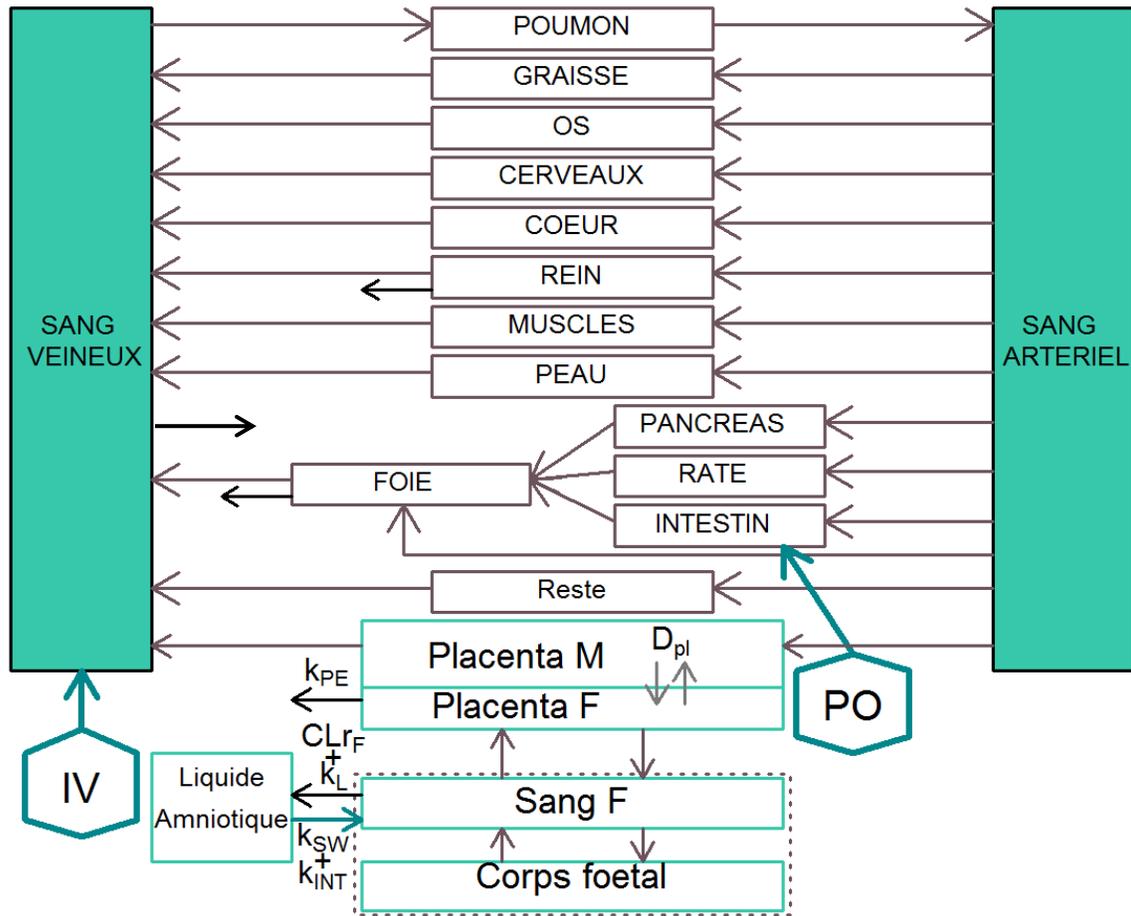


Figure 12 : Représentation schématique d'un modèle PBPK chez la femme enceinte

M : maternel, F : fœtal, k_{PE} : constante d'élimination placentaire, D_{pl} : paramètre de diffusion par placenta, CL_{rF} : clairance rénale fœtale, k_L : élimination par les sécrétions pulmonaires, k_{SW} : liquide amniotique avalé, k_{INT} : échange intramembranaire, IV : intraveineuse, PO : per os, les flèches marron : débit sanguin, flèches noires : voie d'élimination, flèches turquoises : voie d'entrée, flèches grises : diffusion.

Le schéma repose toujours sur les mêmes bases, calquées sur l'anatomie du système circulatoire, commune à tous les mammifères [96]. L'objectif est de construire un organisme virtuel. La figure 12 montre un modèle PBPK : chaque organe ou groupe d'organes est représenté par un

compartiment illustré par un rectangle sur le schéma. Ces compartiments/tissus sont connectés entre eux et reçoivent des débits de perfusion spécifiques (flèches marron). L'élimination des composés se déroule dans des tissus clés tels que le rein et le foie, une flèche noire représente cette élimination. Une élimination plus globale peut être également considérée, dans ce cas on se préoccupe uniquement de ce qui est observé, c'est-à-dire du plasma purgé de la molécule en fonction du temps. Différentes voies peuvent être alors regroupées et on considère que cette élimination se fait à partir du compartiment sanguin.

Le choix des tissus, organes ou groupes d'organes à inclure dans le modèle se fait en fonction de l'objectif (toxicologie, degré de précision, PD...) et des connaissances (implication des transporteurs, molécule lipophile, voie d'élimination négligeable ou non, données tissulaires...) [96].

1.2 Les paramètres du modèle

Contrairement aux modèles compartimentaux, où tous les paramètres sont spécifiques de la molécule, deux types de paramètres sont utilisés dans les modèles PBPK :

- les paramètres physiologiques
- les paramètres spécifiques de la molécule

Les paramètres physiologiques dépendent de la structure anatomique et des processus physiologiques (débit cardiaque, volumes et flux des organes...). Ils dépendent de l'espèce étudiée et sont obtenus dans la littérature.

Différents paramètres spécifiques de la molécule existent, tels que :

- fixation protéique (fraction plasmatique libre, fractions tissulaires libres)
- coefficient de partage : ratio sang/plasma, coefficients de partage entre les tissus et le sang
- perméabilité (coefficients de perméabilité membranaire d'un tissu)
- métabolisation et élimination : clairances intrinsèques, activités enzymatiques (V_{\max}/K_m), clairances rénales...

2. Modèle PBPK adulte

2.1 Structure

Un modèle PBPK complet ou « full PBPK model » comprenant 13 organes/tissus a été utilisé. Le modèle a d'abord été développé sur Simcyp® puis transposé sur R pour chaque molécule, la lamivudine, le ténofovir et l'emtricitabine. Il a été développé directement sur R pour la névirapine.

2.2 Paramètres

2.2.1 Physiologiques

Pour la modélisation avec Simcyp®, la population saine intégrée dans le logiciel a été choisie. Pour la modélisation sur R, les données physiologiques ont été choisies pour être définies en fonction des données morphologiques telles que l'âge, le poids, la taille et le sexe [97,98].

Le Tableau 4 présente les valeurs physiologiques et les équations associées pour les hommes. Les mêmes équations existent pour les femmes [97,98].

Tableau 4 : Données physiologiques masculines

	Homme	Equations
Age (années)	30	Défini l'individu
Taille (cm)	175	Définie l'individu
Poids (kg)	80	Défini l'individu
Hématocrite	0.45 ^a	fixe
DFG (L/h)	6.1 ^b	= $98.5 \times SC / 1.73 \times 60 / 1000$ (si moins de 30 ans)
Volume des organes (L)		
Tissus adipeux	20.2 ^a	= $P \times 1,36 / T \times 100 - 42$
Os	3.6 ^a	= $0,058 \times MNG$ (si moins de 50 ans)
Sang	5.8 ^a	= $(13,4 \times T + 18,05 \times P - 480) / 0,5723 / 1000$
Poumon	1.3 ^a	= $0,021 \times MNG$
Cerveaux	1.4 ^a	= $1,449 - 3,62 / P$
Coeur	0.4 ^a	= $0,15518 \times SC^{1,29}$
Rein	0.3 ^a	= $(45,4 + 2,04 \times P + 51,8 \times (T/100)^2) / 1000$
Muscles	32.1 ^a	= $MNG \times 0,54 / 1,04$
Peau	3.8 ^a	= $SC \times 1.915905$
Foie	1.5 ^a	= $0,05012 \times P^{0,78}$
Rate	0.1 ^a	fixe
Pancreas	0.1 ^a	= $0,0017 \times MNG$
Intestin	1.3 ^a	= $0,021 \times MNG$
Débit sanguins (L/h)		
Débit cardiaque total	359.8	Somme des debits tissulaires
Tissus adipeux	24.2 ^a	= $1,2 \times V_T$
Os	17.5 ^a	= $4,87 \times V_T$
Cerveaux	43.0 ^a	= $30,6 \times V_T$
Coeur	15.7 ^a	= $42 \times V_T$
Rein	74.4 ^a	= $220,8 \times V_T$
Muscles	57.8 ^a	= $1,8 \times V_T$
Peau	27.4 ^a	= $7,2 \times V_T$
Foie	90.8	Somme des débits sanguins de la rate, pancréas, intestin et l'artère hépatique
Rate	7.8 ^a	= $60 \times V_T$
Pancreas	3.8 ^a	= $36 \times V_T$
Intestin	58.4 ^a	= $45 \times V_T$

a : Price et al. [97], *b* : Peters et al. [98], *T* : taille (cm), *P* (kg) : poids, *A* : âge (années), *MNG* (kg) : masse non grasseuse, *SC* : surface corporelle, *V_T* : volume du tissu associé

Avec la surface corporelle (SC) définie chez l'homme par l'équation 8.

Équation 8

$$SC = e^{-3,751+0,422 \times \log(\text{taille})+0,515 \times \log(\text{poids})}$$

2.2.2 Spécifiques aux molécules

2.2.2.1 Absorption

Pour toutes les molécules étudiées, l'absorption était supposée d'ordre 1, la constante de vitesse k_a étant obtenue d'après la littérature [42,44,79,81]. De même, la biodisponibilité provient des données cliniques obtenues en phase I [72,73,79,80]. Les valeurs des constantes utilisées sont présentées dans le Tableau 3.

2.2.2.2 Distribution

La distribution est considérée comme limitée par le débit sanguin c'est-à-dire que les molécules diffusent dans l'espace interstitiel et intracellulaire sans difficulté. La membrane endothéliale n'oppose aucune résistance à la diffusion dans ce cas. Ceci est applicable à la majorité des petites molécules particulièrement si elles sont lipophiles [96]. Dans notre cas seule la distribution tissulaire hépatique du ténofovir était considérée comme limitée par la perméabilité membranaire.

La distribution des composés dans l'organisme dépend de leurs affinités pour les tissus et de l'activité de transporteurs éventuels. L'affinité pour les tissus est prédite par les coefficients de partages tissu/sang ou plasma (k_p). En l'absence de transporteurs, le volume de distribution prédit à l'état d'équilibre (V_{ss}) est calculé selon la formule :

Équation 9

$$V_{SS} = \sum (kp_T \times V_T) + V_p$$

Kp_T étant le coefficient de partage, V_T le volume d'un tissu donné et V_p le volume plasmatique.

2.2.2.2.1.1 Calcul des coefficients de partage

Les kp peuvent être exprimés comme le rapport des concentrations tissulaires (C_T) sur les concentrations veineuses sortant du tissu (C_{VT}).

Équation 10

$$kp = \frac{C_T}{C_{VT}}$$

Les kp ont été estimés d'après la méthode de Rodgers and Rowland [99]. Cette méthode estime les kp_u , ce sont les rapports des concentrations tissulaires sur les concentrations veineuses libres sortant du tissu. Par définition on a :

Équation 11

$$kp = kp_u * fu$$

fu étant la fraction libre plasmatique.

Afin d'estimer ces kp selon la formule de Rodgers and Rowland il est nécessaire de connaître la composition tissulaire (fractions d'eau intracellulaire, f_{IW} , extracellulaire, f_{EW} , de phospholipide neutre, f_{NP} , et de lipides neutres, f_{NL}), les pH plasmatique (pH_p) et intracellulaire

(pH_{IW}), ainsi que les concentrations de protéines affines pour la molécule dans le tissu ($[PR]_T$) et plasma ($[PR]_P$, albumine ou lipoprotéines). Les termes $f_{NP,p}$ et $f_{NL,p}$ représentent les fractions plasmatiques de phospholipides et lipides neutres. L'affinité, tissulaire ou plasmatique, dépend des facteurs moléculaires clés que sont la lipophilicité mesurée par le $\log P$ et l'ionisation (acide, base ou zwitterion) [6]. Pour une base faible l'équation est la suivante :

Équation 12

$$kp_u = f_{EW} + \frac{1+10^{pKa-pH_{IW}}}{1+10^{pKa-pH_p}} \times f_{IW} + \left[\frac{1}{f_u} - 1 - \frac{(10^{\log P} \times f_{NL,p} + (0,3 \times 10^{\log P} + 0,7) \times f_{NP,p})}{1+10^{pKa-pH_p}} \right] \times \frac{[PR]_T}{[PR]_P} + \frac{10^{\log P} \times f_{NL} + (0,3 \times 10^{\log P} + 0,7) \times f_{NP}}{1+10^{pKa-pH_p}}$$

La composition tissulaire est tirée de la population saine intégrée dans le logiciel Simcyp®. Les données spécifiques de la molécule sont résumées dans le Tableau 3.

Ces coefficients de partage sont par la suite utilisés pour prédire la distribution tissulaire. Les équations 13 à 15 décrivent les équations de base utilisées pour la distribution tissulaire dans un modèle PBPK.

Équation 13

$$\frac{dA_{Ti}}{dt} = Q_{Ti} \times (C_B - C_{VTi})$$

Équation 14

$$C_{VTi} = C_{Ti} / kp_{Ti} \times Rb$$

Équation 15

$$C_{Ti} = A_{Ti}/V_{Ti}$$

Avec

A_{Ti} : Quantité dans le tissu

Q_{Ti} : Débit sanguin de l'organe (L/h)

C_B : Concentration artérielle entrant dans le tissu (sang total)

C_{VTi} : Concentration veineuse sortant du tissu

kp_{Ti} : Coefficient de partition (sans unité)

L'équation 13 est une équation d'équilibre de masse classique, l'évolution de la quantité tissulaire dépend de la vitesse d'entrée et de sortie du produit, le tout dépendant du flux sanguin arrivant et sortant de l'organe (Q_{Ti}). Le coefficient de partition kp_{Ti} est le rapport des concentrations plasmatiques veineuses sortant du tissu sur les concentrations tissulaires lorsque l'état d'équilibre est atteint. Le ratio des concentrations [sang]/[plasma] (R_b) permet d'obtenir les concentrations sanguines sortant du tissu (et non les concentrations plasmatiques).

2.2.2.2.1.2 Cas particulier du ténofovir

Chez l'animal le tenofovir (TFV) a montré une forte accumulation dans le foie [82,100,101]. De plus un modèle avec une distribution limitée par le flux sanguin ne permettait pas de décrire de façon satisfaisante la cinétique du ténofovir. Une distribution limitée par la diffusion dans le foie a donc été choisie. Bien que le TFV inhibe *in-vitro* certains transporteurs d'influx comme les transporteurs OCT1 et ENT1, aucune étude ne rapporte l'activité de transporteurs hépatiques [9,92,102]. Cette activité a donc été estimée à partir du profil pharmacocinétique après administration en intraveineuse. L'activité des transporteurs était considérée comme constante

quelques soit le schéma thérapeutique ou la population adulte étudiée. Une diffusion passive ($CL_{P,H}$) et des transporteurs d'influx ($CL_{int,H}$) ont été intégrés, les valeurs estimées sont rapportées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Paramètres de transport hépatique pour le ténofovir estimé sur Simcyp®

Transporteurs hépatique	
$CL_{P,H}$ (ml/min/10⁶ cellules)	4 10 ⁻⁰⁶
$CL_{int,H}$ (μL/min/10⁶ cellules)	1.4

$CL_{P,H}$: clairance hépatique passive, $CL_{int,H}$: clairance intrinsèque active hépatique

2.2.2.3 Elimination

La clairance totale des médicaments a été obtenue chez l'Homme après administration intraveineuse pour le ténofovir, la lamivudine et la névirapine [75,76,94] et après administration orale pour l'emtricitabine [103]. L'analyse des données urinaires et fécales a permis d'identifier et de quantifier les différentes voies d'éliminations [72,75,94,103,104]. Celles-ci ont, dans un premier temps, été différenciées en clairance hépatique (CL_H), rénale (CL_R) et autre (CL_{autre}), comme décrit dans l'équation 16.

Équation 16

$$CL_{TOT} = CL_H + CL_R + CL_{autre}$$

2.2.2.3.1.1 Clairance rénale

Tableau 6 : Paramètres de clairance rénale du Ténofovir, lamivudine et emtricitabine

	Tenofovir	Lamivudine	Emtricitabine
Total CL (L/h)	14.2 [94]	23.9 [75]	18 [103]
CL_R (L/h)	10.6 [94]	16.8 [75]	13 [72,103]
CL_{secretion} : influx	OAT1	OCT2	OCT2
CL_{int,R}	5.8 ^b	11.98 ^b	7.18 ^b
efflux	MRP4	MRP4	MRP4
CL_{int,R}	1 ^c	1 ^c	1 ^c

b : estimé, c : fixé

Afin d'isoler la clairance rénale de filtration et de sécrétion sur Simcyp® il était nécessaire d'estimer l'activité de transporteurs d'influx (sang ⇒ cellule rénale) et d'efflux (cellule rénale ⇒ urine). Les transporteurs d'efflux rénaux n'ayant pas d'impact sur la cinétique plasmatique ils ont été fixés à 1. L'activité de ces transporteurs a été estimée chez l'homme lors de l'administration intraveineuse pour les TFV et 3TC et après administration orale pour le FTC (Tableau 6). L'activité de ces transporteurs était supposée constante quel que soit le schéma posologique ou la population. L'élimination rénale représentant une voie mineure d'élimination pour la NVP les transporteurs rénaux n'ont pas été estimés.

Pour la modélisation sur R les clairances de filtration glomérulaire et de sécrétion apparente étaient différenciées selon les équations 6 et 7 vu précédemment.

2.2.2.3.1.2 Clairance hépatique

La NVP est principalement éliminée par métabolisation. De plus elle induit son propre métabolisme, la clairance est donc plus élevée à l'état d'équilibre que lors de l'administration

d'une dose unique [76,105]. La clairance spécifique de chaque cytochrome P450 a été calculée d'après les travaux de Riska *et al.* qui ont mesuré les différents métabolites dans les urines et les fèces à l'état d'équilibre¹ et au moyen d'une étude in-vitro [104,106].

Équation 17

$$CL_{CYPi} = CL_T \times \left(\sum fr_{metj} \times fr_{metj,cypi} \right)$$

où CL_{CYPi} est la clairance associée au cytochrome i , CL_T la clairance totale, fr_{meti} la fraction de névirapine métabolisée en métabolite j et $fr_{metj,cypi}$ la fraction du métabolite j qui a été métabolisé par le CYP i .

L'induction enzymatique a été intégrée en suivant les travaux de Fan-Havard *et al.* et Lamson *et al.* [76,105]. Le Tableau 7 résume les différentes clairances intégrées dans le modèle PBPK.

Tableau 7: Paramètres de clairance de la névirapine

Clairance	Dose unique	Etat d'équilibre
Total CL (L/h)	1.33	2.39 [76]
CL_R (L/h)	0.07	0.07 [104]
CL_{hep} (L/h)	1.26	2.32 [104]
3A4	0.69	1.03 [104]
2B6	0.22	0.88 [104]
2D6	0.13	0.20 [104]
autre	0.22	0.22 [104]

¹ Lors d'administrations répétées ou de perfusions lorsque les concentrations moyennes ont atteint un plateau.

2.3 Données de validation

Le Tableau 8 résume les études auxquelles ont été comparées les prédictions. La névirapine étant une molécule lipophile, le volume du tissu adipeux influence grandement la distribution de ce composé. C'est pourquoi les prédictions ont été faites avec des individus virtuels possédant des masses grasses similaires aux individus ayant participé aux essais cliniques.

Tableau 8 : Données de validation utilisées pour les modèles PBPK dans les populations non enceintes

Posologie			Données observées		
Molécule	Schémas	Dose	n	Références	Population
TFV	IV d.u.	1 mg/kg (1h)	8	Deeks <i>et al.</i> [94]	Patient masculin atteints du VIH
TFV	IV d.u.	8 mg/kg (1h)	7	Deeks <i>et al.</i> [94]	
TDF	PO d.u.	300 mg	9	Wenning <i>et al.</i> [107]	
3TC	IV d.u.	0.25 mg/kg	4	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	IV d.u.	1 mg/kg	4	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	IV d.u.	2 mg/kg	4	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	IV d.u.	8 mg/kg	4	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	PO d.u.	0.25 mg/kg	10	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	PO d.u.	0.5 mg/kg	12	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	PO d.u.	1 mg/kg	14	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	PO d.u.	2 mg/kg	9	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	PO d.u.	6 mg/kg	15	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	PO d.u.	10 mg/kg	14	Johnson <i>et al.</i> [83]	
3TC	PO d.u.	150 mg	24	Johnson <i>et al.</i> [83]	
FTC	PO eq	25 mg bid	8	Wang <i>et al.</i> [108]	Patient masculin et féminin atteint du VIH
FTC	PO eq	100 mg bid	8	Wang <i>et al.</i> [108]	
FTC	PO eq	100 mg qd	8	Wang <i>et al.</i> [108]	
FTC	PO eq	200 mg bid	8	Wang <i>et al.</i> [108]	
FTC	PO eq	200 mg qd	8	Wang <i>et al.</i> [108]	
NVP	IV d.u.	15mg (37,5 min)	3	Lamson <i>et al.</i> [105]	Volontaire sain, homme, 30 ans 80 kg (67.7 à 96.8 kg)
NVP	PO d.u.	200 mg	3	Lamson <i>et al.</i> [105]	Volontaire sain, homme, 30 ans 80 kg (67.7 à 96.8 kg)
NVP	PO eq	200 mg	26	Molto <i>et al.</i> [109]	Patients féminins et masculins d'environ 50 ans avec un IMC de 24 kg/m ²
NVP	PO d.u.	200 mg	16	Ibarra <i>et al.</i> [79]	Patients féminins (n=10) et masculin (n=6) de 25 ans avec un IMC de 28 kg/m ²

d.u.: dose unique, *eq* : état d'équilibre, *n* : nombre de patients dans l'étude, *IMC* : indice de masse corporelle

3. Modèle PBPK femme enceinte

3.1 Structure

Le modèle PBPK pour la femme enceinte est celui de l'homme auquel on ajoute le(s) compartiment(s) / organe(s) spécifique de la grossesse. La description de ces tissus et groupes d'organes est différente si on ne s'intéresse pas à la PK du fœtus (première étape, seul modèle possible sur Simcyp®) ou si on s'y intéresse.

- Absence d'étude de la PK fœtale : la structure donnée par Simcyp a été appliquée, dans ce cas le placenta et le fœtus sont regroupés en une unité materno-fœtale dont la croissance suit l'équation 18. Ce nouveau compartiment est considéré comme un tissu supplémentaire irrigué de la même façon que les autres organes, l'affinité des molécules pour ce tissu est supposée identique au muscle (hypothèse de Simcyp®).

Équation 18

$$\text{unité materno fœtale} = 0,019 \times AG + 0,006 \times AG^2$$

AG: âge gestationnel

- Etude de la PK fœtale : dans ce cas il est nécessaire de séparer les différents tissus, cette partie est décrite dans la partie 4.

3.2 Paramètres

3.2.1 Physiologiques

Pour toute les modifications physiologiques, les valeurs de bases décrites par Price *et al.* ou Peters *et al.* ont été utilisées. S’y ajoute la modification due à la grossesse décrite par Abduljalil *et al.* ou Clapp *et al.* [13,24,97,98] (Tableau 9).

Tableau 9 : Données physiologiques de la femme et femme enceinte

	Femme	Femme enceinte (GA=40)	Equation de la modification
Taille (cm)	165	165	
Poids (kg)	60	74.8	
Hématocrite	0.39 ^a	0.33 ^{a, c}	$= 0.391 - 0.000544 \times AG - 0.000021 \times AG^2$
DFG (L/h)	4.8 ^b	6.4 ^{b, c}	$= DFG_{ne} \times (1 + 0,0284 \times AG + 5 \times 10^{-4} \times AG^2)$
Volume des organes (L)			
Tissus adipeux	20.2 ^a	27.9 ^{a, c}	$= V_T \times (1 + 0,007631 \times AG + 4,65 \times 10^{-5} \times AG^2)$
Os	2.1 ^a	2.1 ^a	
Sang	4.2 ^a	6.1 ^{a, c}	$= V_T \times (1 - 0,003132 \times AG + 0,00105 \times AG^2 - 1,75 \times 10^{-5} \times AG^3)$
Poumon	0.8 ^a	0.8 ^a	
Cerveau	1.4 ^a	1.4 ^a	
Coeur	0.3 ^a	0.3 ^a	
Rein	0.3 ^a	0.3 ^a	
Muscles	19.6 ^a	19.6 ^a	
Peau	3.2 ^a	3.2 ^a	
Foie	1.2 ^a	1.2 ^a	
Rate	0.1 ^a	0.1 ^a	
Pancreas	0.1 ^a	0.1 ^a	
Intestin	1.1 ^a	1.1 ^a	
Débits sanguins (L/h)			
Débit cardiaque total	296.8	381.2	
Tissus adipeux	24.3 ^a	33.5 ^a	Du à l’augmentation du volume du tissu
Os	10.4 ^a	10.4 ^a	
Cerveau	42.5 ^a	42.5 ^a	
Coeur	12.6 ^a	12.6 ^a	
Rein	61.6 ^a	62.5 ^a	$= Q_{Tne} \times (1 + 0,05 \times AG - 0,00124 \times AG^2)$
Muscles	35.3 ^a	35.3 ^a	
Peau	23.0 ^a	23.0 ^a	
Foie	81.3 ^{a, c}	108.7 ^{a, e, d}	Du à l’augmentation du débit intestinal
Rate	7.8 ^a	7.8 ^a	
Pancreas	3.0 ^a	3.0 ^a	
Intestin	50.8 ^a	78.2 ^{a, d}	$= V_T \times (1 + \frac{0,54 \times AG^{10}}{AG^{10} + 18^{10}})$

^a Price *et al.*[97], ^b Peters *et al.* [98], ^c Abduljalil *et al.* [13], ^d Clapp *et al.*[24], AG : âge gestationnel, V_T : volume du tissu associé, Q_{Tne} : débit sanguin du tissu chez les femmes non enceintes, DFG_{ne} : débit glomérulaire de filtration chez les femmes non enceintes.

3.2.2 Spécifiques aux molécules

3.2.2.1 Absorption

L'absorption est considérée comme stable durant la grossesse. Lors de l'accouchement les femmes sous TFV et FTC avaient des Cmax plus faibles. La vitesse d'absorption a été diminuée de 50% et la biodisponibilité du FTC fixée à 0,75.

3.2.2.2 Distribution

Les coefficients de partition sont les mêmes que chez l'homme. Les modifications de distribution sont uniquement dues à l'augmentation du tissu adipeux ou du volume plasmatique.

3.2.2.3 Elimination

3.2.2.3.1.1 Clairance rénale

La clairance rénale durant la grossesse a été scindée entre clairance de filtration et clairance nette de sécrétion. La névirapine n'est que très peu éliminée par le rein, cette voie représente à l'état d'équilibre moins de 3% de l'élimination totale mais pourrait évoluer lors de la grossesse en fonction du débit de filtration glomérulaire (DFG) [104]. La lamivudine, l'emtricitabine et le ténofovir sont quant à eux majoritairement éliminés par le rein et subissent une sécrétion rénale tubulaire [72,75,94,103,104]. Autant il est admis que la clairance rénale de filtration évolue en fonction du DFG, autant en ce qui concerne la sécrétion il n'y a pas de consensus [27,51,53].

Différentes hypothèses ont donc été testées, elles sont résumées dans le Tableau 10. La clairance de filtration évolue toujours en fonction des modifications du DFG décrit par Abduljalil *et al.* [13]. Elle a été testée comme statique ou évoluant en fonction de l'âge gestationnel. Pour ces molécules étudiées la clairance rénale de sécrétion représente plus de 40 % de la clairance totale. La cinétique de ces médicaments est linéaire lors d'une augmentation de dose. Ceci laisse supposer qu'aux doses étudiées les transporteurs rénaux ne sont pas saturés. Nous avons donc notamment fait l'hypothèse que l'augmentation du débit plasmatique rénal durant la grossesse entrainerait une augmentation proportionnelle de la clairance de sécrétion sans modification de l'activité intrinsèque des transporteurs. Nous avons également testé l'hypothèse selon laquelle la clairance de sécrétion suivait le DFG. Nous avons de plus regardé si l'ajout d'une modification de l'activité des transporteurs rénaux aux hypothèses 2 et 3 était nécessaire afin de décrire de façon adéquate l'évolution de la clairance totale lors de la grossesse.

Tableau 10 : Hypothèses de modification de la clairance rénale durant la grossesse

Modification de la clairance rénale		
Hypothèse	CL_{Rf}	CL_{Rsa}
N°1	~DFG	Pas de modification
N°2	~DFG	~DFG
N°3	~DFG	~débit sanguin plasmatique rénale

CL_{Rf} : clairance rénale de filtration glomérulaire, CL_{Rsa} : clairance rénale de sécrétion tubulaire apparente, DFG : débit de filtration glomérulaire

Avec Simcyp®, si les transporteurs rénaux sont implémentés, la clairance de filtration évolue proportionnellement au DFG et la clairance de sécrétion proportionnellement au débit plasmatique rénal, tandis que la clairance rénale totale pour un individu moyen évolue proportionnellement au DFG. Pour les modèles développés sur R la clairance de sécrétion évolue

de façon parallèle à l'évolution du DFG ou du débit rénal plasmatique selon Abduljalil *et al.* [13] et décrit par les équations 19 et 20 en fonction de l'âge gestationnel (AG).

Équation 19

$$DFG(L/h) = 6,84 + 0,1942 \times AG - 0,003426 \times AG^2$$

Équation 20

$$\text{débit sanguin plasmatique rénal (L/h)} = 32,3 + 1.6576 \times AG - 0,0389 \times AG^2$$

3.2.2.3.1.2 Clairance hépatique

Les TFV, 3TC et FTC sont principalement éliminés par le rein et leurs autres voies d'élimination sont multiples et imparfaitement connues [72,75,80,83,110]. Elles ont été considérées comme stables durant la grossesse. La névirapine est principalement métabolisée et durant la grossesse l'induction enzymatique a été intégrée d'après les travaux de Abduljalil *et al.* et Ke *et al* [13,27].

Tableau 11: Evolution de la clairance de la névirapine lors de la grossesse

Clairance	Femme non enceinte		Femme enceinte		Equation de l'augmentation
	Dose unique	Etat d'équilibre	Dose unique	Etat d'équilibre	
CL totale (L/h)	1.33	2.39 [76]	1.61	3.31	
CL_R (L/h)	0.07	0.07 [104]	0.082 [13]	0.082 [13]	$1 + 0,0284 \times AG + 5 \times 10^{-4} \times AG^2$
CL_H (L/h)	1.26	2.32 [104]	1.53	3.22	
3A4 (L/h)	0.69	1.03 [104]	0.71 [13]	1.07 [13]	$1 + 0,02983 \times AG - 0,00074 \times AG^2$
2B6 (L/h)	0.22	0.88 [104]	0.42 [27]	1.67 [27]	1.9 (3 ^{ème} trimestre)
2D6 (L/h)	0.13	0.20 [104]	0.18 [13]	0.26 [13]	$1 + 0,0227 \times AG - 0,00035 \times AG^2$
Autre (L/h)	0.22	0.22 [104]	0.22	0.22	

3.3 Données de validation

Les cinétiques prédites ont été comparées aux concentrations observées après administration des différents médicaments. Le Tableau 12 résume les différents essais cliniques dont ont été extraites ces données.

Tableau 12 : Données de validation pour les modèles chez la femme enceinte

Molécule	Schémas	Dose	n	Références	Population
TDF	PO eq	300 mg qd	46	Benaboud <i>et al.</i> [81]	2<AG<41 (médiane = 30)
TDF	PO eq	600 mg	38	Hirt <i>et al.</i> [45]	33< AG <42 (mediane=39)
TDF	PO eq	300 mg qd	34	Colbers <i>et al.</i> [111]	28< AG <38 (mediane=33)
3TC	PO eq	150 mg bid	114	Benaboud <i>et al.</i> [44]	6< AG <39 (médiane=29)
FTC	PO eq	200 mg bid	83	Valade <i>et al.</i> [112]	5< AG <41 (mediane=29)
FTC	PO eq	200 mg qd	27	Colbers <i>et al.</i> [111]	28< AG <38 (mediane=33)
FTC	PO eq	200 mg qd	26	Stek <i>et al.</i> [113]	31< AG <38 (mediane=35)
NVP	PO d.u	200 mg	38	Benaboud <i>et al.</i> [114]	33<AG<42 (mediane=39) Poids 58.3 kg (47 à 88 kg)

d.u.: dose unique, *eq* : état d'équilibre, *n* : nombre de patients dans l'étude, *IMC* : indice de masse corporelle, *AG* : âge gestationnel, *TDF* : ténofovir, *3TC* : lamivudine, *FTC* : emtricitabine, *NVP* : névirapine

4. Modèle PBPK fœtus

Le modèle PBPK pour le fœtus a été développé pour le FTC, le TDF et la NVP. Du fait de l'absence de données ex-vivo satisfaisantes pour le 3TC, le modèle PBPK prédisant les concentrations fœtales n'a pas été développé.

4.1 Structure

La Figure 13 schématise la structure utilisée. La structure du placenta est la même que celle utilisée *ex-vivo* afin de pouvoir transposer nos résultats. Seuls les paramètres spécifiques à l'expérience ou aux conditions réelles ont été changés. C'est-à-dire que le débit irriguant le placenta n'est plus celui de l'expérience mais bien celui estimé en fin de grossesse et que le volume n'est plus celui d'un cotylédon mais bien de tout le placenta [13,46]. De plus les organes et échanges susceptibles d'impacter la cinétique fœtale ont été ajoutés.

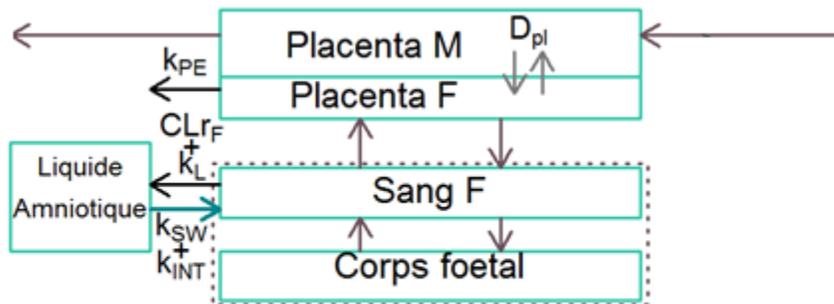


Figure 13 : Structure du modèle fœtal

M : maternel, *F* : fœtal, k_{PE} : constante d'élimination placentaire, D_{pl} : paramètre de diffusion par placenta, CL_{rF} : clairance rénale fœtale, k_L : élimination par les sécrétions pulmonaires, k_{SW} : liquide amniotique avalé, k_{INT} : échange intramembranaire, les flèches marron : débit sanguin, flèches noires : voie d'élimination, flèches turquoises : voie d'entrée, flèches grises : diffusion.

De plus l'estimation de la cinétique plasmatique fœtale nécessite l'ajout d'un compartiment sanguin. Certains antirétroviraux sont connus pour s'accumuler dans le liquide amniotique, ce compartiment a donc été ajouté afin de vérifier s'il influençait ou pas la cinétique fœtale. Ensuite, il a fallu intégrer tous les échanges entre fœtus et liquide amniotique. Nous avons donc intégré les

sécrétions rénale ($CL_{r\text{Foetus}}$), pulmonaire, orale et nasale (k_L) d'une part et le passage intramembranaire (k_{INT}) et les volumes de liquide amniotique avalé d'autre part (k_{SW}) [31,47,49,50,115–118].

4.2 Paramètres

4.2.1 Physiologiques

Le Tableau 13 résume les paramètres physiologiques du fœtus en fin de gestation.

Tableau 13 : Paramètres physiologiques foetaux

Age gestationnel = 40 semaines	Parameters	Ref.
Débit sanguin de la mère au placenta, Q_{plaM} (L/h)	46.5	Abduljalil <i>et al.</i> [13]
Débit sanguine du fœtus au placenta, Q_{plaF} (L/h)	14.3	Kiserud <i>et al.</i> [46]
Débit cardiaque foetal, Q_{ca} (L/h)	85.5	Kiserud <i>et al.</i> [46]
Poids du placenta, V_{pla} (Kg)	0.65	Aduljalil <i>et al.</i> [13]
Poids du fœtus, V_{fo} (Kg)	3.56	Aduljalil <i>et al.</i> [13]
Volume du liquide amniotique, V_{amf} (L)	0.86	Aduljalil <i>et al.</i> [13]
Volume sanguine foetal, V_{bloodF} (L)	0.24	Smith <i>et al.</i> [119]
Hématocrite foetal	0.5	Eskoka <i>et al.</i> ,Zanardo <i>et al.</i> , Chang <i>et al.</i> [120–122]
Débit de filtration glomérulaire foetal, DFG_f (L/h)	0.136	Arant <i>et al.</i> [50]
Volume de liquide amniotique avalé, k_{SW} (L/24h)	0.8	Underwood <i>et al.</i> [47]
Sécrétion de fluides (oral, nasal et pulmonaire), k_L (L/24h)	0.126	Underwood <i>et al.</i> [47]
Diffusion intramembranaire, k_{INT} (L/24h)	0.35	Underwood <i>et al.</i> [47]

4.2.2 Spécifiques aux molécules

La principale source d'exposition du fœtus provient du passage transplacentaire et a été estimée grâce aux expériences ex-vivo. Les quantités absorbées à partir du liquide amniotique sont minimales en comparaison. Nous avons supposé que tout ce qui était avalé était absorbé. Une étude de sensibilité sur ce paramètre a permis de vérifier l'impact de cette hypothèse sur les cinétiques fœtales.

En ce qui concerne la distribution, l'affinité des molécules pour le corps du fœtus a été estimée par les équations de Rodgers and Rowland [99]. La composition tissulaire a été déduite de différentes études et est résumée dans le Tableau 14 [123–126].

Tableau 14 : Composition du corps du fœtus en fin de grossesse

f_{NL}	f_{NP}	f_{TW}	f_{IW}	f_{EW}
0.00531	0.0117	0.685	0.573	0.112

f_{NP} : fraction du tissu composé de phospholipide neutre, f_{NL} : fraction du tissu composé de lipide neutre, f_{TW} : fraction du tissu composé d'eau, f_{IW} : fraction d'eau intracellulaire, f_{EW} : fraction d'eau extracellulaire.

La métabolisation fœtale n'a pas été considérée pour les molécules éliminées par le rein. En effet cette voie d'élimination est déjà mineure chez l'adulte, il est donc peu probable au regard de la taille et de la maturation du foie fœtal, que cette voie joue un rôle significatif dans la cinétique fœtale. Pour la névirapine, le métabolisme hépatique fœtal pouvant influencer sa pharmacocinétique, nous avons fait des simulations en ajoutant une élimination fœtale égale à celle du nouveau-né voir au double du nouveau-né et comparé l'AUC obtenue à l'AUC fœtale en l'absence de métabolisme fœtal [114].

Il y a peu d'information sur la clairance rénale fœtale et encore moins sur la sécrétion [31,50]. La clairance rénale totale du fœtus a été supposée proportionnelle au débit de filtration glomérulaire (équation 21).

Équation 21 : Clairance rénale fœtale

$$CL_{rFoetus} = CL_R \times \frac{DFG_f}{DFG}$$

CL_{rFoetus} : clairance rénale fœtale, CL_R : clairance rénale adulte, DFG_f : débit de filtration glomérulaire du fœtus, DFG : débit de filtration glomérulaire de l'adulte.

4.3 Données de validation

Les concentrations fœtales prédites sont comparées aux concentrations fœtales obtenues au cordon à l'accouchement. Les études utilisées sont résumées dans le Tableau 15. De nombreux prélèvements étaient disponibles et les délais entre la prise et le prélèvement étaient connus. D'autre part lorsque d'autres données dans la littérature étaient disponibles nous avons également essayé de les comparer à nos simulations bien que dans la majorité des cas le délai entre la prise et le prélèvement ne soit pas connu individuellement. Pour le ténofovir, les concentrations dans le liquide amniotique étaient disponibles [127]. Aucune information sur le délai prise/prélèvement n'était associé aux mesures de concentrations dans le liquide amniotique de la névirapine [128].

Tableau 15 : Données observées utilisées pour valider le modèle foetal

Molécule	Schémas	Dose	n	Référence	Population
TDF	PO eq	600 mg	38	Hirt <i>et al.</i> [45]	33< AG <42 (mediane=39)
TDF	PO d.u	600 et 900 mg	102	Mirochnick <i>et al.</i> [127]	32< AG <42 (mediane=39)
FTC	PO d.u	400 mg	37	Hirt <i>et al.</i> [42]	33< AG <42 (mediane=39)
NVP	PO d.u	200 mg	38	Benaboud <i>et al.</i> [114]	33<AG<42 (mediane=39) Poids 58.3 kg (47 à 88 kg)

TDF : ténofovir, FTC : emtricitabine, NVP : névirapine, PO : per os, d.u : dose unique, AG : âge gestationnel

5. Modèle ex-vivo

5.1 Description du modèle ex-vivo

Les placentas sont recueillis à terme (37 à 41 semaines d’aménorrhée) après consentement écrit et éclairé des patientes. Les patientes ne devaient pas avoir reçu de traitement pouvant modifier le passage transplacentaire au cours du dernier mois de grossesse. De même elles ne devaient pas être porteuses d’une maladie vasculaire de type diabète, pré-éclampsie ou retard de croissance in utéro pouvant altérer la circulation placentaire. Elles ne devaient pas non plus présenter de maladie infectieuse comme le VIH ou hépatite B ou C.

Les placentas étaient issus d’une délivrance par voie basse ou césarienne, provenant du service de gynécologie obstétrique de Port royal à Paris (75). Ils étaient perfusés dans l’heure suivant la délivrance.

Les placentas étaient perfusés dans un circuit recirculant (= fermé) dont le schéma est représenté dans la Figure 14. Cette perfusion est adaptée de la méthode de Schneider *et al.* [129] et Forestier *et al.* [39].

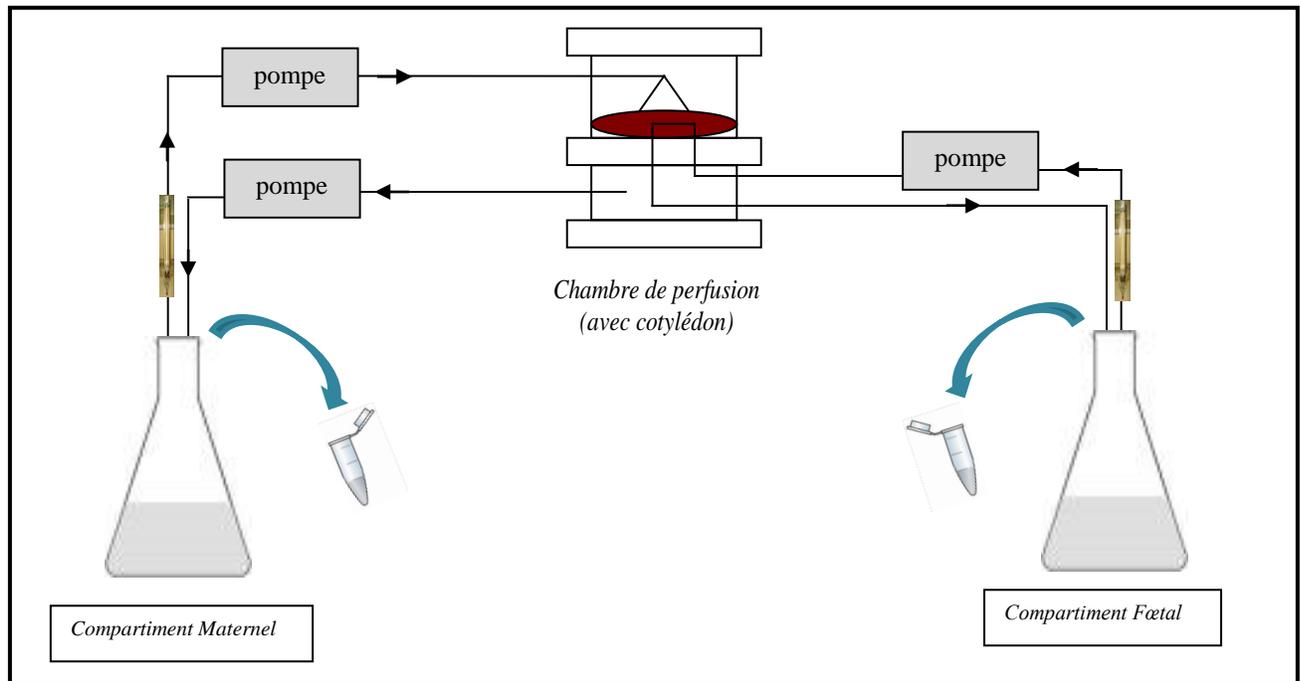


Figure 14 : Schéma d'un circuit fermé de perfusion de cotylédon

Après vérification visuelle que le tissu du côté maternel du placenta n'était pas abimé, une canule était mise sur une veine et son artère associée observable du côté fœtal. La Figure 15 illustre un placenta où le côté fœtal est visible, la veine et l'artère qui se rejoignent et qui vont être perfusées sont bien visibles.

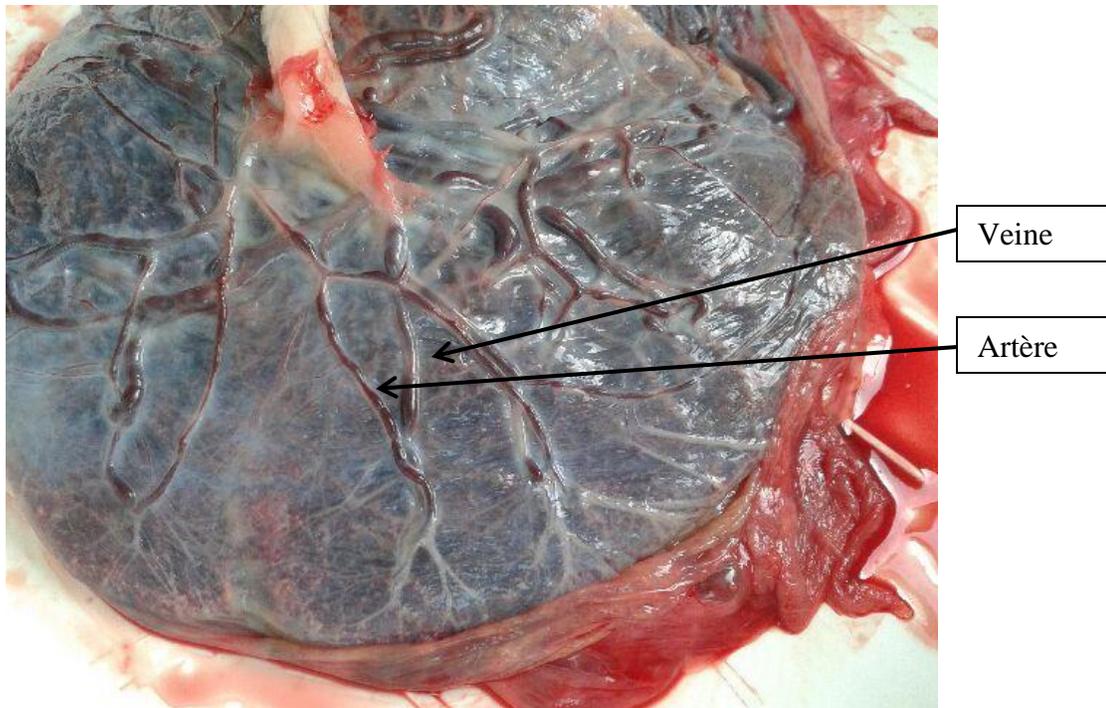


Figure 15: Photo d'un placenta (côté foetal)

La circulation fœtale était établie à un débit de 6 ml/min. Les débitmètres permettaient de vérifier qu'il n'y avait pas de fuite, le débit entrant devant être égal au débit sortant. Ceci établi, le cotylédon perfusé était isolé. Le fait qu'il blanchisse lors de la perfusion facilite son isolement. Le cotylédon était ensuite mis dans la chambre de perfusion à 37°C. La circulation maternelle était alors établie à 12 ml/min via 2 cathéters comme on peut le voir sur la Figure 16.



Figure 16: Photo d'un cotylédon isolé (côté maternel)

Le milieu perfusé est composé d'earle (6,80g NaCl, 0,40g KCl, 0,125g, NaH_2PO_4 & H_2O , 0,20g MgSO_4 & $7\text{H}_2\text{O}$, 1,00g Glucose, 0,20g CaCl_2 anhydre, 2,20g NaHCO_3 , qsp 1000 ml eau distillée) avec 30 g/L d'albumine du côté maternel et 40 g/L du côté fœtal. La température est maintenue à 37°C grâce à un bain marie et le pH est ajusté tout au long de l'expérience à 7.4 ± 0.1 et 7.2 ± 0.1 , pour le côté fœtal et maternel respectivement. A $t=0$ la molécule témoin, l'antipyrine (20 mg/L) et la molécule d'intérêt étaient ajoutées dans le compartiment maternel. Les échantillons étaient ensuite prélevés du côté maternel et fœtal toute les 10 min jusqu'à 30 min puis toute les demi-heures jusqu'à 180 min. Ils étaient ensuite conservés à -20°C jusqu'à l'analyse.

5.2 Méthode de dosage

Les dosages du ténofovir et de l'emtricitabine ont été externalisés dans le laboratoire de pharmacologie de l'hôpital Bichat-Claude Bernard (Paris) tandis que la névirapine a été dosée dans le service de pharmacologie de Cochin par notre équipe. La méthode de dosage de l'antipyrine avait directement été développée pour la matrice d'earle tandis que pour la névirapine nous avons adapté la méthode de dosage déjà existante pour la matrice plasmatique et l'avons validée pour notre propre matrice. Le biais était alors inférieur à 12 % et la répétabilité supérieure à 90 %. Le biais moyen obtenu pour la limite de quantification (LDQ) était de 14 % et la répétabilité de 88 %. Le Tableau 16 résume les caractéristiques des différentes méthodes de dosages.

Tableau 16 : Méthodes de dosage utilisées pour les molécules étudiées ex-vivo

Molécule	Antipyrine	Névirapine	Tenofovir	Emtricitabine
Méthode	HPLC-UV		UPLC-MS/MS	
Phase mobile (vol/vol/vol)	Tampon ammonium 50mM/acetonitril /méthanol (75/13/12)	Tampon phosphate 25mM + sodium pentanesulfonate/ acetonitril (75/25)	Eau ac. formique à 0.05% méthanol ou eau (gradient) [130]	
linéarité	0.1-20 mg/L	0.125-5 mg/L	0.005-0.5 mg/L	0.005-5 mg/L
LDQ	0.1 mg/L	0.125 mg/L	0.05 mg/L	

LDQ : limite de quantification (=LOQ *limite of Quantification*), HPLC : *high Performance Liquid Chromatography*, UPLC : *ultra performance liquid chromatography*, MS/MS : spectrométrie de masse en tandem

5.3 Analyse des résultats

L'antipyrine est une molécule qui diffuse librement, elle est utilisée comme molécule témoin de l'absence de fuite lors de l'expérience ex-vivo sur cotylédon perfusé. Un taux de transfert de la mère au fœtus supérieur à 20 % est nécessaire pour considérer les fuites comme acceptables [39]. Ce taux de transfert fœtal (TTF) est calculé selon l'équation 22 pour un circuit fermé.

Équation 22

$$TTF = \frac{C_f \times V_f}{C_m \times V_m + C_f \times V_f} \times 100$$

TTF : taux de transfert fœtal, C_f : concentration dans le compartiment fœtal, C_m : concentration dans le compartiment maternel, V_f : volume du compartiment fœtal, V_m : volume du compartiment maternel

L'indice de clairance (IC) est le taux de transfert de la molécule d'intérêt rapporté au taux de transfert de la substance de référence, l'antipyrine. Cet indice est sans dimension, compris entre 0 et 1. Plus cet indice est élevé plus le passage transplacentaire est important. Il permet de comparer les molécules entre elles avec un biais expérimental moins important. Le calcul de cet indice de clairance est donné par l'équation 23.

Équation 23

$$IC = \frac{TTF \text{ molécule}}{TTF \text{ antipyrine}}$$

IC : indice de clairance, TTF : taux de transfert fœtal

Ils ont été calculés à titre informatif et ne servent pas pour la modélisation.

5.4 Modélisation de l'expérimentation ex-vivo

Les indices de clairances et taux de transfert ne reflètent pas directement le passage transplacentaire. Le profil cinétique fœtal dépend de l'évolution des concentrations maternelles et du passage transplacentaire. Nous avons estimé les constantes de transfert sur le modèle ex-vivo et afin d'avoir des paramètres moyens tout en connaissant la variabilité sur ces paramètres nous avons opté pour une approche de population. Les modèles étaient développés sous NONMEM 6.2. et /ou MONOLIX 4.1.2.

5.4.1 Généralités

5.4.1.1 Modèle structural

Le modèle avait pour but de décrire les données expérimentales tout en permettant l'estimation de variables pouvant être extrapolées à l'organisme complet. C'est pourquoi la structure choisie était la plus physiologique possible et mimait l'expérience ex-vivo. La Figure 17 représente cette structure. La structure initiale comprend :

- Le compartiment maternel où sont administrées les molécules à $t=0$. Ce compartiment est caractérisé par son volume V_m et les débits de perfusion allant de ce compartiment au cotylédon Q_m .

- Le cotylédon, ou unité fonctionnelle du placenta, qui est séparé en deux parties maternelle et fœtale. Le cotylédon a un volume moyen de 58 ml et le côté maternel (V_{mp}) est supposé de 23 ml [131].

- Le compartiment fœtal caractérisé par son volume V_f et le débit sanguin entre ce compartiment et le cotylédon Q_f .

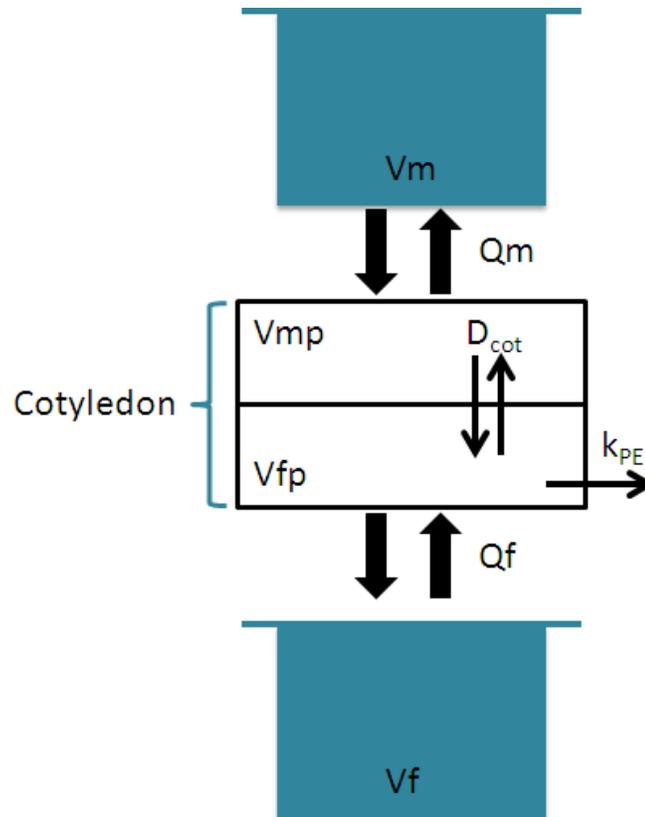


Figure 17 : Représentation schématique de l'expérience ex-vivo

V_m : volume du compartiment maternel, V_f : volume de compartiment fœtal, V_{mp} : volume du côté maternel du cotylédon, V_{fp} : volume du côté fœtal du cotylédon, D_{cot} : diffusion, k_{PE} : élimination placentaire, Q_m : débit de perfusion entre le compartiment maternel et le cotylédon, Q_f : débit de perfusion entre le compartiment fœtal et le cotylédon

Le modèle structural comprend les variables explicatives dépendantes de l'expérience comme la quantité de produit administrée, les débits de perfusion ou encore les volumes des différents compartiments. Il comprend également les paramètres pharmacocinétiques de diffusion qu'on estime grâce aux concentrations expérimentales.

5.4.1.2 Modèle de variabilité

5.4.1.2.1.1 Variabilité interindividuelle

La variabilité interindividuelle (η) correspond à la différence entre un paramètre pharmacocinétique estimé pour la population et ce même paramètre estimé pour un individu. On suppose que la variabilité interindividuelle suit une distribution normale de moyenne nulle et de variance ω^2 que l'on cherche à estimer. Plusieurs modèles de variabilités sont possibles, nous avons préféré utiliser un modèle exponentiel qui est biologiquement plus pertinent et qui assure l'obtention de paramètres positifs. L'équation 24 décrit ce modèle de variabilité interindividuelle appliqué au paramètre de diffusion.

Équation 24

$$D_i = \theta_D \times e^{\eta D_i}$$

D_i : paramètre de diffusion pour le placenta i , θ_D : valeur du paramètre D pour la population, ηD_i : paramètre individuel aléatoire

5.4.1.2.1.2 Variabilité résiduelle

La variabilité résiduelle correspond à l'écart entre la concentration observée et la concentration prédite par le modèle pour le même placenta au même moment. La variabilité résiduelle regroupe différentes sources d'erreurs : sur la quantité de produit administrée et les temps d'administration, sur les temps de prélèvements ainsi que sur l'analytique. La variabilité résiduelle ε_{ij} est supposée suivre une loi normale de moyenne nulle et de variance σ^2 . Plusieurs modèles (additif, proportionnel ou combiné) existent et sont résumés dans le Tableau 17.

Tableau 17 : Les différents modèles d'erreurs résiduels

Type de modèle	
additif	$C_{obs_{ij}} = C_{pred_{ij}} + \varepsilon_{ij}$
proportionnel	$C_{obs_{ij}} = C_{pred_{ij}} \times (1 + \varepsilon_{ij})$
combiné	$C_{obs_{ij}} = C_{pred_{ij}} \times (1 + \varepsilon_{1_{ij}}) + \varepsilon_{2_{ij}}$

$C_{obs_{ij}}$: la $j^{\text{ème}}$ concentration mesurée chez le $i^{\text{ème}}$ patient, $C_{pred_{ij}}$: la $j^{\text{ème}}$ concentration prédite par le modèle pour le $i^{\text{ème}}$ patient, ε_{ij} : le paramètre de variabilité résiduelle

5.4.1.3 Méthode d'estimation

L'estimation des paramètres est basée sur la maximisation de la vraisemblance [132]. L'approximation de la vraisemblance approchée a été faite par une méthode First-Order Conditional Estimation (FOCE) basée sur une linéarisation au premier ordre autour des effets aléatoires sur le logiciel NONMEM® [133]. L'algorithme SAEM (*Stochastic Approximation Expectation Maximization*) qui permet de maximiser la vraisemblance exacte a été utilisé avec MONOLIX® [134].

5.4.1.4 Construction du modèle

En pratique, la valeur de la fonction objective (FO) est calculée, à une constante près, selon l'expression suivante :

Équation 25

$$FO = -2 \times \log(\text{vraisemblance})$$

Les valeurs des paramètres qui maximisent la vraisemblance minimisent donc la fonction objective. Afin de comparer deux modèles emboîtés on compare les fonctions objectives des

deux modèles. L'addition de paramètres, « p+1 », sera validée si cette addition entraîne une diminution significative de la FO par rapport au modèle « p ». La statistique du test suit une loi du χ^2 avec un nombre de degrés de liberté égal au nombre de paramètres qui diffèrent entre les deux modèles et avec un risque déterminé (généralement 5 %). Lorsque l'on compare deux modèles ayant un paramètre de différence, la statistique du test suit une loi du χ^2 à 1 degré de liberté et est égale à 3,84 pour un risque de 5 %. Ainsi, l'ajout d'un paramètre dans un modèle doit entraîner une diminution de la FO d'au moins 3,84 pour être significatif et conservé dans le modèle.

Le choix du modèle (nombre de compartiments, nombre de paramètres avec une variabilité interindividuelle, type d'erreur résiduelle) repose donc sur le critère précédemment présenté. Toutefois, d'autres éléments ont aussi été pris en compte dans ce travail, comme la précision d'estimation des paramètres (RSE) et les graphiques diagnostiques présentés ci-après.

Dans notre cas, aucune covariable pouvant expliquer la variabilité interplacentaire de l'expérience ex-vivo, n'était testée.

5.4.1.5 Evaluation

La capacité d'un modèle à décrire les données peut être évaluée par plusieurs méthodes.

5.4.1.5.1.1 Graphiques diagnostiques

Les graphiques diagnostiques permettent de visualiser l'adéquation du modèle aux données. Ils permettent également de comparer les modèles entre eux. Si la modélisation a été faite sur

NONMEM, le module R for NONMEM (RfN) de R a été utilisé. MONOLIX intègre directement ces graphiques dans son interface.

Les graphiques diagnostiques les plus fréquemment utilisés sont :

- les observations en fonction des prédictions de population (PRED) et individuelles (IPRED), qui permettent d'évaluer le modèle structural et de détecter d'éventuels biais. La Figure 18 présente les observations (DV) en fonction des PRED (graphique de gauche) et en fonction des IPRED (graphique de droite). Plus les points se rapprochent de la droite d'identité et plus le modèle est capable de décrire les concentrations avec précision.

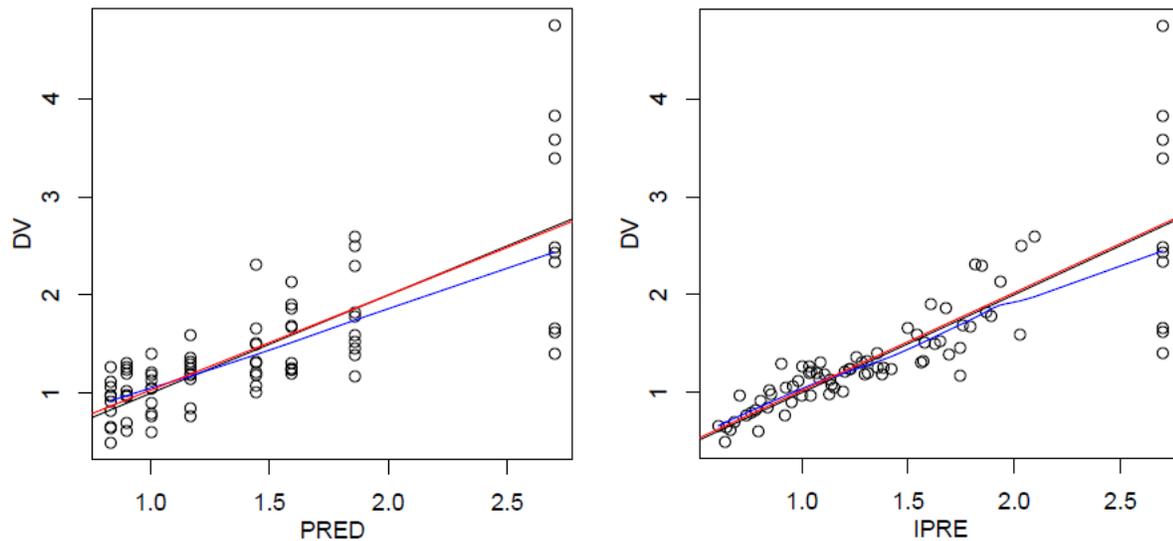


Figure 18 : Graphique diagnostique, concentrations observées en fonction des concentrations prédites

DV : concentrations observées, *PRED* : concentrations prédites pour le placenta moyen, *IPRED* : concentrations prédites pour chaque placenta

- la superposition pour chaque individu des données observées chez cet individu et des courbes obtenues avec les paramètres de population ou les paramètres individuels. Ce graphique permet d'apprécier la qualité d'ajustement du modèle.

- les résidus² (pondérés ou non) en fonction des PRED ou du temps, qui permettent de détecter des biais éventuels pour le modèle structural (Figure 19). En l'absence de biais, une répartition uniforme des résidus le long de l'axe des abscisses est obtenue.

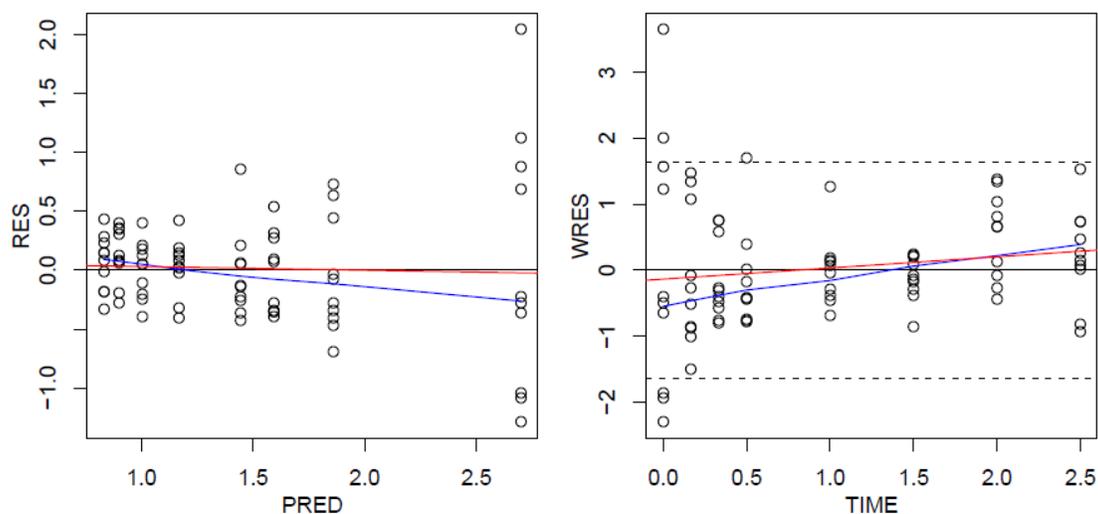


Figure 19 : Graphique diagnostique, résidus en fonction des prédictions et du temps

RES : résidus, WRES : résidus pondérés, PRED : concentrations prédites par le modèle, TIME : temps après la dernière administration

- les résidus individuels en fonction des IPRED, qui permet d'évaluer le modèle de variabilité résiduelle.

² Différence entre les concentrations observées et prédites

5.4.1.5.1.2 “Relative Standard Error”

La précision sur l'estimation des paramètres est mesurée par les « Relative Standard Errors » ou RSE (%). Ils sont calculés comme le rapport de l'erreur standard (SE) sur la valeur estimée (θ), comme montré dans l'équation 26. Lors de la construction de nos différents modèles un RSE inférieur à 50 % indiquait une estimation acceptable.

Équation 26

$$RSE_i = \frac{SE_{\theta_i}}{\theta_i} \times 100$$

RSE : relative standard error, i : $i^{\text{ème}}$ paramètre, SE : standard error, θ : valeur du paramètre

5.4.1.5.1.3 Visual Predictive Check

Le modèle final peut être évalué par la méthode des « Visual Predictive Check » (VPC) [135]. Cette méthode repose sur des simulations de Monte Carlo : un tirage au sort est effectué dans les distributions des paramètres du modèle et pour chaque concentration observée, n concentrations seront simulées (le plus souvent $n = 500$ ou 1000). L'évaluation du modèle repose sur l'inspection visuelle de graphiques. Le modèle est considéré comme satisfaisant quand 90 % des données observées sont entre le 5^{ème} et le 95^{ème} percentile des données simulées. La Figure 20 présente un exemple de modèle validé par les VPC [43]. Si 90% des concentrations observées sont à l'intérieur de cet intervalle, on considère que le modèle décrit correctement les données observées et leur variabilité.

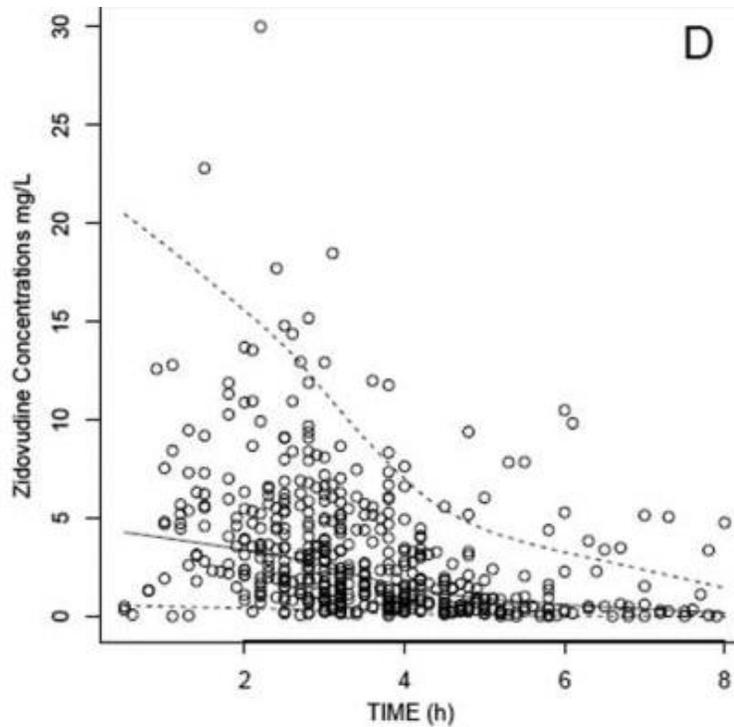


Figure 20 : VPC d'un modèle décrivant l'évolution des concentrations en zidovudine après administration chez l'enfant

Point : Concentrations observées, ligne en pointillé : 5^{ème} et 95^{ème} percentiles des concentrations simulées, ligne pleine : médiane des concentrations simulées

5.4.2 Cas du ténofovir et de l'emtricitabine

Plusieurs modèles structuraux pour le ténofovir et l'emtricitabine ont été testés comme la diffusion simple, un transfert linéaire ou saturable, la liaison aux protéines tissulaires. Les équations 27 à 30 sont un exemple de système d'équations différentielles impliquant une diffusion passive et une élimination placentaire. L'équation 27 décrit l'évolution des concentrations dans le compartiment maternel, l'équation 28 décrit l'évolution des concentrations dans la partie maternelle du cotylédon, l'équation 29 décrit l'évolution des concentrations dans la partie fœtale du cotylédon et enfin l'équation 30 décrit l'évolution des concentrations dans le

compartiment fœtal. Des concentrations observées sont disponibles pour le compartiment maternel et fœtal.

Équation 27

$$\frac{dC_m}{dt} = \frac{Q_m}{V_m} * \left(\frac{C_{mp}}{K_{ppl}} - C_m \right)$$

Équation 28

$$\frac{dC_{mp}}{dt} = \frac{(Q_m * (C_m - C_{mp}/K_{ppl}) - D_{cot} * (C_{mp} - C_{fp}))}{V_{mp}}$$

Équation 29

$$\frac{dC_{fp}}{dt} = \frac{(Q_f * \left(C_f - \frac{C_{fp}}{K_{ppl}} \right) + D_{cot} * (C_{mp} - C_{fp}) - k_{PE} * C_{fp} * V_{fp})}{V_{fp}}$$

Équation 30

$$\frac{dC_f}{dt} = \frac{Q_f}{V_f} * \left(\frac{C_{fp}}{K_{ppl}} - C_f \right)$$

C_f : concentration fœtale, C_{fp} : concentration placentaire fœtale, C_m : concentration maternelle, C_{mp} : concentration placentaire maternelle, D_{cot} : diffusion, k_{PE} : élimination placentaire, K_{ppl} : coefficient de partition du placenta Q_f : débit de perfusion entre le compartiment foetal et le cotylédon, Q_m : débit de perfusion entre le compartiment maternel et le cotylédon, V_m : volume du compartiment maternel, V_{mp} : volume du côté maternel du cotyledon, V_f : volume de compartiment fœtal, V_{fp} : volume du côté fœtal du cotyledon

5.4.3 Cas de la névirapine

Plusieurs modèles structuraux pour la névirapine ont été testés comme un passage saturable, ou la combinaison de la diffusion avec un transporteur. Le meilleur modèle est similaire à ceux du ténofovir et de l'emtricitabine à la différence qu'il n'y a pas d'élimination non spécifique et que

le transfert se fait par de constante de transfert non saturable. Les équations 31 à 34 ont été utilisées.

Équation 31

$$\frac{dC_m}{dt} = \frac{Q_m}{V_m} * \left(\frac{C_{mp}}{Kp_{pl}} - C_m \right)$$

Équation 32

$$\frac{dC_{mp}}{dt} = \frac{(Q_m * \left(C_m - \frac{C_{mp}}{Kp_{pl}} \right) - (k1 * C_{mp} - k2 * C_{fp}))}{V_{mp}}$$

Équation 33

$$\frac{dC_{fp}}{dt} = \frac{(Q_f * \left(C_f - \frac{C_{fp}}{Kp_{pl}} \right) + (k1 * C_{mp} - k2 * C_{fp}))}{V_{fp}}$$

Équation 34

$$\frac{dC_f}{dt} = \frac{Q_f}{V_f} * \left(\frac{C_{fp}}{Kp_{pl}} - C_f \right)$$

C_f : concentration fœtale, C_{fp} : concentration placentaire fœtale, C_m : concentration maternelle, C_{mp} : concentration placentaire maternelle, $k1$: constante de transfert placentaire 1, $k2$: constante de transfert placentaire 2, k_{PE} : élimination placentaire, Kp_{pl} : coefficient de partition du placenta Q_f : débit de perfusion entre le compartiment foetal et le cotylédon, Q_m : débit de perfusion entre le compartiment maternel et le cotylédon, V_m : volume du compartiment maternel, V_{mp} : volume du côté maternel du cotylédon, V_f : volume de compartiment fœtal, V_{fp} : volume du côté fœtal du cotylédon

5.5 Intégration des paramètres placentaires dans les modèles

Les paramètres placentaires ont été intégrés tels quels dans le model PBPK à l'exception des paramètres de diffusion qui suivent une loi de Fick et dont la valeur a été corrigée par la taille du placenta comme montré dans l'équation 35.

Équation 35

$$D_{pl} = \frac{D_{cot} \times V_{pl}}{V_{cot}}$$

D_{pl} : diffusion pour un placenta, D_{cot} : diffusion pour un cotylédon³, V_{pl} : volume du placenta, V_{cot} : volume du cotylédon

De même les constantes de transfert estimées pour la névirapine représentent ou une activité de transporteur ou de la diffusion, ils ont donc été corrigés par le volume du placenta de la même façon que précédemment expliqué pour la diffusion.

6. Validation/vérification des modèles PBPK

Le modèle a été vérifié d'une part en s'assurant que les valeurs obtenues étaient physiologiquement cohérentes et d'autre part grâce à des équations d'équilibre de masses [96].

L'adéquation des concentrations prédites par le modèle avec les concentrations observées est appréciée par une inspection visuelle. Les critères de validation proposés par Corley *et al.* ont été vérifiés [136], le modèle devait ainsi décrire les données de façon adéquate et un intervalle de deux fois les valeurs mesurées était éventuellement toléré. Les données de comparaison utilisées ont été résumées précédemment.

7. Simulations

Grâce aux modèles PBPK développés les profils pharmacocinétiques correspondants aux schémas posologiques et aux populations définis ont été simulés (cf Tableaux 8, 12 et 15).

³ Unité fonctionnelle du placenta

De plus des études de sensibilité ont été faites. Cela consiste à faire varier un paramètre et à observer l'influence des variations sur la pharmacocinétique. Il est alors possible d'identifier les paramètres clés de la pharmacocinétique du produit. Ces paramètres physiologiques déterminants sont alors ré-évalués pour leur fiabilité et précision. D'un point de vue pratique, certains paramètres physiologiques fœtaux n'étaient pas connus avec précision et si ces derniers étaient déterminants pour la prédiction de la cinétique fœtale alors les prédictions du modèle auraient été peu fiables. D'autre part nous voulions nous assurer de l'utilité de l'expérience ex-vivo pour déterminer le profil pharmacocinétique fœtal. Si les paramètres estimés à partir de l'expérience ex-vivo n'influençaient pas la pharmacocinétique fœtale et que celle-ci pouvait s'expliquer uniquement par les propriétés physicochimiques de la molécule et/ou la physiologie de la femme enceinte il n'aurait donc pas été nécessaire de faire ces expériences fastidieuses.

CHAPITRE III : RESULTATS

1. Prédiction de l'effet de la grossesse sur la pharmacocinétique de trois antiretroviraux excrétés par le rein

1.1 Objectifs

Pour prédire la cinétique chez la femme enceinte, l'approche PBPK est la méthode de choix car elle permet de construire un modèle prenant en compte diverses connaissances sur la molécule et la physiologie de la population étudiée. En effet il est possible d'intégrer les données précliniques et cliniques obtenues et en plus d'y associer les modifications physiologiques survenant lors de la grossesse [13,96]. Quelques modèles PBPK prédisant la cinétique chez la femme enceinte existent mais aucun ne prédit l'évolution de la clairance semaine après semaine et la compare à des clairances obtenues tout au long de la grossesse [20,26,28,29,53]. D'autre part il n'existe pas de consensus sur l'évolution de la sécrétion tubulaire. Les clairances individuelles obtenues tout au long de la grossesse nous ont permis de tester différentes hypothèses [44,81,112] :

- absence de modification de la clairance de sécrétion
- modification de la clairance de sécrétion dépendant de la modification du débit de filtration glomérulaire
- modification de la clairance de sécrétion dépendant de la modification du débit plasmatique rénale
- modification éventuelle de l'activité des transporteurs

Nous avons appliqué cette approche à la lamivudine (3TC), l'emtricitabine (FTC) et au ténofovir (TDF).

1.2 Résultats

La Figure 21 compare les observations aux prédictions des AUC et Cmax pour différentes doses et voies d'administrations. Au total, 87.5 % des différences entre les observés et les prédits sont de moins de 25 %.

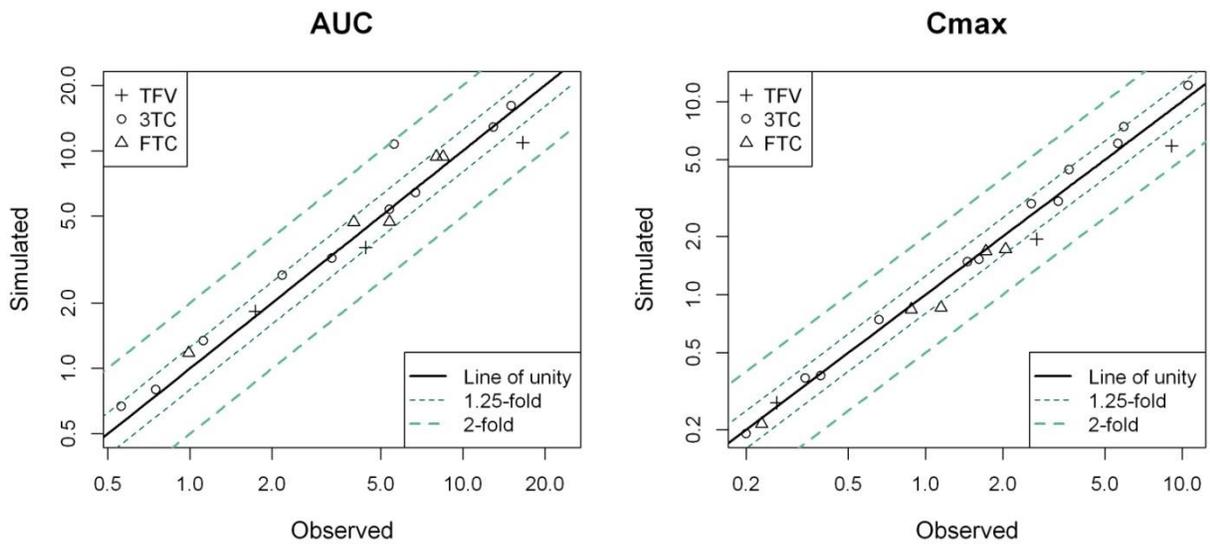


Figure 21 : Aires sous la courbe (AUC) et concentrations maximales, observations versus prédictions (Cmax)

La Figure 22 illustre l'augmentation de la clairance en fonction de l'âge gestationnel.

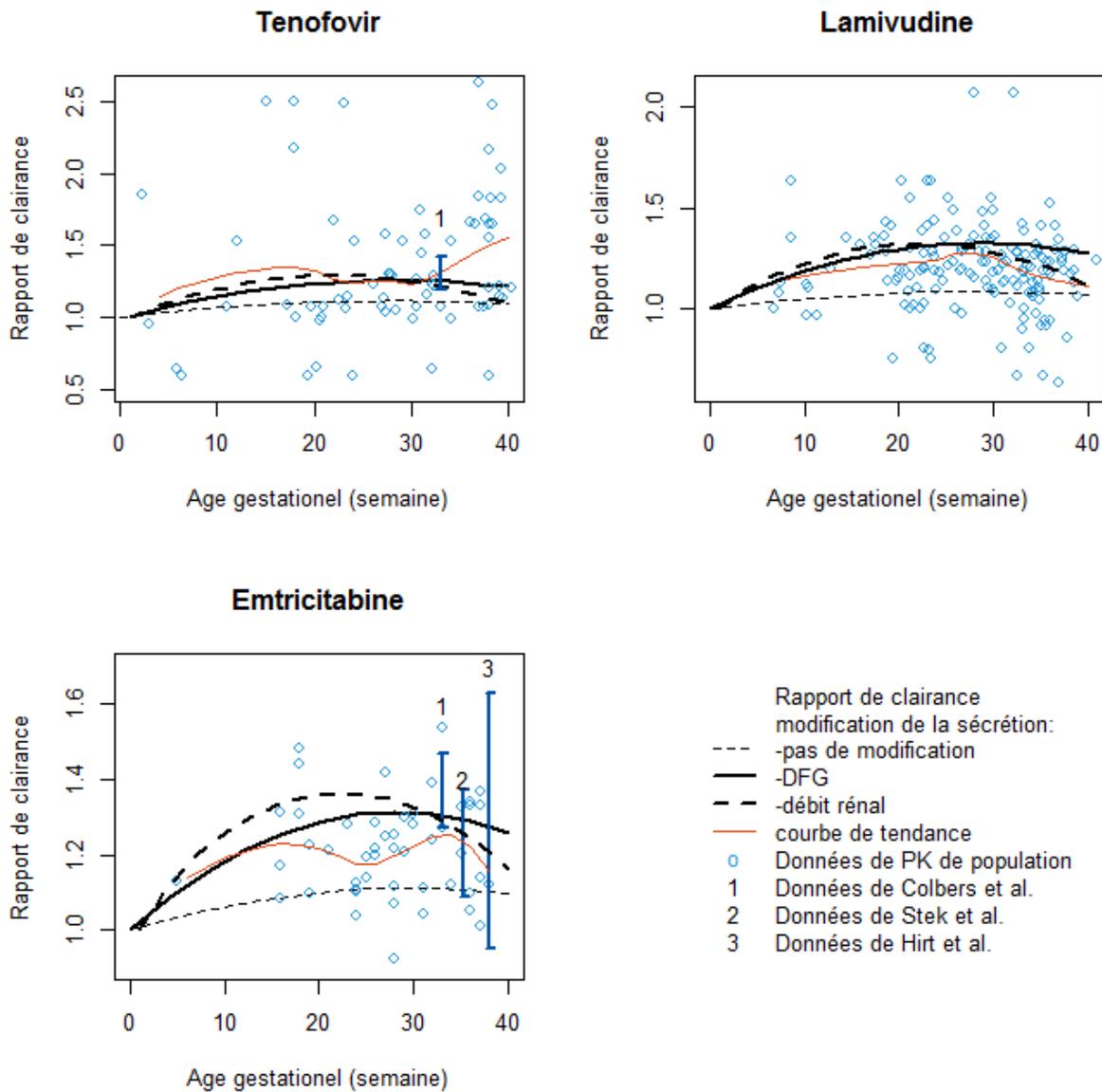


Figure 22 : Evolution de la clairance lors la grossesse

Si seule la clairance de filtration change (fines lignes en pointillées), l'augmentation de la clairance est sous-estimée, elle sera au maximum autour de 10 % (rapport de 1.1) pour les 3 molécules. Si la clairance de sécrétion rénale augmente en suivant l'évolution du débit de filtration glomérulaire (lignes épaisses pleines) ou le débit rénal plasmatique (lignes épaisses en

pointillées), l'amplitude de modification est relativement similaire mais les profils sont différents. En effet si on suppose que la clairance de sécrétion est dépendante du débit de filtration rénal, l'augmentation est plus importante en milieu de grossesse et diminue de façon assez franche en fin de grossesse. Cette hypothèse décrit le mieux les clairances de la lamivudine où les données sont plus riches. Pour les deux autres molécules, la distinction est moins évidente au vu des données. Dans tous les cas il ne semblait pas nécessaire d'ajouter une activité de transporteur pour décrire l'évolution des clairances.

La comparaison de profils cinétiques prédits avec les concentrations observées lors de la grossesse et en dehors de la période d'accouchement a permis de valider le modèle. La Figure 23 montre que les modèles sont capables de prédire les concentrations observées.

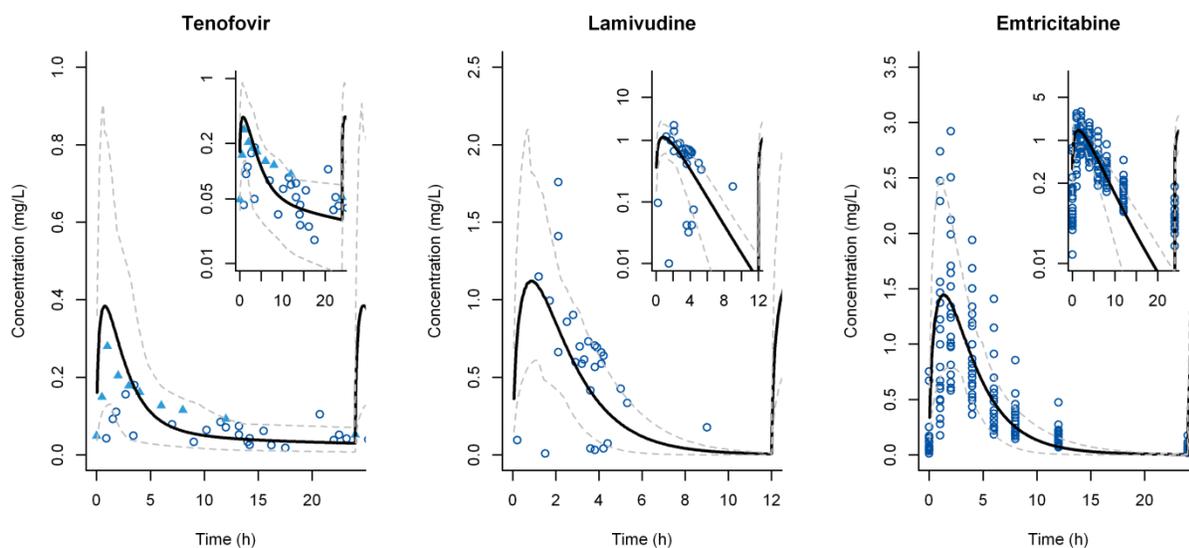


Figure 23 : Profil cinétique chez la femme enceinte après administration de ténofovir, lamivudine et emtricitabine

Profil pharmacocinétique médian prédit (lignes noires) et intervalle de prédiction à 95 % (lignes en pointillées grises) comparé aux données observées pour le ténofovir (triangle : Colbers et al., point: Benaboud et al.), la lamivudine (Benaboud et al.), et l'emtricitabine (Valade et al.).

1.3 Discussion

La modélisation PBPK prédit de façon quantitative la pharmacocinétique des 3 antirétroviraux chez les femmes enceintes. Au regard de leur large marge thérapeutique il est peu probable que la diminution d'exposition observée (environ 30 %) diminue significativement l'efficacité des traitements.

Il n'existe actuellement pas de consensus sur l'évolution de la clairance rénale de sécrétion. Pour les molécules où il n'y a pas de saturation des transporteurs, l'hypothèse selon laquelle l'augmentation du débit plasmatique rénal durant la grossesse entrainerait une augmentation proportionnelle de la clairance de sécrétion sans modification de l'activité intrinsèque des transporteurs semble cohérente. En effet, elle est biologiquement plausible et permet de décrire correctement l'évolution de la clairance lors de la grossesse. Davantage de données sur différentes molécules seraient nécessaires afin de valider cette hypothèse.

Pour conclure, utiliser un modèle PBPK pour prédire la pharmacocinétique chez la femme enceinte semble être pertinent spécialement pour les molécules avec une marge thérapeutique étroite. Nous avons pu vérifier la capacité de ce genre de modèle à décrire la cinétique des femmes enceintes de façon adéquate, par la suite il devient possible de s'intéresser au passage transplacentaire et d'essayer de prédire la pharmacocinétique fœtale.

1.4 Article

**Physiologically based pharmacokinetic modeling in pregnant women:
pharmacokinetic predictions of three antiretroviral drugs mainly renally
excreted**

DE SOUSA MENDES Mailys, HIRT Deborah, URIEN Saik, VALADE Elodie, BOUAZZA
Naïm, FOISSAC Frantz, BLANCHE Stephane, TRELUYER Jean-Marc, BENABOUD Sihem

**Article publié dans le journal British Journal of Clinical Pharmacology. 2015
Nov;80(5):1031–41**

Poster présenté:

- Journée du DHU risques et grossesse, Paris, juillet 2014
- DMDG GMP joint meeting, Paris, octobre 2014

2. Prédiction de la pharmacocinétique fœtale en intégrant les résultats du modèle ex-vivo dans le modèle PBPK

2.1 Objectif

Il s'agit de prédire de façon quantitative l'exposition du fœtus après administration d'une molécule à la mère. Actuellement il existe plusieurs expériences *ex-vivo* qui miment le passage

transplacentaire mais aucune n'est directement extrapolable à l'être humain. Même la perfusion de cotylédon humain, qui est la méthode de référence, ne permet pas de prédire l'exposition fœtale. En effet, cette approche ne prend pas en compte le système biologique dans lequel est intégré le passage transplacentaire, c'est-à-dire qu'elle ne prend en compte ni les concentrations maternelles changeantes ni la distribution fœtale. Les paramètres de transfert placentaire obtenus *ex-vivo* ont donc été intégrés dans un modèle PBPK incluant la cinétique fœtale.

2.2 Résultats

Les meilleurs modèles pour le ténofovir et l'emtricitabine incluait un paramètre de diffusion D_{cot} , un coefficient de partage k_{ppl} et une constante de sortie non spécifique k_{PE} . (Tableau 18

Tableau 18 : Paramètres de passage transplacentaire estimés *ex-vivo*

	$D_{cot}(L/h)$	$K_{PE} (h^{-1})$	K_{ppl}
Emtricitabine	0.104 (0.025-0.395)	1.49	3.94 (0.92-9.33)
Tenofovir	0.013 (0.003-0.020)	0.443 (0.167-1.2)	7.15 (3.73-1.45)

moyenne (min-max)

La Figure 24 illustre l'évolution des concentrations mesurées dans les compartiments fœtaux (cercles) et maternelles (croix) comparé aux profils moyen estimés par nos modèles (lignes). Le modèle pharmacocinétique *ex-vivo* décrit de façon adéquate les concentrations mesurées.

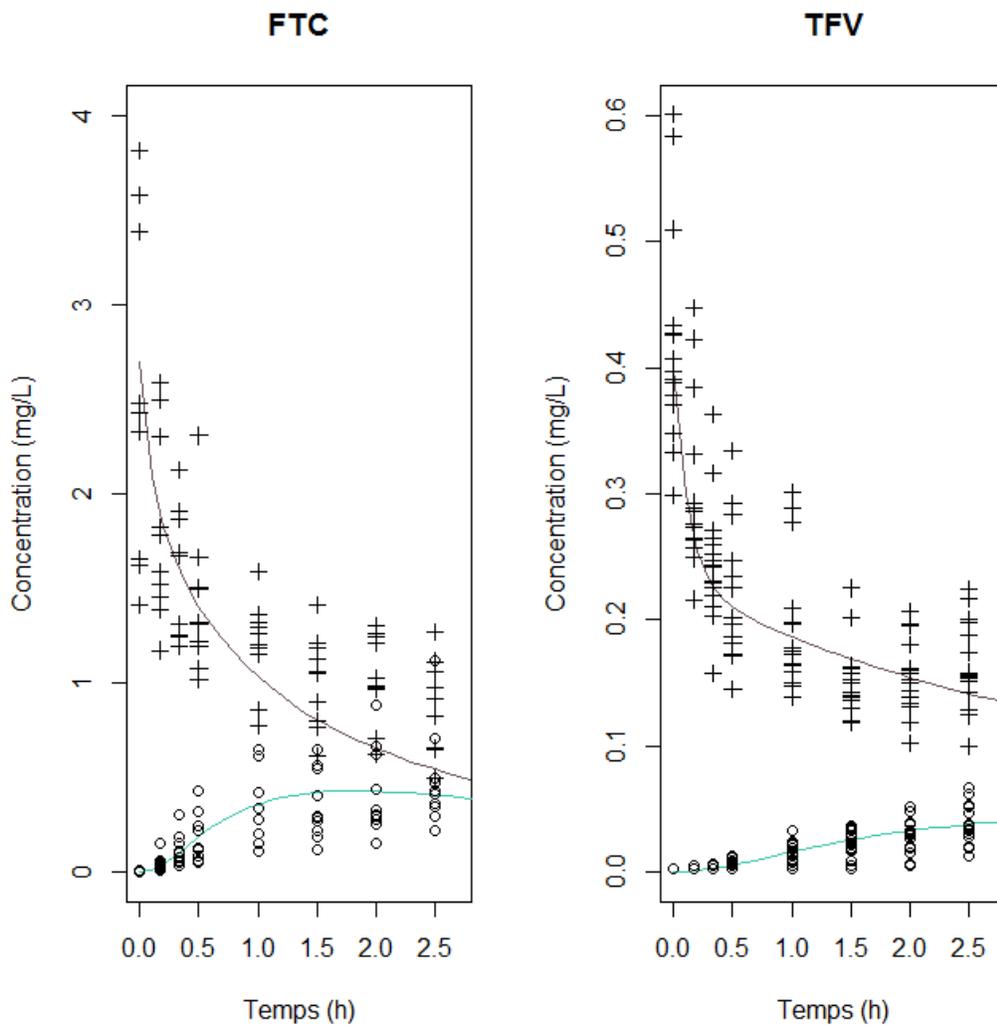


Figure 24 : Evolution des concentrations en fonction du temps lors de la perfusion de placentas

Evolution des concentrations observées du côté maternel (signe plus) et des concentrations observées du côté fœtal (cercles) comparées aux prédictions du modèle (lignes marron et vertes) pour l'emtricitabine (FTC : à gauche) et le ténofovir (TFV : à droite).

Les prédictions décrivent correctement les concentrations observées comme on peut l'observer sur la Figure 25. Les concentrations fœtales restent élevées bien qu'inférieures aux concentrations maternelles. Le rapport d'AUC est de 0.63 et 0.41 pour le FTC et le TFV respectivement.

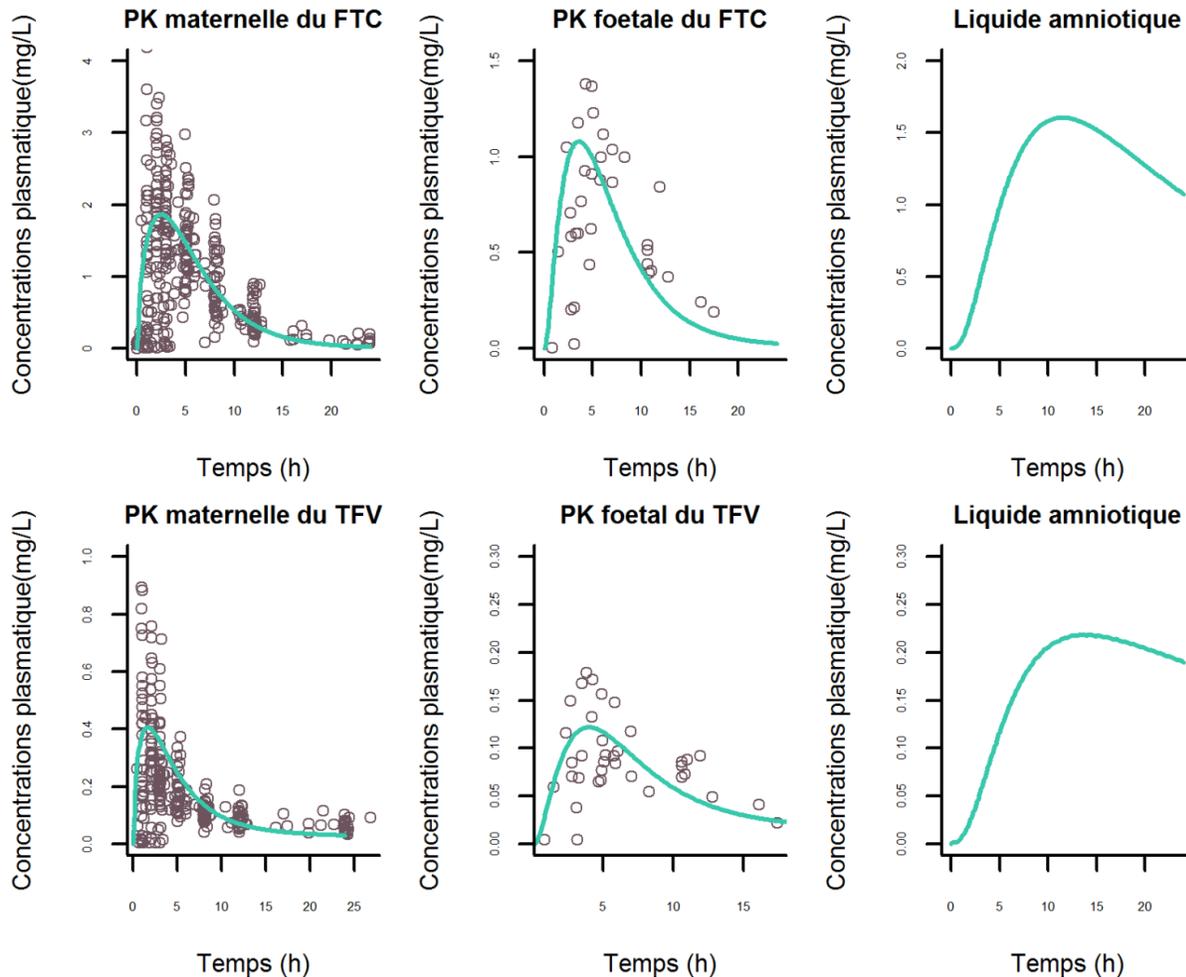


Figure 25 : Evolutions des concentrations plasmatiques maternelles, foetales et dans le liquide amniotique après administration d'emtricitabine et de ténofovir

Concentration observée (cercles) chez la mère (à gauche) et le fœtus (au milieu) après administration d'emtricitabine (FTC : en haut) ou de ténofovir (TFV : en bas) comparées aux concentrations prédites par le modèle (lignes).

L'analyse de sensibilité sur les paramètres physiologiques fœtaux a montré qu'ils avaient peu ou pas d'influence sur la PK fœtale. Par contre ils pouvaient avoir une influence sur les concentrations dans le liquide amniotique. D'autre part l'analyse de sensibilité sur les paramètres estimés *ex-vivo* que l'on peut voir sur la Figure 26 montre que ces paramètres ont une grande influence sur la PK fœtale et du liquide amniotique.

Sensitivity analyses

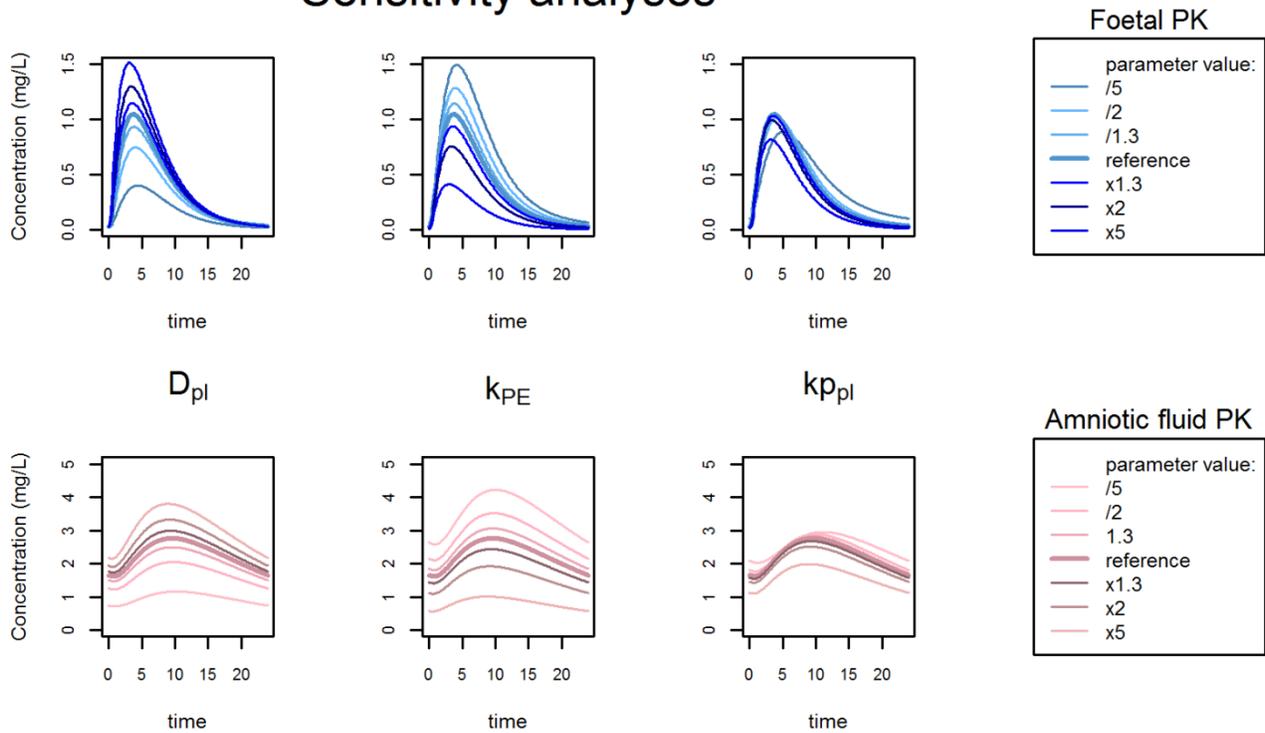


Figure 26 : Analyse de sensibilité faite sur les paramètres de passage transplacentaire estimé ex-vivo

D_{pl} : diffusion pour le placenta, k_{PE} : élimination non spécifique, k_{ppl} : coefficient de partage placentaire, PK : pharmacocinétique

2.3 Discussion

Nous avons développé une nouvelle approche qui a permis de prédire la cinétique foetale à terme pour deux molécules éliminées par le rein. Il s'agit du premier modèle PBPK qui intègre des paramètres de transfert placentaire estimés à partir du modèle *ex-vivo* de perfusion de cotylédon humain. Une étude seulement a intégré des paramètres estimés *ex-vivo* dans un modèle mécanistique afin de prédire la cinétique *in-vivo* [70,131]. Par contre ils n'avaient pas de données *in-vivo* afin de valider leur méthode.

Les données observées nous ont permis de valider les résultats. De plus leur fiabilité était également vérifiée grâce l'étude de sensibilité. En effet les échanges entre le fœtus et le liquide amniotique, tels que le débit de liquide amniotique avalé par le fœtus ou l'excrétion rénale, sont des paramètres peu documentés. Cependant l'analyse de sensibilité a montré qu'une modification de ces valeurs d'un facteur deux n'influençait pas nos prédictions de concentrations. Les paramètres physiologiques fœtaux réels peuvent donc être quelques peu différents de ceux du modèle sans altérer significativement les prédictions. D'autre part, l'analyse de sensibilité faite sur les paramètres estimés *ex-vivo* montre qu'ils déterminent la cinétique fœtale. L'expérience *ex-vivo* est donc essentielle afin de prédire la cinétique fœtale.

L'intégration des paramètres *ex-vivo* dans le modèle PBPK a permis une bonne prédiction des cinétiques sans qu'aucun facteur de correction arbitraire ne soit ajouté. Toutefois cette approche ne peut être utilisée qu'en fin de grossesse. De même la méthode a été validée pour des molécules à élimination rénale mais pourrait ne pas être applicable à des molécules métabolisées.

2.4 Article

Prediction of human foetal pharmacokinetics using *ex-vivo* human placenta perfusion studies and Physiologically Based models

DE SOUSA MENDES Mailys, HIRT Deborah, VINOT Cécile, VALADE Elodie, LUI Gabrielle, PRESSIAT Claire, BOUAZZA Naïm, FOISSAC Frantz, BLANCHE Stephane, PEYTAVIN Gilles, TRELUYER Jean-Marc, URIEN Saik#, BENABOUD Sihem#

#Ces auteurs ont contribué également à l'encadrement de la rédaction du manuscrit

Article publié dans le journal British Journal of Clinical Pharmacology, 2016

Apr;81(4):646-57

Poster présenté :

- PAGE meeting, Hersonissos, juin 2015

- GMP meeting, Paris, octobre 2015

Présentation orale :

- GMP meeting, Paris, octobre 2015

3. Prédiction du passage transplacentaire d'une molécule métabolisée.

3.1 Objectif

Précédemment un modèle PBPK a été validée pour deux molécules excrétées par le rein. Cette approche devrait être extrapolable à d'autres molécules, subissant un métabolisme important. D'autre part nous souhaitons étudier la clairance fœtale et son influence sur la cinétique fœtale. La molécule étudiée est la névirapine qui est métabolisée par les isoenzymes CYP3A4, 2B6 et 2D6.

3.2 Résultats

Le taux de transfert de la névirapine et l'indice de clairance entre 60 min et 180 min était de $26 \pm 7 \%$ et 0.73 ± 0.15 respectivement. Les cinétiques obtenues ex-vivo étaient mieux décrites par deux constantes de transfert K1 et K2 et l'estimation du coefficient de partage k_{ppl} . Les paramètres estimés et leurs variabilités associées sont dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Paramètres de la névirapine estimés ex-vivo

Paramètres	Estimation	RSE (%)
Model structural		
k_{1cot} (h^{-1} par cotyledon)	0.171	10
k_{2cot} (h^{-1} par cotyledon)	0.208	3
k_{ppl} (sans unité)	3.7	15
Modèle statistique		
ηk_{1cot}	0.338	23
ηk_{ppl}	0.513	24
$\sigma_{prop} C_m$	0.113	7
$\sigma_{cst} C_f$	0.079	8

Les Figures 27 représentent la validation par les VPC du modèle pour le côté maternel et fœtal.

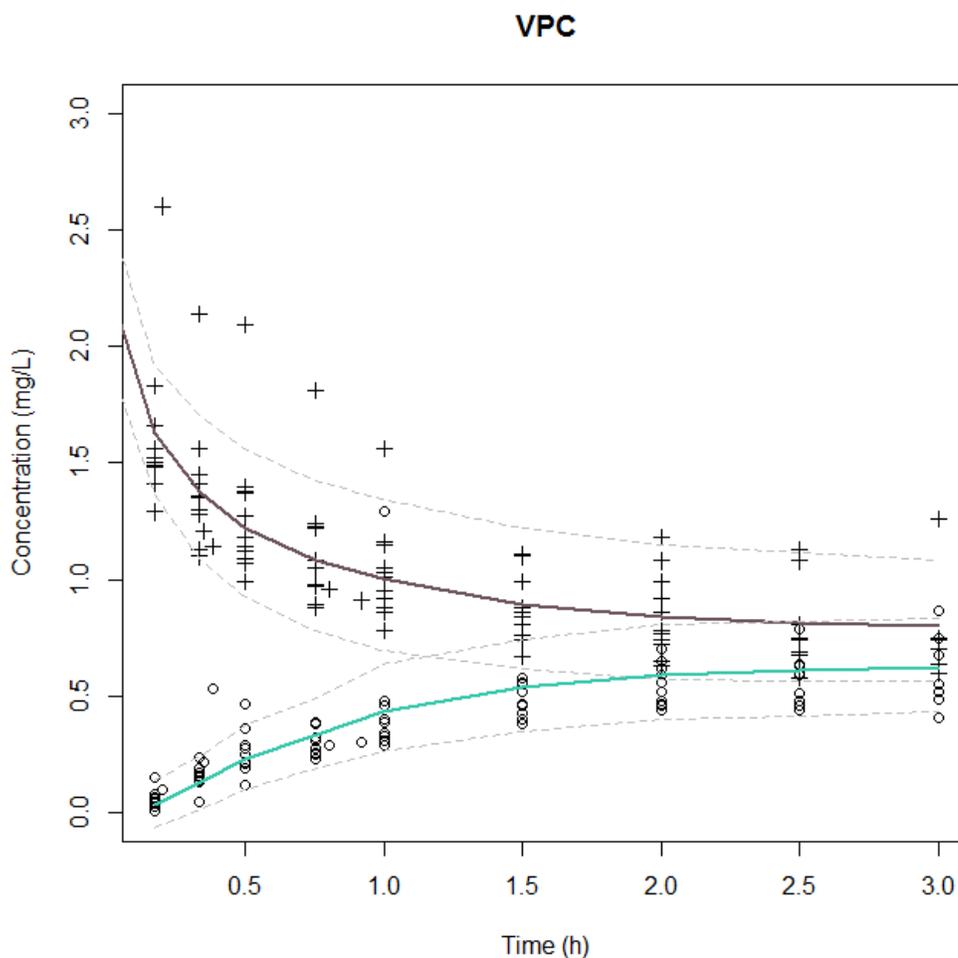


Figure 27 : « Visual prédictive check » du modèle ex-vivo

Evolution des concentrations observées du côté maternel (signe plus) et des concentrations observées du côté fœtal (cercles) comparé aux prédictions médiane du modèle (lignes marron et vertes) et intervalle de prédiction à 90 % (lignes grises en pointillé).

Après validation dans les populations non enceintes, les paramètres de passage transplacentaire ont été intégrés dans le modèle PBPK afin de prédire les profils pharmacocinétiques présentés sur la Figure 28. Le modèle décrit correctement les données observées pour la femme enceinte et le fœtus [114]. En intégrant l'induction enzymatique nous avons prédit une augmentation de la

clairance de 21 % pour une dose unique et 38 % à l'état d'équilibre. Le rapport AUC_{24}^0 fœtus/mère, était de 77 % et le rapport AUC_{∞}^0 fœtus/mère, était de 84 %.

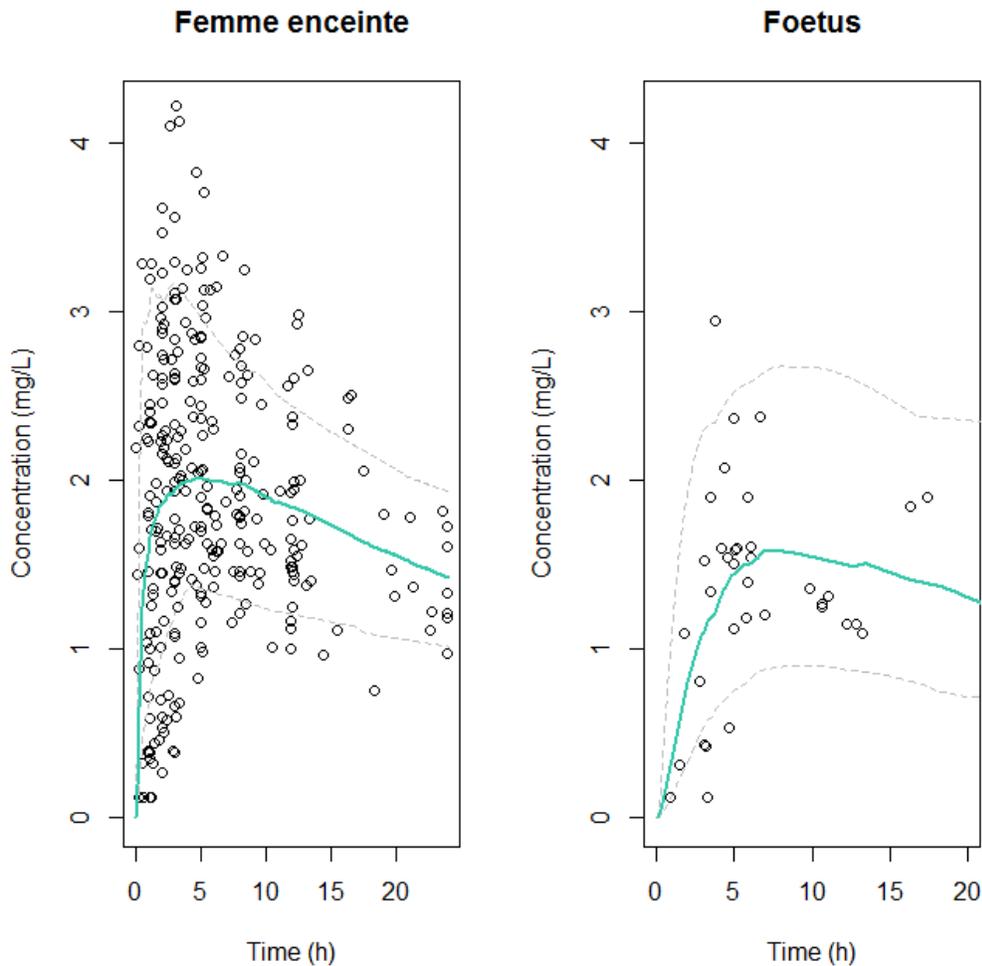


Figure 28 : Profil cinétique de la mère et de son fœtus après administration d'une dose unique de 200 mg de névirapine

Concentration observée (cercles) chez la mère (à gauche) et le fœtus (à droite) après administration de 200 mg de névirapine comparées aux concentrations médiane (lignes pleines) et à l'intervalle de prédiction à 95 % (lignes en pointillés) prédites par le modèle [114].

L'étude de sensibilité faite sur les paramètres physiologiques a montré de nouveau qu'ils n'impactaient pas significativement la cinétique fœtale (figure 29). D'autre part, les paramètres k_1 et k_2 estimés ex-vivo influencent grandement la cinétique fœtale. Par exemple si le paramètre k_1 est divisé par 2 les concentrations fœtales maximales sont également divisées par environ 2.

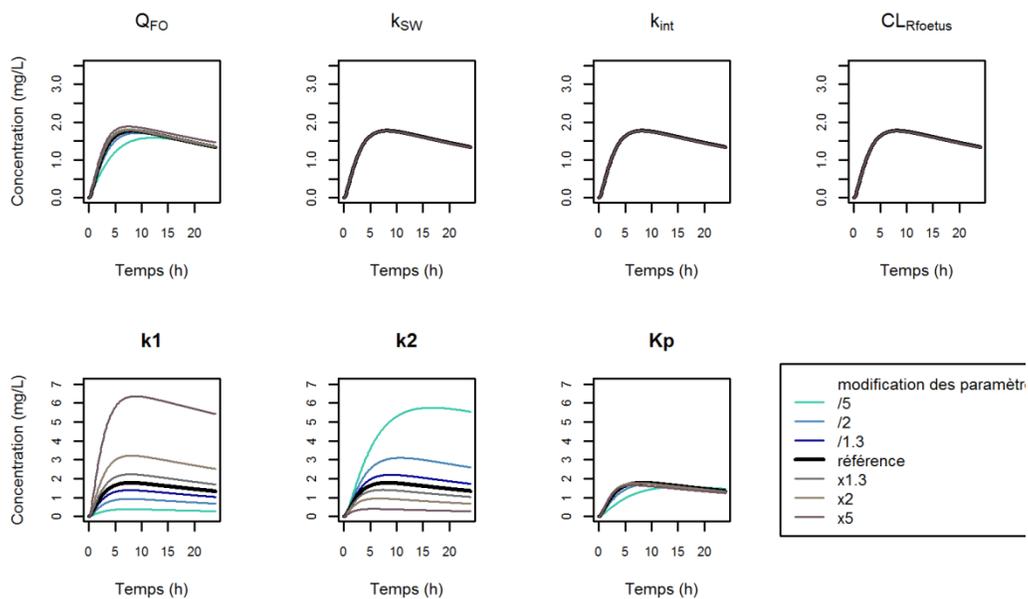


Figure 29 : Etude de sensibilité pour la névirapine

D'autre part lors de l'intégration d'un métabolisme hépatique fœtal aucune modification significative de l'AUC fœtale n'était observée, et ceci même lorsque le métabolisme fœtal était supposé deux fois plus important que celui du nouveau-né.

3.3 Discussion

Le modèle PBPK prédit la pharmacocinétique maternelle et fœtale après administration de 200 mg de névirapine. Le rapport prédit des expositions fœtale et maternelle était identique à celui estimé par le modèle de pharmacocinétique de population (moins de 3 % de différence).

Le métabolisme fœtal ne semble pas influencer la cinétique fœtale. Ceci peut s'expliquer par les différences d'échelle des phénomènes. Par exemple le débit sanguin du fœtus au placenta est de 14.3 L/h et la clairance du nouveau-né est d'environ 0.035 L/h. Même si une partie seulement du médicament passe la barrière transplacentaire, ce phénomène reste bien plus important que le métabolisme fœtal.

Finalement ce travail confirme que notre méthode pouvait s'appliquer à d'autres molécules et notamment des molécules métabolisées. Reproduire cette méthode sur un plus grand nombre de molécules et notamment des molécules très fortement liées aux protéines plasmatiques serait intéressant avant de pouvoir l'utiliser de façon sereine pour prédire l'exposition fœtale de molécules dont le passage transplacentaire est inconnu.

3.4 Article

A physiologically based pharmacokinetic model to predict human foetal exposure for a drug metabolized by several CYP450 pathways

DE SOUSA MENDES Maïlys¹, LUI Gabrielle^{1,2}, ZHENG Yi^{1,2}, PRESSIAT Claire¹, HIRT Deborah^{1,2}, VALADE Elodie¹, BOUAZZA Naïm¹, FOISSAC Frantz¹, BLANCHE Stephane^{1,4}, TRELUYER Jean-Marc^{1,2}, URIEN Saïk^{#1,3}, BENABOUD Sihem^{#1,2}

#Ces auteurs ont contribué également à l'encadrement de la rédaction du manuscrit

Article soumis dans le journal clinical pharmacokinetics

Poster présenté :

- PAGE meeting, Lisbonne, juin 2016

Présentation orale :

- Health care summit on model based precision dosing, Manchester, mai 2016

CHAPITRE IV : DISCUSSION

1. Prédiction de la pharmacocinétique chez la femme enceinte

Les femmes enceintes sont exposées à de nombreux médicaments durant la grossesse, bien souvent sans qu'aucune étude clinique n'ait été faite dans cette population. Or les modifications physiologiques survenant durant la grossesse peuvent entraîner des modifications de pharmacocinétique et donc potentiellement des modifications d'efficacité. C'est pourquoi développer une méthode permettant d'estimer l'amplitude de ces modifications, sans forcément exposer de nombreuses femmes enceintes, est primordial afin de pouvoir anticiper ces changements.

Plusieurs modèles basés sur la physiologie ont déjà été développés pour prédire la pharmacocinétique ou pour essayer de comprendre et isoler les différentes modifications physiologiques [20,27–29,51–55]. Certaines modifications physiologiques peuvent avoir un impact sur la distribution. L'augmentation du tissu adipeux par exemple peut avoir un rôle important dans la distribution de molécules lipophiles comme la névirapine, de même l'augmentation du volume plasmatique et de l'hématocrite joue un rôle important dans la distribution des molécules hydrophiles. En parallèle, la clairance peut évoluer durant la grossesse. Ainsi le débit de filtration glomérulaire augmente ce qui influence la clairance de filtration rénale [13]. Les phénomènes de sécrétion et réabsorption rénale sont quant à eux méconnus il est donc délicat de prédire l'amplitude de la modification de clairance rénale avec précision. En ce qui concerne la clairance de sécrétion, les données sont contradictoires [27,51,53]. D'autre part en ce qui concerne l'évolution de la clairance, quelques études ont intégré l'induction ou l'inhibition enzymatique dans le modèle PBPK [20,27–29,51,53]. Deux équipes ont intégré des modifications enzymatiques pour des molécules métabolisées par différentes voies, Alqahtni *et al.* ont étudié

l'indometacine métabolisée par le CYP2C9 et l'UGT2B7 tandis que Ke *et al.* ont étudié l'évolution de la clairance chez la femme enceinte prenant de la phénytoïne, métabolisée par le CYP2C9 et 2C19 et du glyburide, métabolisé par les CYP3A, 2C9 et 2C19 [29,51].

Dans cette thèse nous avons étudié d'une part des molécules principalement éliminées par le rein et d'autre part une molécule métabolisée par les CYP3A4, 2B6 et 2D6. Dans la première étude nous avons pu comparer l'évolution des clairances prédites à des clairances mesurées tout au long de la grossesse. Ceci nous a permis de comparer 3 hypothèses sur l'évolution de la clairance rénale. Considérer que seul la clairance de filtration évoluait sous-estimait la clairance pour nos trois molécules. Supposer que la clairance de sécrétion était proportionnelle à l'évolution du débit de filtration glomérulaire ou du débit plasmatique permettait de mieux décrire les clairances disponibles. L'hypothèse qui suggère une augmentation de la clairance suivant le débit de perfusion plasmatique rénal mène à une augmentation qui atteint son maximum plus précocement et à une diminution plus franche de la clairance rénale en fin de grossesse. Elle semble également mieux décrire les données de la lamivudine [44]. Pour le TFV et FTC, il est plus difficile de trancher entre les deux hypothèses[42,45]. D'autre part sachant que les transporteurs rénaux de ces trois molécules ne sont pas saturés aux doses usuelles, le fait que la sécrétion soit directement proportionnelle à l'apport plasmatique est physiologiquement pertinent. Dans le modèle sur la NVP nous avons intégré l'induction enzymatique du CYP3A4, 2B6 et 2D6 ainsi que l'augmentation de la clairance rénale ce qui a permis de prédire l'augmentation globale de la clairance. Le modèle décrit bien la cinétique chez la femme enceinte, confortant l'idée que les modèles PBPK sont capables de prédire la cinétique de molécules métabolisées par différents CYP450 chez la femme enceinte.

La diminution des protéines plasmatiques lors de la grossesse peut provoquer une augmentation de la fraction libre des molécules très fortement liées aux protéines plasmatiques [3]. Or que ce soit le TFV, le 3TC, le FTC ou la NVP, aucune de ces molécules n'était fortement liée aux protéines plasmatiques. C'est pourquoi nous n'avons pas inclus de modification de la fraction libre lors de la grossesse dans nos modèles.

La pertinence de la modélisation PBPK pour prédire l'impact de modifications physiologiques connues sur la pharmacocinétique de la femme enceinte a été prouvée. Toutefois, notre connaissance seul un modèle a intégré des connaissances à priori sur l'activité des UGT notamment 2B7 et de même les estérases ne sont que peut étudiées [51,52]. Afin de pouvoir utiliser l'approche PBPK sur une plus large gamme de médicaments il serait primordial de la valider pour des molécules métabolisées par d'autres enzymes. De plus vérifier l'activité des transporteurs serait important.

2. Prédiction de la pharmacocinétique du fœtus

Le fœtus pouvant être exposé à de nombreux composés, il est crucial de pouvoir anticiper son degré d'exposition, que ce soit dans le but d'optimiser le traitement médicamenteux ou au contraire de limiter tout risque inutile. L'exposition fœtale dépend de deux facteurs: l'exposition maternelle prédite précédemment et le passage transplacentaire.

La concentration au niveau du sang de cordon à l'accouchement est la plus représentative du passage transplacentaire en fin de grossesse. Toutefois, les cinétiques fœtale et maternelle sont généralement décalées et par conséquent le ratio des concentrations [fœtus]/[mère] est très variable en fonction du délai entre le prélèvement et la dernière dose. La pharmacocinétique de

population permet d'estimer des AUC individuelles pour la mère et le fœtus ce qui est plus représentatif de l'exposition fœtale. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle requiert l'exposition de nombreuses femmes enceintes. Une méthode permettant de prédire ce rapport d'exposition avant administration à la femme enceinte serait préférable. Les études chez l'animal ne sont pas forcément représentatives du passage transplacentaire humain du fait des différences structurelles et fonctionnelles entre les différences espèces [32]. C'est pourquoi des études *ex-vivo* dérivés de tissus humain ont été développées. Actuellement il existe plusieurs expériences *ex-vivo* qui reconstituent partiellement le passage transplacentaire mais aucune n'est directement extrapolable à l'être humain. En effet même la perfusion de cotylédon humain, qui est la méthode de référence simulant au plus proche les phénomènes observables *in-vivo* chez l'homme, ne permet pas de prédire l'exposition fœtale [32]. Ceci s'explique par le fait que cette approche ne prend pas en compte le système biologique dans lequel est intégré le passage transplacentaire, c'est-à-dire qu'elle ne prend en compte ni l'évolution des concentrations maternelles ni la distribution fœtale.

Dans cette thèse nous avons développé une nouvelle approche qui intègre les résultats obtenus *ex-vivo* dans un modèle PBPK. Elle a de plus été validée en comparant nos prédictions à de nombreux prélèvements faits au niveau du sang de cordon à l'accouchement. Elle a été validée pour deux types de molécules, premièrement deux molécules hydrophiles éliminées par le rein et deuxièmement une molécule lipophile métabolisée par les isoenzymes CYP 3A4, 2B6 et 2D6. Nos modèles nous ont également permis d'explorer différentes hypothèses quant à la physiologie fœtale et il semblerait que la cinétique chez le fœtus ne soit pas impactée par le métabolisme foetal. L'étude de sensibilité faite pour les molécules hydrophiles, et confirmé pour la molécule lipophile, montre que les paramètres physiologiques fœtaux ne sont pas les facteurs déterminant

les pharmacocinétiques fœtales. En effet même si les valeurs de ces paramètres étaient deux fois plus élevées ou plus faibles que celle intégrées dans le modèle, ceci n'influencerait pas la cinétique fœtale des molécules étudiées. En d'autres termes, même si ces paramètres ne sont pas connus avec une grande précision, cela n'influence pas la fiabilité de nos prédictions. En revanche, les valeurs des paramètres estimés *ex-vivo* influencent grandement la cinétique fœtale ce qui justifie l'utilisation de ce type d'expérimentation.

Lors de la modélisation nous avons choisi de prendre en compte les paramètres qui décrivaient mieux l'expérience *ex-vivo* avec de faibles *à priori* sur les mécanismes physiologiques sous-jacents. Une autre approche prenant en compte certains *à priori* (transporteurs...) pourrait être envisagée. D'autre part, afin de standardiser l'approche, un plus grand nombre de molécule et de modèle associés seraient nécessaires. Les concentrations du côté maternel diminuent au court du temps dans l'expérience *ex-vivo*, ces concentrations changeantes permettent de favoriser l'observation de potentiels phénomènes de saturation et désaturation des transporteurs survenant dans l'étendue des concentrations observées *in-vivo*. D'autre part, étudier le passage transplacentaire lorsque la molécule est ajoutée initialement dans le compartiment fœtal pourrait ajouter de la puissance pour estimer correctement les paramètres de transfert transplacentaire. La névirapine est une molécule se liant aux protéines plasmatiques, cette liaison peut influencer le passage transplacentaire c'est pourquoi nous avons ajouté de l'albumine aux concentrations physiologiques afin de mimer les conditions réelles. Afin de renforcer et éventuellement simplifier l'approche il serait intéressant de comparer les résultats obtenus après estimation des paramètres en présence et en absence d'albumine.

Du fait de l'incertitude sur les paramètres physiologiques fœtaux et de la corrélation de leur variabilité interindividuelle, initialement nous n'avons pas étudié la variabilité de la pharmacocinétique. Cependant les analyses de sensibilité ont montré que les paramètres physiologiques fœtaux avaient une influence négligeable sur la cinétique fœtale. Au final, cette variabilité a été intégrée au niveau des paramètres maternels, du passage transplacentaire et des échanges avec le liquide amniotique pour la névirapine [47,50].

Que ce soit pour la prédiction de la cinétique chez la femme enceinte ou le fœtus, la méthode ne peut prédire que la pharmacocinétique et non la pharmacodynamique. Dans le cas d'organismes pathogènes, il est probable que les données de pharmacodynamie de l'adulte soient extrapolables au fœtus. En revanche, si la cible est un récepteur présent au niveau fœtal et qu'aucune information sur l'activité de récepteurs cibles n'est disponible, il est délicat de faire une conjoncture. Shintaku *et al.* ont extrapolé la relation concentration-fœtale/activité fœtale obtenue chez le rat à l'homme [70].

3. Possible simplification de l'approche

L'approche présentée dans cette thèse peut s'avérer longue et une simplification pourrait être profitable. Une des premières étapes, dans le cas où un modèle de pharmacocinétique de population chez la femme enceinte est disponible ou qu'il est disponible pour la femme non enceinte et qu'aucune influence de la grossesse n'est connue, serait d'ajouter les compartiments fœtaux au modèle déjà préexistant. Nous avons vérifié cette approche sur nos trois molécules et les résultats obtenus sont très similaires à ceux obtenus précédemment. La Figure 30 schématise le modèle utilisé pour le FTC et le TFV. Les paramètres cinétiques maternels estimés par le

modèle de pharmacocinétique de population (PK POP) ont été intégrés dans le modèle, la partie fœtale est identique à celle du modèle PBPK. Des simulations ont été faites avec ce modèle sur NONMEM (n=100) et les Figures 31 à 33 représentent les profils obtenus pour les trois molécules.

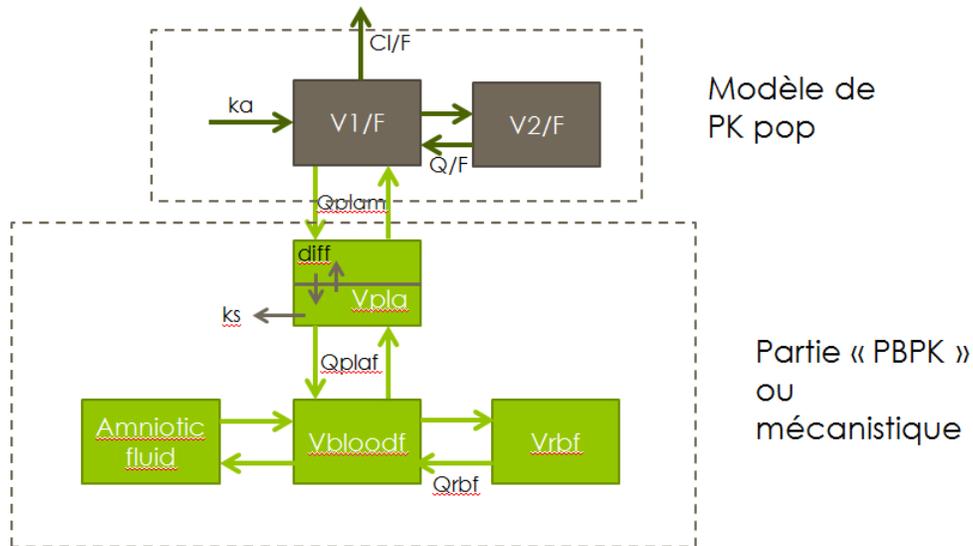


Figure 30 : Simplification du modèle - schéma (TDF-FTC)

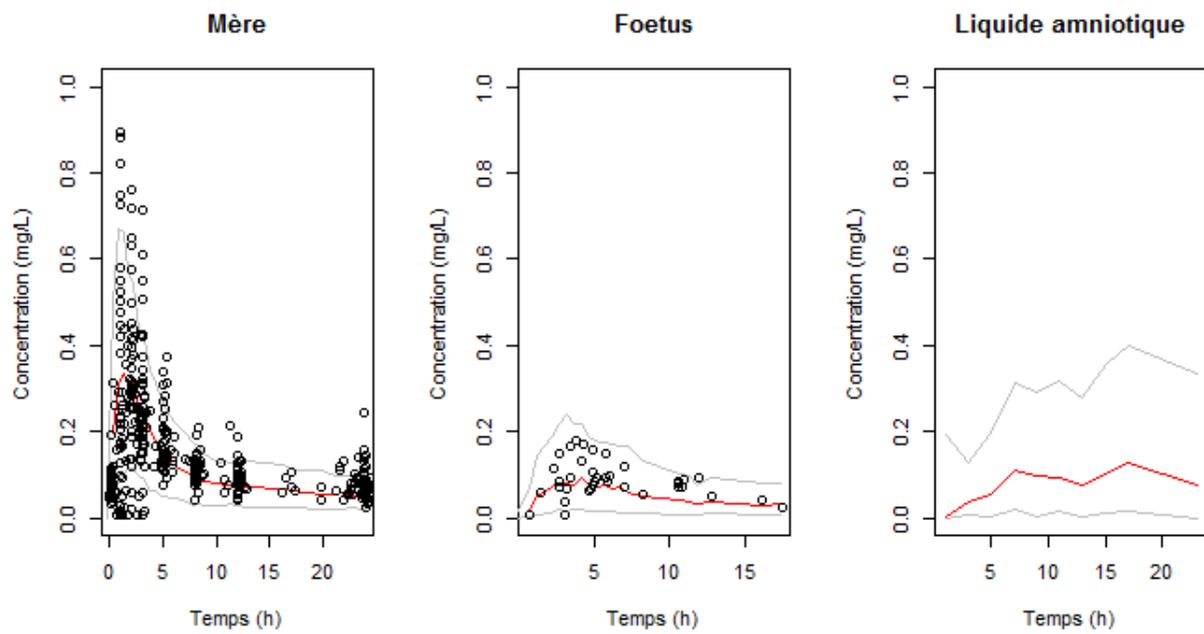


Figure 31 : Modèle simplifié - ténofovir

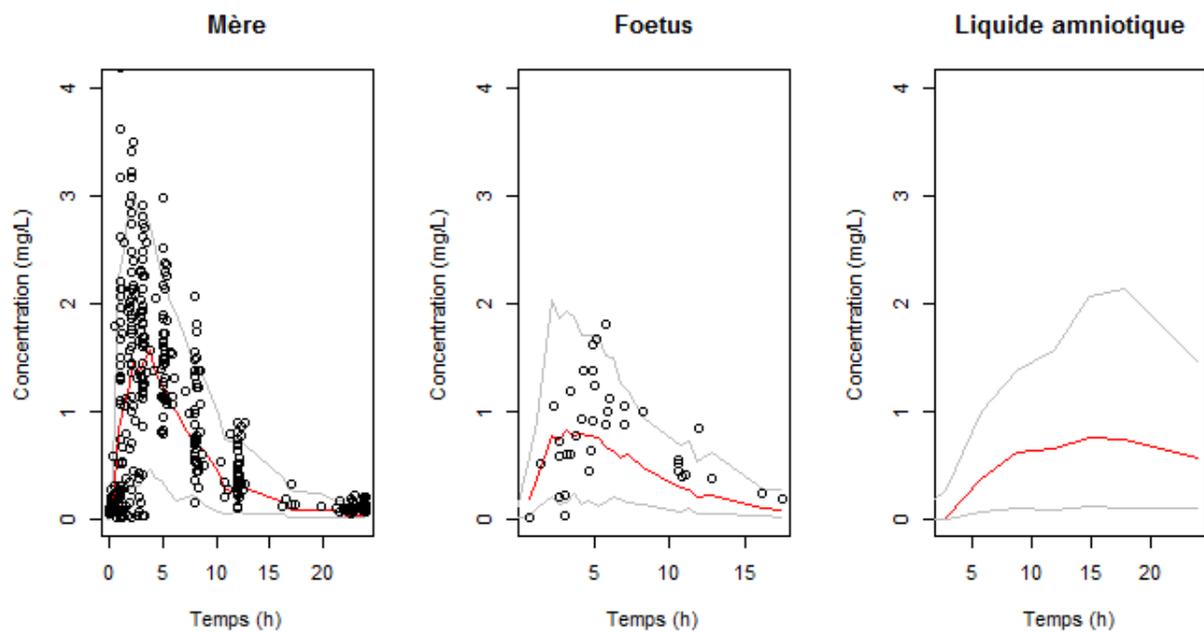


Figure 32 : Modèle simplifié - emtricitabine

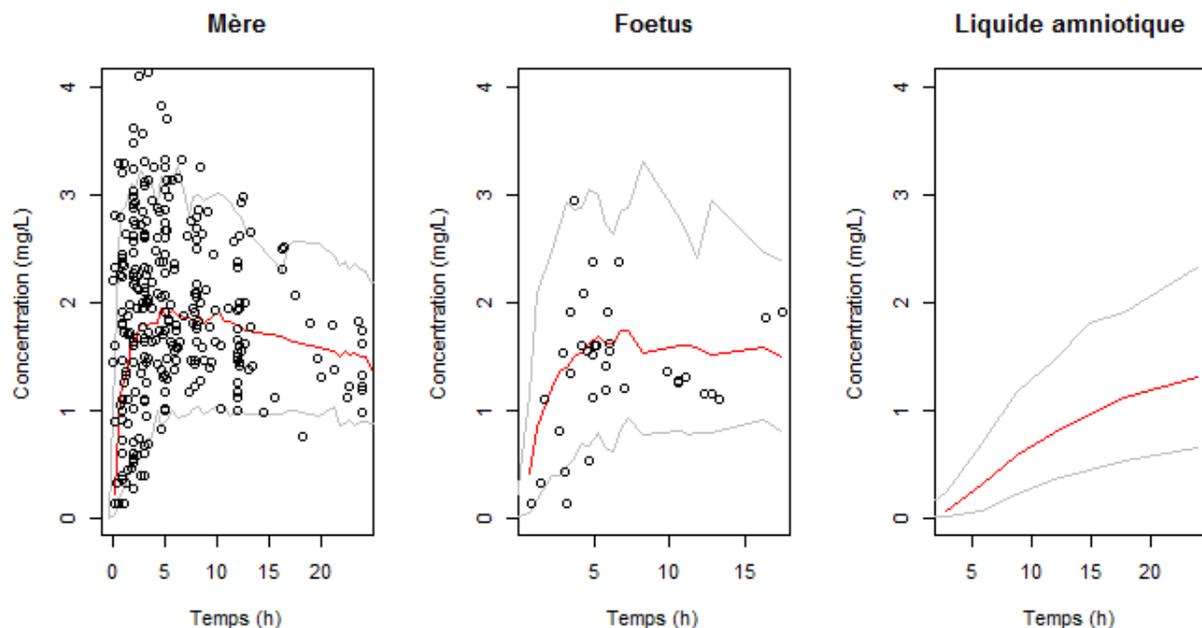


Figure 33 : Modèle simplifié – névirapine

Lignes rouges : profil pharmacocinétique prédit médian, lignes grises : intervalle à 95% des prédictions, points : données observées [42,81,114]

Une autre façon de simplifier le modèle serait d'anticiper les paramètres de passage transplacentaire en fonction des propriétés des molécules.

4. Perspectives

Cette approche a été validée pour des molécules qui ont un passage transplacentaire important. Afin de pouvoir l'utiliser en routine il faudrait s'assurer qu'elle est bien extrapolable à d'autres molécules avec propriétés différentes. Il faudrait notamment s'assurer qu'elle puisse prédire la cinétique fœtale pour des molécules qui passent assez peu à travers la barrière placentaire.

La structure du placenta change tout au long de la grossesse, cette méthode ne permet donc de prédire la cinétique qu'en fin de grossesse. Toutefois sachant que l'épaisseur du placenta

tend à s'amenuiser au cours de la grossesse, que la surface d'échange augmente et que le débit sanguin augmente, il est probable que la diffusion diminue en fin de grossesse [32,137,138]. Cette méthode pourrait donc être utilisée afin d'estimer les concentrations les plus hautes auxquelles pourrait être exposé le fœtus. Toutefois l'activité des transporteurs peut également jouer un rôle dans le passage transplacentaire et cette activité n'est pas connue tout au long de la grossesse. Si la molécule est substrat de transporteurs, le risque de sous-estimer ou de surestimer ces concentrations serait alors important. Etudier l'évolution de certains paramètres du passage transplacentaire pourrait être une première étape pour essayer d'estimer l'exposition fœtale. En effet des connaissances sur l'évolution de la perméabilité et de l'activité des transporteurs permettraient d'avoir une idée plus précise de l'exposition potentielle au cours de la grossesse.

Pour certains antirétroviraux et d'autres médicaments il y a une accumulation dans le liquide amniotique [128]. La question était de savoir si ce réservoir pouvait influencer la PK fœtale et/ou être un indicateur des concentrations fœtales. Les études de sensibilité menées pour nos trois molécules suggèrent que les échanges entre le liquide amniotique et le fœtus influencent grandement les concentrations dans le liquide amniotique et peu celles du fœtus. Au vu de la variabilité interindividuelle observée sur ces paramètres, les concentrations dans le liquide amniotique, bien que dépendantes des concentrations fœtales, ne semblent pas être un substitut fiable des concentrations fœtales [47,50]. Les quelques concentrations disponibles dans le liquide amniotique ont permis de vérifier la cohérence des données physiologiques intégrées dans le modèle, néanmoins afin d'avoir une structure de modèle fiable, des données supplémentaires seraient nécessaires. En effet des mesures de concentrations dans le liquide amniotique pour différentes molécules et avec des délais prise-prélèvement disponibles permettraient de mieux explorer les mécanismes d'échanges entre le liquide amniotique et le fœtus.

CHAPITRE IV: CONCLUSION

Les femmes enceintes peuvent être exposées à de nombreux médicaments sans qu'aucune vérification de l'efficacité et/ou toxicité du médicament dans cette population particulière n'ait été faite [1]. De même dans la majorité des cas, très peu d'informations quant à l'exposition fœtale sont disponibles. Puisqu'il est difficile de réaliser des essais cliniques dans cette population, développer une méthode qui permet de prédire les modifications pharmacocinétiques et le passage transplacentaire est essentiel. Certaines modifications physiologiques sont connues pour influencer la pharmacocinétique et plusieurs études qui ont intégré ces modifications dans des modèles pharmacocinétiques basés sur la physiologie (PBPK) ont déjà été rapportées [3,20,51,53,55,62]. Cependant peu d'études se sont intéressées à l'utilisation de molécules à élimination rénale ou de molécules métabolisées par différents cytochromes au cours de la grossesse.

Pour estimer le passage transplacentaire avant exposition des fœtus, il existe plusieurs types d'expériences *ex-vivo*. La perfusion de cotylédon humain est fréquemment utilisée pour étudier les mécanismes et prédire le passage transplacentaire. C'est la seule technique qui permet d'étudier le passage transplacentaire dans un tissu humain organisé [35]. Toutefois cette approche n'est applicable qu'en fin de grossesse et ne permet pas d'estimer le profil cinétique fœtal car elle ne prend pas en compte la cinétique maternelle et la physiologie fœtale.

Dans cette thèse, des modèles PBPK ont été utilisés pour prédire d'une part la pharmacocinétique maternelle lors de la grossesse et d'autre part la cinétique fœtale. En ce qui concerne la cinétique maternelle nous souhaitons d'une part valider la capacité des modèles PBPK à prédire la cinétique de la femme enceinte et d'autre part explorer des hypothèses quant à l'évolution de la clairance rénale tout au long de la grossesse. Le deuxième objectif était de

développer une méthode permettant de prédire la cinétique fœtale en fin de grossesse en utilisant les résultats obtenus grâce aux expériences *ex-vivo* de cotylédon perfusé.

Les modèles PBPK développés étaient capables de décrire la pharmacocinétique de 3 antirétroviraux éliminés par le rein, le ténofovir, l'émtricitabine et la lamivudine et d'une molécule métabolisée par le CYP3A4, 2D6 et 2B6, la névirapine et ceci pour différentes voies d'administration et pour des populations enceintes et non enceintes. De plus les clairances individuelles disponibles pour le TFV, le FTC et le 3TC tout au long de la grossesse ont permis d'explorer l'évolution de la sécrétion rénale. Pour des molécules dont les transporteurs responsables de la sécrétion rénale ne sont pas saturés aux doses usuelles, l'hypothèse selon laquelle la sécrétion rénale évoluerait proportionnellement au débit plasmatique rénal est la plus crédible.

L'intégration dans les modèles PBPK des paramètres estimés à partir de l'expérience *ex-vivo* a permis la prédiction de la cinétique fœtale en fin de grossesse. Pour les trois molécules étudiées des concentrations mesurées au sang de cordon à l'accouchement ont permis de valider les prédictions. De plus, les études de sensibilité sur les paramètres physiologiques fœtaux ont montré que ceux-ci ont une influence négligeable. A contrario, ces mêmes études de sensibilité ont confirmé l'importance des expériences *ex-vivo*, car les paramètres obtenus *ex-vivo* déterminent la cinétique fœtale. Enfin pour la névirapine nous avons exploré le métabolisme fœtal et en avons conclu que même si celui-ci existe et est proche voire légèrement supérieur à celui du nouveau-né, il n'influence pas la cinétique fœtale.

Pour conclure, cette thèse présente pour la première fois une approche permettant de prédire la cinétique fœtale en fin de grossesse à partir de l'expérience *ex-vivo* de cotylédon perfusé. Valider cette méthode sur un plus grand nombre de molécules est important pour pouvoir la généraliser plus sûrement à des composés dont le passage transplacentaire est inconnu. En outre cette approche reste limitée à la fin de grossesse et des connaissances sur l'évolution de la perméabilité et de l'activité des transporteurs seraient cruciales afin de faire des hypothèses sur le passage transplacentaire à des périodes plus précoces de la grossesse.

Bibliographie

1. Daw JR, Hanley GE, Greyson DL, Morgan SG. Prescription drug use during pregnancy in developed countries: a systematic review. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2011 Sep;20(9):895–902.
2. Staud F, Ceckova M. Regulation of drug transporter expression and function in the placenta. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2015 Apr;11(4):533–55.
3. Ke AB, Rostami-Hodjegan A, Zhao P, Unadkat JD. Pharmacometrics in Pregnancy: An Unmet Need. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2014 Jan 6;54(1):53–69.
4. Caldwell J, Gardner I, Swales N. An introduction to drug disposition: the basic principles of absorption, distribution, metabolism, and excretion. *Toxicol Pathol.* 1995 Apr;23(2):102–14.
5. Levine RR. Factors affecting gastrointestinal absorption of drugs. *Am J Dig Dis.* 1970;15(2):171–188.
6. Rodgers T, Leahy D, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: Predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases. *J Pharm Sci.* 2005 Jun;94(6):1259–76.
7. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther.* 2013 Apr;138(1):103–41.
8. Stingl JC, Brockmöller J, Viviani R. Genetic variability of drug-metabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. *Mol Psychiatry.* 2013 Mar;18(3):273–87.
9. Klaassen CD, Aleksunes LM. Xenobiotic, Bile Acid, and Cholesterol Transporters: Function and Regulation. *Pharmacol Rev.* 2010 Mar;62(1):1–96.
10. Vozech S, Steimer JL, Rowland M, Morselli P, Mentre F, Balant LP, Aarons L. The use of population pharmacokinetics in drug development. *Clin Pharmacokinet.* 1996 Feb;30(2):81–93.
11. Simon N. *Pharmacocinétique de Population Introduction à Nonmem.* SOLAL Editeurs; 2006.
12. Costantine MM. Physiologic and pharmacokinetic changes in pregnancy. *Front Pharmacol.* 2014;5:65.
13. Abduljalil K, Furness P, Johnson TN, Rostami-Hodjegan A, Soltani H. Anatomical, physiological and metabolic changes with gestational age during normal pregnancy: a database for parameters required in physiologically based pharmacokinetic modelling. *Clin Pharmacokinet.* 2012 Jun 1;51(6):365–96.
14. O’Sullivan GM, Bullingham RE. The assessment of gastric acidity and antacid effect in pregnant women by a non-invasive radiotelemetry technique. *Br J Obstet Gynaecol.* 1984 Oct;91(10):973–8.
15. O’Sullivan GM, Sutton AJ, Thompson SA, Carrie LE, Bullingham RE. Noninvasive measurement of gastric emptying in obstetric patients. *Anesth Analg.* 1987 Jun;66(6):505–11.
16. Chiloiro M, Darconza G, Piccioli E, De Carne M, Clemente C, Riezzo G. Gastric emptying and orocecal transit time in pregnancy. *J Gastroenterol.* 2001 Aug;36(8):538–43.
17. Wilson J. Gastric emptying in labour: some recent findings and their clinical significance. *J Int Med Res.* 1978;6 Suppl 1:54–62.

18. Kelly MC, Carabine UA, Hill DA, Mirakhor RK. A comparison of the effect of intrathecal and extradural fentanyl on gastric emptying in laboring women. *Anesth Analg*. 1997 Oct;85(4):834–8.
19. Mosha D, Guidi M, Mwingira F, Abdulla S, Mercier T, Decosterd LA, Csajka C, Genton B. Population Pharmacokinetics and Clinical Response for Artemether-Lumefantrine in Pregnant and Nonpregnant Women with Uncomplicated *Plasmodium falciparum* Malaria in Tanzania. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014 Aug;58(8):4583–92.
20. Ke AB, Nallani SC, Zhao P, Rostami-Hodjegan A, Unadkat JD. A PBPK Model to Predict Disposition of CYP3A-Metabolized Drugs in Pregnant Women: Verification and Discerning the Site of CYP3A Induction. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol*. 2012 Sep;1(9):e3.
21. Dawes M, Chowienczyk PJ. Pharmacokinetics in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2001 Dec;15(6):819–26.
22. Tomson T, Lindbom U, Ekqvist B, Sundqvist A. Epilepsy and Pregnancy: A Prospective Study of Seizure Control in Relation to Free and Total Plasma Concentrations of Carbamazepine and Phenytoin. *Epilepsia*. 1994 Jan 1;35(1):122–30.
23. Wilkinson GR, Shand DG. Commentary: a physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin Pharmacol Ther*. 1975 Oct;18(4):377–90.
24. Clapp JF, Stepanchak W, Tomaselli J, Kortan M, Faneslow S. Portal vein blood flow—Effects of pregnancy, gravity, and exercise. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Jul;183(1):167–72.
25. Fotopoulou C, Kretz R, Bauer S, Schefold JC, Schmitz B, Dudenhausen JW, Henrich W. Prospectively assessed changes in lamotrigine-concentration in women with epilepsy during pregnancy, lactation and the neonatal period. *Epilepsy Res*. 2009 Jul;85(1):60–4.
26. Fischer JH, Sarto GE, Hardman J, Endres L, Jenkins TM, Kilpatrick SJ, Jeong H, Geller S, Deyo K, Fischer PA, Rodvold KA. Influence of gestational age and body weight on the pharmacokinetics of labetalol in pregnancy. *Clin Pharmacokinet*. 2014 Apr;53(4):373–83.
27. Ke AB, Nallani SC, Zhao P, Rostami-Hodjegan A, Isoherranen N, Unadkat JD. A physiologically based pharmacokinetic model to predict disposition of CYP2D6 and CYP1A2 metabolized drugs in pregnant women. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2013 Apr;41(4):801–13.
28. Gaohua L, Abduljalil K, Jamei M, Johnson TN, Rostami-Hodjegan A. A pregnancy physiologically based pharmacokinetic (p-PBPK) model for disposition of drugs metabolized by CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A4. *Br J Clin Pharmacol*. 2012 Nov;74(5):873–85.
29. Ke AB, Nallani SC, Zhao P, Rostami-Hodjegan A, Unadkat JD. Expansion of a PBPK model to predict disposition in pregnant women of drugs cleared via multiple CYP enzymes, including CYP2B6, CYP2C9 and CYP2C19. *Br J Clin Pharmacol*. 2014 Mar;77(3):554–70.
30. Zaske DE, Cipolle RJ, Strate RG, Malo JW, Koszalka MF. Rapid gentamicin elimination in obstetric patients. *Obstet Gynecol*. 1980 Nov;56(5):559–64.
31. Morgan DJ. Drug disposition in mother and foetus. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1997 Nov;24(11):869–73.
32. Prouillac C, Lecoer S. The Role of the Placenta in Fetal Exposure to Xenobiotics: Importance of Membrane Transporters and Human Models for Transfer Studies. *Drug Metab Dispos*. 2010 Jan 10;38(10):1623–35.
33. Anatomie placentaire [Internet]. [cited 2015 Dec 21]. Available from: <http://www.embryology.ch/francais/fplacenta/villosite01.html>

34. Encyclopédie Larousse en ligne - grossesse [Internet]. [cited 2015 Dec 21]. Available from: <http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/grossesse/56826>
35. Myllynen P, Vähäkangas K. Placental transfer and metabolism: An overview of the experimental models utilizing human placental tissue. *Toxicol In Vitro*. 2013 Feb;27(1):507–12.
36. Mandelbrot L, Peytavin G, Firtion G, Farinotti R. Maternal-fetal transfer and amniotic fluid accumulation of lamivudine in human immunodeficiency virus-infected pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2001 Jan;184(2):153–8.
37. Berveiller P, Mir O, Vinot C, Bonati C, Duchene P, Giraud C, Gil S, Treluyer J-M. Transplacental transfer of oseltamivir and its metabolite using the human perfused placental cotyledon model. *Am J Obstet Gynecol*. 2012 Jan;206(1):92.e1-92.e6.
38. Gavard L, Gil S, Peytavin G, Ceccaldi P-F, Ferreira C, Farinotti R, Mandelbrot L. Placental transfer of lopinavir/ritonavir in the ex vivo human cotyledon perfusion model. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jul;195(1):296–301.
39. Forestier F, de Renty P, Peytavin G, Dohin E, Farinotti R, Mandelbrot L. Maternal-fetal transfer of saquinavir studied in the ex vivo placental perfusion model. *Am J Obstet Gynecol*. 2001 Jul;185(1):178–81.
40. Heikkinen T, Ekblad U, Laine K. Transplacental transfer of citalopram, fluoxetine and their primary demethylated metabolites in isolated perfused human placenta. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2002;109(9):1003–1008.
41. Heikkinen T, Ekblad U, Laine K. Transplacental transfer of amitriptyline and nortriptyline in isolated perfused human placenta. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001 Feb;153(4):450–4.
42. Hirt D, Urien S, Rey E, Arrive E, Ekouevi DK, Coffie P, Leang SK, Lalsab S, Avid D, Nerrienet E, McIntyre J, Blanche S, Dabis F, Treluyer J-M. Population Pharmacokinetics of Emtricitabine in Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Pregnant Women and Their Neonates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Dec 22;53(3):1067–73.
43. Fauchet F, Treluyer J-M, Frange P, Urien S, Foissac F, Bouazza N, Benaboud S, Blanche S, Hirt D. Population Pharmacokinetics Study of Recommended Zidovudine Doses in HIV-1-Infected Children. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Oct;57(10):4801–8.
44. Benaboud S, Treluyer JM, Urien S, Blanche S, Bouazza N, Chappuy H, Rey E, Pannier E, Firtion G, Launay O, Hirt D. Pregnancy-Related Effects on Lamivudine Pharmacokinetics in a Population Study with 228 Women. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Feb;56(2):776–82.
45. Hirt D, Urien S, Ekouévi DK, Rey E, Arrivé E, Blanche S, Amani-Bosse C, Nerrienet E, Gray G, Kone M, Leang SK, McIntyre J, Dabis F, Tréluyer J-M. Population pharmacokinetics of tenofovir in HIV-1-infected pregnant women and their neonates (ANRS 12109). *Clin Pharmacol Ther*. 2009 Feb;85(2):182–9.
46. Kiserud T, Ebbing C, Kessler J, Rasmussen S. Fetal cardiac output, distribution to the placenta and impact of placental compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006 Aug;28(2):126–36.
47. Underwood MA, Gilbert WM, Sherman MP. Amniotic Fluid: Not Just Fetal Urine Anymore. *J Perinatol*. 2005 May;25(5):341–8.
48. Beall MH, van den Wijngaard JPHM, van Gemert MJC, Ross MG. Amniotic Fluid Water Dynamics. Placenta. 2007 Aug;28(8–9):816–23.

49. Heller M, Burd L. Review of ethanol dispersion, distribution, and elimination from the fetal compartment. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2014 Apr;100(4):277–83.
50. Arant Jr. BS. Developmental patterns of renal functional maturation compared in the human neonate. *J Pediatr*. 1978 May;92(5):705–12.
51. Alqahtani S, Kaddoumi A. Development of Physiologically Based Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model for Indomethacin Disposition in Pregnancy. Subbian S, editor. *PLOS ONE*. 2015 Oct 2;10(10):e0139762.
52. Pilari S, Preuße C, Huisinga W. Gestational influences on the pharmacokinetics of gestagenic drugs: A combined in silico, in vitro and in vivo analysis. *Eur J Pharm Sci*. 2011 Mar;42(4):318–31.
53. Xia B, Heimbach T, Gollen R, Nanavati C, He H. A Simplified PBPK Modeling Approach for Prediction of Pharmacokinetics of Four Primarily Renally Excreted and CYP3A Metabolized Compounds During Pregnancy. *AAPS J*. 2013 Oct;15(4):1012–24.
54. Eyal S, Easterling TR, Carr D, Umans JG, Miodovnik M, Hankins GDV, Clark SM, Risler L, Wang J, Kelly EJ, Shen DD, Hebert MF. Pharmacokinetics of Metformin during Pregnancy. *Drug Metab Dispos*. 2010 May;38(5):833–40.
55. Gentry PR, Covington TR, Andersen ME, Clewell III HJ. Application of a Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Isopropanol in the Derivation of a Reference Dose and Reference Concentration. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2002 Aug;36(1):51–68.
56. Maruyama W, Yoshida K, Tanaka T, Nakanishi J. Simulation of dioxin accumulation in human tissues and analysis of reproductive risk. *Chemosphere*. 2003 Oct;53(4):301–13.
57. Gargas ML, Tyler TR, Sweeney LM, Corley RA, Weitz KK, Mast TJ, Paustenbach DJ, Hays SM. A toxicokinetic study of inhaled ethylene glycol monomethyl ether (2-ME) and validation of a physiologically based pharmacokinetic model for the pregnant rat and human. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000 May 15;165(1):53–62.
58. Poet TS, Kirman CR, Bader M, Thriel C van, Gargas ML, Hinderliter PM. Quantitative Risk Analysis for N-Methyl Pyrrolidone Using Physiologically Based Pharmacokinetic and Benchmark Dose Modeling. *Toxicol Sci*. 2010 Feb 1;113(2):468–82.
59. Verner M-A, Ayotte P, Muckle G, Charbonneau M, Haddad S. A physiologically based pharmacokinetic model for the assessment of infant exposure to persistent organic pollutants in epidemiologic studies. *Environ Health Perspect*. 2009;117(3):481.
60. Lumen A, Mattie DR, Fisher JW. Evaluation of Perturbations in Serum Thyroid Hormones During Human Pregnancy Due to Dietary Iodide and Perchlorate Exposure Using a Biologically Based Dose-Response Model. *Toxicol Sci*. 2013 Jan 6;133(2):320–41.
61. Verner M-A, Loccisano AE, Morken N-H, Yoon M, Wu H, McDougall R, Maisonet M, Marcus M, Kishi R, Miyashita C, Chen M-H, Hsieh W-S, Andersen ME, Clewell HJ, Longnecker MP. Associations of Perfluoroalkyl Substances (PFAS) with Lower Birth Weight: An Evaluation of Potential Confounding by Glomerular Filtration Rate Using a Physiologically Based Pharmacokinetic Model (PBPK). *Environ Health Perspect*. 2015 Dec;123(12):1317–24.
62. Loccisano AE, Longnecker MP, Campbell JL Jr, Andersen ME, Clewell HJ 3rd. Development of PBPK models for PFOA and PFOS for human pregnancy and lactation life stages. *J Toxicol Environ Health A*. 2013;76(1):25–57.

63. Luecke RH, Wosilait WD, Pearce BA, Young JF. A computer model and program for xenobiotic disposition during pregnancy. *Comput Methods Programs Biomed.* 1997;53(3):201–224.
64. Luecke RH, Wosilait WD, Young JF. Mathematical representation of organ growth in the human embryo/fetus. *Int J Biomed Comput.* 1995 Jun;39(3):337–47.
65. Yoon M, Schroeter JD, Nong A, Taylor MD, Dorman DC, Andersen ME, Clewell HJ. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Fetal and Neonatal Manganese Exposure in Humans: Describing Manganese Homeostasis during Development. *Toxicol Sci.* 2011 Jan 8;122(2):297–316.
66. Shin BS, Hwang SW, Bulitta JB, Lee JB, Yang SD, Park JS, Kwon MC, Kim DJ, Yoon H-S, Yoo SD. Assessment of bisphenol A exposure in Korean pregnant women by physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Toxicol Environ Health A.* 2010;73(21–22):1586–98.
67. Lu G, Abduljalil K, Jamei M, Johnson TN, Soltani H, Rostami-Hodjegan A. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models for assessing the kinetics of xenobiotics during pregnancy: achievements and shortcomings. *Curr Drug Metab.* 2012 Jul;13(6):695–720.
68. Luecke RH, Wosilait WD, Pearce BA, Young JF. A physiologically based pharmacokinetic computer model for human pregnancy. *Teratology.* 1994 Feb;49(2):90–103.
69. Sweeney LM, Kirman CR, Gannon SA, Thrall KD, Gargas ML, Kinzell JH. Development of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for methyl iodide in rats, rabbits, and humans. *Inhal Toxicol.* 2009 May;21(6):552–82.
70. Shintaku K, Hori S, Satoh H, Tsukimori K, Nakano H, Fujii T, Taketani Y, Ohtani H, Sawada Y. Prediction and evaluation of fetal toxicity induced by NSAIDs using transplacental kinetic parameters obtained from human placental perfusion studies. *Br J Clin Pharmacol.* 2012 Feb;73(2):248–56.
71. Kearney BP, Flaherty JF, Shah J. Tenofovir disoproxil fumarate: clinical pharmacology and pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(9):595–612.
72. Gilead Sciences, Inc. Product Information: Emtriva(TM), emtricitabine capsules. 2003.
73. GlaxoSmithKline, Research Triangle Park. Product Information: Epivir(R), lamivudine. 2002.
74. Pau AK, George JM. Antiretroviral therapy: current drugs. *Infect Dis Clin North Am.* 2014 Sep;28(3):371–402.
75. ViiV Healthcare Shire Canada. monographie Heptovir,lamivudine [Internet]. 2011 [cited 2014 Jan 21]. Available from: <http://www.gsk.ca/french/docs-pdf/product-monographs/Heptovir.pdf>
76. Fan-Havard P, Liu Z, Chou M, Ling Y, Barrail-Tran A, Haas DW, Taburet A-M. Pharmacokinetics of Phase I Nevirapine Metabolites following a Single Dose and at Steady State. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jan 5;57(5):2154–60.
77. Lamson MJ, Sabo JP, MacGregor TR, Pav JW, Rowland L, Hawi A, Cappola M, Robinson P. Single dose pharmacokinetics and bioavailability of nevirapine in healthy volunteers. *Biopharm Drug Dispos.* 1999 Sep;20(6):285–91.
78. Janneh O, Khoo S. Interactions of Tenofovir, Lamivudine, Abacavir and Didanosine in Primary Human Cells. *Pharmaceutics.* 2011 Jun 22;3(4):326–37.
79. Ibarra M, Vázquez M, Fagiolino P. Population pharmacokinetic model to analyze nevirapine multiple-peaks profile after a single oral dose. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2014 Aug;41(4):363–73.

80. Gilead Sciences, Inc. Product Information: VIREAD(R) oral tablets, tenofovir disoproxil fumarate oral tablets. 2010.
81. Benaboud S, Hirt D, Launay O, Pannier E, Firtion G, Rey E, Bouazza N, Foissac F, Chappuy H, Urien S, Treluyer JM. Pregnancy-Related Effects on Tenofovir Pharmacokinetics: a Population Study with 186 Women. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Nov 28;56(2):857–62.
82. Lee WA, He G-X, Eisenberg E, Cihlar T, Swaminathan S, Mulato A, Cundy KC. Selective Intracellular Activation of a Novel Prodrug of the Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase Inhibitor Tenofovir Leads to Preferential Distribution and Accumulation in Lymphatic Tissue. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Apr 26;49(5):1898–906.
83. Johnson MA, Moore KH, Yuen GJ, Bye A, Pakes GE. Clinical pharmacokinetics of lamivudine. *Clin Pharmacokinet.* 1999 Jan;36(1):41–66.
84. Cramer YS, Rosenkranz SL, Hall SD, Szczech LA, Amorosa V, Gupta SK. Hemodialysis Does Not Significantly Affect the Pharmacokinetics of Nevirapine in HIV-1-Infected Persons Requiring Hemodialysis: Results From ACTG A5177: *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010 Aug;54(4):e7–9.
85. Ray AS, Cihlar T, Robinson KL, Tong L, Vela JE, Fuller MD, Wieman LM, Eisenberg EJ, Rhodes GR. Mechanism of Active Renal Tubular Efflux of Tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Sep 27;50(10):3297–304.
86. Cihlar T, LaFlamme G, Fisher R, Carey AC, Vela JE, Mackman R, Ray AS. Novel Nucleotide Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase Inhibitor GS-9148 with a Low Nephrotoxic Potential: Characterization of Renal Transport and Accumulation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Nov 10;53(1):150–6.
87. Jung N, Lehmann C, Rubbert A, Knispel M, Hartmann P, van Lunzen J, Stellbrink H-J, Faetkenheuer G, Taubert D. Relevance of the Organic Cation Transporters 1 and 2 for Antiretroviral Drug Therapy in Human Immunodeficiency Virus Infection. *Drug Metab Dispos.* 2008 May 19;36(8):1616–23.
88. de Souza J, Benet LZ, Huang Y, Storpirtis S. Comparison of bidirectional lamivudine and zidovudine transport using MDCK, MDCK-MDR1, and Caco-2 cell monolayers. *J Pharm Sci.* 2009 Nov;98(11):4413–9.
89. Minuesa G, Volk C, Molina-Arcas M, Gorboulev V, Erkizia I, Arndt P, Clotet B, Pastor-Anglada M, Koepsell H, Martinez-Picado J. Transport of Lamivudine [(–)-L-2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidine] and High-Affinity Interaction of Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors with Human Organic Cation Transporters 1, 2, and 3. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009 Jan 13;329(1):252–61.
90. Müller F, König J, Hoier E, Mandery K, Fromm MF. Role of organic cation transporter OCT2 and multidrug and toxin extrusion proteins MATE1 and MATE2-K for transport and drug interactions of the antiviral lamivudine. *Biochem Pharmacol.* 2013 Sep 15;86(6):808–15.
91. Bousquet L, Pruvost A, Didier N, Farinotti R, Mabondzo A. Emtricitabine: Inhibitor and substrate of multidrug resistance associated protein. *Eur J Pharm Sci.* 2008 Nov 15;35(4):247–56.
92. Michaud V, Bar-Magen T, Turgeon J, Flockhart D, Desta Z, Wainberg MA. The Dual Role of Pharmacogenetics in HIV Treatment: Mutations and Polymorphisms Regulating Antiretroviral Drug Resistance and Disposition. *Pharmacol Rev.* 2012 Jan 7;64(3):803–33.
93. Liptrott NJ, Pushpakom S, Wyen C, Fätkenheuer G, Hoffmann C, Mauss S, Knechten H, Brockmeyer NH, Hopper-Borge E, Siccardi M, Back DJ, Khoo SH, Pirmohamed M, Owen A, German Competence Network for HIV/AIDS. Association of ABCC10 polymorphisms with nevirapine plasma concentrations in the German Competence Network for HIV/AIDS. *Pharmacogenet Genomics.* 2012 Jan;22(1):10–9.

94. Deeks SG, Barditch-Crovo P, Lietman PS, Hwang F, Cundy KC, Rooney JF, Hellmann NS, Safrin S, Kahn JO. Safety, Pharmacokinetics, and Antiretroviral Activity of Intravenous 9-[2-(R)-(Phosphonomethoxy)propyl]adenine, a Novel Anti-Human Immunodeficiency Virus (HIV) Therapy, in HIV-Infected Adults. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998 Sep;42(9):2380.
95. van Leeuwen R, Lange JM, Hussey EK, Donn KH, Hall ST, Harker AJ, Jonker P, Danner SA. The safety and pharmacokinetics of a reverse transcriptase inhibitor, 3TC, in patients with HIV infection: a phase I study. *AIDS Lond Engl*. 1992 Dec;6(12):1471–5.
96. Campbell JL, Clewell RA, Gentry PR, Andersen ME, Clewell HJ. Physiologically Based Pharmacokinetic/Toxicokinetic Modeling. In: Reisfeld B, Mayeno AN, editors. *Computational Toxicology* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2012 [cited 2013 Apr 9]. p. 439–99. Available from: http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-62703-050-2_18
97. Price PS, Conolly RB, Chaisson CF, Gross EA, Young JS, Mathis ET, Tedder DR. Modeling Interindividual Variation in Physiological Factors Used in PBPK Models of Humans. *Crit Rev Toxicol*. 2003 Jan;33(5):469–503.
98. Peters AM, Perry L, Hooker CA, Howard B, Neilly MDJ, Seshadri N, Sobnack R, Irwin A, Snelling H, Gruning T, Patel NH, Lawson RS, Shabo G, Williams N, Dave S, Barnfield MC. Extracellular fluid volume and glomerular filtration rate in 1878 healthy potential renal transplant donors: effects of age, gender, obesity and scaling. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Apr 1;27(4):1429–37.
99. Rodgers T, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *J Pharm Sci*. 2006 Jun;95(6):1238–57.
100. Di Mascio M, Srinivasula S, Bhattacharjee A, Cheng L, Martiniova L, Herscovitch P, Lertora J, Kiesewetter D. Antiretroviral Tissue Kinetics: In Vivo Imaging Using Positron Emission Tomography. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Aug 10;53(10):4086–95.
101. Imaoka T, Kusuhara H, Adachi M, Schuetz JD, Takeuchi K, Sugiyama Y. Functional Involvement of Multidrug Resistance-Associated Protein 4 (MRP4/ABCC4) in the Renal Elimination of the Antiviral Drugs Adefovir and Tenofovir. *Mol Pharmacol*. 2007 Jan 2;71(2):619–27.
102. Klein DM, Evans KK, Hardwick RN, Dantzer WH, Wright SH, Cherrington NJ. Basolateral uptake of nucleosides by Sertoli cells is mediated primarily by equilibrative nucleoside transporter 1. *J Pharmacol Exp Ther*. 2013 Jul;346(1):121–9.
103. Gish RG, Leung NWY, Wright TL, Trinh H, Lang W, Kessler HA, Fang L, Wang LH, Delehanty J, Rigney A, Mondou E, Snow A, Rousseau F. Dose Range Study of Pharmacokinetics, Safety, and Preliminary Antiviral Activity of Emtricitabine in Adults with Hepatitis B Virus Infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Jun 1;46(6):1734–40.
104. Riska P, Lamson M, MacGregor T, Sabo J, Hattox S, Pav J, Keirns J. Disposition and biotransformation of the antiretroviral drug nevirapine in humans. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 1999 Aug;27(8):895–901.
105. Lamson M, MacGregor T, Riska P, Erickson D, Maxfield P, Rowland L, Gigliotti M, Robinson P, Azzam S, Keirns J. Nevirapine induces both CYP3A4 and CYP2B6 metabolic pathways. *Clin Pharmacol Ther*. 1999;65(2):137–137.
106. Erickson DA, Mather G, Trager WF, Levy RH, Keirns JJ. Characterization of the In Vitro Biotransformation of the HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor Nevirapine by Human Hepatic Cytochromes P-450. *Drug Metab Dispos*. 1999 Jan 12;27(12):1488–95.

107. Wenning LA, Friedman EJ, Kost JT, Breidinger SA, Stek JE, Lasseter KC, Gottesdiener KM, Chen J, Tepler H, Wagner JA, Stone JA, Iwamoto M. Lack of a Significant Drug Interaction between Raltegravir and Tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Jul 14;52(9):3253–8.
108. Wang LH, Begley J, St Claire RL 3rd, Harris J, Wakeford C, Rousseau FS. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of emtricitabine support its once daily dosing for the treatment of HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004 Nov;20(11):1173–82.
109. Moltó J, Valle M, Miranda C, Cedeño S, Miranda J, Santos JR, Negredo E, Vilaró J, Costa J, Clotet B. Once- or twice-daily dosing of nevirapine in HIV-infected adults: a population pharmacokinetics approach. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Oct;62(4):784–92.
110. Mallants R, Van Oosterwyck K, Van Vaeck L, Mols R, De Clercq E, Augustijns P. Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) affects hepatobiliary elimination but not the intestinal disposition of tenofovir disoproxil fumarate and its metabolites. *Xenobiotica*. 2005 Nov;35(10–11):1055–66.
111. Colbers APH, Hawkins DA, Gingelmaier A, Kabeya K, Rockstroh JK, Wyen C, Weizsäcker K, Sadiq ST, Ivanovic J, Giaquinto C, Taylor GP, Moltó J, Burger DM, PANNA network. The pharmacokinetics, safety and efficacy of tenofovir and emtricitabine in HIV-1-infected pregnant women. *AIDS Lond Engl*. 2013 Mar 13;27(5):739–48.
112. Valade E, Tréluyer J-M, Dabis F, Arrivé E, Pannier E, Benaboud S, Fauchet F, Bouazza N, Foissac F, Urien S, Hirt D. Modified renal function in pregnancy: impact on emtricitabine pharmacokinetics: FTC population pharmacokinetics during pregnancy. *Br J Clin Pharmacol*. 2014 Dec;78(6):1378–86.
113. Stek AM, Best BM, Luo W, Capparelli E, Burchett S, Hu C, Li H, Read JS, Jennings A, Barr E, Smith E, Rossi SS, Mirochnick M. Effect of pregnancy on emtricitabine pharmacokinetics. *HIV Med*. 2012 Apr;13(4):226–35.
114. Benaboud S, Ekouévi DK, Urien S, Rey E, Arrivé E, Blanche S, Gray G, Sim KL, Avit D, McIntyre J, Nerrienet E, Dabis F, Tréluyer J-M, Hirt D. Population pharmacokinetics of nevirapine in HIV-1-infected pregnant women and their neonates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Jan;55(1):331–7.
115. Czuba MA, Morgan DJ, Ching MS, Mihaly GW, Hardy KJ, Smallwood RA. Ontogeny of fetal renal organic cation excretion: a study with cimetidine and ranitidine during the latter half of gestation in the pregnant ewe. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990 Dec;255(3):1177–82.
116. Biology LLUC for P. *Advances in Fetal and Neonatal Physiology: Proceedings of the Center for Perinatal Biology 40th Anniversary Symposium*. Springer; 2014. 258 p.
117. Gilbert WM, Newman PS, Eby-Wilkens E, Brace RA. Technetium Tc 99m rapidly crosses the ovine placenta and intramembranous pathway. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Dec;175(6):1557–62.
118. Gilbert WM, Cheung CY, Brace RA. Rapid intramembranous absorption into the fetal circulation of arginine vasopressin injected intraamniotically. *Am J Obstet Gynecol*. 1991 Apr;164(4):1013-1018-1020.
119. Smith GCS, Cameron AD. Estimating human fetal blood volume on the basis of gestational age and fetal abdominal circumference. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2002 Jun 1;109(6):721–2.
120. Zanardo V, Gabrieli C, de Luca F, Trevisanuto D, De Santis M, Scambia G, Straface G. Head-to-body delivery by ‘two-step’ approach: effect on cord blood hematocrit. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2013 Aug;26(12):1234–8.

121. Chang Y-H, Yang S-H, Wang T-F, Lin T-Y, Yang K-L, Chen S-H. Complete Blood Count Reference Values of Cord Blood in Taiwan and the Influence of Gender and Delivery Route on Them. *Pediatr Neonatol*. 2011 Jun;52(3):155–60.
122. Eskola M, Juutistenaho S, Aranko K, Sainio S, Kekomäki R. Association of cord blood platelet count and volume with hemoglobin in healthy term infants. *J Perinatol*. 2010;31(4):258–262.
123. Ziegler EE, O'Donnell AM, Nelson SE, Fomon SJ. Body composition of the reference fetus. *Growth*. 1976 Dec;40(4):329–41.
124. Uttley WS, Habel AH. Fluid and electrolyte metabolism in the newborn infant. *Clin Endocrinol Metab*. 1976 Mar;5(1):3–37.
125. Kuipers RS, Luxwolda MF, Offringa PJ, Rudi Boersma E, Dijck-Brouwer DAJ, Muskiet FAJ. Fetal intrauterine whole body linoleic, arachidonic and docosahexaenoic acid contents and accretion rates. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2012 Jan;86(1–2):13–20.
126. Roux JF, Takeda Y, Grigorian A. Lipid concentration and composition in human fetal tissue during development. *Pediatrics*. 1971 Oct;48(4):540–6.
127. Mirochnick M, Taha T, Kreitchmann R, Nielsen-Saines K, Kumwenda N, Joao E, Pinto J, Santos B, Parsons T, Kearney B, others. Pharmacokinetics and Safety of Tenofovir in HIV-infected women during labor and their infants during the first week of life. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014;65(1):33–41.
128. Else LJ, Taylor S, Back DJ, Khoo SH. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: the fetal compartment (placenta and amniotic fluid). *Antivir Ther*. 2011;16(8):1139–47.
129. Schneider H, Panigel M, Dancis J. Transfer across the perfused human placenta of antipyrine, sodium and leucine. *Am J Obstet Gynecol*. 1972 Nov 15;114(6):822–8.
130. Jung BH, Rezk NL, Bridges AS, Corbett AH, Kashuba ADM. Simultaneous determination of 17 antiretroviral drugs in human plasma for quantitative analysis with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2007 Oct;21(10):1095–104.
131. Shintaku K, Arima Y, Dan Y, Takeda T, Kogushi K, Tsujimoto M, Nagata H, Satoh S, Tsukimori K, Nakano H, Hori S, Ohtani H, Sawada Y. Kinetic Analysis of the Transport of Salicylic Acid, a Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug, across Human Placenta. *Drug Metab Dispos*. 2007 Feb 9;35(5):772–8.
132. Simon N. Analyse pharmacocinétique et pharmacodynamique par approche de population. Estimation, évaluation, simulation. [Internet]. Solal. 2011 [cited 2015 Apr 20]. Available from: about:home
133. Lindstrom ML, Bates DM. Nonlinear mixed effects models for repeated measures data. *Biometrics*. 1990 Sep;46(3):673–87.
134. Kuhn E, Lavielle M. Coupling a stochastic approximation version of EM with an MCMC procedure. *ESAIM Probab Stat*. 2004 Sep;8:115–131.
135. Holford N. VPC, the visual predictive check—superiority to standard diagnostic(Rorschach) plots. Pamplone, Spain; 2005 [cited 2015 Apr 24]. Available from: about:home
136. Corley RA, Bartels MJ, Carney EW, Weitz KK, Soelberg JJ, Gies RA, Thrall KD. Development of a Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Ethylene Glycol and Its Metabolite, Glycolic Acid, in Rats and Humans. *Toxicol Sci*. 2005 Jan 5;85(1):476–90.

137. Mayhew TM. Morphomics: An integral part of systems biology of the human placenta. *Placenta*. 2015 Apr;36(4):329–40.
138. Syme MR, Paxton JW, Keelan JA. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(8):487–514.

Les femmes enceintes sont exposées à de nombreux médicaments et les essais cliniques sont difficilement réalisables dans cette population, c'est pourquoi avoir une méthode qui permet d'estimer l'ampleur des modifications de pharmacocinétique chez la femme enceinte et le passage transplacentaire est essentiel. En effet les modifications physiologiques prennent place durant cette période clé. Nous avons développé des modèles pharmacocinétiques basé sur la physiologie (PBPK) et intégré les modifications physiologiques connues survenant durant la grossesse. Ils décrivent bien la pharmacocinétique de 3 antirétroviraux éliminés par le rein, le ténofovir (TFV), l'emtricitabine (FTC) et la lamivudine (3TC) et d'une molécule métabolisée par le CYP3A4, 2D6 et 2B6, la névirapine (NVP) et ceci pour différentes voies d'administration et pour des populations enceintes et non enceintes. De plus les clairances individuelles disponibles pour le TFV, le FTC et le 3TC tout au long de la grossesse ont permis d'explorer l'évolution de la sécrétion rénale. Celle-ci évoluerait proportionnellement au débit plasmatique rénal. L'intégration dans les modèles PBPK, des paramètres estimés à partir de l'expérience *ex-vivo* de cotylédon humain perfusé, a permis la prédiction de la cinétique fœtale en fin de grossesse du TFV, FTC et NVP. Les prédictions ont été validées en les comparant aux concentrations mesurées au sang de cordon à l'accouchement. De plus, pour la névirapine nous avons exploré le métabolisme fœtal et en avons conclu que même si celui-ci existe et est proche voir un peu supérieur à celui du nouveau-né, il n'influence pas la cinétique fœtale.

Mots clés : Pharmacocinétique, PBPK, grossesse, foetus, cotyledon, placenta, névirapine, ténofovir, emtricitabine, lamivudine

Pregnant women are exposed to numerous drugs and for obvious ethical reasons studies in this sensitive population are limited. Information about the maternal pharmacokinetic (PK) changes and transplacental transfer of drugs prior to their administration to pregnant women would be highly useful. Indeed it is known that physiological changes during pregnancy can affect drug disposition. Time-varying pregnancy-related physiological parameters changes were implemented in full PBPK models. They successfully predicted the disposition of 3 renally excreted drugs tenofovir (TFV), emtricitabine (FTC) and lamivudine (3TC) and one metabolized drug, nevirapine (NVP) for non-pregnant and pregnant populations. We found that both renal secretion and filtration changed during pregnancy. Changes in renal clearance secretion were related to changes in renal plasma flow. Transplacental parameters estimated from *ex vivo* human placenta perfusion experiments implemented in PBPK models allowed good prediction of foetal TFV, FTC and NVP PK. Predictions were compared to observed cord blood concentrations to validate these models. Moreover, we have explored nevirapine foetal metabolism and concluded that even if the foetal metabolism is the same than the newborn one or a little more important, it is not likely to impact foetal PK.

Key words: pharmacokinetics, PBPK, pregnancy, foetus, cotyledon, placenta, nevirapine, tenofovir, emtricitabine, lamivudine