



FRANCESCO FIORENTINI
ACCELERIA SRL, NERVIANO MEDICAL SCIENCES
FRANCESCO.FIORENTINI@ACCELERIA.ORG

RELAZIONI PK/PD NELLA PREDIZIONE DELLE DOSI PER FASE CLINICA

Lo studio modellistico traslazionale delle correlazioni PK/PD consente di incrementare la probabilità di successo nella ricerca di nuovi farmaci, particolarmente nel passaggio alla sperimentazione clinica. Esempi specifici sono presentati per la predizione della dose di farmaco clinicamente attiva.

I modelli di farmacocinetica/farmacodinamica (PKPD) giocano un ruolo molto importante nello sviluppo dei farmaci. Nei modelli PKPD sono utilizzati approcci matematici, mutuati principalmente dalla teoria dei sistemi e dalla statistica, con il fondamentale scopo di predire l'efficacia di un farmaco al variare del dosaggio e dello schema di trattamento, ottenendo, come risultato, l'ottimizzazione della posologia. In particolare, essi giocano un ruolo importante, nella fase di transizione, tra gli studi preclinici e la fase clinica I, laddove cioè è necessario individuare dosi potenzialmente attive e uno schema di trattamento del farmaco che permetta di massimizzarne l'efficacia minimizzandone gli effetti tossici.

I modelli PKPD sono derivati dalle osservazioni sperimentali (dati) cercando di separare la parte sistematica dell'informazione (modello strutturale) dall'elemento di errore non attribuibile a una causa o non spiegato dal modello (rumore). Negli ultimi decenni è stata introdotta nella modellizzazione farmacocinetica/farmacodinamica la variabilità inter-individuale della popolazione. In un generico modello è presente un elemento strutturale (Eq. a) che descrive il comportamento medio nella popolazione, a cui si può aggiungere l'effetto di covariate (es. peso, età, genere, marcatori di efficacia o tossicità) e una componente statistica (varianza del parametro) che descrive la variabilità nella popolazione (Eq. b).

Un semplice ma potente esempio di quest'approccio

è l'analisi farmacocinetica compartimentale, di cui un esempio paradigmatico è riportato qui sotto [1]:

$$C(t) = \frac{D}{V} \cdot e^{-\frac{CL}{V}t + \varepsilon} \quad (\text{Eq. a})$$

$$\left[\frac{CL}{V} \right] \approx \left(\frac{\theta_1 + \theta_2 \cdot \text{Age}}{\mu^{\nu}} \cdot \left[\omega_{CL}^2 \frac{\omega_{CL,V}}{\omega_V^2} \right] \right) \quad (\text{Eq. b})$$

Il primo termine del modello (a) è la parte strutturale in cui sono identificabili due input, la dose e il tempo, e un output, la concentrazione del farmaco. I termini V (Volume di distribuzione) e CL (Clearance) sono i parametri del modello che devono essere stimati dai dati sperimentali (C(t), D). Il secondo termine dell'equazione (ε) è la componente di errore. Modelli più complessi seguono in genere la stessa struttura logica. Un aspetto importante che è racchiuso in questa equazione è che CL e V possono essere predicibili nell'uomo con un certo grado di accuratezza (o forse è meglio dire d'incertezza) partendo da dati raccolti nell'animale. Lo stesso approccio di "scalare" dall'animale all'uomo può essere tentato per i parametri di farmacodinamica.

Esiste una vastissima letteratura e metodologia per predire i parametri farmacocinetici, come la clearance (CL) e il volume di distribuzione (V), nell'uomo usando dati ottenuti dagli esperimenti con gli animali. Le equazioni allometriche si basano sull'assunto che molti processi biologici sono funzione del peso corporeo (e.g., battito cardiaco, flussi di sangue



etc.) e quindi è possibile identificare un'equazione di potenza, tra valore del parametro farmacocinetico e il peso nelle diverse specie. Queste funzioni di potenza stimano parametri empirici a e b, dove b è spesso uguale a 0,75 e 1 per CL e V. Queste equazioni sono molto semplici da usare e di estrema utilità [2]. Equazioni allometriche sono state modificate per considerare i farmaci che sono escreti principalmente nella bile e nel rene e corrette per MLS (maximum life span) oppure per il peso del cervello nelle specie quando il parametro b della CL presentava valori superiori a 0,75.

L'uso di equazioni di potenza, i cui termini sono dose e peso, sono consigliate dalle autorità regolatrici del farmaco, come FDA ed EMA, per il calcolo della dose umana equivalente (HED) partendo dalle NOAL negli animali.

Infatti, l'equazione:

$$HED = \text{dose nell'animale (mg/kg)} \times [\text{peso dell'animale (kg) / peso dell'uomo (kg)}]^{(1-0,67)}$$

è derivata da una equazione di potenza in cui:

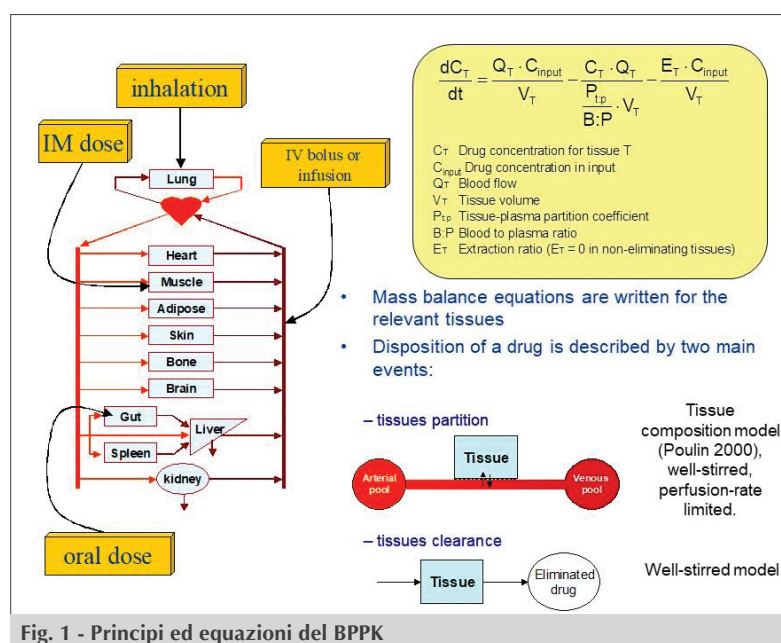
$$\text{Dose (mg)} = A \times (\text{WT})^b \text{ con } b = 0,67 \text{ [3] Appendice C.}$$

Negli ultimi anni i modelli di BPPK sono risultati di estremo interesse per le predizioni allometriche [4]. La disponibilità di calcolatori sempre più potenti ha

permesso la soluzione di sistemi di equazioni differenziali in tempi ragionevoli. Nei modelli BPPK il corpo umano o animale è descritto come una serie di compartimenti interconnessi secondo uno schema anatomico semplificato (Fig. 1). Ogni organo/tessuto è descritto come un compartimento in cui valgono equazioni di bilancio di massa. Due principali processi sono considerati all'interno del compartimento: la partizione e l'eliminazione del farmaco. L'eliminazione avviene frequentemente nel fegato e/o rene anche se altri organi possono cooperare. Dati fisiologici come i flussi di sangue entranti e uscenti dagli organi e i volumi degli organi sono conosciuti nei differenti animali da laboratorio (topo, ratto, scimmia e cane) e ovviamente anche nell'uomo. Una volta stabilito il modello nelle specie animali è possibile predire la farmacocinetica nell'uomo. Questi modelli sono molto utili per il profilo farmacocinetico del farmaco sotto investigazione, sia nelle predizioni allometriche sia nelle simulazioni dell'effetto *in vivo* di un inibitore o di un induttore. Trattando il corpo umano come una serie di compartimenti è possibile avere stime delle concentrazioni di farmaco in vari distretti (cervello, cuore, polmone, tumore etc.).

Esempi di uso di modelli farmacocinetici-farmacodinamici (PKPD) si trovano in molti campi di ricerca farmacologica (antivirali, CNS, oncologia). In oncologia esiste un requisito la cui importanza è spesso trascurata: la disponibilità del modello sperimentale predittivo, per l'azione del chemioterapico, corredato dai relativi dati sperimentali, rappresentati dalla crescita dei tumori indotti da linee cellulari neoplastiche di origine umana impiantate sottocute in topi resi immunodeficienti (modelli xenograft).

Modelli di crescita tumorale sono stati proposti nella letteratura scientifica e possono essere divisi in due gruppi maggiori: i modelli empirici, o semi-empirici, descrivono il fenomeno della crescita dei tumori attraverso equazioni matematiche semplici (funzioni sigmoidali o logistiche generalizzate), ma sono privi di una descrizione profonda dei fenomeni fisiologici sottostanti la crescita dei tumori; i modelli fisiologici, che cercano, al contrario,



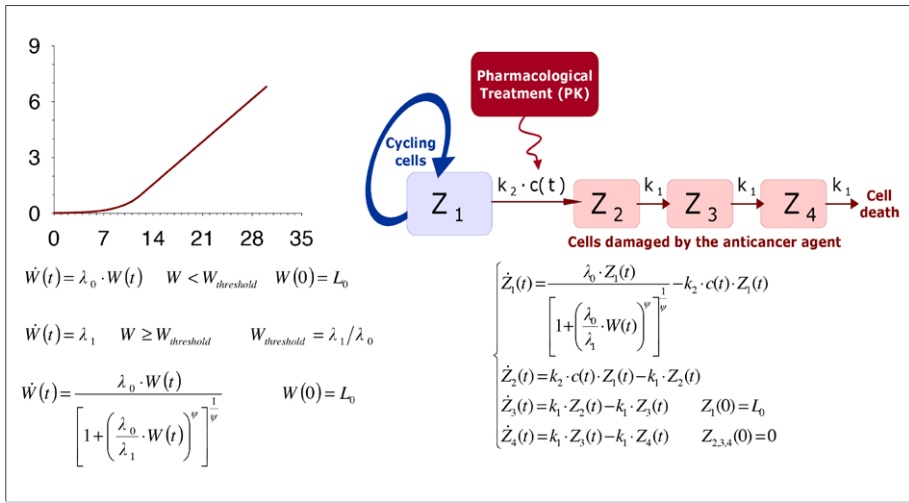


Fig. 2 - Schema delle equazioni del modello PKPD per l'inibizione tumorale nel topo

di descrivere matematicamente i processi biologici della crescita tumorale, partendo da differenti scale di modellizzazione (livello subcellulare, cellulare, tessutale). Questo approccio integra nel modello, ad esempio, l'interazione del tumore con i tessuti circostanti, angiogenesi e crescita vascolare e distacco di metastasi etc.

Questi modelli utilizzano pesantemente sistemi d'equazioni alle derivate parziali in quanto devono fornire una descrizione spaziale e temporale del processo di crescita tumorale e sono, in generale, di notevole difficoltà implementativa, che ne limita fortemente l'applicabilità nel mondo della ricerca sia preclinica che clinica. Il loro sviluppo, inoltre, necessita di molti dati sperimentali per rendere identificabili i parametri del modello. Nel resto della trattazione i modelli sopra citati non saranno più trattati e ci si focalizzerà su quelli semi-empirici, di più facile traduzione algoritmica, e molto utili per lo sviluppo di un nuovo chemioterapico. Un esempio di modello se-

mi-empirico per la crescita tumorale [6] sviluppato nel centro di ricerca di Nerviano è riportato in Fig. 2.

La crescita del tumore, in animali non trattati, è descritta da una fase esponenziale (λ_0) a cui segue la fase lineare (λ_1). Nel modello è identificata una soglia temporale per la transizione tra le due fasi. L'attività terapeutica dei farmaci antitumorali può essere esercitata sia riducendo il tasso di crescita delle cellule (azione citostatica) che aumentandone quello di mortalità (azione citotossica).

Indipendentemente dalla natura del farmaco, l'effetto osservabile, causato dal suo meccanismo d'azione, è la riduzione del tasso netto di crescita. Nel presente modello si assume che l'intervento chemioterapico agisca incrementando la mortalità delle cellule tumorali in maniera proporzionale alla concentrazione del farmaco nel

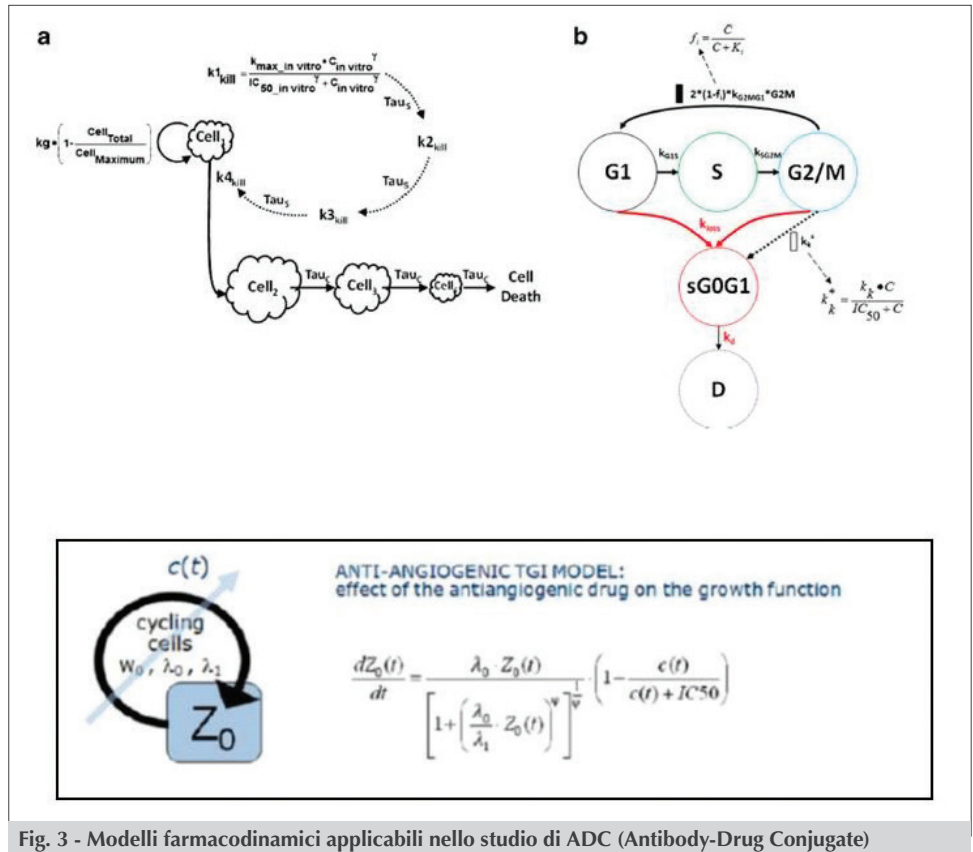


Fig. 3 - Modelli farmacodinamici applicabili nello studio di ADC (Antibody-Drug Conjugate)

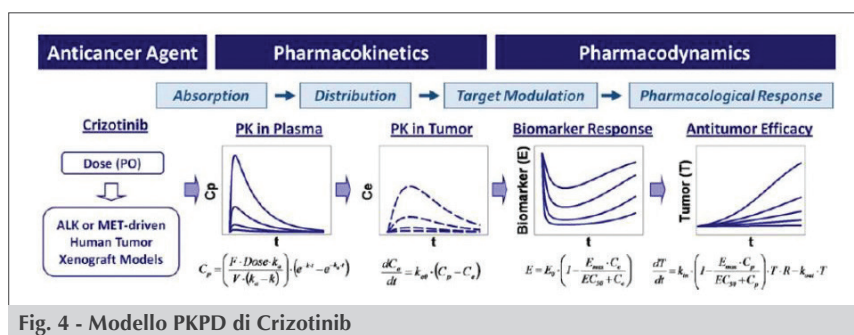


Fig. 4 - Modello PKPD di Crizotinib

suo sito d'azione. Inoltre, tutte le cellule, ciclianti e danneggiate, contribuiscono al peso complessivo del tumore, quelle danneggiate entrano nella "catena di mortalità" andando irreversibilmente verso la morte (escono dal sistema e quindi non contribuiscono più al peso del tumore). In animali trattati la crescita del tumore è decrementata in maniera proporzionale alla concentrazione di farmaco, attraverso un parametro che ne identifica la potenza *in vivo* (K_2). La catena di mortalità è modellizzata da tre compartimenti di transito; il passaggio attraverso questi compartimenti è descritto dal parametro K_1 che rappresenta il ritardo tra l'aggressione del farmaco e la successiva morte cellulare.

In letteratura sono stati proposti modelli alternativi in cui si utilizzano differenti equazioni per descrivere l'interazione tra crescita tumorale e concentrazione di farmaco [7], come indicato in Fig. 3 (a,b). Altri modelli presuppongono un'azione anti angiogenica del farmaco (Bevacizumab, c) sulle cellule tumorali e quindi sulla velocità di crescita del tumore [8], (Fig. 3c).

L'azione anti angiogenica è implementata nel modello PKPD con un effetto inibitorio diretto sui parametri della curva di crescita tumorale [8].

In alcuni modelli la curva di crescita dei tumori negli animali non trattati è di tipo Gompertziano o logistico. In questi modelli si assume che ci sia una fase il cui tasso di crescita va via via decrescendo, raggiungendo un valore asintotico, mimando il comportamento visto nelle neoplasie di grosse dimensioni.

Un aspetto molto interessante

presentato in alcuni modelli è l'integrazione tra l'effetto dei chemioterapici sui biomarcatori e l'inibizione della crescita tumorale [9]. Un esempio di questo approccio è riportato in Fig. 4, per Crizotinib, in cui sono descritte le varie fasi in cui si articola il modello (PK nel plasma → PK nel tumore → effetto del farmaco sui biomarcatori → effetto dei biomarcatori sulla curva di crescita tumorale). Questo approccio è stato scelto per il noto effetto antitumorale di Crizotinib, mediato attraverso la fosforilazione di proteine oncogeniche tipo ALK e MET.

Il ritardo, tra la risposta inibitoria sui biomarcatori e i livelli del farmaco nel plasma (isteresi dell'effetto inibitorio) viene spiegato con l'introduzione di un compartimento effetto. La distribuzione del farmaco nel tumore ne è la causa principale.

La relazione tra inibizione dei biomarcatori e l'attività antitumorale ha permesso di identificare i livelli di inibizione dei biomarker necessari per inibire la crescita tumorale da parte di Crizotinib. I risultati dello studio suggerivano che un'inibizione >90% di MET e >50% per ALK era richiesta per avere una TGI >50%. Questo ha permesso di raccomandare una dose clinica di Crizotinib di 250 mg bid (500 mg/day) che appariva nelle simulazioni effettuate con il modello in grado di inibire MET e ALK >75% nell'uomo rispetto ad un valore basale.

Un secondo esempio di come un modello PKPD è utilizzato nella predizione della dose attiva è ripor-

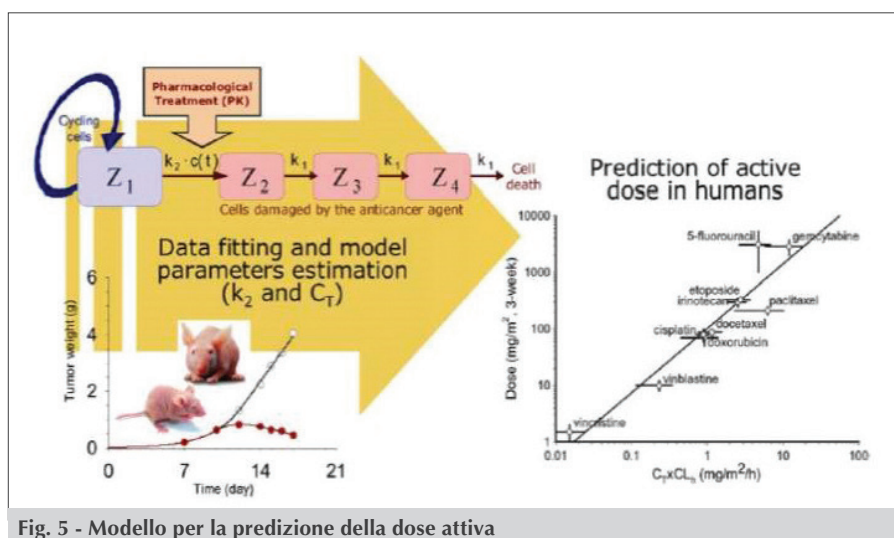


Fig. 5 - Modello per la predizione della dose attiva

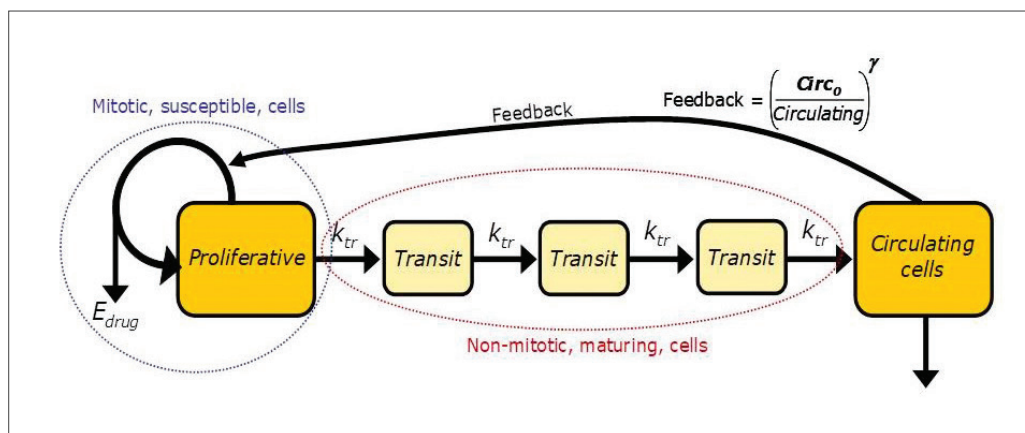


Fig. 6 - Modello PKPD per la mielotossicità di farmaci antitumorali

tato in [10] e descritto nella Fig. 5. Questo modello sfrutta la buona regressione che appare esserci tra il parametro di potenza (K_2) e le dosi clinicamente attive dei chemioterapici.

È possibile costruire una regressione analoga tra i livelli plasmatici di farmaco in grado di fare regredire il tumore (CT) moltiplicato per la clearance plasmatica del farmaco e le dosi attive. CT è derivato come: λ_0/K_2 . I parametri della regressione (intercetta=2,01, pendenza: 1,14) possono essere sfruttati per ottenere una stima della dose attiva in clinica di una nuova molecola antitumorale.

Oltre alla predizione della dose, è possibile ottimizzare il regime di trattamento nell'uomo utilizzando il modello in combinazione con la dinamica delle concentrazioni del farmaco nel tempo. Tali concentrazioni sono predette nell'uomo utilizzando il Dredrick plot o con modelli PBPK. Simulazioni vengono effettuate allo scopo di individuare regimi di dosaggio in grado di mantenere concentrazioni di farmaco che determinano l'eradicazione del tumore.

Mentre per la farmacocinetica esiste una vastissima letteratura e la disponibilità di programmi commerciali (SYMCYP, Gastroplus etc.) che permettono, attraverso modelli di BPPK, di simulare la farmacocinetica nell'uomo partendo da dati negli animali, poco è noto per la traslazione dei parametri farmacodinamici. Nel lavoro riportato da Lindauer [12], gli autori hanno stimato la crescita del melanoma nell'uomo e i parametri sono stati usati nel modello PKPD per le simulazioni dell'effetto del farmaco. Le simulazioni effettuate con il modello PKPD hanno permesso d'individuare 2,0 mg/kg, ogni tre settimane, come la dose minima efficace. L'analisi dimostra

gere degli effetti collaterali del farmaco.

Nella terapia antitumorale, la neutropenia e la trombocitopenia sono comuni effetti tossici che ne limitano l'utilizzo. Modelli PKPD sono stati proposti per l'ottimizzazione del dosaggio e il trattamento nelle fasi cliniche avanzate, con l'uso di dati raccolti nelle fasi cliniche precedenti, e per predire l'effetto tossico di nuove molecole nell'uomo. I dati sono stati ottenuti, in particolare, da esperimenti effettuati sulle scimmie. Un classico modello PKPD per la neutropenia o piastrinopenia è riportato in [13] e descritto nella Fig. 6. Il modello descrive i processi fisiologici della proliferazione di neutrofili e piastrine. In particolare, è identificato un compartimento di cellule progenitrici proliferanti, seguito da tre compartimenti che mimano le fasi di maturazione delle cellule (compartimenti di transito) e, infine, l'eliminazione dei neutrofili (o piastrine) dal compartimento sangue tramite la costante K_{cir} . Un importante elemento del modello è rappresentato dal sistema di feedback che mantiene l'omeostasi del sistema. L'azione del farmaco (E_{drug}) agisce sulle cellule progenitrici attraverso l'equazione:

$$K_{prol} \times (1 - E_{drug})$$

dove E_{drug} ha la forma $E_{drug} = \text{slope} \times C(t)$

oppure

$$E_{drug} = E_{max} \times C(t) / (EC_{50} + C(t))$$

dove $C(t)$ è la concentrazione del farmaco. In alcuni casi nel modello è stato introdotto il feedback anche sul parametro (K_{tr}) che regola la transizione tra i com-

che le dosi 2 e 10 mg/kg sono clinicamente equivalenti per la riduzione del tumore. Un successivo trial clinico ha confermato questa dose come la più bassa per l'efficacia antitumorale. È molto importante identificare la minima dose efficace perché spesso all'incremento della dose si accompagna all'insor-



partimenti di maturazione, per spiegare il transitorio incremento delle cellule alla fine del trattamento (rebound).

Per la predizione dell'effetto neutropenico/piastrinopenico, i parametri fisiologici, come ad esempio il tempo di maturazione delle cellule oppure i valori basali, sono specie specifici, mentre la potenza del farmaco viene mantenuta invariata tra scimmia e uomo. Con l'uso di modelli BPPK è possibile simulare scenari con popolazioni di pazienti con differenti valori dei parametri farmacocinetici; d'altronde, con l'uso di bassi valori di CL è possibile adottare un approccio più conservativo nelle simulazioni dell'effetto tossico del farmaco. Infine, l'utilizzo del modello permette di identificare le dosi e gli schemi di trattamento che minimizzano l'effetto tossico, come esemplificato in Fig. 7 dalla probabilità del trattamento di determinare trombocitopenia di grado 4 (G4 PLT) in funzione delle dosi e schemi trattamento.

Si avverte un crescente interesse da parte delle compagnie farmaceutiche e della comunità scientifica dell'importanza dei modelli PKPD per la predizione di efficacia e tossicità di un nuovo farmaco, con particolare attenzione ai modelli in cui i dati di attività sono integrati con la tossicità. È stata recentemente realizzata una libreria, patrocinata dal consorzio "Drug Disease Model Resources (DDMoRe)", che raccoglie i modelli di PKPD per l'oncologia. Lo scopo di questo consorzio, formato da ditte farmaceutiche e università, è di fornire una piattaforma di modelli e conoscenze per aumentare la qualità e l'efficienza nello sviluppo di nuovi farmaci.

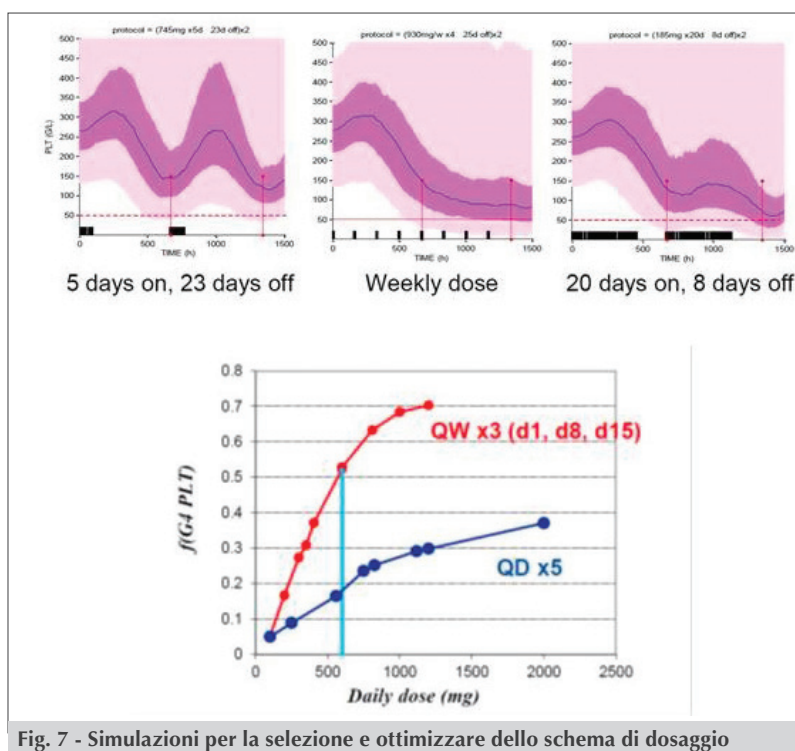


Fig. 7 - Simulazioni per la selezione e ottimizzare dello schema di dosaggio

ottenuti con la tomografia computerizzata o con la risonanza magnetica [16]. Essendo generalmente disponibili pochi dati per paziente, l'analisi della crescita tumorale è stata eseguita con metodi matematici-statistici denominati di Nonlinear Mixed-Effects, già utilizzati nei primi studi su topi xenograft per capire le fonti di variabilità della crescita tumorale. Lo sviluppo di questi modelli potrebbe essere di strategica importanza per ottimizzare il trattamento nell'uomo e meglio capire le relazioni allometriche nella crescita tumorale tra le specie e, in ultima analisi, per lo sviluppo di farmaci antitumorali in grado di sconfiggere la patologia.

Legenda

ALK	Anaplastic lymphoma kinase
BPPK	Physiologically based pharmacokinetic modelling
CL	Clearance
EMA	European Medicines Agency
FDA	US Food and Drug Administration
HED	Dose Umana Equivalente
MLS	Maximum Life Span
MET	Mesenchymal-epithelial Transition Factor
NOAL	No Observed Adverse Effect Levels
WT	Peso
V	Volume di distribuzione

Bibliografia

- [1] P.L. Bonate, Pharmacokinetic-pharmacodynamic Modelling and Simulation, Chapter 1: The art of modelling, 2nd Ed., Springer.
- [2] I. Poggesi, *Current Opinion in Drug Discovery & Development*, 2003, **7**(1), 100.
- [3] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, July 2005, *Pharmacology and Toxicology*, 2012.
- [4] S.A. Peters, Physiologically-Based pharmacokinetic (PBPK) modelling and simulation, John Wiley & Sons, Inc.
- [5] L. Preziosi, *Bollettino dell'Unione Matematica Italiana*, 2005, **8B**, 100.
- [6] M. Simeoni *et al.*, *Cancer Research*, 2004, **64**, 1094.
- [7] A.P. Singh *et al.*, *Pharm Res.*, 2015, **32**, 3508.
- [8] M. Rocchetti *et al.*, *Cancer Chemother Pharmacol.*, 2013, **71**, 1147.
- [9] S. Yamazaki, *AAPS Journal*, 2013, **15**, 354.
- [10] M. Rocchetti *et al.*, *Eur. J. Cancer.*, 2007, **43**, 1862.
- [11] M. Bouillon-Pichault, Population PK/PD modeling of tumor growth inhibition in tumor bearing mice : a translational strategy to predict clinical efficacy?, Abstract PAGE Alicante-Spain, 2014.
- [12] A. Lindauer, *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.*, 2017, **6**, 11.
- [13] L.E. Friberg, *J. Clin. Oncol.*, 2002, **20**, 4713.
- [14] Z.P. Parra-Guillen *et al.*, *AAPS J.*, 2013, **15**, 797.
- [15] J.L. Steimer *et al.*, *European Journal of Cancer*, 2010, **46**, 21.
- [16] N. Buil-Bruna *et al.*, *Oncologist*, 2016, **21**, 220.

PK/PD Relationship in the Predictions of Clinical Phase Doses

In this review we present ways in which translational PK/PD modeling can allow enhancing the probability of success in drug discovery mainly in the transition phase between non clinical studies and first dose in man. Case studies are presented for predicting the expected active doses in humans.

Istruzioni per gli Autori

La *Chimica e l'Industria* è una rivista di scienza e tecnologia e di informazione per i chimici.

Nella rubrica "Attualità" ospita articoli o comunicati brevi su argomenti di interesse rilevante per tutti coloro che operano nella chimica, richiesti dalla redazione o ricevuti come lettere al direttore.

Nella sezione "Science and Technology" pubblica in inglese monografie scientifiche di chimica, ingegneria chimica e tecnologie farmaceutiche, concordate o richieste dal comitato scientifico o dalla redazione.

Nella sezione "Chimica e..." ospita articoli in italiano o in inglese di carattere applicativo, tecnologico e informativo per tutti i settori rilevanti della chimica.

Tutti gli articoli saranno sottoposti al giudizio di almeno un referee.

Testi

I testi possono essere trasmessi via e-mail, completi di tabelle e figure, con chiara indicazione dei nomi degli autori, scrivendo per esteso anche il nome di battesimo, gli Istituti o Enti presso i quali svolgono la loro attività e relativo indirizzo. Va allegato inoltre un breve riassunto del testo sia in italiano sia in inglese (max 300 battute).

I testi dovranno essere contenuti in non più di 30.000 battute per quanto riguarda la sezione "Science and Technology", e non più di 20.000 battute per quanto riguarda la sezione "Chimica e...". Il numero complessivo di tabelle e figure non dovrebbe essere superiore a 10 per la sezione "Science..." e a 5 per la sezione "Chimica e...". Tutti gli articoli dovranno essere corredati di un'immagine esplicativa dell'argomento da poter utilizzare come foto di apertura.

Il titolo non dovrà essere lungo più di 30 battute.

Immagini, schemi, figure vanno inviate in formato jpg, tiff o gif in file separati. Si raccomanda di uniformare la lingua delle immagini a quella del testo;

I richiami bibliografici (non più di 30-35), da citare all'interno del testo, devono essere numerati progressivamente, con numeri arabi tra parentesi quadre. La bibliografia va riportata in fondo al testo secondo gli esempi:

- [1] D.W. Breck, *Zeolite Molecular Sieves*, J. Wiley, New York, 1974, 320.
- [2] R.D. Shannon, *Acta Crystallogr.*, 1976, **32**, 751.
- [3] U.S. Pat. 4.410.501, 1983.
- [4] Chemical Marketing Reporter, Schnell Publ. Co. Inc. (Ed.), June 15, 1992.
- [5] G. Perego *et al.*, *Proceedings of 7th Int. Conf. on Zeolites*, Tokyo, 1986, Tonk Kodansha, Elsevier, Amsterdam, 129.

La redazione invita inoltre gli Autori ad inviare in allegato (fuori testo) con gli articoli anche fotografie o illustrazioni relative al contenuto, sia di tipo simbolico sia descrittivo, per migliorare l'aspetto redazionale e comunicativo (la direzione se ne riserva comunque la pubblicazione).

Tutto il materiale deve essere inviato per e-mail a:
dott. Anna Simonini, anna.simonini@soc.chim.it