



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**“APPROCCI DI FARMACOCINETICA/FARMACODINAMICA PER LO
STUDIO DI TERAPIE CON ANTICORPI MONOCLONALI PER IL
TRATTAMENTO DEL MIELOMA MULTIPLO”**

Relatore: Prof. Roberto Visentin

Laureando: Francesco Biasin

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

Data di laurea 21/07/2023

Riassunto

Il Mieloma Multiplo (MM) è un tipo di tumore che coinvolge le plasmacellule, cellule derivanti dai linfociti B che producono anticorpi. Il MM rimane incurabile nella maggioranza dei casi, tuttavia recentemente è emerso un approccio mirato al trattamento della malattia che utilizza anticorpi monoclonali (mAb). Gli mAb si legano agli antigeni espressi sulla superficie delle cellule di MM uccidendole attraverso il sistema immunitario e/o promuovendone l'apoptosi. Grazie alla loro particolare modalità d'azione, gli mAb rappresentano una cura promettente sia per i pazienti sui quali i regimi terapeutici tradizionali non sono più efficaci sia come parte dei trattamenti iniziali nei pazienti di nuova diagnosi. Inoltre sembrano essere generalmente più tollerati rispetto alle terapie tradizionali. Pur mostrando molti vantaggi, come la lunga emivita e attività altamente selettive, gli mAb impiegati nel trattamento del MM soffrono di diverse limitazioni legate alla loro farmacocinetica (PK) e farmacodinamica (PD) tra cui l'elevata variabilità e alti tassi di resistenza al trattamento. In questo contesto, l'impiego di modelli PK/PD ha un impatto significativo, in quanto permette di capire le complesse relazioni tra PK e PD e tra dose e risposta, di migliorare lo sviluppo di nuovi mAb e di fornire supporto alle decisioni negli studi clinici.

In questa tesi vengono analizzati tre modelli PK presenti in letteratura, che descrivono il trattamento del MM attraverso terapie con gli anticorpi monoclonali. Vengono trattati sia mAb come agenti singoli, sia in combinazione con farmaci immunomodulatori, sia coniugati farmaco-anticorpo e viene caratterizzata la loro PK e la PD di uno dei tre. In particolare, verranno presentati tre casi di studio riguardanti lo sviluppo di modelli PK di popolazione, rispettivamente di un mAb umano (daratumumab), un mAb umanizzato (elotuzumab) e un mAb umanizzato coniugato con un farmaco citotossico (belantamab mafodotin).

La PK di daratumumab viene descritta da un modello PK bi-compartimentale con assorbimento del primo ordine e due vie di eliminazione parallele, una lineare e l'altra non-lineare, e considerando come covariate statisticamente significative il peso, il tipo di mieloma, il sesso e la concentrazione di albumina. L'analisi esposizione-risposta relativa alla sicurezza ha mostrato che daratumumab ha un profilo di sicurezza accettabile. Inoltre essendo un mAb umano, si sono riscontrati pochi casi di anticorpi anti farmaco.

La PK di elotuzumab nei pazienti con MM viene descritta da un modello bi-compartimentale con infusione endovenosa di ordine zero, eliminazioni parallele lineare e di Michaelis-Menten dal compartimento centrale ed eliminazione aggiuntiva mediata dal bersaglio dal compartimento periferico. Le uniche covariate clinicamente rilevanti sui parametri PK sono risultate essere: peso, assenza di terapia di combinazione con lenalidomide/desametasone e proteina M tempo-variante.

Riguardo belantamab mafodotin, la sua PK viene descritta tramite tre modelli bi-compartimentali, con clearance tempo-variante per il coniugato farmaco-anticorpo (ADC) e rapporto farmaco-anticorpo (*DAR*) tempo-variante per l'agente citotossico legato all'mAb (cys-mcMMAF). Le covariate con un effetto maggiore sui parametri PK e sull'esposizione dell'ADC sono risultate essere

le concentrazioni di agente di maturazione dei linfociti B e di immunoglobuline G, i livelli plasmatici di albumina e il peso.

La performance predittiva dei tre modelli è risultata soddisfacente. Dai risultati ottenuti si evince come, in generale, l'impiego di modelli PK basati sulla fisiologia possa contribuire a una miglior comprensione e analisi dei meccanismi di esposizione e risposta ai trattamenti antitumorali nel MM, svolgendo una funzione di supporto all'ottimizzazione degli stessi.

Indice

Glossario	1
CAPITOLO 1 - Introduzione.....	3
1.1 Mieloma multiplo.....	3
1.2 Gli anticorpi monoclonali per il trattamento del mieloma multiplo	3
1.2.1 Meccanismo d'azione e antigeni bersaglio	5
1.3 Farmacocinetica e farmacodinamica degli anticorpi monoclonali	7
1.3.1 I modelli compartimentali in sintesi.....	8
1.4 Scopo della tesi	9
CAPITOLO 2 - Daratumumab.....	11
2.1 Introduzione	11
2.2 Metodi	11
2.2.1 Modello di farmacocinetica.....	12
2.2.2 Simulazioni della farmacocinetica	14
2.3 Risultati	15
2.3.1 Modello di farmacocinetica.....	15
2.3.2 Simulazioni	18
2.3.2.1 Analisi esplorative esposizione-risposta	19
2.4 Discussione	20
CAPITOLO 3 - Elotuzumab	23
3.1 Introduzione	23
3.2 Metodi	23
3.2.1 Modello di farmacocinetica.....	24
3.2.2 Simulazioni della farmacocinetica	27
3.3 Risultati	27
3.3.1 Modello di farmacocinetica	27
3.3.2 Simulazioni	32
3.4 Discussione	34
CAPITOLO 4 - Belantamab Mafodotin	37
4.1 Introduzione	37
4.2 Metodi	37
4.2.1 Modelli di farmacocinetica	37
4.2.2 Simulazioni della farmacocinetica	39
4.3 Risultati	40
4.3.1 Modelli di farmacocinetica	40

4.3.1.1 Modello per il complesso farmaco-anticorpo	40
4.3.1.2 Modello per l'anticorpo monoclonale totale.....	43
4.3.1.3 Modello per la cys-mcMMAF	43
4.3.2 Simulazioni	47
4.4 Discussione	48
Conclusioni	51
Bibliografia	55
Ringraziamenti	57

Glossario

ADA: anticorpi anti-farmaco
ADC: coniugato farmaco-anticorpo
ADCC: citotossicità anticorpo-dipendente mediata da cellule
ADCP: fagocitosi anticorpo-dipendente mediata da cellule
ASCT: trapianto autologo di cellule staminali
B2MICG: microglobulina β 2
BCMA (CS1): antigene di maturazione delle cellule B
CDC: citotossicità mediata dalle proteine del complemento
CL: clearance
cys-mcMMAF: cisteina maleimidocaproil monometil auristatina F
D-Pd: daratumumab in combinazione con pomalidomide e desametasone
ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*
eGFR: *rate* stimato di filtrazione glomerulare
E-R: esposizione-risposta
Fc: frammento cristallizzabile (di un anticorpo)
FcRn: recettore Fc neonatale
Fc γ R: recettore Fc gamma
IgG: immunoglobuline G
IRR: reazioni avverse correlate all'infusione
ISS: sistema internazionale di stadiazione
IV: endovenosa (somministrazione)
LDH: lattato deidrogenasi
mAb: anticorpo monoclonale
MGUS: gammopatia monoclonale di incerto significato
MM: mieloma multiplo
NK: *natural killer*
NLMEM: modello non-lineare ad effetti misti
PD: farmacocinetica
Pd: pomalidomide/desametasone
PFS: sopravvivenza libera da progressione
PK: farmacocinetica
PPK: farmacocinetica di popolazione
QnW: una dose ogni n settimane
RRMM: mieloma multiplo recidivo e refrattario
SC: sottocutanea (somministrazione)
SLAMF7: membro 7 della famiglia di molecole attivatrici dei linfociti
TEAE: reazioni avverse emergenti dal trattamento

TMDD: disposizione del farmaco mediata dal bersaglio

VPC: *visual predictive check*

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Mieloma multiplo

Il mieloma multiplo (MM) è un tumore del sangue che colpisce le plasmacellule, cellule del sistema immunitario che derivano dai linfociti B, preposte alla produzione di anticorpi (chiamati anche immunoglobuline o gammaglobuline). Queste cellule producono un anticorpo che si accumula nell'organismo detto componente monoclonale oppure proteina M. Le plasmacellule tumorali stimolano l'attività degli osteoclasti attraverso la produzione di particolari sostanze, provocando lesioni nelle ossa. Di solito il MM porta ad alti livelli plasmatici di calcio (che interferisce con il funzionamento del sistema nervoso) e ad insufficienza renale [1,2].

Ogni anno globalmente vengono riportati circa 80.000 nuovi casi di MM, pari a circa l'1% dei casi di cancro e il 10% dei tumori del sangue. La malattia è più comune in età avanzata, in particolare in individui con più di 65 anni [2].

Non è ancora chiaro quali siano le cause della malattia. Il MM è preceduto dalla gammopatia monoclonale di incerto significato (*monoclonal gammopathy of undetermined significance*, MGUS). Questa condizione è caratterizzata da produzione eccessiva di anticorpi (gammopatia) tutti dello stesso tipo (monoclonale). Normalmente la MGUS è silente e non richiede di essere trattata. Non sempre dopo la MGUS si sviluppa il MM ma quasi tutti i pazienti con MM sono stati affetti da MGUS. La fase successiva può essere il mieloma indolente (*smoldering myeloma*) che ha un rischio maggiore di evolvere in MM. Nel caso in cui il rapporto tra plasmacellule tumorali e plasmacellule non tumorali sia maggiore del 10% e si registrino alti livelli di proteina M, al paziente viene diagnosticato il MM. Il MM sintomatico porta a insufficienza renale, lesioni ossee, ipercalcemia e anemia [1].

Lo stato di avanzamento del MM viene valutato con diversi criteri. Il sistema internazionale di stadiazione (*staging*) (ISS) divide il MM in tre stadi a seconda di: livelli plasmatici di albumina, β_2 -microglobulina e piastrine; età del paziente; funzione renale. Un altro criterio, usato nella pianificazione dei trial clinici, è lo stato di performance *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG), che valuta l'impatto della malattia sull'abilità del paziente a svolgere le proprie attività quotidiane [3].

Quando un paziente risponde inizialmente bene alle cure ma successivamente il tumore continua a crescere, si parla di MM recidivo. Quando il MM continua a peggiorare nonostante i trattamenti assunti, si parla di MM refrattario. Se il paziente inizialmente risponde in maniera scarsa ai trattamenti per poi peggiorare durante la terapia, si parla di mieloma multiplo recidivo e refrattario (RRMM) [4].

1.2 Gli anticorpi monoclonali per il trattamento del mieloma multiplo

Per il trattamento del MM esistono diverse terapie. Nei pazienti con meno di 65 anni si procede al trapianto autologo di cellule staminali (ASCT). Tuttavia, l'età media dei malati di MM è 70 anni. Di

conseguenza, non potendo ricevere l'ASCT, tali pazienti vengono trattati con l'immunoterapia, un'alternativa valida e generalmente meglio tollerata rispetto ai farmaci comunemente usati nel trattamento intensivo del MM. L'immunoterapia comprende i farmaci immunomodulatori, la terapia con cellule CAR-T e il trattamento con anticorpi monoclonali (mAb). In particolare, gli mAb si sono dimostrati abbastanza efficaci sia nelle prime fasi della malattia sia nelle fasi più avanzate [5].

In genere gli anticorpi sono proteine prodotte dall'organismo in risposta a uno stimolo antigenico. Il

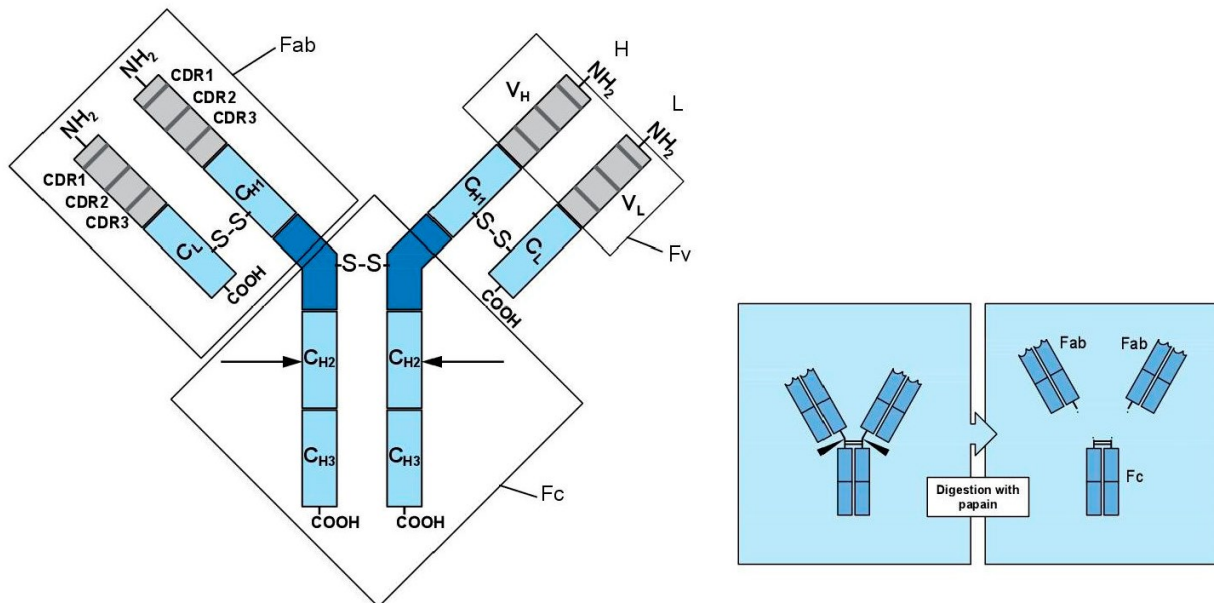


Figura 1.1.[5] Struttura di un anticorpo monoclonale. CDR, sequenza ipervariabile; C_H , regione costante della catena pesante; C_L , regione costante della catena leggera; Fab, frammento legante l'antigene; Fc, frammento cristallizzabile; Fv, frammento variabile; V_H , regione variabile della catena pesante; V_L , regione variabile della catena leggera.

riconoscimento di un antigene attiva la proliferazione e differenziazione dei linfociti B in cellule della memoria e plasmacellule, queste ultime responsabili della produzione di anticorpi contro l'antigene. Le porzioni dell'antigene che interagiscono con i rispettivi anticorpi sono detti epitopi; questi vengono riconosciuti con precisione dal corrispettivo anticorpo specifico. Gli anticorpi sono composti da due regioni: il dominio di legame che varia per ogni anticorpo, che riconosce l'antigene, e il dominio effetore, comune a vari anticorpi, che tende a distruggere l'antigene. Gli anticorpi hanno due catene leggere (L) e una catena pesante (H). Ogni catena contiene una regione costante (C) e una regione variabile (V). In ogni regione V ci sono tre sequenze, chiamate regioni CDR, che pongono le basi per la specificità dell'anticorpo. Ogni antigene causa la produzione di vari tipi di anticorpi ma sono state scoperte delle linee cellulari in grado di produrre un singolo tipo di anticorpo, detto anticorpo monoclonale, con un'alta affinità e specificità verso un epitopo di un antigene. Gli anticorpi senza elementi aggiunti (*naked*) sono composti da due frammenti leganti l'antigene (Fab), che riconoscono con specificità i bersagli, e da un frammento cristallizzabile (Fc), che si lega a molti recettori cellulari come il recettore Fc neonatale (FcRn) e i recettori Fc gamma (FcγR).

Gli anticorpi monoclonali sono divisibili in quattro categorie:

- mAb murini (-momab), i primi ad essere prodotti, che presentano elevata immunogenicità dato che sono molto diversi dagli anticorpi umani;

- mAb chimerici (-ximab), formati da una porzione tipica dei topi, che costituisce le regioni variabili, e da segmenti di origine umana, che costituiscono le regioni costanti, caratterizzati da bassa immunogenicità;
- mAb umanizzati (-zumab), che presentano solo le regioni CDR di origine murina e che presentano immunogenicità ancora più bassa;
- mAb umani (-mumab), interamente derivati da cellule umane e con alta tollerabilità ma con elevato costo di produzione.

La Figura 1.1 illustra la struttura di un mAb.

Un ulteriore tipo di mAb sono i coniugati farmaco-anticorpo (ADC), formati da un mAb legato a un farmaco. L'ADC si lega alla cellula tumorale, viene internalizzato e rilascia il farmaco all'interno della cellula di MM [5].

1.2.1 Meccanismo d'azione e antigeni bersaglio

Gli mAb finora approvati per il trattamento del MM hanno diversi meccanismi d'azione: la citotossicità anticorpo-dipendente mediata da cellule (ADCC), che porta alla morte della cellula tumorale; la fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente (ADCP), che provoca la fagocitosi della cellula bersaglio da parte dei macrofagi; la citotossicità mediata dalle proteine del complemento (CDC), che attiva una cascata di enzimi proteolitici; l'apoptosi (causata dall'attivazione della morte cellulare

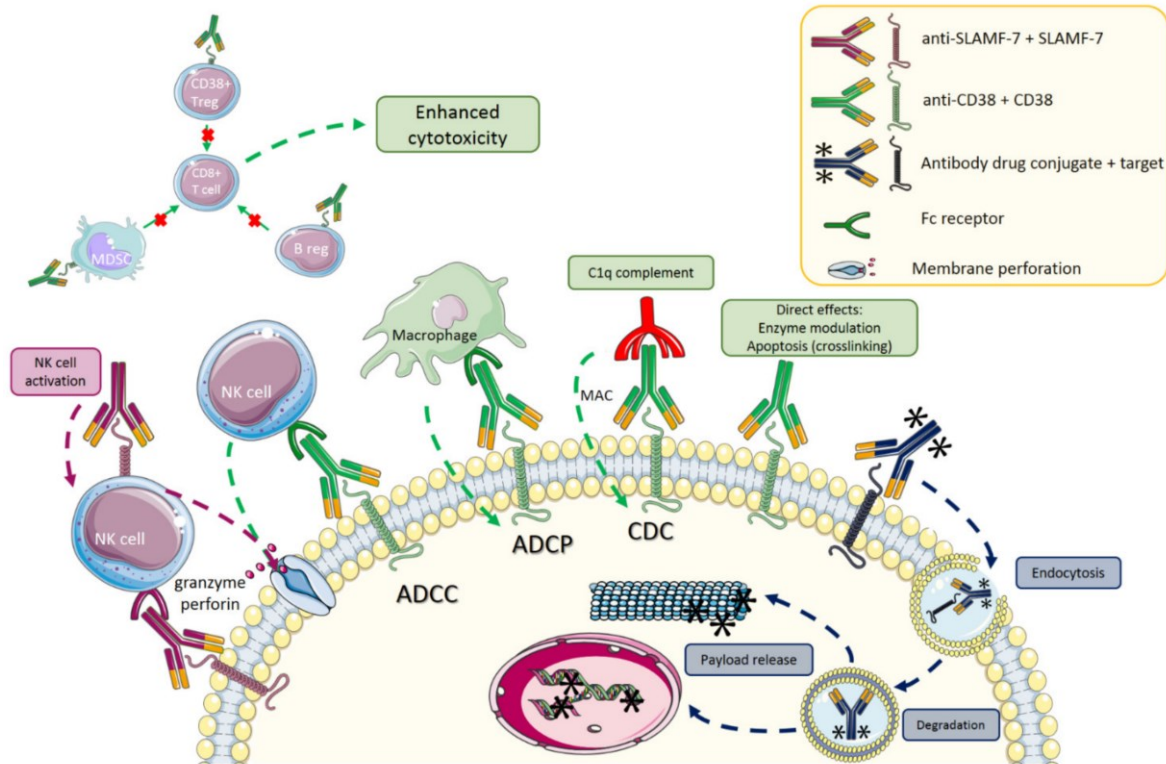


Figura 1.2.[6] Meccanismo d'azione di diversi anticorpi e coniugati farmaco-anticorpo (ADC). Effetto di SLAMF7 in viola, di CD38 in verde, e di ADC in blu scuro. MDSC: cellula soppressore di derivazione mieloide, NK: natural killer, Treg: cellula T regolatoria, B reg: cellula B regolatoria, ADCC: citotossicità cellulare anticorpo-dipendente, ADCP: fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente, CDC: citotossicità mediata dalle proteine del complemento, MAC: complesso di attacco alla membrana.

programmata) con o senza *crosslinking*. Gli ADC in aggiunta rilasciano un farmaco nella cellula provocandone la morte con meccanismi diversi a seconda del farmaco che legano. I principali meccanismi di azione degli mAb che entrano in gioco a seguito di un trattamento farmacologico sono illustrati in Figura 1.2.

I principali recettori espressi dalle cellule di MM che fungono da bersaglio per gli mAb (o che potranno esserlo in futuro) sono illustrati in Figura 1.3. Recentemente, sono stati approvati degli mAb che hanno come obiettivo i recettori CD38, SLAMF7 e BCMA.

CD38 è una glicoproteina che funge da recettore per la trasduzione di segnali di attivazione e proliferazione e da ectoenzima che catalizza la produzione dei nucleotidi coinvolti nella segnalazione del calcio. Si pensa che promuova la sopravvivenza delle cellule di MM producendo adenosina, la quale modula la risposta immunitaria. Inoltre è un marcatore delle cellule di MM. Uno degli mAb che bersagliano CD38 è daratumumab.

SLAMF7 (indicato anche con la sigla CS1) è il membro 7 della famiglia di molecole attivatrici dei linfociti, espresso sia sulle cellule di MM che su altri linfociti (come le cellule *natural killer*). Normalmente modula la risposta immunitaria ma si pensa che abbia un ruolo importante nella sopravvivenza delle cellule di MM. Uno degli mAb che bersagliano SLAMF7 è elotuzumab.

BCMA è l'antigene di maturazione delle cellule B, essenziale per la proliferazione e sopravvivenza delle plasmacellule. Uno degli mAb che lo bersagliano è il coniugato anticorpo-farmaco belantamab

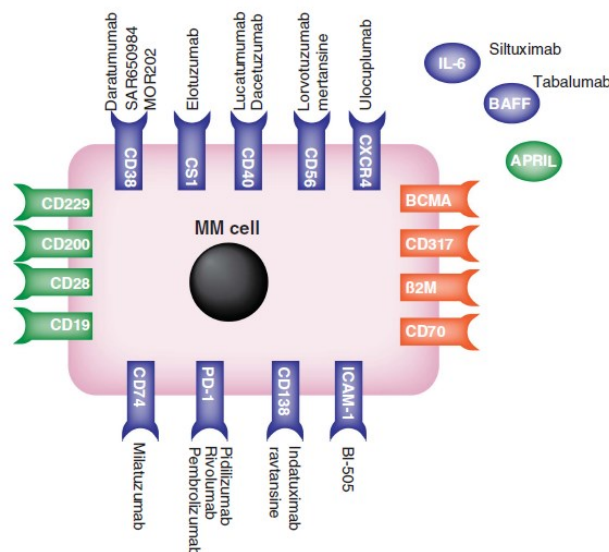


Figura 1.3.[2] Microambiente di una cellula di mieloma multiplo con le sue molecole bersaglio. Accanto alle molecole bersaglio sono riportati alcuni anticorpi monoclonali attualmente approvati che si legano ad esse. BAFF, fattore di attivazione delle cellule B; BCMA, antigene di maturazione delle cellule B.

mafodotin.

Due ulteriori molecole di interesse sono PD1 e PD-L1. PD-1 è espressa sulle cellule T e B e inibisce l'attivazione delle cellule T interagendo con il ligando PD-L1, espresso sulle cellule che presentano antigeni. Nei pazienti affetti da MM la via di segnalazione PD-1/PD-L1 è compromessa. Dato che le cellule di MM esprimono PD-L1 e le cellule *natural killer* (NK) esprimono PD-1, le cellule di MM possono interferire con la risposta immunitaria ed evitare la morte. Alcuni mAb mirano a competere

con questo meccanismo, permettendo l'uccisione delle cellule MM da parte del sistema immunitario [2,5].

1.3 Farmacocinetica e farmacodinamica degli anticorpi monoclonali

Un aspetto fondamentale per lo sviluppo degli mAb terapeutici è la loro caratterizzazione farmacocinetica (PK) e farmacodinamica (PD). Gli studi di PK degli mAb si concentrano sulla persistenza sistemica e sulla distribuzione nei tessuti bersaglio. Inoltre la PK influenza molto l'ampiezza e la durata della PD, incidendo di conseguenza sulle modalità di trattamento. I modelli PK/PD sono utili per capire le complesse relazioni tra PK e PD e tra dose e risposta. Sono anche molto usati nello sviluppo degli mAb, sia per migliorarne l'efficienza e la qualità, sia come supporto alle decisioni (scelta del regime di dosaggio, della via di somministrazione e del tipo di popolazione che trae più benefici da un certo mAb), sia per la ricerca trasazionale. Le sfide della caratterizzazione PK/PD degli mAb usati nel MM comprendono tra le altre l'elevata variabilità inter-individuale e la resistenza al trattamento.

Gli mAb terapeutici sono di tipo immunoglobulina G (IgG), una molecola molto grande (circa 150kDa) e con elevata polarità, e quindi hanno delle proprietà PK diverse da quelle dei farmaci tradizionali, molto più piccoli.

La disposizione sistemica degli anticorpi IgG è associata al recettore Fc neonatale (FcRn), un recettore presente sulle cellule endoteliali: la regione Fc degli anticorpi si lega all'FcRn impedendogli di entrare nei lisosomi e di essere degradati. Il riciclaggio degli anticorpi mediato dall'FcRn protegge circa il 90% di essi dal catabolismo e ne estende l'emivita fino a 20 giorni. Tuttavia il complesso anticorpo-bersaglio rimane integro e quindi l'mAb non può legarsi di nuovo a un altro antigene in quanto il sito di legame è già occupato. L'inclusione di questo fenomeno nei modelli PK/PD degli mAb è molto importante per predire correttamente il loro comportamento.

Molti anticorpi sono caratterizzati da una rapida clearance sistemica dovuta all'endocitosi mediata dal bersaglio, un fenomeno chiamato anche disposizione del farmaco mediata dal bersaglio (TMDD): gli anticorpi si legano al bersaglio e vengono catabolizzati. La TMDD è un processo che giunge a saturazione ed è influenzata da molti fattori come dose, affinità al bersaglio, espressione del bersaglio, ricambio (*turnover*) del bersaglio e catabolismo intracellulare. Molti mAb hanno un'eliminazione dipendente dalla dose a causa della TMDD (ad esempio si può osservare una clearance non-lineare al di sotto di un certo limite di dosaggio e una clearance lineare per un dosaggio maggiore). Modellare questo meccanismo è importante per capire meglio la PK degli mAb, la loro cinetica di legame al bersaglio e la loro PD. I modelli che includono la TMDD descrivono le complesse relazioni tra anticorpi e bersagli, fornendo un collegamento meccanicistico tra la PK degli mAb e la risposta farmacologica [7].

Un approccio che tiene conto degli effetti meccanicistici nella PK degli anticorpi è quello dei modelli PK basati sulla fisiologia (PBPK); tuttavia questi modelli sono molto complessi da implementare e si preferisce usare modelli PBPK minimi (*minimal PBPK models*) [7].

Un altro aspetto critico degli mAb è l'elevata variabilità inter-individuale della loro PK. Le cause principali di questo fenomeno sono: le caratteristiche del paziente, lo stato di avanzamento della malattia, le proprietà del bersaglio e gli anticorpi anti-farmaco (ADA), responsabili dell'alterazione dei profili PK/PD e delle reazioni avverse. È possibile tenere conto dei primi due fattori attraverso i modelli non-lineari ad effetti misti (NLMEM), che permettono di capire le origini delle variabilità inter-individuali attraverso l'inclusione delle covariate nei modelli. La variabilità nell'espressione del bersaglio può portare a clearance ed esposizione tempo-varianti; ad esempio un alto carico tumorale può portare alla diminuzione dell'emivita a causa della TMDD e se la quantità di bersaglio varia varierà anche la clearance. Per modellare la variabilità inter-individuale della clearance si introduce come covariata del modello la quantità di bersaglio alla *baseline* (pre-trattamento). Essendo tempo-variante, di solito si ottiene una clearance tempo-variante e instabilità nella PK. Per quanto riguarda gli ADA, le cause della loro formazione, soprattutto di quelli contro gli mAb umani, non sono ancora del tutto chiare. Possono neutralizzare il farmaco, alterarne il profilo PK, ridurre l'effetto del trattamento e causare reazioni immunogeniche avverse. Nei modelli PK/PD, l'effetto degli ADA sulla clearance viene introdotto come una covariata dicotomica (cioè che assume solo due valori) o come una covariata semi-quantitativa. L'effetto degli ADA può essere tempo-variante e portare a effetti tempo-varianti sulla clearance. Modellarlo rimane una sfida.

Un altro obiettivo della modellazione PK/PD è l'ottimizzazione dell'affinità di legame al bersaglio basata sulla valutazione congiunta di altri parametri PK; infatti non è sempre la scelta migliore usare anticorpi con elevata affinità.

Attraverso le interazioni Fc-Fc γ R gli mAb possono dirigere il sistema immunitario (le cui cellule presentano il complesso Fc γ R) contro le cellule tumorali, portando alla loro morte tramite CDC, ADCC e ADCP. Modellare questo fenomeno attraverso modelli meccanicistici può portare a un notevole miglioramento della caratterizzazione PK/PD degli mAb.

Un'altra applicazione dei modelli matematici è la modellazione dei tumori con teorie evoluzionali, permettendo di predire e superare le traiettorie di resistenza tumorale. In questo modo si possono inoltre stimare le proprietà di successo di diversi regimi di trattamento per scegliere il più efficace [7].

1.3.1 I modelli compartimentali in sintesi

I modelli compartimentali descrivono dal punto di vista quantitativo la cinetica della materia nei sistemi fisiologici e quindi sono usati anche per descrivere la PK (ciò che il corpo fa al farmaco) e la PD (ciò che il farmaco fa al corpo) di un farmaco. La cinetica comprende processi come la produzione, la distribuzione, il trasporto e l'utilizzo di una sostanza (una molecola, una proteina, un ormone, un enzima...) e la sua interazione con altri elementi. Un compartimento è una certa quantità di materia che agisce come se fosse omogeneamente distribuita (cioè la concentrazione della materia è la stessa in tutto il compartimento) e cineticamente omogenea (ogni particella del compartimento ha la stessa probabilità di lasciarlo attraverso le vie di uscita). Un modello compartimentale è composto da un numero finito di compartimenti connessi tra loro. Le connessioni rappresentano flussi

di materia che possono essere controllati dai compartimenti connessi o da un compartimento esterno. La figura 1.4 mostra uno schema semplificato di modello compartimentale. Tipicamente un

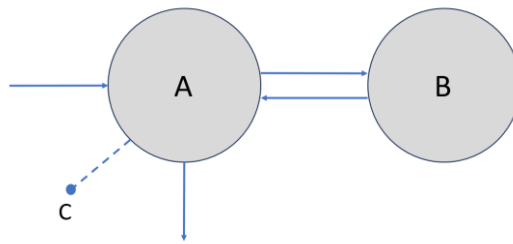


Figura 1.4. Esempio semplificato di modello bi-compartimentale. Le frecce rappresentano ingressi, uscite e scambi di materia tra i compartimenti. La linea tratteggiata rappresenta una misura di concentrazione nel compartimento A. C ($\mu\text{g/mL}$), concentrazione di materia nel compartimento A.

compartimento ha degli ingressi e delle uscite; entrambi possono essere da o verso un altro compartimento o da o verso l'ambiente esterno. Un esempio di ingresso è l'infusione di un farmaco, un esempio di uscita è la clearance del farmaco (dovuta ad esempio all'eliminazione da parte di una cellula). Di solito un compartimento è caratterizzato da:

- concentrazione del farmaco misurata nel compartimento ($\mu\text{g/mL}$);
- volume di distribuzione (L), che indica come il farmaco si distribuisce nel compartimento;
- dose iniettata (mg);
- clearance (mL/giorno), cioè il volume di sangue depurato dal farmaco per unità di tempo;
- velocità di eliminazione del farmaco (1/giorni).

1.4 Scopo della tesi

Questa tesi si pone come scopo quello di analizzare tre modelli PK presenti in letteratura, che descrivono il trattamento del MM attraverso terapie con gli anticorpi monoclonali. Vengono trattati sia mAb come agenti singoli, sia in combinazione con farmaci immunomodulatori, sia coniugati farmaco-anticorpo e viene caratterizzata la loro PK e la PD di uno dei tre. In particolare, i capitoli seguenti presentano tre casi di studio riguardanti lo sviluppo di modelli PK, rispettivamente di un mAb umano (daratumumab, Capitolo 2), un mAb umanizzato (elotuzumab, Capitolo 3) e un mAb umanizzato coniugato con un farmaco citotossico (belantamab mafodotin, Capitolo 4). Il capitolo finale della tesi è dedicato a riportare una serie di osservazioni generali con uno sguardo ai possibili sviluppi futuri nel campo.

Capitolo 2

Daratumumab

2.1 Introduzione

Daratumumab è un anticorpo monoclonale IgGk che ha come obiettivo il recettore CD38 e che è approvato per il trattamento del MM negli adulti, sia come monoterapia che in combinazione con altri farmaci. Daratumumab presenta un meccanismo di azione immunomodulatorio e che agisce direttamente sul tumore. Questo mAb provoca la morte della cellula tramite quattro meccanismi: ADCC, CDC, ADCP e apoptosi tramite *crosslinking* con i recettori Fc o gli anticorpi anti-IgG umane. Daratumumab può essere somministrato per via endovenosa (IV) o sottocutanea (SC) [2].

La farmacocinetica di daratumumab somministrato IV è stata valutata in pazienti con mieloma multiplo recidivo e refrattario (RRMM) [8]. Si è visto che la concentrazione plasmatica di picco dopo la prima somministrazione (C_{max}) aumenta in modo approssimativamente proporzionale alla dose e il volume di distribuzione è consistente con la distribuzione iniziale nel compartimento plasmatico. Dopo molte dosi, C_{max} e l'area sotto la curva concentrazione-tempo (AUC) aumentano in maniera proporzionale alla dose, mentre l'emivita terminale aumenta con la dose. Un modello farmacocinetico di popolazione (PPK) ha mostrato che la clearance è dipendente dalla concentrazione e dal tempo, probabilmente a causa della saturazione del processo di eliminazione mediata dal bersaglio e alla diminuzione della massa tumorale, rispettivamente. L'emivita stimata associata alla clearance lineare (CL) è di 15-24 giorni circa. Le covariate (*covariates*) statisticamente (ma non clinicamente) rilevanti sulla PK sono peso, sesso, concentrazione di albumina e tipo di mieloma (IgG o non-IgG).

Anche daratumumab somministrato per via SC è stato studiato tramite un modello PPK. La biodisponibilità stimata è di 0.69. Rispetto a daratumumab IV, daratumumab SC presenta minori fluttuazioni picco-nadir (*peak-to-trough fluctuations*), minore C_{max} e maggiori concentrazioni pre-dose (C_{trough}) [9,10]. Le due formulazioni (IV e SC) presentano esposizioni, PK ed efficacia simili; inoltre daratumumab SC 1800 mg presenta un profilo di sicurezza migliore rispetto a daratumumab IV 16 mg/kg. La formulazione SC è stata sviluppata per ridurre il carico per i pazienti e i fornitori ed è approvata per il trattamento del MM.

Lo studio che verrà di seguito analizzato [11] ha l'obiettivo di caratterizzare il profilo PK di daratumumab in combinazione con pomalidomide/desametasone (D-Pd) somministrato IV o SC. Inoltre si sono volute valutare la relazione esposizione-risposta al farmaco (E-R) e le relazioni PK-efficacia e PK-sicurezza, anche nei pazienti già trattati solamente con pomalidomide/desametasone (Pd). Lo studio è stato eseguito su pazienti con RRMM.

2.2 Metodi

Lo studio ha fatto uso di dati di concentrazione plasmatica di daratumumab misurata in pazienti partecipanti a due *trial* clinici dove il farmaco è stato usato in combinazione con

pomalidomide/desametasone: APOLLO, NCT03180736 (fase 3), e EQUULEUS, NCT01998971 (fase 1b). In APOLLO 149 pazienti hanno ricevuto D-Pd e 150 hanno ricevuto solo Pd (gruppo di controllo). Daratumumab è stato somministrato in due modi: 1800 mg SC oppure 16 mg/kg IV. In EQUULEUS 103 pazienti hanno ricevuto daratumumab 16 mg/kg IV in combinazione con lenalidomide/desametasone.

L'analisi della relazione esposizione-risposta (E-R) relativa all'efficacia e alla sicurezza si è basata solo sui dati dello studio APOLLO.

È stata eseguita una prima ispezione grafica dei dati al fine di valutare il *range* di concentrazioni di daratumumab, identificare agevolmente gli *outliers*, esaminare possibili correlazioni tra le covariate e confrontare le PK di D-Pd somministrato per via IV o SC.

2.2.1 Modello di farmacocinetica

Il modello sviluppato deriva da un precedente modello PPK utilizzato per la valutazione di daratumumab IV/SC come monoterapia [9,10]. Con esso sono stati fittati i dati concentrazione-tempo di D-Pd nei pazienti con RRMM. Le covariate sono state inizialmente assunte come statisticamente rilevanti, con la possibilità di rimuovere il loro effetto nel caso non si fossero dimostrate tali basandosi sul loro intervallo di confidenza asintotico del 95%.

Il modello PPK sviluppato, illustrato in Figura 2.1, presenta una struttura bi-compartimentale con due vie di eliminazione parallele, rispettivamente lineare e con cinetica di Michaelis-Menten. La somministrazione SC è stata modellata con un processo di assorbimento del primo ordine. La clearance (CL) lineare rappresenta fisiologicamente la clearance non-specifica per le IgG. L'eliminazione di Michaelis-Menten rappresenta fisiologicamente la clearance mediata dal bersaglio (*target-mediated*), un processo che giunge a saturazione probabilmente a causa della diminuzione

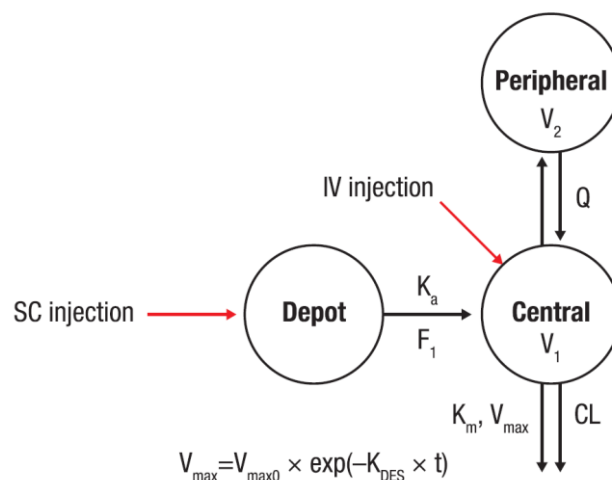


Figura 2.1.[11] Modello PK per daratumumab IV/SC. CL (L/h), clearance lineare; IV, endovenoso; K_a (1/h), rate di assorbimento; F_1 , biodisponibilità; V_2 (L), volume di distribuzione del compartimento periferico; V_1 (L), volume di distribuzione del compartimento centrale; Q (L/h), clearance intercompartimentale; K_m ($\mu\text{g/mL}$), costante di Michaelis-Menten; SC, sottocutaneo; PK, farmacocinetica; V_{\max} (mg/h), velocità massima della clearance saturabile.

temporale della quantità di bersaglio (CD38) dovuto all'effetto del farmaco. Questo fenomeno è stato modellato con una funzione empirica,

$$TDVM = V_{max} \cdot \exp(-K_{DES} \cdot t), \quad (2.1)$$

dove $TDVM$ (mg/h) rappresenta la capacità massima della clearance saturabile tempo-dipendente e K_{DES} (1/h) è il *rate* costante del primo ordine. Questa funzione descrive la decrescita temporale della velocità massima del processo di clearance (V_{max} , mg/h) che giunge a saturazione.

La variabilità inter-individuale è stata modellata con un termine esponenziale nei parametri strutturali per assicurare valori positivi dei parametri individuali. Per modellare la variabilità residua è stato sviluppato un modello additivo sulle concentrazioni log-trasformate.

Le equazioni del modello sono le seguenti:

$$\begin{cases} \dot{A}_1(t) = K_a \cdot A_D(t) - \frac{Q}{V_1} \cdot A_1(t) + \frac{Q}{V_2} \cdot A_2(t) - \frac{CL}{V_1} \cdot A_1(t) - \frac{TDVM \cdot C_1}{K_m + C_1} & A_1(0) = 0 \\ \dot{A}_2(t) = \frac{Q}{V_1} \cdot A_1(t) - \frac{Q}{V_2} \cdot A_2(t) & A_2(0) = 0 \end{cases} \quad (2.2)$$

con A_1 (mg), A_2 (mg) e A_D (mg) le quantità di materia rispettivamente nei compartimenti centrale, periferico e “*Depot*” con le condizioni iniziali $A_1(0) = A_2(0) = A_D(0) = 0$, $TDVM$ (mg/h) definita dall'equazione (2.1), K_a (1/h) il tasso di assorbimento, F_1 (adimensionale) la biodisponibilità, V_2 (L) il volume di distribuzione nel compartimento periferico, V_1 (L) il volume di distribuzione nel compartimento centrale, Q (L/h) la clearance tra i compartimenti, K_m ($\mu\text{g/mL}$) la costante di Michaelis-Menten, V_{max} (mg/h) la velocità massima della clearance saturabile (che decresce nel tempo con un tasso del primo ordine K_{DES} (1/h) dalla capacità massima iniziale di V_{max0}), CL (L/h) la clearance lineare e C_1 ($\mu\text{g/mL}$) la concentrazione nel compartimento centrale.

La ricerca delle covariate, per determinare la loro correlazione con le stime parametriche, è stata eseguita in due passaggi. Nel primo è stato verificato se il modello precedentemente sviluppato per le covariate era ben applicabile alla popolazione D-Pd attuale, testando se il parametro di effetto delle covariate fosse uguale a zero (corrispondente a nessun effetto) usando l'intervallo di confidenza (CI) asintotico del 95%. Nel secondo passaggio si è valutato se fosse necessario cercare ulteriori covariate ispezionando i plot delle stime empiriche di Bayes degli effetti casuali contro le covariate. Ogni covariata è stata inclusa nel modello PPK solo se le stime empiriche di Bayes che relazionavano effetti casuali e covariate erano statisticamente significative ($P\text{-value} < 0.05$) e se il coefficiente di determinazione R^2 era maggiore di 0.15. La soglia per la rilevanza clinica sulle esposizioni predette dal modello PK è stata fissata al 20% basandosi su dati di letteratura.

La valutazione del modello si è basata: sul valore della funzione di costo o sul criterio di Akaike a seconda che i modelli fossero rispettivamente nidificati (*nested*) o no, sulla precisione dei parametri e sulla bontà del fit.

2.2.2 Simulazioni della farmacocinetica A partire dai parametri PK *post-hoc* o dai parametri PK tipici (per il plot clearance-tempo) sono state eseguite delle simulazioni attraverso il modello PK finale per paragonare graficamente: la terapia D-Pd e la precedente monoterapia; daratumumab SC 1800 mg e daratumumab IV 16 mg/kg attraverso le concentrazioni di farmaco, la saturazione del bersaglio e la clearance rispetto al tempo.

Attraverso parametri PK *post-hoc* predetti dal modello, sono state generate le metriche di esposizione basandosi su regimi di dosaggio prefissati; questo per evitare *bias* dovuti a differenze nelle dosi somministrate nell'analisi dei sottogruppi. Le metriche di esposizione sono state poi confrontate con dei *forest plot* per valutare l'esposizione del farmaco in diverse sottopopolazioni. Per ogni covariata sono stati definiti due o tre sottogruppi e sono state calcolate le variazioni percentuali delle metriche di esposizione tra i sottogruppi (media e CI del 95%). Come sottogruppo di riferimento è stato scelto quello più rilevante nell'analisi di popolazione. Le covariate continue analizzate sono le seguenti: età, peso, creatinina nel siero, CL della creatinina, tasso stimato di filtrazione glomerulare, albumina, aspartato transaminasi, alanin transaminasi, alkanin fosfatasi, bilirubina totale, proteine totali, cellule NK, proteina M nel siero, catene leggere libere K, catene leggere libere, catene leggere libere lambda e lattato deidrogenasi. Le covariate categoriche analizzate sono le seguenti: sesso, etnia, funzioni epatica e renale, punteggio di performance *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG), tipo di mieloma (IgG contro non-IgG), numero di linee terapeutiche precedenti, stato di refrattarietà a farmaci inibitori del proteasoma/immunomodulatori e stato di avanzamento della malattia secondo lo standard *International Staging System* (ISS).

Le metriche di esposizione (predette dal modello PK) per l'analisi esposizione-risposta sono state simulate usando i dati relativi ai regimi di dosaggio effettivi dei pazienti del solo trial APOLLO. Le metriche di esposizione sono state tutte predette durante il trattamento con daratumumab. Nelle predizioni sono state considerate anche interruzioni temporanee del trattamento ed eventuali ritardi. Le metriche usate più importanti sono: la concentrazione di picco dopo la prima dose ($C_{peak,first}$, $\mu\text{g/mL}$), la concentrazione minima (*trough*) dopo la prima dose effettiva ($C_{trough,first}$, $\mu\text{g/mL}$), la concentrazione di picco nel periodo di trattamento totale ($C_{peak,max}$), la concentrazione minima al giorno 1 del ciclo 3 ($C_{trough,C3D1}$, $\mu\text{g/mL}$) e la massima concentrazione minima nel periodo totale di trattamento ($C_{trough,max}$, $\mu\text{g/mL}$).

Le tre metriche predette dal modello PK usate per l'analisi esposizione-risposta (E-R) relativa all'efficacia sono state: $C_{peak,first}$, $C_{trough,first}$ e $C_{trough,max}$. Non sono state analizzate altre covariate. In questa analisi è stata valutata la relazione esposizione-sopravvivenza libera da progressione (PFS).

Le due metriche predette dal modello PK usate per l'analisi E-R relativa alla sicurezza sono state: $C_{peak,first}$ per le reazioni correlate all'infusione (IRR) e $C_{peak,max}$ per tutti gli altri eventi avversi emersi dal trattamento (TEAE). In questa analisi è stata valutata la relazione esposizione-TEAE.

2.3 Risultati

2.3.1 Modello di farmacocinetica

Il *dataset* finale è costituito da 1146 dati PK di daratumumab (473 SC e 673 IV) misurati in 239 pazienti ritenuti valutabili dalle coorti D-Pd di APOLLO (n=140) e D-Pd di EQUULEUS (n=99). In APOLLO, 133 pazienti hanno ricevuto daratumumab SC 1800 mg, quattro daratumumab IV 16mg/kg

Tabella 2.1.[11] *Stime parametriche per il modello PK di popolazione di daratumumab basate sui dati della terapia di combinazione D-Pd e i metodi di somministrazione IV e SC.*

Note:

Valore della funzione di costo: -780.8. Condition number = 41.7. Gli RSE% per IIV e ADD ERR sono riportati rispetto alla scala approssimata della deviazione standard (errore standard/stima della varianza)/2. I CV% per IIV e ADD ERR sono stati calcolati come $\sqrt{\omega^2}$ e $\sqrt{\sigma^2}$, rispettivamente. I CI del 95% sono stati calcolati basandosi sull'errore standard dalla matrice di covarianza assumendo i parametri PK come normalmente distribuiti.

CI, intervallo di confidenza; CV, coefficiente di variazione; D-Pd, daratumumab SC o IV in combinazione con pomalidomide e desametasone; FIX, non stimato; IgG, immunoglobulina G; IIV, variabilità inter-individuale; IV, endovenoso; PK, farmacocinetica; RSE, errore standard relativo; SC, sottocutaneo; TPMC, tipo di mieloma (IgG contro non-IgG); TVCL, valore tipico di clearance; TVV, valore tipico del volume di distribuzione.

a) $TVCL = 0.00432 * ((WT/76)^{0.832}) * ((ALB/38)^{-0.665}) * TMPC_{CL}$, con $TMPC_{CL}$ che vale 1 per i pazienti con mieloma multiplo non-IgG e $1+0.833=1.833$ per i pazienti con mieloma multiplo di tipo IgG.

b) $TVV1 = 4.36 * ((WT/76)^{0.562}) * SEX_{V1}$, con SEX_{V1} che vale 1 per i maschi e $1-0.168=0.832$ per le femmine.

Parametro (unità di misura)	Descrizione	Stima	CI del 95%	RSE sulla stima (%)	IIV (%CV)	RSE su IIV (%)
CL (L/h)	Clearance lineare	0.00432	(0.00351, 0.00513)	9.51	43.5	8.65
CL _{ALB}	Effetto della concentrazione di albumina plasmatica su CL	-0.665	(-1.13, -0.199)	35.8	-	-
CL _{WT}	Effetto del peso su CL	0.832	(0.483, 1.18)	21.4	-	-
CL _{TPMC}	Effetto del tipo di mieloma (IgG contro non-IgG) su CL	0.833	(0.517, 1.15)	19.3	-	-
V ₁ (L)	Volume di distribuzione nel compartimento centrale	4.36	(3.86, 4.86)	5.87	28.0	10.8
V _{1,WT}	Effetto del peso su V ₁	0.562	(0.25, 0.874)	28.3	-	-
V _{1,SEX}	Effetto del sesso su V ₁	-0.168	(-0.28, -0.0563)	33.9	-	-
V ₂ (L)	Volume di distribuzione nel compartimento periferico	2.80	(2.00, 3.60)	14.6	-	-
Q (L/h)	Clearance intercompartimentale	0.00814	(0.00483, 0.0115)	20.8	-	-
V _{max} (mg/h)	Velocità massima del processo saturabile di clearance	1.47	(1.09, 1.85)	13.1	59.6	13.4
K _{DES} (1/h)	Tasso di decrescita del primo ordine della velocità massima del processo di clearance nel tempo	0.000282	(0.000154, 0.000410)	23.2	75.3	20.2
K _m (µg/mL)	Costante di Michaelis-Menten	3.81	(1.20, 6.42)	34.9	-	-
K _a (1/h)	Tasso di assorbimento del primo ordine	0.0120	(0.00967, 0.0143)	9.9	55.4	12.2
F ₁	Biodisponibilità	0.698 (FIX)	-	-	-	-
ADD ERR (%CV)	Termine di errore additivo sulla scala logaritmica	27.7	(26.7, 28.7)	1.8	-	-

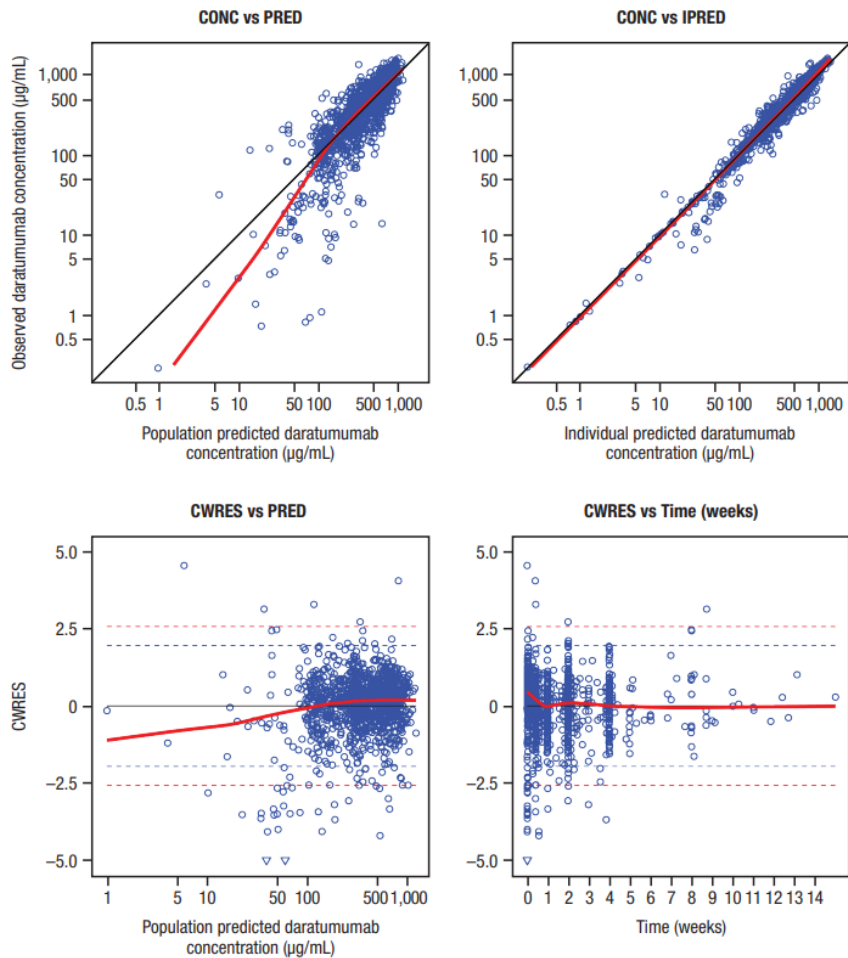


Figura 2.2.[11] *Plot relativo alla bontà del fit per il modello PK di popolazione finale. Le linee rosse continue rappresentano la versione smooth pesata dei dati. Le linee tratteggiate rappresentano i percentili 2.5^o e 97.5^o (blu) e 0.5^o e 99.5^o (rosso) della distribuzione normale standard. La linea nera rappresenta la linea di identità delle concentrazioni osservate contro le previsioni di popolazione e individuali. Per i grafici dei residui la linea nera rappresenta la linea orizzontale che interseca l'asse y in y=0. CONC, concentrazioni; CWRES, residui condizionati pesati; IPRED, previsioni individuali; PK, farmacocinetica; PRED, previsioni di popolazione.*

per poi cambiare ricevendo daratumumab SC 1800 mg e tre daratumumab IV 16 mg/kg. In EQUULEUS tutti i pazienti hanno ricevuto daratumumab IV 16 mg/kg. Un'analisi esplorativa ha mostrato che i profili temporali di concentrazione di daratumumab (nella terapia di combinazione con Pd) si distribuiscono all'interno di *range* simili nei due studi e nelle due forme di somministrazione (IV e SC).

Il modello illustrato in Figura 2.1 ha dimostrato di descrivere bene la PK del farmaco e non sono stati testati altri modelli strutturali.

Le covariate identificate come statisticamente significative sulla CL sono peso, concentrazione di albumina e tipo di mieloma. Quelle significative per il volume di distribuzione nel compartimento centrale (V_1) sono peso e sesso. L'assenza di *trend* nel plot delle stime empiriche di Bayes degli effetti casuali (*random effects*) contro le covariate ha dimostrato l'assenza di influenza delle altre covariate sui parametri PK.

Le stime parametriche del modello finale sono illustrate nella Tabella 2.1. Le concentrazioni di daratumumab sono cresciute lentamente dopo la somministrazione SC. La stima della clearance è molto simile a quella delle IgG endogene non-specifiche riportata in letteratura. Il volume di distribuzione nel compartimento centrale era simile al volume di plasma. CL e V_1 sono risultati correlati al peso (come ci si aspetta per gli mAb). La media geometrica, derivata dal modello, dell'emivita associata all'eliminazione lineare è di 19.7 giorni, basata su stime *post-hoc*. L'equazione usata per il tipico valore di clearance ($TVCL$, L/h) è

$$TVCL = 0.00432 \cdot (WT/76)^{0.832} \cdot (ALB/38)^{-0.665} \cdot TMPC_{CL}, \quad (2.3)$$

dove $TMPC_{CL}$ è un fattore di scala che vale 1 per i pazienti con MM non-IgG e $1+0.833=1.833$ per quelli con MM IgG. WT e ALB sono rispettivamente gli effetti del peso e della concentrazione di albumina sulla clearance lineare. L'equazione usata per il valore tipico del volume di distribuzione ($TVV1$, L) è

$$TVV1 = 4.36 \cdot (WT/76)^{0.562} \cdot SEX_{V1}, \quad (2.4)$$

dove SEX_{V1} è un fattore di scala che vale 1 per i maschi e $1-0.618=0.382$ per le femmine, mentre WT è l'effetto del peso sul valore tipico del volume di distribuzione.

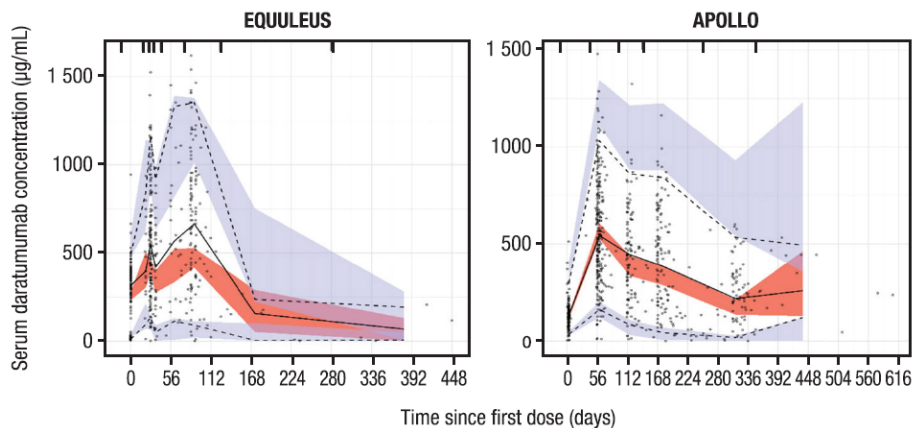


Figura 2.3.[11] *Visual predictive check per il modello PPK finale stratificato per studio. I punti neri rappresentano le osservazioni. Le linee continue e tratteggiate rappresentano i percentili mediani, 2.5° e 97.5°, delle osservazioni. Le aree rosse e blu rappresentano rispettivamente l'intervallo di confidenza del 95% del percentile mediano e i percentili 2.5° e 97.5° simulati dal modello. PPK, farmacocinetica di popolazione.*

La Figura 2.2 illustra i grafici di bontà del fit. I plot delle predizioni individuali contro le osservazioni non mostrano deviazioni evidenti dalla linea di identità. I plot dei residui pesati condizionati (CWRES) contro le predizioni di popolazione e contro il tempo non mostrano scostamenti marcati dallo zero e variazioni omogenee (bianchezza), suggerendo un fit adeguato ai dati del modello PPK finale. Si è osservata una leggera sovra-stima per basse concentrazioni non terapeutiche e a tempi

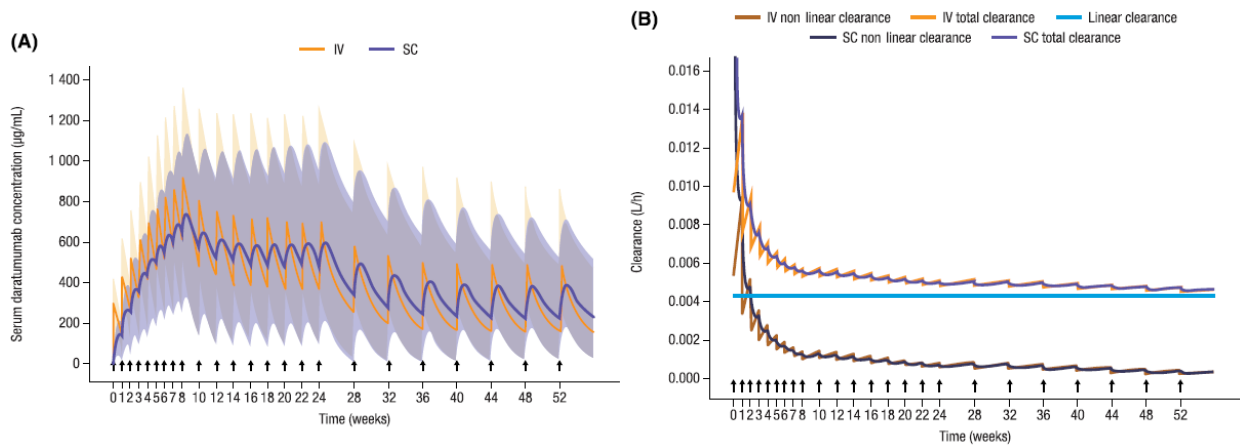


Figura 2.4.[11] (A) profilo PK mediano simulato e intervallo di predizione del 90% a seguito della somministrazione di daratumumab SC 1800mg o IV 16mg/kg con il regime approvato per la terapia di combinazione D-Pd. (B) Tipica clearance simulata (totale, lineare e non-lineare) contro profilo temporale a seguito della somministrazione di daratumumab SC 1800mg o IV 16mg/kg con il regime approvato per la terapia di combinazione D-Pd. Le frecce nere rappresentano le somministrazioni della dose. Le aree sfumate arancioni e blu rappresentano l'intervallo di predizione del 90% della PK di daratumumab. IV, endovenoso; PK, farmacocinetica; SC, sottocutaneo.

immediatamente successivi alla prima dose, probabilmente perché non si è tenuto conto della frazione di dose che si lega al recettore dopo la somministrazione. Tuttavia, nella maggioranza dei casi si ha $|CWRES| < 5$.

La performance del modello è stata valutata tramite il cosiddetto *Visual Predictive Check* (VPC, Figura 2.3). In particolare, si osserva come il modello PPK finale descriva bene i dati.

2.3.2 Simulazioni

I profili PK di D-Pd predetti dal modello si sono rivelati comparabili con quelli di daratumumab usato come monoterapia, disponibili grazie a ricerche precedenti. Questa similitudine conferma che la terapia di combinazione con Pd non ha influenza sulla PK di daratumumab nei pazienti con RRMM. Il regime di somministrazioni approvato consisteva di 1 dose a settimana per 8 settimane, 1 dose ogni 2 settimane per 16 settimane e in seguito 1 dose ogni 4 settimane.

I profili PK di daratumumab simulati della monoterapia e della terapia di combinazione D-Pd si sono mostrati comparabili. Le $C_{trough, C3D1}$ simulate erano simili, con la concentrazione mediana più alta del 23% nella terapia di combinazione. I valori ottenuti per clearance, volumi di distribuzione, *rate* di assorbimento ed emivita sono risultati simili a quelli ottenuti per la monoterapia in altri studi di letteratura su daratumumab, confermando che la terapia D-Pd non influenza la sua PK.

I profili PK simulati per daratumumab SC 1800 mg e daratumumab IV 16 mg/kg hanno mostrato esposizioni simili nei pazienti con RRMM (Figura 2.4A).

Le concentrazioni simulate sono stabili dalla settimana 16 (dopo la prima dose) alla 24. Lo stato stazionario nel regime quadri-settimanale è stato raggiunto alla settimana 44. La dose SC 1800 mg ha mostrato minori fluttuazioni picco-nadir, minore C_{max} e maggiore C_{trough} rispetto alla dose IV 16 mg/kg.

La saturazione del bersaglio simulata si è mantenuta sopra il 95% durante tutte le fasi dello studio clinico per tutti i pazienti.

La dinamica dei profili tipici di clearance simulati di daratumumab SC 1800 mg e IV 16 mg/kg, a seguito della somministrazione secondo il regime approvato, è mostrata nella Figura 2.4B. La clearance è diminuita fino ad avvicinarsi alla clearance non-specifica dopo 16 settimane, probabilmente a causa del minor carico tumorale (o del minor bersaglio) indotto dal farmaco. I profili di clearance delle somministrazioni IV e SC sono simili eccetto per la prima somministrazione; questo è dovuto alla diversa velocità di ingresso nella circolazione sistemica. La somministrazione IV porta a veloce saturazione del bersaglio e quindi a clearance minore, mentre la somministrazione SC porta a lenta saturazione del bersaglio con clearance maggiore (all'inizio della prima somministrazione). La $C_{trough,C3D1}$ si è mostrata consistente nei sottogruppi analizzati. Le differenze più rilevanti si sono osservate per le covariate con un effetto statisticamente significativo sulla clearance: peso, concentrazione di albumina e tipo di mieloma. Tuttavia nessuna delle covariate considerate è risultata essere clinicamente rilevante (variazione della media geometrica di $C_{trough,C3D1}$ minore del 20% rispetto al gruppo di riferimento).

2.3.2.1 Analisi esplorative esposizione-risposta

I dati di efficacia dello studio APOLLO hanno mostrato miglioramenti statisticamente significativi nella sopravvivenza libera da progressione (PFS) nei pazienti trattati con D-Pd (daratumumab IV

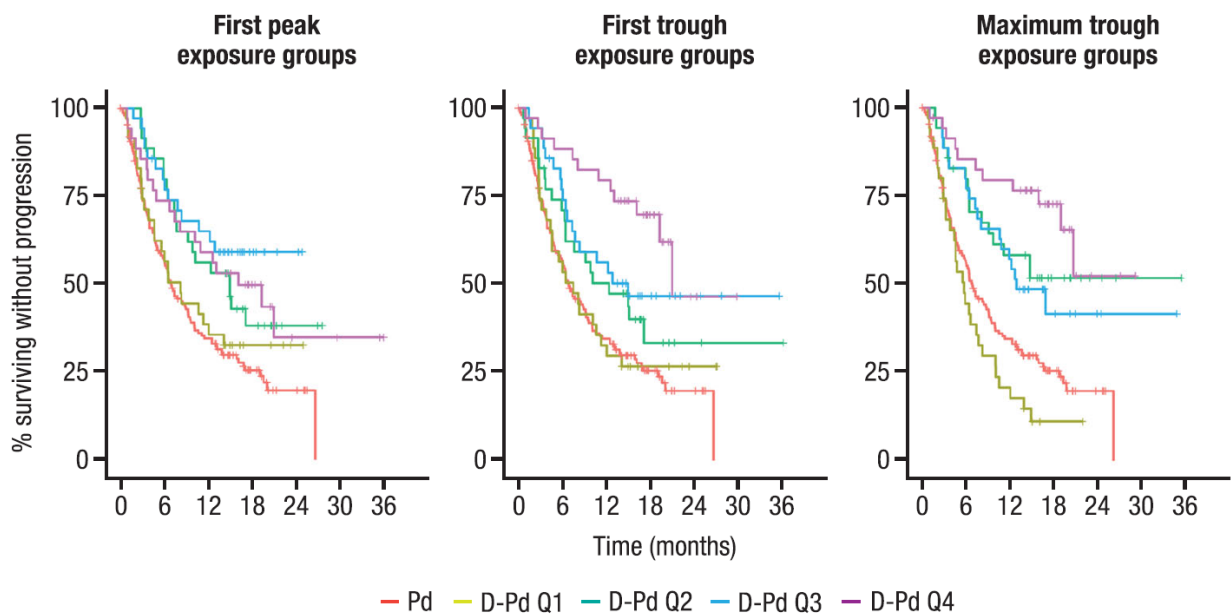


Figura 2.5.[11] Curve di Kaplan–Meier della PFS stratificate per sottogruppi di esposizione di daratumumab in combinazione con Pd nello studio APOLLO. PFS, sopravvivenza libera da progressione; Pd, pomalidomide e desametasone; D-Pd, daratumumab SC o IV in combinazione con pomalidomide e desametasone; Q1, primo quartile di esposizione di daratumumab; Q2, secondo quartile di esposizione di daratumumab; Q3, terzo quartile di esposizione di daratumumab; Q4, quarto quartile di esposizione di daratumumab; SC, sottocutaneo; IV, endovenoso; $C_{peak,first}$, concentrazione di picco predetta dopo la prima dose; $C_{trough,first}$, concentrazione minima predetta dopo la prima dose; $C_{trough,max}$, massima concentrazione minima predetta complessiva. I quartili predetti dal modello per $C_{peak,first}$ sono: Q1 (meno di 121 $\mu\text{g/mL}$), Q2 (da 121 a 151 $\mu\text{g/mL}$), Q3 (da 151 a 185 $\mu\text{g/mL}$) e Q4 (da 185 a ≤ 374 $\mu\text{g/mL}$). I quartili per $C_{trough,first}$ sono: Q1 (meno di 109 $\mu\text{g/mL}$), Q2 (da 109 a 135 $\mu\text{g/mL}$), Q3 (da 135 a 161 $\mu\text{g/mL}$) e Q4 (da 161 a 239 $\mu\text{g/mL}$). I quartili per $C_{trough,max}$ sono: Q1 (meno di 398 $\mu\text{g/mL}$), Q2 (da 398 a 544 $\mu\text{g/mL}$), Q3 (da 544 a 722 $\mu\text{g/mL}$) e Q4 (da 722 a 1261 $\mu\text{g/mL}$).

1800 mg) rispetto al gruppo di controllo e benefici clinicamente rilevanti in diversi sottogruppi (ad esempio nei sottogruppi di classificazione ISS ed ECOG). Tutti i sottogruppi di peso hanno mostrato benefici maggiori da D-Pd rispetto alla monoterapia. L'analisi esposizione-risposta (E-R) relativa all'efficacia suggerisce che daratumumab ha avuto effetto sulla PFS per il 75% dei pazienti con un'esposizione predetta maggiore del primo quartile di esposizione, indipendentemente dalla metrica analizzata (Figura 2.5). Nonostante la PFS dei pazienti nel primo quartile di esposizione non sia migliorata, questo fatto non era correlato al peso. L'analisi E-R basata sulle esposizioni predette ha portato a conclusioni simili e cioè che la PFS aumentava con l'esposizione. Attraverso un'analisi E-R *case matching*, si è cercato di capire se una mancanza di bilanciamento nelle covariate potesse spiegare la mancanza di apparente miglioramento nella PFS nel primo quartile dei pazienti trattati con D-Pd, nonostante l'efficacia si fosse già mostrata consistente nei diversi sottogruppi. Le covariate investigate sono state le stesse dell'analisi per sottogruppi clinici (età, sesso, etnia, stato ISS, numero di trattamenti precedenti, tipo di mieloma, rischio citogenetico, funzioni renale ed epatica e refrattarietà a lenalidomide). Sono state confrontate la PFS dei pazienti del primo quartile di esposizione di D-Pd e la PFS di pazienti Pd che avevano alcune covariate la cui distribuzione corrispondeva a quella dei pazienti dell'altro gruppo. Anche quest'analisi ha concluso che un mancato bilanciamento nelle covariate non può spiegare un'apparente mancanza di miglioramento della PFS nei pazienti D-Pd del primo quartile di esposizione.

All'aumentare dell'esposizione, cioè di $C_{peak,first}$ e di $C_{peak,max}$, non si è riscontrato un aumento dei TEAE relativi a IRR, trombocitopenia, anemia, neutropenia e infezioni (nell'intervallo di concentrazioni di farmaco dello studio APOLLO). Si è osservato un *trend* di correlazione inversa tra i TEAE relativi a neutropenia, anemia e trombocitopenia e $C_{peak,max}$, probabilmente a causa delle interruzioni delle somministrazioni nei pazienti con TEAE; tali pazienti avevano quindi $C_{peak,max}$ più basse ma esposizioni maggiori prima dell'interruzione del trattamento. Non si è riscontrato un aumento del tasso di TEAE nell'analisi clinica statistica dei sottogruppi di peso minori, eccetto per l'anemia (il tasso di occorrenza dell'anemia era maggiore nei sottogruppi con peso minore). Tuttavia, dato che l'analisi E-R ha mostrato una correlazione inversa tra esposizione e tasso di occorrenza dell'anemia, è improbabile che questo fenomeno sia correlato all'esposizione.

2.4 Discussione

La PK di daratumumab SC è ben descritta da un modello PPK bi-compartimentale con assorbimento del primo ordine e due vie di eliminazione parallele, una lineare e l'altra non-lineare. Questo risultato è consistente con quanto precedentemente osservato per daratumumab SC/IV somministrato come monoterapia [10,11]. Le proprietà predittive del modello potrebbero essere migliorate descrivendo la clearance in modo più meccanicistico, tenendo conto delle dinamiche del recettore bersaglio e/o del biomarcatore (che può essere ad esempio il volume tumorale). Nonostante fossero disponibili i dati relativi alle vie di somministrazione IV e SC, la biodisponibilità (F_1) della formulazione SC è stata fissata perché la sua stima nel modello PPK era difficile. Infatti i campioni sparsi raccolti (solo concentrazioni minime, pre-dose, e poche concentrazioni di picco) non permettevano di distinguere

la fase di assorbimento da quella di eliminazione. Di conseguenza parte del modello PPK è stata fissata per permettere una stima realistica dei parametri più importanti, in particolare della clearance. F_1 è stato scelto come parametro fisso perché era molto accurato e perché permetteva di non fissare altri parametri. La biodisponibilità è stata fissata a 0.698 dal modello PPK IV/SC precedente [9] che l'aveva stimata con un'alta accuratezza grazie ai molti dati disponibili e un basso rischio di polarizzazione (*bias*) dovuto a pazienti randomizzati in un singolo studio.

Le covariate alla *baseline* peso, concentrazione di albumina, tipo di mieloma e sesso si sono rivelate statisticamente rilevanti nel modello PPK finale. L'effetto della concentrazione di albumina nel siero è dovuto probabilmente al fatto che il recettore Fc neonatale (FcRn), che protegge gli mAb di tipo IgG dalla degradazione, lega e protegge anche l'albumina da questo processo. Un'alta concentrazione di albumina potrebbe indicare una maggiore presenza di FcRn che potrebbe aumentare la protezione di daratumumab dall'eliminazione non-specifica. Di contro, l'analisi dei sottogruppi per $C_{trough,C3D1}$ ha mostrato che il peso, la concentrazione di albumina e il tipo di mieloma non sono clinicamente rilevanti, avendo una differenza minore del 20% su $C_{trough,C3D1}$. Un risultato simile è stato osservato negli studi precedenti [9,10], con alcune differenze riguardanti la concentrazione di albumina e il tipo di mieloma probabilmente causate dalle diverse soglie usate e dalla variabilità inter-studio per tipo di mieloma.

Questo studio ha mostrato che nessuna covariata influenza significativamente la PK di daratumumab nei pazienti con RRMM trattati con Pd e quindi non è raccomandato nessun aggiustamento della dose basato su questi fattori.

Pochi pazienti hanno sviluppato anticorpi contro il farmaco e quindi questo non è stato considerato come covariata nel modello PPK.

Il trial APOLLO aveva mostrato che la PFS nei pazienti trattati con daratumumab SC in combinazione con Pd (media di 12.4 mesi) era molto più alta rispetto alla PFS dei pazienti trattati con solo Pd (6.9 mesi). Le analisi E-R relative all'efficacia di questo studio hanno confermato questo risultato, suggerendo che daratumumab ha avuto un effetto marcato sulla PFS per il 75% dei pazienti che hanno ricevuto daratumumab 1800 mg SC.

L'analisi E-R potrebbe essere soggetta a un effetto di confusione dovuto al fatto che la clearance diminuisce nel tempo con il miglioramento della malattia. Questo fatto era già stato ipotizzato in studi precedenti su altri mAb [12]. Pazienti con minore miglioramento tendono ad avere un'esposizione minore a causa della clearance maggiore e questo potrebbe ostacolare l'interpretazione della relazione E-R. Per affrontare questa potenziale polarizzazione (*bias*), per questa analisi sono state usate delle metriche di esposizione precoci (*early exposure metrics*). L'assenza di associazione tra i quantili di esposizione e il *time to censoring* (tutti i P-value>0.05) ha mostrato l'assenza di mancanza di informazioni. Questo indica che l'analisi E-R non è polarizzata da sbilanciamenti nel *censoring*. In futuro si potrebbero eseguire analisi E-R più avanzate in particolare analizzando esposizione e risposta congiuntamente e/o altri potenziali biomarcatori.

Nell'analisi E-R per la sicurezza, i TEAE più comuni sono stati neutropenia e infezioni. All'aumentare dell'esposizione PK non c'è stato nessun aumento apparente nel tasso di TEAE di

interesse. Questo indica un profilo di sicurezza accettabile negli intervalli di concentrazione e peso studiati. Nel complesso il profilo di sicurezza si è rivelato simile a quello osservato in studi precedenti (monoterapia o in combinazione con altri farmaci). Non sono stati analizzati modelli E-R di sicurezza più complessi a causa dei *trend* limitati nei dati e dell'assenza di TEAE dipendenti dal peso identificati da studi precedenti per la formulazione SC.

A questo studio si applicano delle limitazioni comuni alle analisi PPK. Nonostante il grande numero di pazienti e di campioni da molti trial clinici di pazienti con RRMM, il design dello studio, i regimi di dosaggio di daratumumab, i criteri di inclusione e i tempi di campionamento dei dati PK dei trial considerati hanno differito leggermente. In ogni caso i dati PK sono consistenti con quelli di studi precedenti con daratumumab e supportano la dose approvata del farmaco di 1800 mg SC.

In conclusione le analisi PPK e E-R supportano il dosaggio SC 1800 mg di daratumumab in combinazione con Pd per il trattamento del RRMM. Nessuno dei fattori investigati ha mostrato effetti clinicamente rilevanti sulla PK dell'mAb e quindi non è raccomandato un aggiustamento della dose basato su questi fattori per la terapia di combinazione D-Pd SC 1800 mg [11].

Capitolo 3

Elotuzumab

3.1 Introduzione

Elotuzumab è un anticorpo monoclonale (mAb) immunoglobulina G1 (IgG1) approvato in associazione con lenalidomide e desametasone per il trattamento del MM in pazienti adulti che hanno ricevuto almeno una linea di terapia precedente. Elotuzumab agisce contro il membro 7 della famiglia di molecole attivatrici dei linfociti (SLAMF7, chiamato anche CS1), una glicoproteina che si ritiene sia espressa solo sulle cellule del MM, sulle cellule *natural killer* (NK) e su determinati sottogruppi di cellule. A seguito del suo legame con SLAMF7, elotuzumab attiva le cellule NK ma non quelle di MM. Tuttavia, tale legame facilita l'interazione tra i due tipi di cellule portando all'uccisione selettiva delle cellule di MM. Il meccanismo di azione di elotuzumab è la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) mediata dalle cellule NK e la fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente mediata dai macrofagi (ADCP) [13].

In questo capitolo verrà analizzato uno studio clinico di fase 2 (NCT02272803) [14], che ha avuto come obiettivo determinare la PK di elotuzumab in pazienti giapponesi con MM di prima diagnosi, incorporando l'effetto tempo-variante della proteina M. Tale proteina viene secreta dalle cellule tumorali e, se presente in elevata concentrazione, indica un elevato carico tumorale (*tumor burden*). Elotuzumab è stato precedentemente studiato in pazienti con RRMM attraverso un approccio farmacocinetico di popolazione [15]. La sua farmacocinetica è ben descritta da un modello bi-compartimentale con rate di eliminazione paralleli, uno lineare e uno di tipo Michaelis-Menten controllato dal compartimento periferico. La scelta delle covariate del modello PK si è basata sullo studio appena citato. Una covariata importante è la proteina M: infatti, nello studio precedente, che aveva considerato l'effetto della proteina M basale (*baseline M-protein*), alti livelli di proteina M erano stati associati con un'eliminazione mediata dal bersaglio più veloce. Questo risultato ha suggerito di rifinire il modello PPK sviluppato in precedenza considerando l'effetto della proteina M tempo-variante; inoltre, sono stati aggiunti i dati dello studio [14]. Gli obiettivi dello studio [14] sono stati quelli di usare il modello PPK rifinito per valutare eventuali differenze nell'esposizione di elotuzumab tra pazienti giapponesi e non e tra pazienti affetti da MM di prima diagnosi e quelli già trattati in precedenza. Sono stati valutati anche l'impatto della velocità di infusione e di un regime di dosaggio alternativo sulla PK di elotuzumab.

3.2 Metodi

Per lo sviluppo del modello PPK sono state usate 8125 osservazioni di concentrazioni plasmatiche, provenienti da 420 pazienti partecipanti ai seguenti studi clinici: NCT01241292 (fase 1), NCT01393964 (fase 1), NCT01441973 (fase 2), NCT01239797 (fase 3) e NCT02272803 (fase 2), l'ultimo introdotto nello studio più recente [14], gli altri inclusi nell'analisi precedente [15]. I regimi

di dosaggio dello studio NCT02272803 sono i seguenti (Tabella 3.1): elotuzumab in combinazione con lenalidomide e desametasone 10 mg/kg una volta a settimana (QW) per i cicli 1 e 2, poi 10 mg/kg ogni due settimane (Q2W) per i cicli dal 3 al 18, infine 20 mg/kg ogni quattro settimane (Q4W) a

Tabella 3.1.[16] *Design sperimentale dello studio clinico NCT02272803. O, orale; IV, endovenosa; gg, giorni.*

Ramo A (sperimentale): lenalidomide + desametasone + elotuzumab. Durata di un ciclo terapeutico: 28 giorni.			
Ciclo	Lenalidomide	Desametasone	Elotuzumab
1	25 mg (O) nei gg 1 e 21	28 mg (O) e 8 mg (IV) nei gg 1,8,15,22	10 mg/kg (IV) nei gg 1,8,15,22
2	25 mg (O) nei gg 1 e 21	28 mg (O) e 8 mg (IV) nei gg 1,8,15,22	10 mg/kg (IV) nei gg 1,8,15,22
3	25 mg (O) nei gg 1 e 21	28 mg (O) e 8 mg (IV) nei gg 1,15 + 40 mg (O) nei gg 8,22	10 mg/kg (IV) nei gg 1,15
Dal 4 al 17	25 mg (O) nei gg 1 e 21	28 mg (O) e 8 mg (IV) nei gg 1,15	10 mg/kg (IV) nei gg 1,15
18	25 mg (O) nei gg 1 e 21	28 mg (O) e 8 mg (IV) nei gg 1, 15 + 40 mg (O) nei gg 8,22	10 mg/kg (IV) nei gg 1,15
19 e successivi	25 mg (O) nei gg 1 e 21	28 mg (O) e 8 mg (IV) nel giorno 1 + 40 mg (O) nei gg 8,15,22	20 mg/kg (IV) nel giorno 1
Ramo B (di paragone): lenalidomide + desametasone. Durata di un ciclo terapeutico: 28 giorni.			
Ciclo	Lenalidomide	Desametasone	
In tutti i cicli (dall'1 al 19 e successivi)	25 mg (O) nei gg 1 e 21	40 mg (O) nei gg 1,8,15,22	

partire dal ciclo 19. Il farmaco è stato somministrato per via endovenosa (IV).

3.2.1 Modello di farmacocinetica

Si è partiti da un modello PPK completo sviluppato in precedenza [15]. Il modello PPK base, illustrato in Figura 3.1, presenta una struttura bi-compartimentale con infusione endovenosa di ordine zero, eliminazioni parallele lineare e di Michaelis-Menten dal compartimento centrale ed eliminazione aggiuntiva mediata dal bersaglio dal compartimento periferico (con quantità di bersaglio non rinnovabile). Le equazioni del modello sono le seguenti:

$$\begin{cases} \frac{dA_1(t)}{dt} = In(t) - \frac{CL}{V_C} A_1(t) - \frac{Q}{V_C} A_1(t) + \frac{Q}{V_P} A_2(t) - \frac{V_{MAX}}{K_M + A_1/V_C} A_1(t) & A_1(0) = 0 \\ \frac{dA_2(t)}{dt} = \frac{Q}{V_C} A_1(t) - \frac{Q}{V_P} A_2(t) - K_{int} \cdot R(t) \cdot A_2(t) & A_2(0) = 0 \\ \frac{dR(t)}{dt} = -K_{int} \frac{A_2(t)}{V_P} R(t) & R(0) = R_{MAX} \end{cases} \quad (3.1)$$

con $In(t)$ (mL/giorno) rate di infusione, CL (L/giorno) clearance lineare (non-specifica), K_{int} (10^{-3} /giorno/ $\mu\text{g}/\text{mL}$) costante di eliminazione del secondo ordine del complesso farmaco-bersaglio dal compartimento periferico, K_M ($\mu\text{g}/\text{mL}$) costante di Michaelis-Menten, Q (L/giorno) clearance

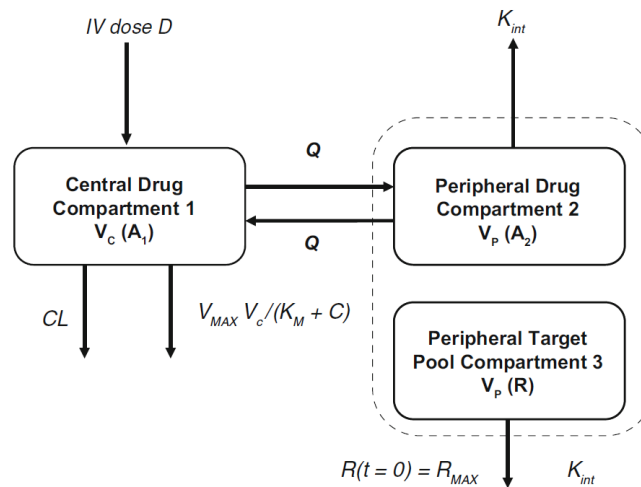


Figura 3.1.[15] Modello PK di partenza per Elotuzumab IV. CL (L/giorno) clearance, IV endovenosa, K_{int} (10^{-3} /giorno/ $\mu\text{g}/\text{mL}$) tasso di eliminazione del secondo ordine del complesso farmaco-bersaglio dal compartimento periferico, K_M ($\mu\text{g}/\text{mL}$) costante di Michaelis-Menten, Q clearance intercompartimentale, R_{MAX} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) concentrazione iniziale di bersaglio nel compartimento periferico, V_C (L) volume di distribuzione del compartimento periferico, V_{MAX} ($\mu\text{g}/\text{mL}/\text{giorno}$) tasso massimo di eliminazione di Michaelis-Menten, V_P (L) volume di distribuzione del compartimento periferico.

intercompartimentale, R_{MAX} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) concentrazione iniziale di bersaglio (SLAMF7) nel compartimento periferico, V_C (L) volume di distribuzione nel compartimento centrale, V_{MAX} ($\mu\text{g}/\text{mL}/\text{giorno}$) massimo tasso di eliminazione di Michaelis-Menten, V_P (L) volume di distribuzione nel compartimento periferico, A_1 e A_2 (μg) quantità di materia nei compartimenti 1 (farmaco centrale) e 2 (farmaco periferico) e R ($\mu\text{g}/\text{mL}$) concentrazione dei bersagli nel compartimento R (insieme dei bersagli periferici). L'eliminazione dai compartimenti 2 e R è descritta dal termine del secondo ordine $K_{int}A_2(t)R(t)$, risultante in un tasso di eliminazione $K_{int}R(t)$ dal compartimento 2 e $K_{int}A_2(t)/V_P$ dal compartimento R.

La differenza tra i valori di concentrazione osservati e predetti è stata descritta con il seguente modello di errore residuo esponenziale (errore assunto additivo, variabili log-trasformate):

$$\begin{cases} \ln C_{ij} = \ln \widehat{C}_{ij} + \left(\sigma_L - (\sigma_L - \sigma_H) \cdot \frac{\widehat{C}_{ij}}{\sigma_{50} + \widehat{C}_{ij}} \right) \cdot \exp(\eta_i) \cdot \varepsilon_{ij} \\ \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2), \sigma^2 = 1 \end{cases} \quad (3.2)$$

con C_{ij} ($\mu\text{g/mL}$) concentrazione j-esima nel paziente i-esimo, \widehat{C}_{ij} predizione corrispondente, ε_{ij} variabile casuale distribuita normalmente con media 0 e varianza 1, σ_L e σ_H deviazioni standard dell'errore residuo esponenziale a concentrazioni rispettivamente basse e alte, σ_{50} ($\mu\text{g/mL}$) concentrazione a cui la SD dell'errore residuo esponenziale è uguale a $(\sigma_L - \sigma_H)/2$ e η_i effetto casuale individuale che descrive l'errore residuo individuale. Con questo modello flessibile è possibile descrivere varie ampiezze di errore residuo a concentrazioni alte e basse che possono variare tra i pazienti.

Il modello PPK precedentemente sviluppato è stato modificato per incorporare l'effetto della proteina M tempo-variante invece della proteina M basale in modo da caratterizzare meglio la TMDD. L'analisi precedente aveva stabilito che la TMDD di elotuzumab diminuiva nel tempo insieme alla concentrazione di proteina M. Questo ha portato all'ipotesi che includere la concentrazione tempo-variante di proteina M come covariata della TMDD avrebbe potuto migliorare la predizione del modello.

Per valutare l'effetto delle covariate sui parametri strutturali del modello PK è stato usato un modello completo, sviluppato incorporando le seguenti relazioni parametro-covariata nei parametri PK strutturali del modello base:

- le covariate incorporate alla clearance non-specifica (CL) sono peso (kg), sesso, età (anni), etnia (asiatica contro non-asiatica), livelli basali di albumina (g/dL), tasso di filtrazione glomerulare stimato (eGFR, mL/min/1.73m²), lattato deidrogenasi (LDH, U/L), insufficienza epatica, stato di performance *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG), microglobulina- β_2 plasmatica (B2MICG, $\mu\text{g/dL}$), amministrazione concomitante di lenalidomide e desametasone e numero di linee di trattamento precedenti (0 o ≥ 1);
- le covariate incorporate al volume di distribuzione del compartimento centrale (V_C) sono peso, sesso, etnia (asiatica contro non-asiatica) e B2MICG.
- le covariate incorporate al massimo tasso di eliminazione di Michaelis-Menten (V_{MAX}) sono: concentrazione plasmatica tempo-variante di proteina M (g/dL) e numero di linee di trattamento precedenti (0 o ≥ 1);
- la covariata incorporata alla costante di eliminazione del secondo ordine del complesso farmaco-bersaglio dal compartimento periferico (K_{int}) è la somministrazione concomitante di lenalidomide/desametasone;
- la covariata incorporata al volume di distribuzione nel compartimento periferico (V_P) e alla clearance intercompartimentale (Q) è il peso corporeo.

Le covariate sono state scelte in base alla plausibilità meccanicistica del loro effetto e al loro interesse clinico. Quelle con effetto maggiore del 20% sui parametri sono state considerate clinicamente rilevanti, coerentemente con l'analisi precedente. Il modello PPK completo è stato sviluppato usando un modello non-lineare a effetti misti (NLMEM). È stato implementato il metodo di massimizzazione dell'aspettazione con campionamento di importanza assistito da una stima a posteriori (IMPMAP).

Il modello PPK completo è stato valutato graficamente con plot diagnostici di bontà del fit e tramite valutazione dell'incertezza nei valori dei parametri con metodo *bootstrap* (errori standard relativi). Il modello PPK completo è stato valutato anche tramite VPC corretto dalla predizione (pcVPC) dei plot dei profili delle concentrazioni predette contro quelle osservate. Il pcVPC è stato eseguito con 500 *dataset* simulati ottenuti usando i valori dei parametri prodotti dal modello finale. I pcVPC sono stati generati anche stratificati per linee di trattamento precedenti ed etnia giapponese.

3.2.2 Simulazioni della farmacocinetica

Per ogni soggetto per cui erano disponibili le stime a posteriori di Bayes dei parametri PK, sono state ottenute le seguenti misure di esposizione di elotuzumab predette dal modello e riassunte nei cicli 12 e 24 dello studio NCT02272803 (che rappresentano le esposizioni in stato stazionario con dosaggio 10 mg/kg IV Q2W oppure 20 mg/kg IV Q4W): concentrazione media nel tempo (C_{avg} , µg/mL), concentrazione minima teorica (pre-dose - C_{min} , µg/mL) e concentrazione massima (C_{max} , µg/mL) ottenute dai regimi di dosaggio nominali di elotuzumab. C_{avg} è stata calcolata dividendo l'area sotto la curva delle concentrazioni (AUC , µg·giorni/mL) per un intervallo di dosaggio.

Le concentrazioni di proteina M tempo-variante sono state assegnate tramite interpolazione lineare delle concentrazioni plasmatiche di proteina M osservate sull'intero corso temporale delle concentrazioni simulate. Nel caso in cui l'ultimo valore di proteina M disponibile fosse antecedente alla fine dell'esperimento, tale valore è stato mantenuto costante per i successivi tempi mancanti. Per valutare gli effetti delle linee terapeutiche precedenti, dell'etnia (giapponese contro non giapponese) e dei regimi di dosaggio (10 mg/kg IV Q2W oppure 20 mg/kg IV Q4W), sono stati generati dei box plot relativi all'esposizione di elotuzumab. Per valutare l'effetto del tasso di infusione su C_{max} , i profili concentrazione-tempo di elotuzumab per il soggetto tipico sono stati simulati con diversi tassi di infusione massimi (2 mL/min o 5mL/min).

3.3 Risultati

3.3.1 Modello di farmacocinetica

Il modello PPK è stato sviluppato basandosi su un modello PPK completo sviluppato in precedenza per elotuzumab [15]. Il modello di partenza era bi-compartmentale con infusione endovenosa di ordine zero, eliminazioni parallele lineare e di Michaelis-Menten dal compartimento centrale ed eliminazione aggiuntiva mediata dal bersaglio dal compartimento periferico. In questo studio è stato aggiunto l'effetto della covariata relativa alle linee terapeutiche precedenti su CL e su V_{MAX} . Inoltre, invece della proteina M basale è stata usata la proteina M tempo-variante.

La Figura 3.2 illustra gli effetti delle covariate sui valori tipici di CL , V_C , V_P , V_{MAX} e K_{INT} . La Tabella 3.2 illustra le stime parametriche ottenute dal modello PPK completo. L'effetto delle covariate è stato modellato nel seguente modo:

$$CL = CL_{REF} CL_{CONT} CL_{CAT} \quad (3.3)$$

$$CL_{CONT} = \left(\frac{WT}{75}\right)^{CL_{WT}} \left(\frac{eGFR}{100}\right)^{CL_{eGFR}} \left(\frac{LDH}{200}\right)^{CL_{LDH}} \left(\frac{ALB}{3.5}\right)^{CL_{ALB}} \left(\frac{AGE}{65}\right)^{CL_{AGE}} \quad (3.4)$$

$$(CL_{SEX})^{SEX} (CL_{RACE})^{RACE} (CL_{HEP})^{HEP} (CL_{Ld})^{Ld} (CL_{ECOG>0})^{ECOG>0} (CL_{ECOG>1})^{ECOG>1} (CL_{B2MICG>2})^{B2MICG>2} (CL_{B2MICG>3.5})^{B2MICG>3.5} (CL_{LINE=0})^{LINE=0} \quad (3.5)$$

$$V_C = V_{C,REF} \left(\frac{WT}{75}\right)^{V_{C,WT}} (V_{C,SEX})^{SEX} (V_{C,RACE})^{RACE} (V_{C,B2MICG>2})^{B2MICG>2} (V_{C,B2MICG>3.5})^{B2MICG>3.5} \quad (3.6)$$

$$V_P = V_{P,REF} \left(\frac{WT}{75}\right)^{V_{P,WT}} \quad (3.7)$$

$$Q = Q_{REF} \left(\frac{WT}{75}\right)^{Q_{WT}} \quad (3.8)$$

$$V_{MAX} = V_{MAX,REF} \exp(V_{MAX,MCPROT} \cdot MCPROT) (V_{MAX,LINE=0})^{LINE=0} \quad (3.9)$$

$$K_{int} = K_{int,REF} (K_{int,Ld})^{Ld} \quad (3.10)$$

con WT peso (kg), CL_{ALB} esponente della dipendenza di CL dall'albumina, CL_{AGE} esponente della dipendenza di CL dall'età, CL_{CAT} effetto delle covariate categoriche su CL , CL_{CONT} effetto delle covariate continue su CL , CL_{RACE} effetto dell'etnia su CL , $CL_{B2MICG>2}$ effetto di $B2MICG > 2.0 \text{ mg/L}$ su CL , $CL_{B2MICG>3.5}$ effetto di $B2MICG > 3.5 \text{ mg/L}$ su CL , CL_{Ld} effetto della coamministrazione di lenalidomide/desametasone su CL , CL_{SEX} effetto del sesso su CL , CL_{eGFR} esponente della dipendenza di CL da $eGFR$, $CL_{ECOG>0}$ effetto di $ECOG > 0$ su CL , $CL_{ECOG>1}$ effetto di $ECOG > 1$ su CL , CL_{HEP} effetto dell'insufficienza epatica su CL , CL_{LDH} esponente della dipendenza di CL da LDH , $CL_{LINE=0}$ nessun effetto delle linee terapeutiche precedenti su CL , CL_{WT} esponente della dipendenza di CL dal peso, CL_{REF} clearance tipica ai valori di riferimento delle covariate ($WT=75 \text{ kg}$, $eGFR = 100 \text{ mL/min}$, $LDH = 200 \text{ U/L}$, $ALB = 3.5 \text{ g/dL}$, $AGE=65$ anni, maschio, non-asiatico, nessuna insufficienza epatica, con coamministrazione di lenalidomide/desametasone, $ECOG = 0$, $B2MICG < 2.0 \text{ mg/L}$, con ≥ 1 linee terapeutiche precedenti), $K_{int,Ld}$ effetto della coamministrazione di lenalidomide/desametasone su K_{int} , $K_{int,REF}$ tipico valore di K_{int} ai valori di riferimento delle covariate (con coamministrazione di lenalidomide/desametasone), LDH lattato deidrogenasi, Q_{REF} clearance intercompartimentale tipica ai valori di riferimento delle covariate ($WT=75 \text{ kg}$), Q_{WT} esponente della dipendenza di Q dal peso, $V_{C,B2MICG>2}$ effetto di $B2MICG > 2.0 \text{ mg/L}$ su V_C , $V_{C,B2MICG>3.5}$ effetto di $B2MICG > 3.5 \text{ mg/L}$ su V_C , $V_{C,SEX}$ effetto del sesso su V_C , $V_{C,RACE}$ effetto dell'etnia su V_C , $V_{C,REF}$ tipico volume di distribuzione del compartimento centrale ai valori di riferimento delle covariate ($WT=75 \text{ kg}$, maschio, non-asiatico, $B2MICG < 2.0 \text{ mg/L}$), $V_{C,WT}$ esponente della dipendenza di V_C dal peso, $V_{MAX,MCPROT}$ effetto della proteina M tempo-variante su V_{MAX} , $V_{MAX,LINE=0}$ nessun effetto delle precedenti linee terapeutiche su V_{MAX} , $V_{MAX,REF}$ tipico tasso massimo di eliminazione mediata dal bersaglio dal compartimento centrale ai valori di riferimento delle covariate ($MCPROT = 0 \text{ g/dL}$, con linee terapeutiche precedenti ≥ 1), $V_{P,REF}$ tipico volume di distribuzione del compartimento periferico ai valori di riferimento delle covariate ($WT=75 \text{ kg}$), $V_{P,WT}$ esponente della dipendenza di V_P dal peso.

Nel modello PPK completo solo gli effetti delle seguenti covariate sui rispettivi parametri hanno mostrato dei CI del 95% che non includevano valori nulli:

- gli effetti di peso basale e assenza di lenalidomide/desametasone sulla CL ;
- gli effetti di peso basale, sesso, etnia asiatica e $B2MICG$ basale su V_C ;
- l'effetto del peso basale su V_P ;
- l'effetto della proteina M plasmatica tempo-variante su V_{MAX} ;
- l'effetto dell'assenza di lenalidomide/desametasone su K_{INT} .

Le uniche covariate con effetto maggiore del 20% sui parametri PK (cioè clinicamente rilevanti) sono state peso, assenza di terapia di combinazione con lenalidomide/desametasone e proteina M tempo-variante.

Tutti i parametri strutturali, come quelli per gli effetti delle covariate e delle variabilità interindividuali e intra-individuali sono stati stimati con precisione accettabile (Tabella 3.2).

Dai plot di bontà del fit delle concentrazioni osservate contro le predizioni individuali e di popolazione (Figura 3.3), si vede che i dati osservati sono distribuiti in modo uniforme e casuale attorno alla linea di identità. Questo supporta la validità del modello nel descrivere bene la tendenza centrale e la variabilità nella concentrazione plasmatica di elotuzumab nei pazienti con MM. I plot pcVPC (Figura 3.4) mostrano che il modello ha caratterizzato correttamente i dati osservati dal 5° percentile al 95° percentile. Di conseguenza le esposizioni osservate sono state ben caratterizzate, permettendo l'uso delle predizioni del modello per effettuare simulazioni.

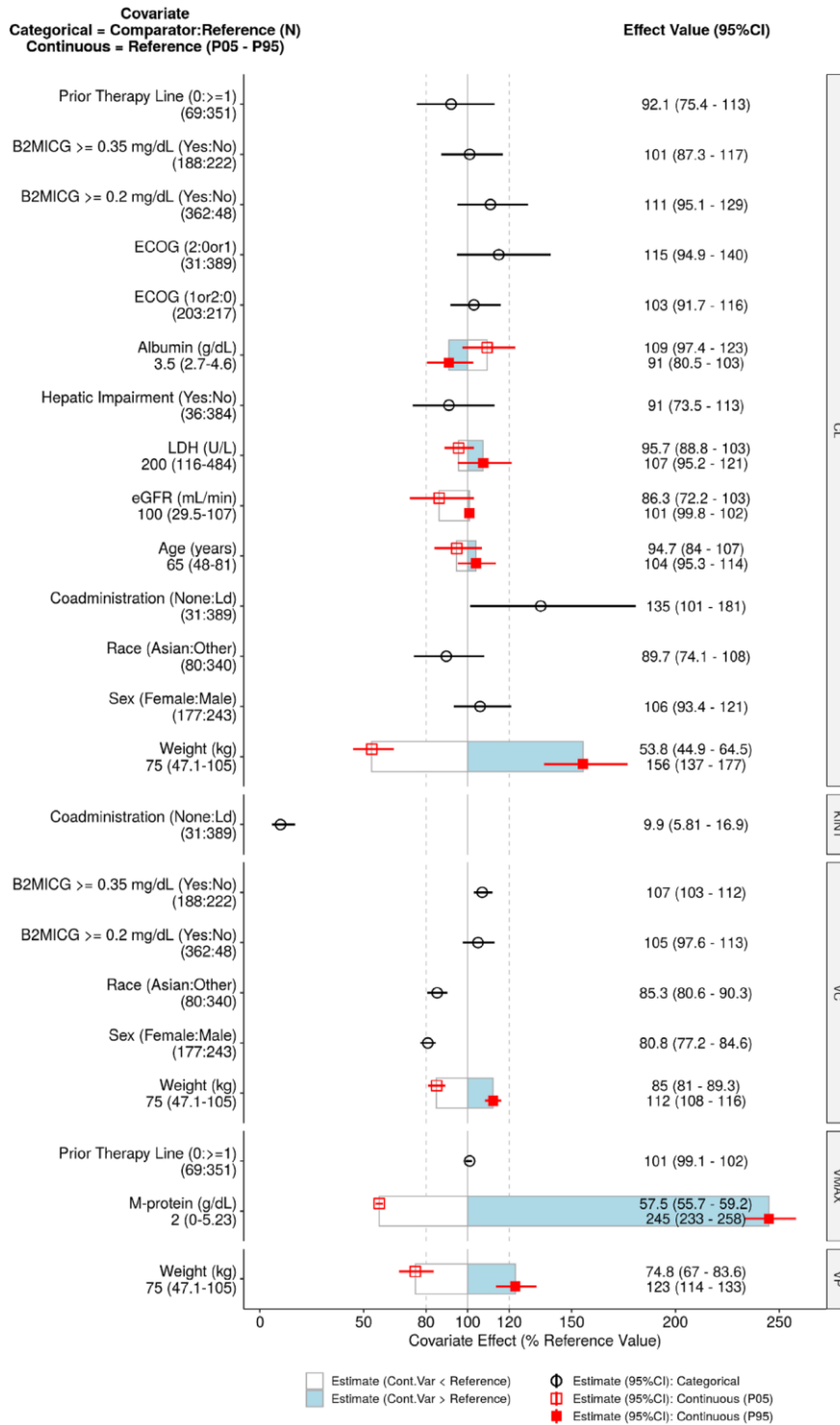


Figura 3.2.[14] Effetto delle covariate nel modello completo per elotuzumab. ALB, albumina basale; B2MICG, microglobulina-β2 basale; CI, intervallo di confidenza; CL, clearance; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; eGFR, tasso stimato di filtrazione glomerulare; HEP, insufficienza epatica; KINT, tasso di eliminazione mediata dal bersaglio dal compartimento periferico; Ld, coamministrazione di lenalidomide/desametassone; LINE, linee terapeutiche precedenti; MCPROT, proteina M tempo-variante; VC, volume del compartimento centrale; Vmax, massimo tasso di eliminazione mediata dal bersaglio dal compartimento centrale; VP, volume del compartimento periferico; WT, peso. Note: Il paziente di riferimento ha i seguenti valori di covariate: WT=75 kg; eGFR=100 mL/min; LDH=200 U/L; ALB=3.5 g/dL; AGE=65 years; maschio; non asiatico; funzione epatica normale, con coamministrazione di Ld; ECOG=0; B2MICG< 2.0 mg/L; MCPROT=2.0 g/dL; LINE ≥ 1.

Gli effetti delle covariate categoriche (95%CI) sono rappresentati dai simboli aperti (linee rosse orizzontali). Gli effetti delle covariate continue (95%CI) ai percentili 5° e 95° delle covariate sono rappresentati dalla fine dei box orizzontali (linee rosse orizzontali). Le aree aperte blu dei box rappresentano gli intervalli degli effetti delle covariate dal percentile medio ai percentili 5° e 95° della covariata.

Tabella 3.1.[14] *Stime dei parametri del modello PPK completo. ALB, albumina basale; B2MICG, microglobulina- β 2 plasmatica; CL, clearance; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; eGFR, stima del tasso di filtrazione glomerulare; HEP, insufficienza epatica; KINT, tasso di eliminazione mediata dal bersaglio dal compartimento periferico; KM, costante di Michaelis-Menten dell'eliminazione mediata dal bersaglio dal compartimento centrale; Ld, coamministrazione di lenalidomide/desametasone; LINE, linee terapeutiche precedenti; MCPROT, proteina M tempo-variante; Q, clearance intercompartimentale; Rmax, concentrazione basale di bersaglio nel compartimento periferico; SD50, concentrazione di elotuzumab quando la deviazione standard del modello di errore residuo esponenziale è uguale a $(SDL + SDH)/2$; SDH, deviazione standard del modello di errore residuo esponenziale ad alte concentrazioni; SDL, deviazione standard del modello di errore residuo esponenziale a basse concentrazioni; SDphase1,2, effetto della fase (1-2) dello studio sull'ampiezza dell'errore residuo; VC, volume del compartimento centrale; Vmax, massimo tasso di eliminazione mediata dal bersaglio dal compartimento centrale; VP, volume del compartimento periferico; WT, peso; ω 2EPS, varianza dell'effetto casuale sull'ampiezza dell'errore residuo; ω 2Par, varianza dell'effetto casuale sul parametro Par (Par = CL, VC, Q, VP, Rmax, KINT, Vmax, KM).*

Note:

a) RSE% è l'errore standard relativo (errore standard come percentuale della stima).

b) Intervallo di confidenza asintotico del 95% ottenuto dagli errori standard stimati.

c) L'esponente per il peso su Q è stato fissato al valore allometrico di 0.75 perché i parametri sono stati stimati in modo impreciso quando l'esponente era stimato.

d) La varianza dell'effetto casuale su Vmax è stata fissata circa a zero (0.0001), permettendo di mantenere questo effetto come richiesto dal metodo IMPMAP e ottenendo un modello stabile con variabilità trascurabile di questo parametro.

Parameters (Units)	Value	RSE (%) ^a	95%CI ^b
Structural			
CL _{REF} , L/day	0.0806	8.64	0.0681-0.0955
VC _{REF} , L	3.94	3.42	3.68, -4.21
Q _{REF} , L/day	0.515	5.59	0.462-0.575
VP _{REF} , L	2.01	3.73	1.86-2.16
R _{MAX} , μ g/mL	832	5.39	748-924
KINT, 10^{-3} /day/ μ g/mL	0.207	9.28	0.173- 0.248
V _{max, REF} , μ g/mL/day	12.2	0.568	12.1-12.3
KM, μ g/mL	298	5.1	269-329
Covariate effect			
CL _{WT}	1.33	14.9	0.943-1.72
CL _{SEX}	1.06	6.64	0.934-1.21
CL _{RACE}	0.897	9.72	0.741-1.08
CL _{AGE}	0.179	113	-0.219 to 0.577
CL _{eGFR}	0.121	61.5	-0.025 to 0.267
CL _{LDH}	0.0816	85.6	-0.0552 to 0.218
CL _{HEP}	0.91	10.9	0.735-1.13
CL _{ALB}	-0.346	66.1	-0.794 to 0.102
CL _{ECOG > 0}	1.03	6.01	0.917-1.16
CL _{ECOG > 1}	1.15	9.95	0.949-1.4
CL _{B2MICG \geq 0.20}	1.11	7.85	0.951-1.29
CL _{B2MICG \geq 0.35}	1.01	7.37	0.873-1.17
CL _{Ld}	0.74	14.8	0.553-0.988
CL _{LINE = 0}	0.921	10.2	0.754-1.13
VC _{WT}	0.348	15.4	0.243-0.453
VC _{SEX}	0.808	2.33	0.772-0.846
VC _{RACE}	0.853	2.88	0.806-0.903
VC _{B2MICG \geq 0.20}	1.05	3.67	0.976-1.13
VC _{B2MICG \geq 0.35}	1.07	2.12	1.03-1.12
Q _{WT}	0.75 Fixed ^c		
VP _{WT}	0.623	19.4	0.385-0.86
KINT _{Ld}	10.1	27.2	5.91-17.2
V _{MAX} _{MCPROT}	0.277	2.85	0.262-0.293
V _{MAX} _{LINE=0}	1.01	0.771	0.991-1.02
Interindividual variability			
ω^2 _{CL}	0.156	12.4	0.118-0.194
ω^2 _{VC}	0.0355	9.71	0.0288, 0.0423
ω^2 _Q	0.427	13.4	0.315-0.539
ω^2 _{VP}	0.137	20	0.0833-0.191
ω^2 _{Rmax}	0.193	23.8	0.103-0.283
ω^2 _{KINT}	1.84	10.6	1.46-2.23
ω^2 _{Vmax}	0.0001 Fixed ^d		
ω^2 _{KM}	0.392	12.6	0.295-0.489
ω^2 _{EPS}	0.164	10.2	0.131-0.197
Intraindividual variability			
SD _L	2.78	23.6	1.5-4.07
SD _H	0.0984	5.71	0.0874-0.109
SD ₅₀	5.56	28.1	2.49-8.62
SD _{phase1,2}	0.707	4.93	0.639-0.776

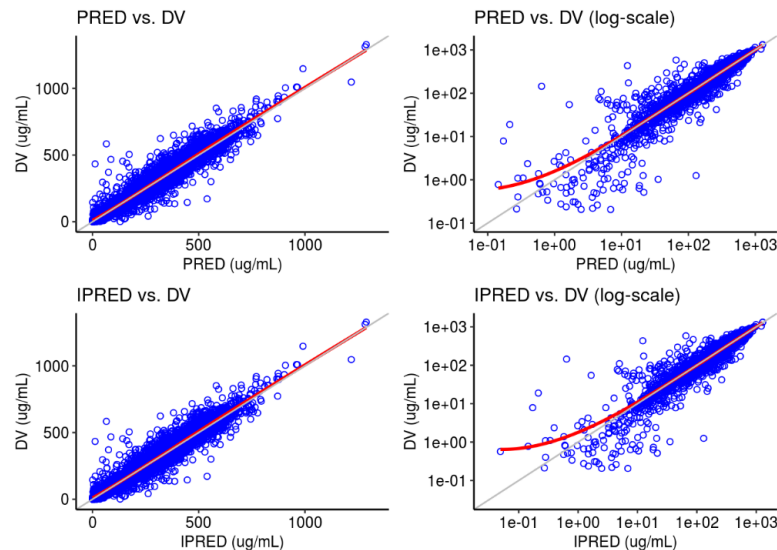


Figura 3.3.[14] *Plot di bontà del fit per il modello completo, valori osservati contro previsioni individuali e di popolazione. Le linee rosse continue rappresentano la versione smooth pesata dei dati. DV = concentrazioni osservate; IPRED = previsioni individuali del modello; PRED = previsioni di popolazione del modello.*

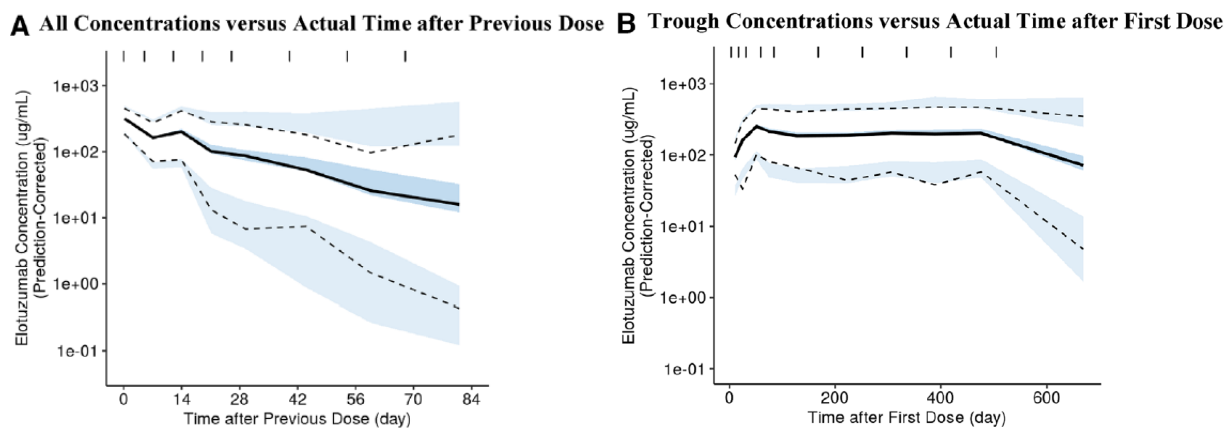
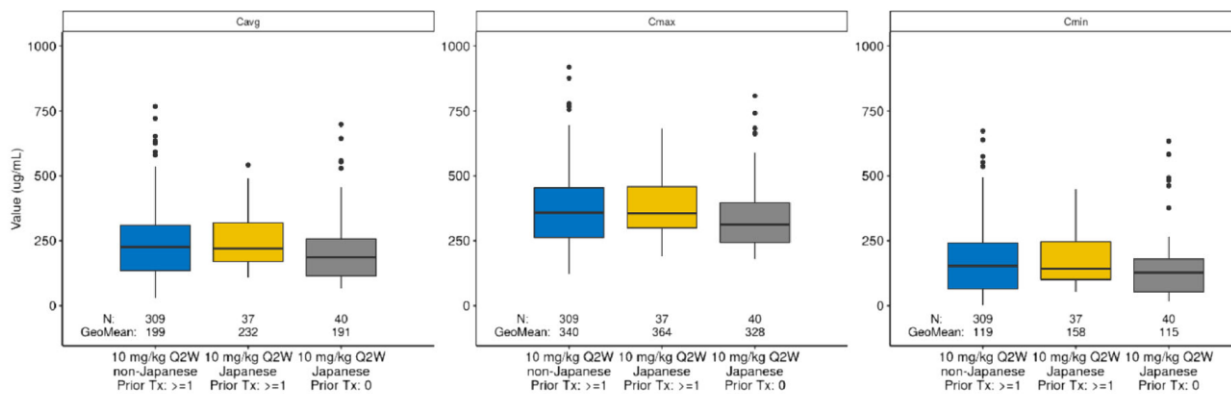


Figura 3.4.[14] *Visual predictive check delle concentrazioni di elotuzumab per il modello PPK completo. (A) Tutte le concentrazioni contro tempo dopo la dose precedente. (B) Concentrazioni pre-dose contro tempo dopo la prima dose. La linea continua rappresenta la mediana delle previsioni osservate corrette dalla predizione di concentrazioni plasmatiche. L'area blu rappresenta il CI del 95% simulato per la mediana. I tratteggi rappresentano i percentili 5° e 95° osservati corretti dalla predizione e le aree blu corrispondenti i CI del 95%. Tx=trattamento. CI=intervallo di confidenza. PPK=farmacocinetica di popolazione.*

3.3.2 Simulazioni

Sono state simulate diverse esposizioni di elotuzumab (valutando C_{avg} , C_{max} e C_{min}) stratificate per linee di terapie precedenti, etnia e regimi di dosaggio (Figura 3.5). Le simulazioni hanno mostrato che tutte le metriche di esposizione sono simili tra i pazienti raggruppati secondo etnia (giapponesi e non giapponesi) e tra i pazienti con zero o più di una linea di terapie precedenti nei cicli 12 e 24. Si sono riscontrate alcune differenze nei valori di C_{max} e C_{min} tra pazienti giapponesi che hanno ricevuto elotuzumab IV 20 mg/kg Q4W e quelli che hanno ricevuto elotuzumab IV 10 mg/kg Q2W.

A Cycle 12



B Cycle 24

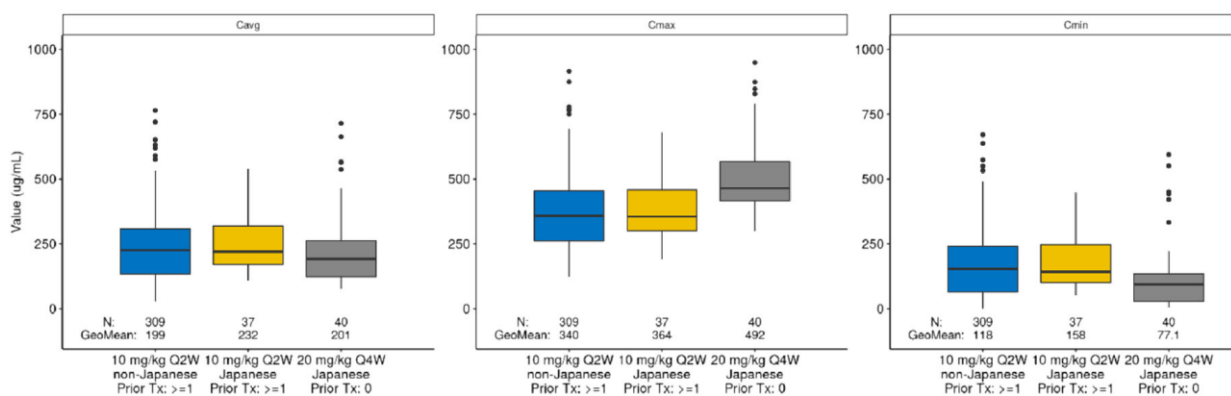


Figura 3.5.[14] Metriche di esposizione di elotuzumab predette stratificate per linee terapeutiche precedenti, etnia e regimi di dosaggio in soggetti con mieloma multiplo trattati con elotuzumab in combinazione con lenalidomide e desametasone. (A) Ciclo 12. (B) Ciclo 24. Note: Nelle simulazioni sono state usate le predizioni condizionate per pazienti con somministrazione concomitante di lenalidomide/desametasone (40 pazienti giapponesi non trattati in precedenza e 37 pazienti giapponesi e 309 non giapponesi con 1 o più terapie precedenti). I box plot rappresentano la mediana (linea in grassetto) e i percentili 25° e 75° delle distribuzioni. Le barre verticali (whiskers) vanno dal cardine (hinge) al minimo o al massimo non discostandosi più di $1.5 \times IQR$ dal cardine. Gli outliers sono rappresentati dai punti neri. C_{avg} , concentrazione plasmatica mediata rispetto al tempo; C_{max} , concentrazione plasmatica massima; C_{min} , concentrazione plasmatica pre-dose; Tx, trattamento. IQR, range interquartile.

Tuttavia nel ciclo 23 C_{avg} si è mostrata simile indipendentemente dai regimi di dosaggio applicati dal ciclo 19 in poi.

Gli effetti della velocità di infusione sull'esposizione del farmaco sono stati valutati simulando i valori predetti di C_{max} , considerata la misura di esposizione più adatta a questa valutazione. Le differenze tra le velocità di infusione massime (2 mL/min e 5 mL/min) nelle predizioni delle medie geometriche di C_{max} sono state minori dell'1% in tutti i cicli valutati. Quindi aumentare la velocità di infusione a 5 mL/min non influisce sull'esposizione di elotuzumab.

Sono state eseguite, inoltre, delle simulazioni di esposizioni a elotuzumab (valutando C_{avg} , C_{max} e C_{min}) stratificate per quartili di proteina M basale. Nei pazienti col quartile maggiore di proteina M basale, i valori predetti di C_{avg} , C_{max} e C_{min} in stato stazionario si sono mostrati minori del 68%, 49% e 82% rispettivamente rispetto ai soggetti col quartile minore di proteina M basale.

3.4 Discussione

Lo studio analizzato ha l'obiettivo di valutare il possibile impatto delle linee terapeutiche precedenti, dell'etnia dei pazienti e della velocità di infusione sull'esposizione di elotuzumab attraverso un modello PPK che include la proteina M tempo-variante (per descrivere meglio la TMDD).

Il modello PPK descrive bene il profilo concentrazione-tempo di elotuzumab nei pazienti con MM. I valori stimati di CL , V_C e V_P si sono mostrati consistenti con quelli dello studio precedente [15]. Tuttavia, i valori stimati di V_{MAX} e K_M sono stati più alti del 32% e del 18% rispettivamente. Inoltre l'effetto stimato della proteina M su V_{MAX} si è rivelato maggiore del 56%. Probabilmente questo è dovuto all'incorporamento della proteina M tempo-variante invece della proteina M basale, in quanto la proteina M decresce col passare del tempo.

Lo studio ha mostrato che l'effetto delle linee terapeutiche precedenti non è stato significativo nel predire la clearance non-specifica (CL) e la clearance mediata dal bersaglio di elotuzumab; infatti in stato stazionario si sono ottenuti valori simili di C_{avg} , C_{min} e C_{max} tra pazienti giapponesi e non con nessuna o più di una linea terapeutica precedente.

Gli effetti dell'etnia sui parametri PK di elotuzumab si sono rivelati minori del 20% e quindi sono stati considerati clinicamente non rilevanti, in accordo con lo studio [15]. Lo stesso confronto non ha mostrato differenze significative tra i valori di C_{avg} , C_{min} e C_{max} tra pazienti giapponesi e non giapponesi. Ciò è consistente con la natura stessa delle proteine terapeutiche che, in quanto macromolecole, non fungono da substrato per gli enzimi citocromo P450 o per i trasportatori di farmaci e quindi ci si aspetta che differenze genetiche dovute all'etnia non influiscano significativamente sulla PK degli mAb.

La clearance non-specifica (CL) si è mostrata più alta del 35% nei pazienti che non hanno ricevuto lenalidomide/desametasone rispetto a quelli che l'hanno assunto. Questo risultato era atteso in quanto il desametasone fa parte degli immunosoppressori, noti per influenzare la clearance degli anticorpi. Il modello ha incluso anche una via di eliminazione mediata dal bersaglio nel compartimento periferico. Un valore di K_{int} 10 volte maggiore nei pazienti che hanno ricevuto la terapia di combinazione è in accordo con il meccanismo di azione del lenalidomide che attiva le cellule NK, causando un aumento nell'eliminazione dell'mAb attraverso il legame con le cellule NK. Si è visto che il bersaglio non è rinnovabile e quindi il fenomeno diminuisce col tempo. Nei pazienti che non hanno ricevuto la terapia di combinazione, i valori predetti di C_{avg} , C_{min} e C_{max} in stato stazionario sono risultati leggermente diversi (variazioni dal 3% al 16%); tuttavia questo effetto non è considerato clinicamente rilevante perché in generale l'mAb non è somministrato come monoterapia, inoltre l'effetto è contenuto. L'efficacia e la sicurezza di elotuzumab sono state dimostrate in combinazione con lenalidomide/desametasone.

La PK di elotuzumab è stata caratterizzata in modo significativo dall'eliminazione non-lineare tramite dipendenza funzionale di tipo Michaelis-Menten. Nei pazienti col quartile maggiore di proteina M basale, i valori predetti di C_{avg} , C_{max} e C_{min} in stato stazionario si sono mostrati minori del 68%, 49% e 82% rispettivamente rispetto ai soggetti col quartile minore di proteina M basale. La proteina M viene secreta dalle cellule tumorali e quindi un alto valore di proteina M indica un alto carico

tumorale. Questo è coerente con una maggiore eliminazione mediata dal bersaglio (le cellule tumorali) di elotuzumab quando la proteina M ha una concentrazione plasmatica elevata. L'effetto che la bassa esposizione nei pazienti con elevata proteina M plasmatica ha sull'efficacia di elotuzumab non è stato completamente stabilito a causa dell'effetto fuorviante della proteina M. L'inclusione nel modello della proteina M tempo-variante ha descritto meglio la variazione temporale della clearance di elotuzumab nei pazienti con MM; infatti la TMDD del farmaco diminuisce insieme alla concentrazione plasmatica di proteina M che a sua volta diminuisce col passare del tempo.

Il peso corporeo sembra influenzare la PK di elotuzumab in quanto sia V_C che CL aumentano all'aumentare del peso. Come riportato nello studio [15], un dosaggio basato sul peso genera esposizioni uniformi su pazienti con diverso peso e minimizza la variabilità inter-individuale nell'esposizione di elotuzumab.

Le stime parametriche per le altre covariate si sono mostrate coerenti tra le due analisi [14] e [15].

L'effetto della velocità di infusione sui parametri PK di elotuzumab, valutato tramite simulazioni, si è mostrato non significativo (C_{max} molto simile tra i soggetti per le velocità di infusione di 2 mL/min e 5 mL/min). Anche questo risultato era abbastanza atteso, in quanto il tempo di *washout* di elotuzumab (3 mesi circa) è molto maggiore del tempo di infusione (da 2.5 a 1 ora circa).

In conclusione i profili PK di elotuzumab sono risultati essere descritti bene da un modello lineare bi-compartimentale con infusione IV di ordine zero ed eliminazione del primo ordine, con eliminazioni parallele lineare e di Michaelis-Menten che includevano la proteina M tempo-variante e un'eliminazione aggiuntiva mediata dal bersaglio dal compartimento periferico. Non sono state osservate differenze clinicamente rilevanti tra pazienti di diversa etnia (giapponese contro non giapponese), che avevano ricevuto nessuna o più di una terapia precedente e che hanno ricevuto il farmaco con diverse velocità di infusione. Tra i pazienti che hanno ricevuto elotuzumab con il regime di dosaggio 20 mg/kg IV Q4W al ciclo 19 e quelli che l'hanno ricevuto con il regime 10 mg/kg IV Q2W, la C_{avg} in stato stazionario è risultata simile (nonostante piccole variazioni nei valori di C_{max} e C_{min}).

Capitolo 4

Belantamab Mafodotin

4.1 Introduzione

Belantamab mafodotin (belamaf) è un anticorpo monoclonale IgG1k umanizzato coniugato con un agente citotossico (ADC, coniugato farmaco-anticorpo), maleimidocaproil monometil auristatina F (mcMMAF), approvato per il trattamento del RRMM in pazienti che hanno ricevuto quattro o più terapie precedenti. Belantamab mafodotin si lega al fattore di maturazione dei linfociti B (BCMA), un recettore presente su tutte le cellule del MM, e viene internalizzato. Una volta all'interno della cellula, l'agente citotossico uccide la cellula in due modi: tramite apoptosi cellulare mediata dal complesso farmaco-anticorpo immuno-indipendente, con rilascio di marcatori caratteristici della morte cellulare, e tramite ADCC o ADCP (immuno-dipendenti) [17].

Lo studio analizzato in questo capitolo [18] ha l'obiettivo di caratterizzare la PK di belamaf, somministrato come monoterapia, in pazienti con RRMM già trattati in precedenza, attraverso un approccio di popolazione.

4.2 Metodi

La PK di belamaf è stata caratterizzata attraverso tre sottomodelli che descrivono, rispettivamente, belamaf (ADC, libero o legato al BCMA solubile), l'anticorpo monoclonale totale (mAb con o senza cisteina-mcMMAF, libero o legato al BCMA solubile) e la cisteina-mcMMAF (cys-mcMMAF). Per lo sviluppo dei modelli PPK sono stati usati i dati di due studi clinici, DREAMM-1 (NCT02064387) e DREAMM-2 (NCT03763370): DREAMM-1 è uno studio di fase 1 con somministrazione endovenosa (IV) di belamaf 0.03-4.6 mg/kg in 73 pazienti con RRMM; DREAMM-2 è uno studio di fase 2 con somministrazione endovenosa (IV) di belamaf 2.5 mg/kg oppure 3.4 mg/kg in 218 pazienti con RRMM. In entrambi gli studi, sono stati misurati i valori di concentrazione di ADC, mAb totale e cys-mcMMAF (nM).

4.2.1 Modelli di farmacocinetica

I modelli farmacocinetici di popolazione sono stati sviluppati con un approccio non lineare a effetti misti (NLMEM). La concentrazione di mAb totale è stata ricavata come somma delle concentrazioni di ADC e dell'mAb non legato (formatosi tramite deconiugazione della cys-mcMMAF). È stato usato un metodo di modellazione sequenziale, partendo dalla caratterizzazione della PK dell'ADC. Successivamente è stato costruito il relativo modello di covariate ottenendo così il modello PPK finale per l'ADC. L'mAb totale e la cys-mcMMAF sono stati modellati usando le stime *post-hoc* dei parametri PK individuali dell'ADC, questo per predire le concentrazioni di ADC come *input* del modello. Per l'ADC è stato usato un modello bi-compartimentale con eliminazione del primo ordine,

parametrizzato in termini di clearance (CL_t), volume di distribuzione del compartimento centrale (V_C), clearance intercompartimentale (Q) e volume di distribuzione del compartimento periferico (V_P); il modello è stato fittato ai corrispettivi dati di concentrazione. Sono stati studiati anche effetti casuali, parametri tempo-varianti e successiva inclusione di covariate plausibili sui parametri rilevanti.

I parametri PK sono stati modellati assumendo distribuzioni dei parametri sia log-normali (equazione 4.1) che normali (equazione 4.2):

$$P_i = TVP_0 \cdot \exp(\eta_i) ; \quad (4.1)$$

$$P_i = TVP_0 + \eta_i ; \quad (4.2)$$

con TVP_0 valore tipico del parametro e η_i variabilità individuale dalla distribuzione normale standard $N(0, \omega^2)$, ω^2 varianza.

Per le concentrazioni log-trasformate (ADC e mAb totale) i parametri sono stati stimati tramite un metodo di stima condizionale del primo ordine (*first order conditional estimation method*) mentre per le concentrazioni non trasformate (cys-mcMMAF) è stato usato un metodo iterativo.

Le covariate sono state scelte in base alla loro plausibilità fisiologica. Le covariate potenziali esaminate sono state quelle demografiche (per es. sesso, etnia, età e peso), quelle indicatrici delle funzioni degli organi (per es. albumina, alanina aminotransferasi [ALT], aspartato aminotransferasi [AST], bilirubina, tasso stimato di filtrazione glomerulare usando la formula *Modified Diet in Renal Disease* [MDRD] e insufficienza epatica), correlate alla malattia (per es. stato di avanzamento *International Staging System* [ISS], stato di performance *Eastern Cooperative Oncology Group* [ECOG], BCMA solubile basale e IgG) e correlate ad altri fattori (medicinale in forma liofilizzata, immunogenicità, precedente trattamento con daratumumab e numero di linee terapeutiche precedenti). Le covariate continue sono state valutate usando una funzione esponenziale (*power function*) mentre le covariate categoriche sono state valutate come variazione frazionaria dal valore tipico.

La selezione formale delle covariate è stata eseguita tramite un metodo di inclusione a regressione progressiva (*stepwise forward inclusion method*) che includeva anche una fase di eliminazione a posteriori (*backward elimination step*).

La performance predittiva del modello è stata valutata tramite *visual predictive check* (VPC) con un minimo di 500 replicazioni dello studio. Gli intervalli di confidenza (CI) del 95% dei parametri sono stati ricavati sia dagli *output* dopo uno *step* di covarianza di successo dopo la stima, sia tramite replicazione della stima tramite *bootstrap* non parametrico con ripetizione usando 1000 o 2000 repliche del *bootstrap*.

4.2.2 Simulazioni della farmacocinetica

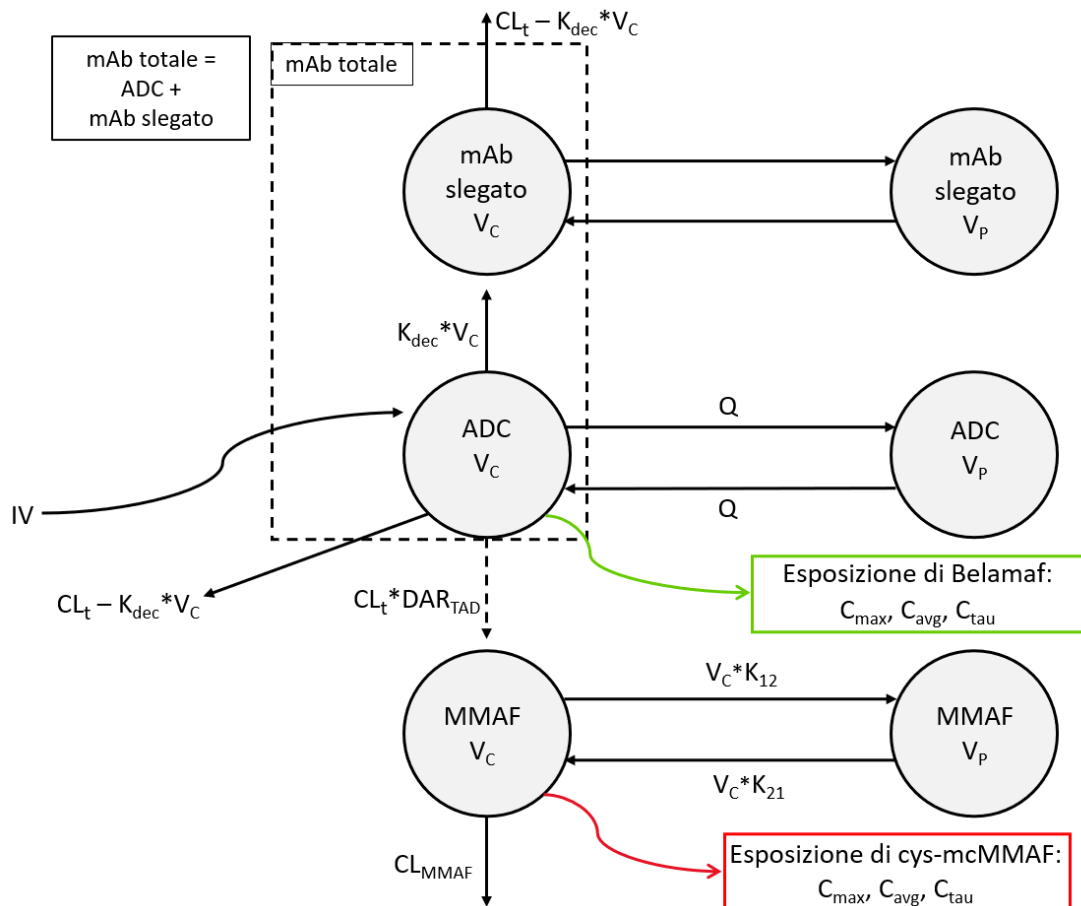


Figura 4.1.[18] Schema di sviluppo del modello PPK per belantamab mafodotin IV. ADC, coniugato anticorpo-farmaco; CL (L/giorno), clearance; CL_t (L/giorno), clearance al tempo t dopo la prima dose; C_{max} (nM), concentrazione massima nel ciclo 1; C_{avg} (nM), concentrazione media nei primi 21 giorni; C_{tau} (nM), concentrazione minima alla fine dell'intervallo di dosaggio di 21 giorni; cys-mcMMAF, cisteina maleimidocaproil monometil auristatina F; DAR, rapporto farmaco-anticorpo; IV, endovenosa; K_{dec} (1/giorno), tasso di deconjugazione; K_{12} (1/giorno), costante di reazione dal compartimento centrale al periferico; K_{21} (1/giorno), costante di reazione dal compartimento periferico al centrale; mAb anticorpo monoclonale; mAb, anticorpo monoclonale; PPK, farmacocinetica di popolazione; TAD (giorni), tempo dopo la dose, V_C (L) e V_P (L) volumi di distribuzione dei compartimenti centrale e periferico rispettivamente.

Entrambi i modelli PPK finali dell'ADC e della cys-mcMMAF sono stati usati per generare le misure di esposizione *post-hoc* per tutti gli individui. Le concentrazioni individuali per ADC e cys-mcMMAF sono state simulate per il ciclo 1 (ogni ciclo è durato 21 giorni) usando le dosi effettive somministrate ad ogni paziente con le proprie stime empiriche di Bayes (*post-hoc*) e le proprie caratteristiche demografiche. Sono state studiate le seguenti misure di esposizione: concentrazione plasmatica massima al ciclo 1 (C_{max} , nM) per ADC e cys-mcMMAF; concentrazione plasmatica media nei primi 21 giorni (C_{avg} , nM) per ADC e cys-mcMMAF; concentrazione plasmatica minima alla fine del ciclo di 21 giorni (C_{tau} , nM) per ADC.

Per valutare l'effetto delle covariate significative su C_{max} , C_{avg} e C_{tau} relative all'ADC e alla cys-mcMMAF al ciclo 1, sono state effettuate delle simulazioni usando il modello finale. Le simulazioni sono state eseguite basandosi sul regime di dosaggio di 2.5 mg/kg con i valori tipici delle covariate. Il paziente tipico in DREAMM-2 è stato definito basandosi sui valori mediani delle covariate: peso

75 kg, maschio, età 65 anni, insufficienza renale leggera, funzione epatica normale, BCMA solubile 100 ng/mL, IgG 10 g/L, albumina basale 40 g/L e dose di 2.5 mg/kg. Sono stati generati dei *forest plot* per mostrare l'impatto delle covariate sulla C_{tau} di ADC e sulla C_{max} di cys-mcMMAF.

4.3 Risultati

4.3.1 Modelli di farmacocinetica

4.3.1.1 Modello per il complesso farmaco-anticorpo

Lo schema dello sviluppo del modello PPK è illustrato nella Figura 4.1. Analizzando i profili temporali di concentrazione di ADC e di mAb totale (di entrambi gli studi), si è osservato come il loro andamento temporale presenti un profilo bifasico; la differenza tra le due concentrazioni aumenta all'aumentare del tempo dopo l'ultima dose. I dati sono illustrati nella Figura 4.2. Come si può osservare, cys-mcMMAF presenta valori di concentrazione molto inferiori rispetto a quelle di ADC; la concentrazione totale di mAb è calata più rapidamente della concentrazione di ADC (concentrazioni osservate dall'8° giorno dopo la dose).

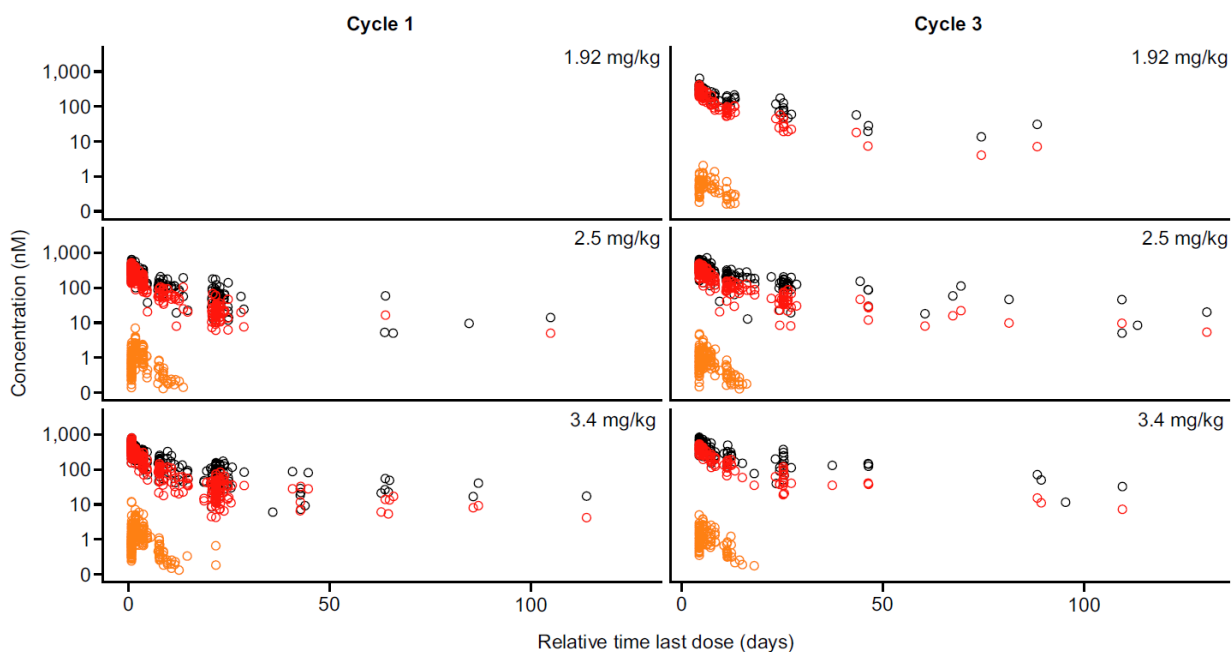


Figura 4.2.[18] *Profili temporali di concentrazione per ADC, mAb totale e cys-mcMMAF dei cicli 1 e 3 dello studio DREAMM-2. I cerchi rossi rappresentano l'ADC, i cerchi neri rappresentano l'mAb totale, i cerchi arancioni rappresentano la cys-mcMMAF. Gli outliers sono stati esclusi dal plot. ADC, coniugato farmaco-anticorpo; cys-mcMMAF, cisteina maleimidocaproil monometil auristatina F; mAb, anticorpo monoclonale.*

La PK dell'ADC è risultata essere descritta da un modello PPK lineare, bi-compartmentale, con eliminazione del primo ordine e clearance tempo-variante (descritta da una funzione sigmoideale mostrata nella Figura 4.3). Il modello iniziale è stato parametrizzato in termini di clearance (CL_t), volume di distribuzione del compartimento centrale (V_C), clearance intercompartimentale (Q) e volume di distribuzione del compartimento periferico (V_P). L'equazione per la clearance tempo-variante è stata scelta consistentemente con quella usata per altri farmaci biologici nei pazienti affetti da tumore. Le equazioni del modello per l'ADC sono le seguenti:

$$\begin{cases} \frac{dA_{ADC1}(t)}{dt} = -\left(\frac{CL_t}{V_C} - K_{dec}\right)A_{ADC1}(t) - K_{dec}A_{ADC1}(t) - \frac{Q}{V_C}A_{ADC1}(t) + \frac{Q}{V_P}A_{ADC2}(t) + In(t) & A_{ADC1}(0) = 0 \\ \frac{dA_{ADC2}(t)}{dt} = \frac{Q}{V_C}A_{ADC1}(t) - \frac{Q}{V_P}A_{ADC2}(t) & A_{ADC2}(0) = 0 \end{cases} \quad (4.3)$$

$$CL_t = CL_{t0} \cdot \exp\left(\frac{IMAX \cdot t^\gamma}{TI50^\gamma + t^\gamma}\right) \quad (4.4)$$

con In (nmol/giorno) *rate* di infusione, Q (L/giorno) clearance intercompartimentale, V_C (L) volume di distribuzione del compartimento centrale, V_P (L) volume di distribuzione del compartimento periferico, CL_t (L/giorno) clearance tempo-variante, $IMAX$ massimo cambiamento della clearance relativo alla clearance al tempo zero (CL_{t0}), $TI50$ (giorni) tempo in cui si è osservato un cambiamento del 50% della clearance, γ coefficiente di Hill, A_{ADC1} (nmol) e A_{ADC2} (nmol) quantità di materia nei compartimenti centrale e periferico dell'ADC, rispettivamente. Le stime parametriche per il modello PPK dell'ADC sono illustrate nella Tabella 4.1. Dalle stime parametriche finali del modello PPK dell'ADC si è osservata una diminuzione temporale della clearance.

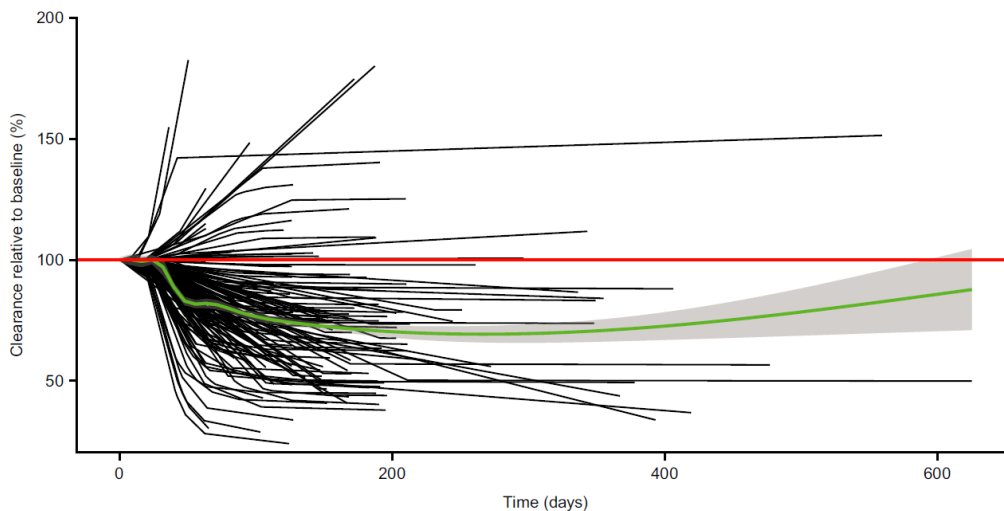


Figura 4.3.[18] *Variazione temporale della CL dell'ADC predetta dal modello finale con CL tempo-variante. La linea rossa corrisponde a nessuno scostamento dalla clearance basale; la linea verde e l'area sfumata rappresentano la versione smooth pesata dei dati e il relativo intervallo di confidenza del 95%. ADC, coniugato farmaco-anticorpo; CL, clearance.*

L'inclusione delle seguenti relazioni parametro-covariate nel modello per l'ADC ha portato ai seguenti risultati:

- le covariate BCMA solubile, albumina, IgG, peso, dose inferiore a 1 mg/kg e studio DREAMM-1 hanno spiegato gran parte della variabilità inter-individuale della clearance (CL_t), il cui coefficiente di variazione (CV) è diminuito dal 58.4% al 34.1%;
- le covariate albumina basale, peso, sesso, dose minore di 1 mg/kg e studio DREAMM-1 hanno spiegato la maggior parte della variabilità inter-individuale del volume di distribuzione centrale (V_C), il cui CV è diminuito dal 27.9% al 14.6%;

anche il CV della variabilità inter-individuale del volume di distribuzione del compartimento periferico (V_p) è diminuito dall'82% al 55.6%.

Tabella 4.1.[18] *Stime parametriche del modello PK di popolazione finale per ADC. ε , errore residuo; ADC coniugato farmaco-anticorpo; BALB, albumina basale; BIGG, immunoglobulina G basale; BSBCMA, fattore di maturazione dei linfociti B solubile basale; BWT, peso; CI, intervallo di confidenza; CL, clearance; ETA, variabilità inter-individuale; I, parametro individuale; IMAX massima variazione della clearance dalla baseline; PK, farmacocinetica; Q, clearance inter-compartimentale; %RSE errore standard relativo percentuale; SE, errore standard; TI50, tempo in cui la CL cambia del 50%; TV, valore tipico; V_c , volume di distribuzione centrale; V_p , volume di distribuzione periferico.*

Parametri PK (unità di misura)	Modello finale	
	Theta	CI del 95%
TVCL (L/giorno)	0.94	0.87, 1.00
TVV _c (L)	4.47	4.34, 4.61
TVQ (L/giorno)	0.78	0.70, 0.88
TVV _p (L)	5.96	5.52, 6.47
IMAX	-0.33	-0.44, -0.24
TI50 (giorni)	53.90	46.90, 64.40
γ	4.30	3.01, 8.02
Effetto di BWT su V_c (θ_{Vc_BWT})	0.50	0.41, 0.58
Effetto di BWT su CL (θ_{CL_BWT})	0.51	0.27, 0.71
Effetto di BALB su CL (θ_{CL_BALB})	-0.97	-1.64, -0.25
Effetto di BALB su V_c (θ_{Vc_BALB})	-0.47	-0.60, -0.33
Effetto del sesso su V_c (θ_{Vc_SEX})	1.14	1.09, 1.18
Effetto di BSBCMA su CL (θ_{CL_BSBCMA})	0.13	0.09, 0.17
Effetto di BIGG su CL (θ_{CL_BIGG})	0.13	0.09, 0.16
Effetto di dose <1 mg/kg su V_p ($\theta_{Vp_ADOSE<1}$)	0.13	0.02, 0.29
Effetto di dose <1 mg/kg su CL ($\theta_{CL_ADOSE<1}$)	0.62	0.46, 0.86
Effetto di DREAMM1/BMA117159 su V_c ($\theta_{Vc_DREAMM1}$)	0.66	0.63, 0.70
Effetto di DREAMM1/BMA117159 su CL ($\theta_{CL_DREAMM1}$)	0.61	0.53, 0.70
ETA _{CL} (%)	35.00	26.70, 40.10
ETA _{V_c} (%)	14.60	12.60, 16.30
ETA _Q (%)	37.80	17.90, 49.50
ETA _{V_p} (%)	46.80	32.60, 60.50
ETA _{IMAX} (%)	123.00	76.10, 199.0
ETA _{TI50} (%)	30.10	18.80, 39.50
RES ERR, ε additivo in scala logaritmica	0.019	0.016, 0.023

Vari metodi di valutazione della bontà del modello, tra cui la bontà del fit (Figura 4.4a), hanno mostrato che il modello per l'ADC descriva i dati in modo soddisfacente. I risultati del *bootstrap* hanno mostrato una stabilità adeguata del modello (Tabella 4.1). Il VPC per l'ADC, illustrato nella Figura 4.5a, permette di apprezzare la robustezza del modello nel descrivere entrambe le dosi (2.5 mg/kg e 3.4 mg/kg).

4.3.1.2 Modello per l'anticorpo monoclonale totale

La PK dell'mAb totale (ADC più mAb slegato dalla cys-mcMMAF) è risultata essere ben descritta da un modello lineare, bi-compartimentale, con eliminazione del primo ordine e clearance tempo-variante.

L'unica differenza tra l'mAb slegato (mAb^*) e l'ADC è la mancanza di alcune piccole molecole di cys-mcMMAF e quindi si è ipotizzato che questo non influenzasse la PK dell'mAb.

I volumi di distribuzione centrale (V_C) e periferico (V_P), la clearance intercompartimentale (Q) e la clearance dell'mAb totale (CL_t) sono state assunte le stesse di quelle dell'ADC. Nella generazione del modello base si ha avuto una sotto-stima della concentrazione di mAb totale, probabilmente a causa dei diversi metodi usati per misurare l'ADC e l'mAb totale. Questa apparente sotto-stima è stata corretta includendo un fattore di correzione nei parametri del modello:

$$IPRED_{mAb_{tot}} = CORR \cdot (IPRED_{ADC} + IPRED_{mAb^*}), \quad (4.5)$$

con $CORR$ (adimensionale) fattore di correzione, $IPRED$ previsioni individuali.

Il modello è stato parametrizzato in termini di $CORR$ e K_{dec} (tasso di deconiugazione). Le equazioni del modello sono le seguenti, dove le equazioni per A_{ADC1} e A_{ADC2} sono le stesse di quelle del modello per l'ADC (4.3):

$$\begin{cases} \frac{dA_{mAb1}(t)}{dt} = -\left(\frac{CL_t}{V_C} - K_{dec}\right)A_{mAb1}(t) - \frac{Q}{V_C}A_{mAb1}(t) + K_{dec}A_{ADC1}(t) + \frac{Q}{V_P}A_{mAb2}(t) & A_{mAb1}(0) = 0 \\ \frac{dA_{mAb2}(t)}{dt} = \frac{Q}{V_C}A_{mAb1}(t) - \frac{Q}{V_P}A_{mAb2}(t) & A_{mAb2}(0) = 0 \end{cases} \quad (4.6)$$

$$A_{mAb_{tot}}(t) = A_{ADC1}(t) + A_{mAb1}(t) \quad (4.7)$$

con K_{dec} (1/giorno) tasso di deconiugazione, A_{mAb1} (nmol) quantità di materia (mAb slegato) nel compartimento centrale, A_{mAb2} (nmol) quantità di materia (mAb slegato) nel compartimento periferico e $A_{mAb_{tot}}$ (nmol) quantità di materia relativa all'mAb totale.

Il VPC (Figura 4.5b), il test della bontà del fit (Figura 4.4b) e altri test mostrano che il modello ha descritto bene i dati di concentrazione dell'mAb totale.

4.3.1.3 Modello per la cys-mcMMAF

La PK della concentrazione di cys-mcMMAF è risultata essere ben descritta da un modello lineare bi-compartimentale con eliminazione del primo ordine. L'*input rate* è governato dalla degradazione proteolitica; il tasso di deconiugazione dell'ADC è stato modellato da un termine empirico di rapporto farmaco-anticorpo (DAR) decrescente col tempo dopo ogni dose. Ad ogni dose il DAR è stato resettato al valore iniziale specifico per belamaf (DAR_0 , adimensionale). Il DAR è stato calcolato nel seguente modo:

$$DAR_{TAD} = DAR_0 \cdot \exp(-RATE \cdot TAD), \quad (4.7)$$

con DAR_{TAD} (adimensionale) il rapporto farmaco-anticorpo al tempo dopo la dose (TAD , giorni) e $RATE$ (1/giorni) il tasso di decrescita del DAR col tempo. Le equazioni del modello per la cys-mcMMAF sono le seguenti, ove le equazioni per A_{ADC1} e A_{ADC2} sono le stesse di quelle del modello per l'ADC (4.3):

$$\begin{aligned} \frac{dA_{MMAF1}(t)}{dt} &= -\frac{CL_{MMAF}}{V_C} A_{MMAF1}(t) - K_{12} A_{MMAF1}(t) + K_{21} A_{MMAF2}(t) + \frac{CL_t}{V_C} DAR_{TAD} A_{ADC1}(t) & A_{MMAF1}(0) &= 0 \\ \frac{dA_{MMAF2}(t)}{dt} &= -K_{21} A_{MMAF2}(t) + K_{12} A_{MMAF1}(t) & A_{MMAF2}(0) &= 0 \end{aligned} \quad (4.8)$$

con CL_{MMAF} (L/giorno) clearance della cys-mcMMAF, V_C (L) volume di distribuzione del compartimento centrale, DAR_{TAD} (adimensionale) rapporto farmaco-anticorpo al tempo dopo la dose più recente, K_{12} (1/giorni) *rate constant* dal compartimento centrale a quello periferico, K_{21} (1/giorni) *rate constant* dal compartimento periferico a quello centrale, V_C, V_P, Q e CL_t gli stessi valori dei modelli dell'ADC e dell'mAb totale, A_{MMAF1} (nmol) quantità di materia nel compartimento centrale e A_{MMAF2} (nmol) quantità di materia nel compartimento periferico.

La cys-mcMMAF ha un'emivita breve (da 10 minuti a 14 ore) e bassi livelli di C_{max} , quindi la maggior parte delle informazioni PK è stata disponibile entro il 7° giorno dopo la somministrazione di ogni dose, tuttavia questo non ha avuto effetti significativi sulle misure di esposizione. Si è osservata una riduzione del DAR del 50% dopo 10.3 giorni dalla somministrazione della dose. Inoltre la variabilità inter-occasionale è stata inclusa sia nella clearance che nel volume centrale di distribuzione di cys-mcMMAF per descrivere le differenze nei profili tra i diversi cicli.

Il modello PPK finale per cys-mcMMAF ha incluso solo l'effetto delle covariate BCMA solubile e IgG sul volume di distribuzione centrale, le quali si sono rivelate significative ma con un effetto contenuto sulla variabilità inter-individuale rispetto a quello che hanno mostrato per ADC. Il VPC (Figura 4.5c), il test della bontà del fit (Figura 4.4c) e altri test mostrano che il modello ha descritto bene i dati di concentrazione di cys-mcMMAF. Le altre covariate di interesse clinico non hanno avuto un impatto significativo sui parametri PK di ADC e di cys-mcMMAF.

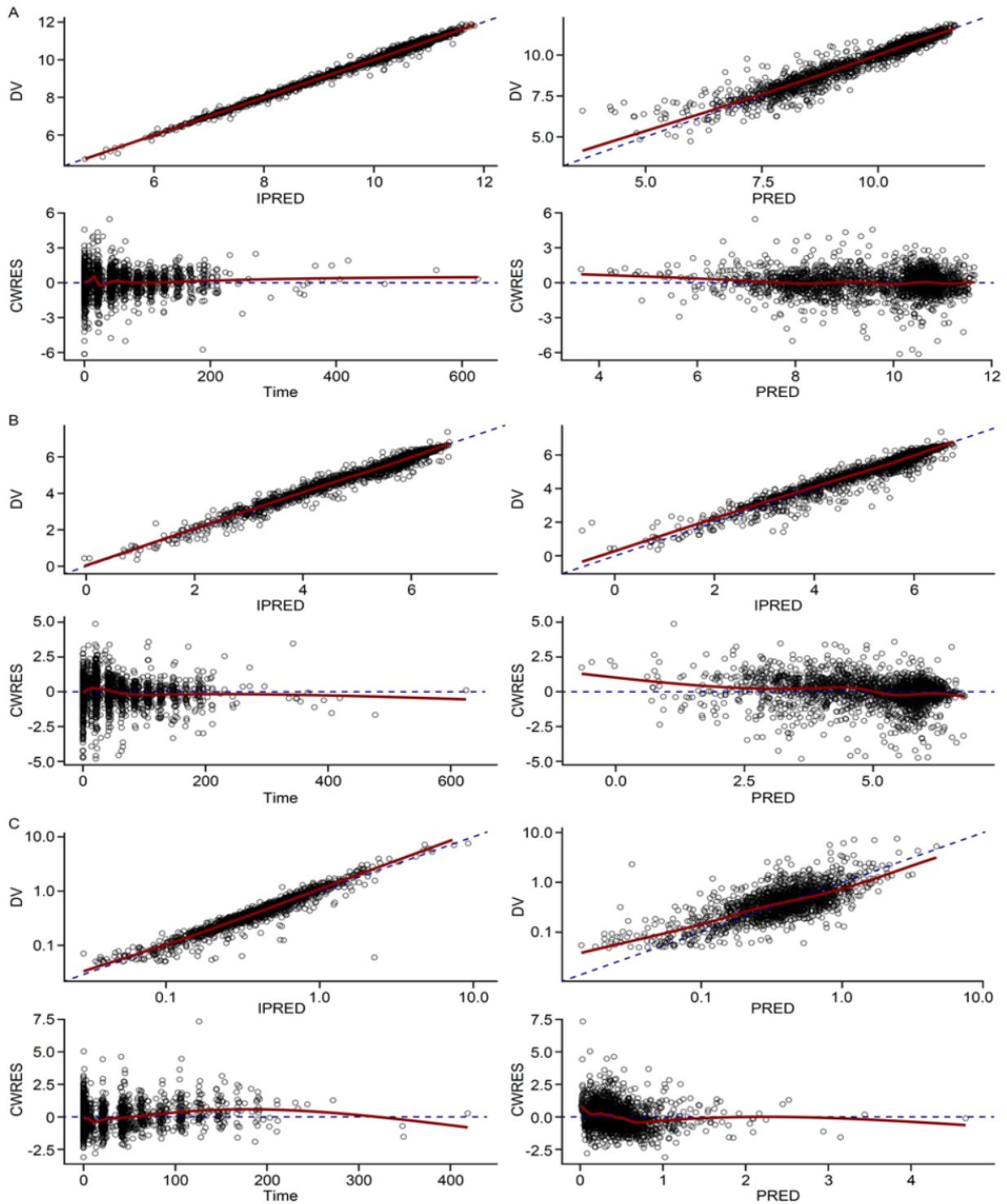


Figura 4.4.[18] *Plot di bontà del fit per i modelli finali per ADC (A), mAb totale (B) e cys-mcMMAF (C). Dati derivanti dagli studi DREAMM-1 e DREAMM-2. Le linee rosse rappresentano la versione smooth pesata dei dati. I dati sono presentati in scala logaritmica. DV, variabile dipendente. IPRED, predizioni individuali, e PRED, predizioni di popolazione, sono nel dominio delle log-trasformate. ADC, coniugato farmaco-anticorpo; mAb, anticorpo monoclonale; cys-mcMMAF, cisteina maleimidocaproil monometil auristatina F; CWRES, residui condizionati pesati.*

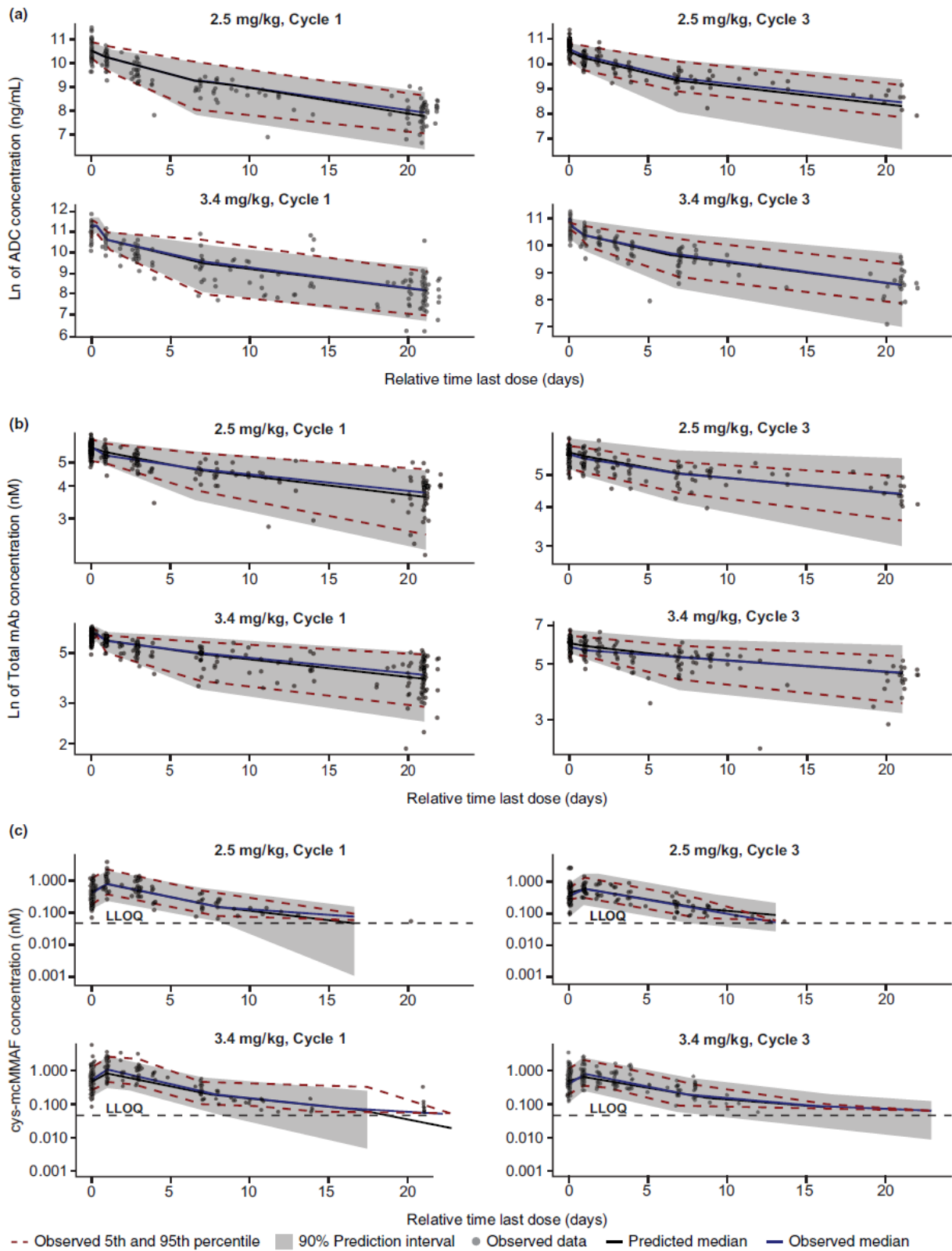


Figure 4.5.[18] *Visual predictive check per ADC (a), mAb totale (b) e cys-mcMMAF (c) stratificati per dose e ciclo di somministrazione di belantamab mafodotin. ADC, coniugato farmaco-anticorpo; cys-mcMMAF, cisteina maleimidocaproil monometil auristatina F; LLOQ, livello inferiore di quantificazione; mAb, anticorpo monoclonale.*

4.3.2 Simulazioni

Le misure di esposizione del ciclo 1 sono state calcolate usando i modelli PPK finali per l'ADC e la cys-mcMMAF. Si è osservata una forte correlazione tra C_{avg} e C_{tau} di ADC, una correlazione più debole tra C_{max} e C_{tau} di ADC e una correlazione debole tra C_{max} di cys-mcMMAF e C_{max} di ADC. Inoltre, per quanto riguarda l'ADC, si è osservata una correlazione inversa tra C_{tau} e le covariate BCMA solubile, IgG e microglobulina- β_2 e una correlazione diretta tra C_{tau} e la covariata albumina basale; inoltre C_{tau} non è stata influenzata significativamente dalla covariata peso. Si sono osservate esposizioni simili tra i pazienti che hanno ricevuto la dose 2.5 mg/kg e quelli che hanno ricevuto la dose 3.4 mg/kg.

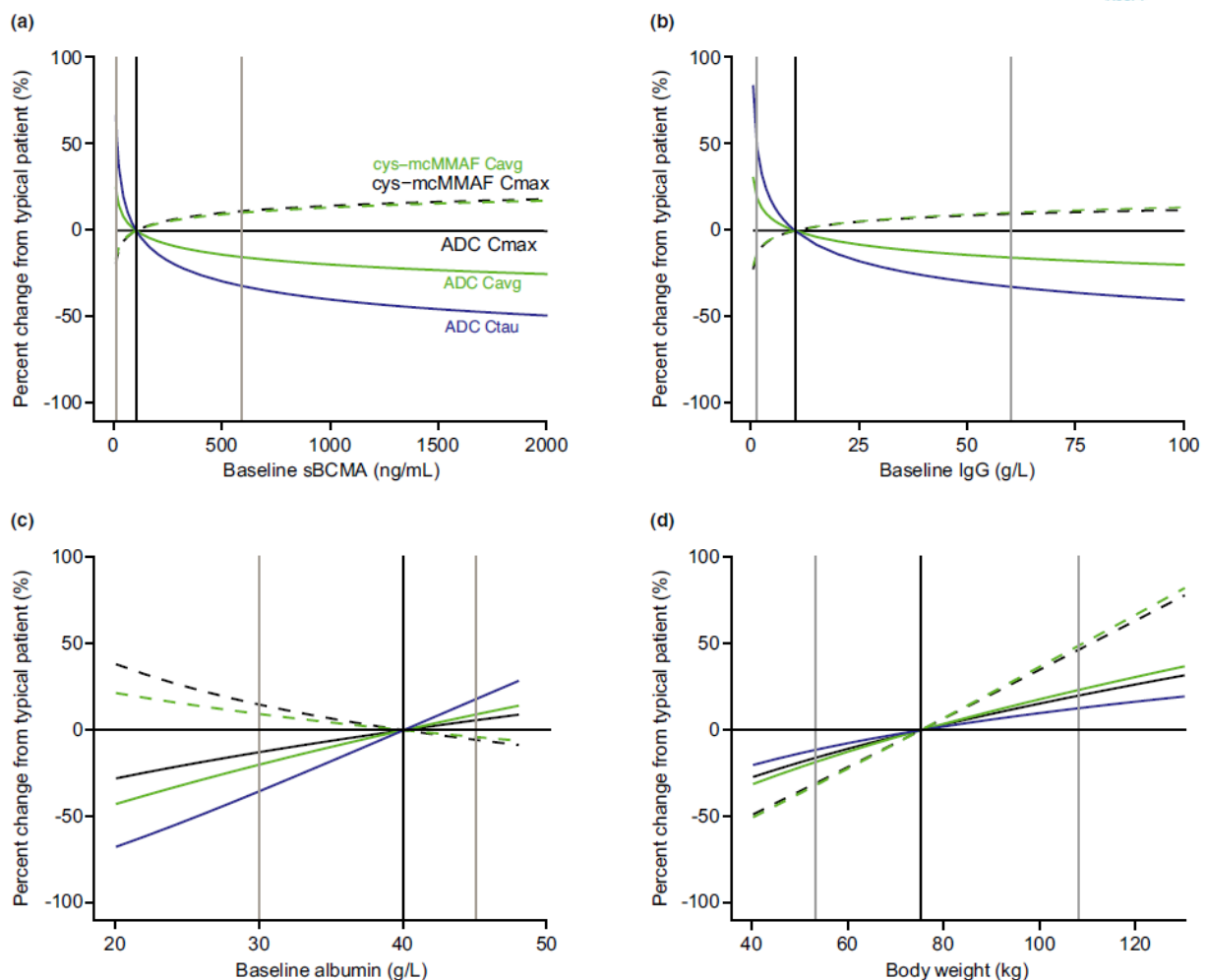


Figura 4.6.[18] *Impatto delle covariate significative sulle misure di esposizione di ADC e di cys-mcMMAF ricavato dai modelli PPK finali per ADC e cys-mcMMAF: (a) sBCMA, (b) IgG, (c) albumina e (d) peso. Le linee nere verticali e quelle grigie rappresentano il paziente tipico con i relativi percentili 5° e 95°. ADC, coniugato farmaco-anticorpo; C_{max} (nM), concentrazione massima al ciclo 1; C_{avg} (nM), concentrazione media nei primi 21 giorni; C_{tau} (nM), concentrazione minima alla fine dell'intervallo di dosaggio di 21 giorni; cys-mcMMAF, cisteina maleimidocaproil monometil auristatina F; IgG, immunoglobulina G, PPK, farmacocinetica di popolazione; sBCMA, fattore di maturazione dei linfociti B solubile.*

Le esposizioni di elotuzumab sono state simulate usando i dati del paziente tipico dello studio DREAMM-2 nei modelli PPK finali per l'ADC e la cys-mcMMAF. Per il dosaggio 2.5 mg/kg si sono ottenuti i seguenti risultati: per ADC $C_{max} = 36.5 \mu\text{g/mL}$, $C_{avg} = 7.76 \mu\text{g/mL}$ e $C_{tau} = 2.22 \mu\text{g/mL}$; per cys-mcMMAF $C_{max} = 917 \text{ pg/mL}$ e $C_{avg} = 217 \text{ pg/mL}$. Con il dosaggio 3.4 mg/kg si sono ottenuti risultati 1.36 volte maggiori.

L'effetto delle covariate significative sulle esposizioni è stato valutato plottando le variazioni percentuali dal paziente tipico, illustrate nella Figura 4.6. Le covariate che hanno avuto un effetto significativo su C_{tau} di ADC sono, in ordine di significatività, BCMA solubile basale, IgG basale e albumina basale, facendo deviare il loro valore più del 30% dal valore tipico (nei percentili dal 5° al 95°). Nel complesso l'impatto delle covariate sull'esposizione di cys-mcMMAF è stato minore, provocando uno scostamento dal valore tipico minore del 30% nei percentili dal 5° al 95°, ad eccezione della covariata peso.

Le covariate di interesse clinico età, sesso, etnia, funzione renale e funzione epatica non hanno mostrato un effetto significativo su C_{tau} di ADC e su C_{max} di cys-mcMMAF. La deviazione massima dalla media geometrica è stata osservata a bassi valori di albumina e ad alti livelli di IgG basale.

4.4 Discussione

La PK dell'ADC, dell'mAb totale e della cys-mcMMAF è ben descritta impiegando modelli PPK lineari bi-compartmentali, con clearance tempo-variante per l'ADC e *DAR* tempo-variante per la cys-mcMMAF. Le stime parametriche sono risultate in accordo con quelle di altri mAb in pazienti affetti da tumore [19,20,21,22,23], incluse la clearance che diminuisce nel tempo, la decrescita massima di clearance e il tempo di decrescita del 50% della clearance.

La clearance tempo-variante potrebbe essere correlata alla riduzione dell'infiammazione o dello stress metabolico, dovuti al farmaco, che comportano un minor catabolismo degli mAb. Un'altra spiegazione del fenomeno potrebbe essere la riduzione del bersaglio, come osservato anche in altri mAb.

Le covariate con un effetto maggiore sull'esposizione di ADC sono risultate essere BCMA basale e IgG, seguite da livello basale di albumina e peso (in misura minore). Le prime tre sono correlate allo stato della malattia; infatti i pazienti in condizioni peggiori, che hanno alti livelli di BCMA solubile e di IgG e bassi livelli di albumina, presentano una CL maggiore e quindi minori C_{tau} e C_{avg} relative all'ADC. Si è visto che l'effetto delle covariate sull'esposizione era opposto per ADC e per cys-mcMMAF, eccezion fatta per il peso. Probabilmente questo è dovuto al fatto che la cys-mcMMAF è generata in parte dalla CL dell'ADC (tramite internalizzazione e rilascio da parte delle cellule di MM morte). L'effetto della covariata IgG sulla clearance è stato riportato anche per altri mAb in tumori caratterizzati da alti livelli di IgG, come il RRMM di tipo IgG. Probabilmente alti livelli di IgG competono con il riciclaggio degli mAb di tipo IgG da parte del fattore neonatale Fc (che protegge dalla degradazione, riciclandoli, sia le IgG che gli mAb di tipo IgG), con conseguente aumento della clearance dell'ADC.

L'emivita stimata dell'ADC (tra 11.5 e 14 giorni) è simile a quella di altri ADC. Inoltre l'effetto degli anticorpi anti-farmaco sull'emivita non si è mostrato significativo.

Le covariate di interesse clinico età, sesso, etnia, funzione renale e funzione epatica non hanno avuto un impatto significativo sulle esposizioni di elotuzumab; questo suggerisce che tali covariate non influiscono significativamente sulla PK.

La dose ha avuto un effetto significativo sulla PK dell'ADC: dosi minori di 1 mg/kg hanno portato a clearance minore e volumi di distribuzione minori; sono stati ottenuti risultati simili anche per altri mAb. In questo modello l'effetto della dose è stato incluso per ridurre la variabilità inter-individuale non spiegata e migliorare il VPC; questo rende difficile spiegare il fenomeno attraverso supposizioni meccanicistiche in quanto la maggior parte dei dati veniva dallo studio in cui i pazienti hanno ricevuto dosi maggiori di 1 mg/kg (DREAMM-2).

La costante di deconiugazione K_{dec} ottenuta per l'mAb totale ($0.059 \text{ giorni}^{-1}$) è coerente con quanto osservato in altri ADC.

Il modello PPK sviluppato presenta alcune limitazioni: il basso numero di pazienti che hanno ricevuto una dose minore di 1 mg/kg, tra l'altro solo in uno dei due studi analizzati; parziale inspiegabilità della variabilità tra gli studi e degli effetti della dose minore di 1 mg/kg; il basso numero di concentrazioni di cys-mcMMAF disponibili negli istanti temporali più avanzati. Tuttavia i test di bontà del fit, i VPC e i *bootstrap* hanno confermato la validità e la stabilità del modello. I modelli hanno anche identificato covariate significative per i parametri PK.

La C_{tau} dell'ADC si è mostrata inversamente correlata alle covariate BCMA basale e IgG e ha presentato valori simili tra i due regimi di dosaggio studiati in DREAMM-2 (2.5 mg/kg e 3.5 mg/kg). La variabilità dei livelli basali di BCMA solubile e di IgG spiega parzialmente i valori simili di C_{tau} per i due regimi di dosaggio. Non si è osservata non-linearità nelle dosi sopra 1 mg/kg.

Le covariate insufficienza renale da leggera a moderata, insufficienza epatica leggera, età, etnia e assenza di trattamenti precedenti non hanno avuto un impatto significativo sui parametri PK dell'ADC e della cys-mcMMAF.

In conclusione i modelli PK per belamaf, l'mAb totale e l'ADC proposti sono in grado di descrivere in maniera adeguata i relativi profili temporali di concentrazione. L'ADC ha mostrato una clearance tempo-variante, in accordo con quanto riscontrato per altri mAb usati in ambito oncologico. Il carico tumorale e le caratteristiche del paziente, ossia IgG basale, BCMA solubile, albumina e peso sono covariate significative. La PK di belamaf, dell'ADC e della cys-mcMMAF non risultano essere influenzate significativamente da insufficienza renale, da leggera a moderata, insufficienza epatica leggera, età, etnia e trattamenti precedenti.

Conclusioni

In questa tesi sono stati analizzati alcuni modelli PK presenti in letteratura, impiegati per descrivere il trattamento del MM attraverso terapie con gli anticorpi monoclonali. Sono stati presi in considerazione sia mAb come agenti singoli, sia in combinazione con farmaci immunomodulatori, sia coniugati farmaco-anticorpo, e per ognuno di essi è stata fornita una caratterizzazione della loro PK (e della PD di uno di essi). Nello specifico, sono stati presentati tre casi di studio riguardanti lo sviluppo di modelli PK di popolazione, rispettivamente di un mAb umano (daratumumab), un mAb umanizzato (elotuzumab) e un mAb umanizzato coniugato con un farmaco citotossico (belantamab mafodotin).

Daratumumab è un mAb di tipo IgGk che bersaglia CD38, approvato per il trattamento del MM. La PK di daratumumab SC è ben descritta da un modello PPK bi-compartimentale con assorbimento del primo ordine e due vie di eliminazione parallele, una lineare e l'altra non-lineare. Questo risultato è coerente con quanto precedentemente osservato per daratumumab SC/IV somministrato come monoterapia. Si è inoltre visto che la terapia di combinazione con pomalidomide/desametasone (Pd) non influenza la PK del farmaco. In aggiunta la clearance non-lineare è stata descritta con una funzione dipendente dal tempo. In questo contesto, è stato anche evidenziato come una modellazione meccanicistica, basata maggiormente sulla fisiologia, potrebbe permettere di descrivere meglio le variazioni della clearance includendo le dinamiche del bersaglio e di alcuni biomarcatori (ad esempio la proteina M), portando a una maggiore performance predittiva del modello PK. La biodisponibilità (F_1) è stata fissata a valori noti dallo studio precedente [9], tuttavia tale assunzione non ha causato polarizzazioni nelle predizioni. Le covariate statisticamente ma non clinicamente significative sono risultate essere: peso, tipo di mieloma, sesso e concentrazione di albumina, quest'ultima probabilmente a causa dell'effetto dell'FcRn. Nessun'altra covariata si è mostrata clinicamente rilevante sulla PK di daratumumab nei pazienti con RRMM trattati con Pd. Le analisi E-R relative all'efficacia hanno mostrato una PFS maggiore nei pazienti trattati con daratumumab in combinazione con Pd rispetto ai pazienti trattati solo con Pd. L'analisi E-R è stata caratterizzata da un effetto di confusione dovuto alla clearance tempo-variante. Analisi E-R più avanzate, che analizzino contemporaneamente esposizione e risposta o altri biomarcatori, potrebbero migliorare la valutazione relativa all'efficacia. L'analisi E-R relativa alla sicurezza ha mostrato che daratumumab ha un profilo di sicurezza accettabile. Inoltre essendo un mAb umano, si sono riscontrati pochi casi di anticorpi anti farmaco (ADA).

Il secondo modello analizzato è stato sviluppato per descrivere Elotuzumab, un mAb di tipo IgG1 che agisce contro SLAMF7, approvato in associazione con lenalidomide e desametasone per il trattamento del MM in pazienti che hanno ricevuto almeno una linea di terapia precedente. La PK di elotuzumab nei pazienti con MM è ben descritta da un modello bi-compartimentale con infusione endovenosa di ordine zero, eliminazioni parallele lineare e di Michaelis-Menten dal compartimento centrale ed eliminazione aggiuntiva mediata dal bersaglio dal compartimento periferico. È stata considerata la proteina M come tempo-variante per descrivere meglio la TMDD. Le uniche covariate

cl clinicamente rilevanti sui parametri PK sono risultate essere peso, assenza di terapia di combinazione con lenalidomide/desametasone e proteina M tempo-variante. La clearance non-specifica si è mostrata più alta nei pazienti che hanno ricevuto la terapia di combinazione rispetto a quelli che non l'hanno ricevuta. Questo è dovuto all'azione immunosoppressoria del desametasone. Il modello ha incluso anche la *target mediated drug disposition* (TMDD) nel compartimento periferico che ha avuto un effetto maggiore nei pazienti che hanno ricevuto la terapia di combinazione, in accordo con il meccanismo d'azione dell'mAb che si lega alle cellule NK, stimulate dal lenalidomide. Il bersaglio non è rinnovabile e quindi l'effetto della TMDD decresce col tempo. L'eliminazione di tipo Michaelis-Menten ha influenzato molto la PK dell'mAb e questo è coerente con la variazione della TMDD al variare del carico tumorale. Questo fenomeno è stato descritto bene dall'incorporazione nel modello della proteina M tempo-variante, che riflette il carico tumorale e quindi la variazione della TMDD. Il peso influenza i parametri PK del modello, come ci si aspetta per un mAb.

Il terzo modello analizzato, infine, è stato sviluppato per descrivere Belantamab mafodotin, un ADC formato da un mAb umano legato a un farmaco citotossico, approvato per il trattamento del RRMM in pazienti che hanno ricevuto quattro o più linee terapeutiche precedenti. Svolge la sua azione legandosi all'antigene di maturazione delle cellule B (BCMA). La PK dell'ADC, dell'mAb totale e della cys-mcMMAF è stata ben descritta impiegando modelli PPK lineari bi-compartimentali, con clearance tempo-variante per l'ADC e rapporto farmaco-anticorpo (*DAR*) tempo-variante per la cys-mcMMAF. Le stime parametriche sono risultate in accordo con quelle di altri mAb in pazienti affetti da tumore [19,20,21,22,23], incluse la clearance che diminuisce nel tempo, la sua decrescita massima e il suo tempo di decrescita del 50%. Le covariate con un effetto maggiore sui parametri PK e sull'esposizione dell'ADC sono risultate essere BCMA basale e IgG, seguite da livello basale di albumina e peso (in misura minore). Le prime tre sono correlate allo stato della malattia e quindi al carico tumorale; infatti pazienti in condizioni peggiori presentano maggiore clearance e minori C_{tau} e C_{avg} . L'effetto della covariata IgG sulla clearance probabilmente è dovuto alla competizione che le IgG hanno nel riciclo degli mAb da parte dell'FcRn. La dose ha avuto un effetto significativo sulla PK dell'ADC, probabilmente causato dalla TMDD saturabile che ha un effetto maggiore sulla clearance con basse dosi di farmaco. Il modello PPK sviluppato presenta alcune limitazioni: il basso numero di pazienti che hanno ricevuto una dose minore di 1 mg/kg, tra l'altro solo in uno dei due studi analizzati; parziale inspiegabilità della variabilità tra gli studi e degli effetti della dose minore di 1 mg/kg; il basso numero di concentrazioni di cys-mcMMAF disponibili negli istanti temporali più avanzati. Tuttavia i test di bontà del fit, i VPC e i *bootstrap* hanno confermato la validità e la stabilità del modello.

In generale, i modelli analizzati nei tre casi di studio sono tutti di tipo compartimentale e assumono considerazioni meccanicistiche basate sulla fisiologia, soprattutto per quanto riguarda l'effetto della TMDD sulla clearance. In particolare, il modello sviluppato per elotuzumab che incorpora la proteina M tempo-variante ha mostrato performance predittive migliori rispetto a quello di partenza che considerava solo la proteina M alla *baseline*. La performance predittiva è risultata soddisfacente per tutti e tre i modelli analizzati. Pertanto, è lecito pensare che l'uso di modelli PK basati sulla fisiologia

può portare a predizioni più accurate e migliori analisi esposizione-risposta. Tuttavia, data la loro complessità, è necessaria un'analisi costi-benefici prima di scegliere questa strategia di modellazione. In alternativa, i modelli PBPK minimi che incorporano l'effetto della TMDD rappresentano un valido compromesso tra complessità e bontà della predizione [7]. In questo modo sarà possibile predire con più affidabilità la PK degli mAb (e di conseguenza ottenere una risposta più accurata in termini di PD) e sfruttare queste informazioni per ottimizzare i trattamenti basati su anticorpi monoclonali.

Bibliografia

1. <https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/guida-ai-tumori/mieloma-multiplo> (ultimo accesso 06/07/2023).
2. Lonial S, Durie B, Palumbo A, San-Miguel J. Monoclonal antibodies in the treatment of multiple myeloma: current status and future perspectives. *Leukemia*. 2016 Mar;30(3):526-35.
3. <https://ecog-acrin.org/resources/ecog-performance-status/> (ultimo accesso 06/07/2023).
4. <https://www.webmd.com/cancer/multiple-myeloma/rmmm-treatment-options> (ultimo accesso 06/07/2023).
5. De Luca F, Allegra A, Di Chio C, Previti S, Zappalà M, Ettari R. Monoclonal Antibodies: The Greatest Resource to Treat Multiple Myeloma. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 5;24(4):3136.
6. Radocha, J.; van de Donk, N.W.C.J.; Weisel, K. Monoclonal Antibodies and Antibody Drug Conjugates in Multiple Myeloma. *Cancers* 2021, 13, 1571. (disponibile su <https://smart.servier.com/>, ultimo accesso 20/02/2021, licenza Creative Commons Attribution 3.0 Unported License (CC 3.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/> ultimo accesso 20/02/2021).
7. Tang Y, Cao Y. Modeling Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Therapeutic Antibodies: Progress, Challenges, and Future Directions. *Pharmaceutics*. 2021 Mar 21;13(3):422.
8. Clemens PL, Yan X, Lokhorst HM, et al. Pharmacokinetics of daratumumab following intravenous infusion in relapsed or refractory multiple myeloma after prior proteasome inhibitor and immunomodulatory drug treatment. *Clin Pharmacokinet*. 2017;56(8):915-924.
9. Luo MM, Usmani SZ, Mateos MV, et al. Exposure-response and population pharmacokinetic analyses of a novel subcutaneous formulation of daratumumab administered to multiple myeloma patients. *J Clin Pharmacol*. 2021;61(5):614-627.
10. Xu XS, Dimopoulos MA, Sonneveld P, et al. Pharmacokinetics and exposure-response analyses of daratumumab in combination therapy regimens for patients with multiple myeloma. *Adv Ther*. 2018;35(11):1859-1872.
11. Dosne A-G, Li X, Luo MM, et al. Population pharmacokinetics and exposure-response analyses of daratumumab plus pomalidomide/dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma. *Br J Clin Pharmacol*. 2022;1-16
12. Liu C, Yu J, Li H, et al. Association of time-varying clearance of nivolumab with disease dynamics and its implications on exposure response analysis. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;101(5):657-666.

13. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/empliciti-epar-product-information_it.pdf (ultimo accesso 06/07/2023)
14. Ide T, Roy A, Imai Y, Vezina HE. Model-Based Determination of Elotuzumab Pharmacokinetics in Japanese Patients With Multiple Myeloma Incorporating Time-Varying M Protein. *J Clin Pharmacol*. 2021 Jan;61(1):64-73.
15. Gibiansky L, Passey C, Roy A, Bello A, Gupta M. Model-based pharmacokinetic analysis of elotuzumab in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2016 Jun;43(3):243-57.
16. <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT02272803> (ultimo accesso 06/07/2023).
17. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/blenrep-epar-product-information_it.pdf (ultimo accesso 06/07/2023).
18. Rathi C, Collins J, Struemper H, Opalinska J, Jewell RC, Ferron-Brady G. Population pharmacokinetics of belantamab mafodotin, a BCMA-targeting agent in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2021;10:851–863.
19. Sanghavi K, Zhang J, Zhao X, et al. Population pharmacokinetics of ipilimumab in combination with nivolumab in patients with advanced solid tumors. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2020;9:29-39.
20. Liu C, Li H, Liu J, et al. Association of time-varying clearance of nivolumab with disease dynamics and its implications on exposure response analysis. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;101:657-666.
21. Li H, Yu J, Liu C, et al. Time dependent pharmacokinetics of pembrolizumab in patients with solid tumor and its correlation with best overall response. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2017;44:403-414.
22. Wilkins JJ, Brockhaus B, Dai H, et al. Time-varying clearance and impact of disease state on the pharmacokinetics of avelumab in Merkel cell carcinoma and urothelial carcinoma. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2019;8:415-427.
23. Bajaj G, Wang X, Agrawal S, Gupta M, Roy A, Feng Y. Model-based population pharmacokinetic analysis of nivolumab in patients with solid tumors. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2017;6:58-66.

Ringraziamenti

Ringrazio il mio relatore per avermi proposto questo interessante argomento e per avermi guidato nella realizzazione di questa tesi.

Ringrazio la mia famiglia e i miei amici per avermi supportato lungo tutto il percorso universitario.