



HAL
open science

Modélisation pharmacocinétique - pharmacodynamique de la fludrocotisone par approche de population

Noureddine Hamitouche

► **To cite this version:**

Noureddine Hamitouche. Modélisation pharmacocinétique - pharmacodynamique de la fludrocotisone par approche de population. Médecine humaine et pathologie. Université de Rennes, 2017. Français. NNT : 2017REN1B026 . tel-01830055

HAL Id: tel-01830055

<https://theses.hal.science/tel-01830055>

Submitted on 4 Jul 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Biologie et Sciences de la Santé

Ecole doctorale Biologie-Santé

présentée par

Noureddine Hamitouche

Préparée à l'unité de recherche CIC Inserm 1414
Centre d'Investigation Clinique
Université de Rennes 1

**Modélisation
Pharmacocinétique /
Pharmacodynamique
de la Fludrocortisone
par approche de
population**

**Thèse soutenue à Rennes
le 19 octobre 2017**

devant le jury composé de :

Nicolas Grégoire

MCU, Université de Poitiers / *rapporteur*

David TERNANT

MCU-PH, Université de Tours / *rapporteur*

Jean-Claude ALVAREZ

PU-PH, Université de Versailles / *examineur*

Pascal LE CORRE

PU-PH, Université Rennes1 / *président du jury*

Julie BERTRAND

CR2 Inserm, Université Paris Diderot / *examineur*

Bruno LAVIOLLE

PU-PH, Université Rennes 1 / *directeur de thèse*

Eric BELLISSANT

PU-PH, Université Rennes 1 / *co-directeur de thèse*

Sommaire

Remerciements.....	3
Préambule	5
Chapitre 1. Introduction.....	7
1.1 Généralités sur les corticoïdes	7
1.1.1 Le cycle physiologique du cortisol endogène.....	8
1.1.2 Effets pharmacodynamiques du cortisol et des corticoïdes en général	9
1.2 La fludrocortisone	10
1.2.1. Généralités	10
1.2.2. Pharmacocinétique & pharmacodynamique	11
1.2.3. Mécanisme d'action moléculaire.....	12
1.3 Les corticoïdes et le choc septique.....	13
1.3.1 Rappels sur le sepsis et le choc septique	13
1.3.2 L'insuffisance surrénale dans le choc septique.....	14
1.3.3 La corticothérapie dans le choc septique.....	15
1.3.3.1 Rappel historique.....	15
1.3.3.2 L'intérêt de la fludrocortisone dans le choc septique.....	17
Chapitre 2. La modélisation en pharmacométrie par approche de population.....	19
2.1 La pharmacométrie.....	19
2.1.1 La pharmacocinétique.....	20
2.1.2 La pharmacodynamique et la relation pharmacocinétique-pharmacodynamique	22
2.2 L'approche de population en pharmacométrie	22
2.2.1 Modèles structuraux.....	23
2.2.1.1 Modèles structuraux en pharmacocinétique (approche compartimentale)	23
2.2.1.2 Notion de clairance et de demi-vie pour les cinétiques d'ordre 1.....	25
2.2.1.3 Modèles pharmacocinétique-pharmacodynamiques.....	27
2.2.2 Modèles statistiques.....	30
2.2.3 Choix du modèle et estimation des paramètres	32
2.2.4 Validation du modèle	33
2.2.5 Application aux corticoïdes	34
Chapitre 3. Première étude.....	37
3.1. Résumé	37

3.2. Article	39
Chapitre 4. Deuxième étude	52
4.1. Article	53
Chapitre 5. Troisième étude	62
5.1. Résumé	62
5.2. Article	64
Chapitre 6. Quatrième étude	93
6.1. Résumé	93
6.2. Article	96
Discussion	119
Conclusion	126
Références	127
Publications et abstracts publiés à partir de travaux réalisés	136

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui de près comme de loin ont contribué à cette thèse.

Au Professeur Eric Bellissant,

Pour m'avoir donné la possibilité de réaliser mes deux thèses d'exercice et d'université au sein du CIC Inserm 1414. Recevez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Au Professeur Bruno Laviolle,

Pour votre disponibilité, votre aide, votre confiance et votre soutien tout au long de mon parcours que ce soit pour ma thèse d'université ou bien pour ma thèse d'exercice.

Je vous remercie également de m'avoir fait partager votre passion pour la recherche. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

Au Dr Nicolas Grégoire et Dr David Ternant,

Pour l'intérêt que vous portez à ce travail et d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

Aux Professeurs Pascal Le Corre et Jean-Claude Alvarez et Dr Julie Bertrand,

Pour avoir accepté de participer au jury de ma thèse. Recevez ici l'expression de toute ma gratitude.

Aux membres de l'équipe du laboratoire de pharmacologie,

J'aimerais adresser mes plus sincères remerciements à l'ensemble de l'équipe du service de pharmacologie qui a bien voulu m'accueillir à son sein. Merci pour l'agréable ambiance de ce service. Merci également à tous mes collègues doctorants et post-doctorante du laboratoire pour tous les bons moments partagés.

A mes parents,

Vous avez été toujours présents pour me soutenir, j'espère ne jamais vous décevoir. Merci pour tous ces conseils et ces mots doux et réconfortants dans les moments de doute. La rigueur, la ténacité et le goût du travail que vous m'avez inculqués au cours de ma vie m'ont donné le courage de réaliser cette thèse. Puisse ce travail être le témoignage de la reconnaissance et de l'amour que je vous porte.

A Sarah,

Pour ta patience et tes encouragements malgré la distance qui nous a séparés depuis bien longtemps. Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude et de mon grand amour.

Préambule

Dans ce travail de thèse nous avons choisi d'étudier les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la fludrocortisone dans le but d'évaluer son intérêt éventuel dans le choc septique.

Longtemps l'utilité des corticoïdes dans l'indication citée est restée controversée en raison des résultats obtenus lors des premiers essais testant de fortes doses chez les patients en choc septique. L'évolution des connaissances sur la compréhension de la physiopathologie du choc septique et des mécanismes moléculaires d'action des corticoïdes a permis de relancer leur intérêt dans la prise en charge thérapeutique des patients. En effet, ces molécules sont supposées avoir des effets bénéfiques à faibles doses en tant que traitements substitutifs des insuffisances surrénaliennes que ce soit chez les patients non septiques ou septiques. Chez ces derniers, plusieurs études ont montré avec l'hydrocortisone à faible dose une amélioration significative de la fonction endothéliale (réactivité vasculaire) altérée par le choc septique. Mais des données similaires n'existent cependant pas pour la fludrocortisone. Pourtant, l'hypothèse est que ces effets bénéfiques seraient liés à une action minéralocorticoïde au niveau vasculaire comme cela a été montré récemment. La fludrocortisone étant considérée comme un puissant minéralocorticoïde, nous pensons qu'avec cette molécule nous pourrions observer des effets favorables dans le choc septique.

Les travaux rapportés dans ce mémoire, sous forme d'articles publiés ou en cours de publication, constituent la continuité des recherches initiées par l'équipe « Prévention et traitement du sepsis » du CIC-Inserm 1414 de Rennes qui travaille déjà depuis plusieurs années sur le sujet. Des résultats prometteurs ont d'ores et déjà été obtenus avec la fludrocortisone, administrée seule ou en association avec l'hydrocortisone à des doses dites physiologiques (doses faibles), chez le volontaire sain et sur un modèle murin de choc endotoxinique. Ces résultats nécessitent toutefois d'être confirmés chez les patients. Cependant, avant un éventuel essai chez les patients en choc septique, il est primordial dans un premier temps d'étudier la pharmacocinétique et la relation pharmacocinétique-pharmacodynamique de la fludrocortisone afin de mieux cerner ses effets et de sélectionner sa posologie optimale.

Il s'agit ici d'une réelle démarche de recherche translationnelle. En effet, grâce à la modélisation par approche de population, nous avons pu caractériser la pharmacocinétique et la relation

pharmacocinétique-pharmacodynamique de la fludrocortisone chez des volontaires sains et la pharmacocinétique chez des patients en choc septique. Brièvement, nous avons constaté une importante variabilité interindividuelle au niveau de la pharmacocinétique et une demi-vie courte de la fludrocortisone après administration orale unique. Cette variabilité était beaucoup plus marquée chez les patients en choc septique que chez les volontaires sains. Ces résultats suggéraient de réévaluer la posologie et très probablement la voie d'administration de la fludrocortisone avant son utilisation future chez les patients. Nous avons également observé les effets hémodynamiques (sur la réactivité vasculaire et la pression artérielle) et biologiques (effet minéralocorticoïde) attendus réaffirmant ainsi tout l'intérêt que pourrait avoir cette molécule dans le traitement du choc septique. Enfin, grâce à des simulations initialement réalisées et ensuite confirmées par une autre étude chez les volontaires sains, nous avons des arguments pour penser que la fludrocortisone pourrait avoir des effets bénéfiques chez les patients en choc septique mais à des doses plus importantes que celles précédemment utilisées.

Ce mémoire a été structuré de manière à présenter le contexte, la problématique ainsi qu'une description de l'approche méthodologique utilisée. Nous avons donc commencé tout d'abord par définir ce qu'est le sepsis et le choc septique, discuter de l'intérêt des corticoïdes en général et de la fludrocortisone en particulier dans le choc septique et décrire les méthodes utilisées pour caractériser la pharmacocinétique et la relation concentration-effet de la molécule. Les résultats y sont présentés sous forme d'articles scientifiques publiés ou en cours de publication suivis par une discussion générale et une conclusion.

Chapitre 1. Introduction

1.1 Généralités sur les corticoïdes

Les corticoïdes sont des substances stéroïdes d'origine naturelle ou synthétique. Dans le corps humain ils sont sécrétés de façon continue où ils jouent le rôle d'hormones. Isolés pour la première fois dans les années 1930, ils ont été utilisés avec succès pour traiter une femme atteinte d'une maladie rhumatismale grave. Depuis, les corticoïdes ont été largement utilisés dans le traitement des états septiques sévères, principalement en raison de leur effet anti-inflammatoire (McGee, 2008). Cependant, leur utilisation dans le choc septique reste très peu étendue.

Le principal corticoïde naturellement présent dans l'organisme est le cortisol. Ce glucocorticoïde (appelé en tant que tel en raison de son effet sur la glycémie) est synthétisé à partir du cholestérol au niveau de la zone fasciculée de la glande surrénale. Dans le plasma, les glucocorticoïdes circulent en grande partie sous forme liée (90-95%) essentiellement à deux protéines de transport : l'albumine, possédant une forte capacité mais une faible affinité, et la Cortisol Binding Globulin (CBG), possédant une faible capacité mais une forte affinité (Daughaday, 1956). Seule la forme libre est active et traverse passivement les membranes plasmiques. Les deux formes liée et libre sont en équilibre.

Le cortisol est métabolisé principalement par le foie et le rein (Melby and Spink, 1958). L'enzyme 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase qui existe sous forme de deux iso-enzymes différentes (de types 1 et 2) est impliquée dans cette métabolisation. Le type 1 catalyse la transformation du cortisol en cortisone inactive ainsi que la réaction inverse. Le type 2 par contre catalyse presque exclusivement la conversion unidirectionnelle du cortisol en cortisone (Hardy et al., 2008).

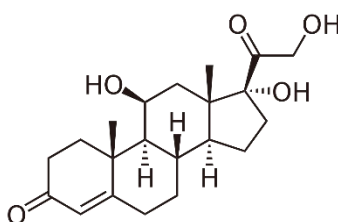


Figure 1. Structure chimique du cortisol.

1.1.1 Le cycle physiologique du cortisol endogène

Dans les conditions physiologiques, la sécrétion du cortisol par la corticosurrénale suit un cycle circadien avec un pic maximal le matin entre 6 h et 8 h puis décroît progressivement jusqu'à un minimum aux environs de minuit (Rohatagi et al., 1996) (**Figure 2**).

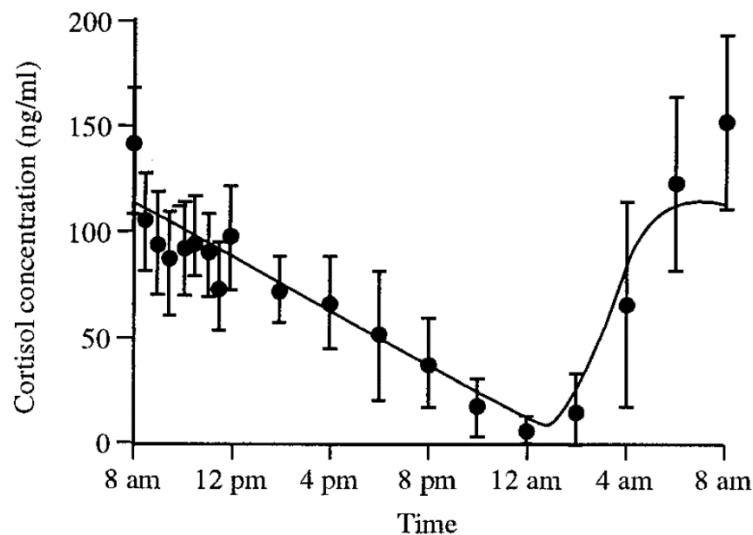


Figure 2. Evolution circadienne des concentrations plasmatiques moyennes du cortisol d'après Derendorf et al., 1998. Données représentées par la moyennes \pm écart-type.

Ce cycle est sous le contrôle de l'axe corticotrope (axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien). Le cortisol est sécrété par la corticosurrénale sous l'action de l'adreno-corticotrop hormone (ACTH) libérée par l'hypophyse antérieure. La sécrétion de l'ACTH est elle-même stimulée par plusieurs facteurs, notamment la corticotropin-releasing hormone (CRH) qui est produite par l'hypothalamus. Il existe un rétrocontrôle négatif des glucocorticoïdes sur l'axe corticotrope en inhibant la production d'ACTH et celle de CRH (**Figure 3**).

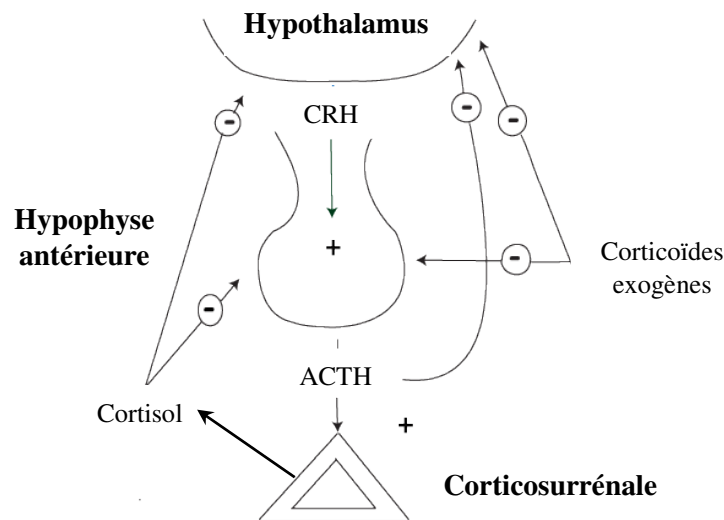


Figure 3. Représentation schématique du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysé-surrénalien. CRH : Corticotropin-Releasing Hormone. ACTH : Adreno-CorticoTropic Hormone.

1.1.2 Effets pharmacodynamiques du cortisol et des corticoïdes en général

Le mécanisme d'action du cortisol et des glucocorticoïdes en général est intracellulaire. Le cortisol diffuse dans le cytoplasme de la cellule cible par un mécanisme passif et se lie à son récepteur cytosolique spécifique (GR) en l'activant. Le complexe activé cortisol-GR ainsi formé, migre vers le noyau de façon active où il joue le rôle d'un facteur modulateur de la transcription des gènes. Le complexe se fixe sur des sites spécifiques de la région promotrice des gènes cibles en stimulant leur transcription en substances anti-inflammatoires ou en inhibant la synthèse de nombreux agents pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF- α). En outre, les corticoïdes inhibent le recrutement des cellules inflammatoires dans les tissus en bloquant la synthèse des chémokines (Mukaida et al., 1991), réduisent la production des leucotriènes en inhibant la phospholipase A2 (Briegel et al., 1994) et enfin, inhibent la synthèse des deux enzymes clé de la réaction inflammatoire impliquées dans le sepsis qui sont la COX-2 (cyclo-oxygenase-2) (Bailey et al., 1988) et l'iNOS (oxyde nitrique synthase inducible) (Radomski et al., 1990).

Les corticoïdes ont des effets cardiovasculaires directes en modulant la réactivité vasculaire (Bellissant and Annane, 2000; Annane et al., 2002) et indirectes par action sur le rein (effets

minéralocorticoïdes) (Laviolle et al., 2013). En effet, deux études menées chez des patients en choc septique, ont permis de montrer une amélioration significative de la réponse pressive à la phényléphrine (Bellissant and Annane, 2000) et à la noradrénaline (Annane et al., 1998) après l'administration d'hydrocortisone. D'autres études encore ont montré une réduction du délai de sevrage aux catécholamines chez des patients traités par des faibles doses de corticoïdes (Briegel et al., 1994; Annane et al., 2002; Seymour et al., 2016).

Les mécanismes impliqués dans ces effets cardiovasculaires directs sont en cours d'être élucidés. L'une des hypothèses formulées anciennement est que ces effets seraient liés à l'inhibition de l'iNOS et de la COX-2 incriminées dans la vasodilatation et en partie dans la réaction inflammatoire (Thiemermann et al., 1995). L'autre hypothèse, plus récente, admet la présence de récepteurs minéralocorticoïdes au niveau de l'endothélium vasculaire sur lesquels les corticoïdes et notamment les minéralocorticoïdes (aldostérone) exerceraient des effets stimulateurs. La stimulation de ces récepteurs permettrait de restaurer l'expression des récepteurs α 1-adrenergiques au niveau endothélial altérée par le choc septique entraînant l'accroissement de la sensibilité vasculaire aux catécholamines endogènes et/ou exogènes (Fadel et al., 2017).

Enfin, les corticoïdes possèdent des effets métaboliques. Les corticoïdes jouent un rôle majeur dans le métabolisme du glucose notamment. Ils stimulent la néoglucogenèse et la glycogénolyse au niveau hépatique. Les corticoïdes entraînent donc une élévation de la glycémie (Pilkis and Granner, 1992). Ils modulent également le métabolisme lipidique, stimulent la lipolyse et diminuent l'utilisation du glucose par les adipocytes.

1.2 La fludrocortisone

1.2.1. Généralités

La fludrocortisone est un corticoïde de synthèse analogue structural de l'hydrocortisone dans lequel un hydrogène a été substitué par un atome de fluor (**Figure 4**) d'où le nom 9 α -fluorohydrocortisone. Le nom chimique de cette molécule est le 9 α -fluoro-11 β , 17 α , 21-trihydroxypregn-7-ène-3,20-dione 21-acétate (Sweetman, 2009). Sur le plan pharmacodynamique, la fludrocortisone est plutôt l'analogue de l'aldostérone qui est naturellement synthétisée dans l'organisme par la corticosurrénale sous l'action du système

rénine-angiotensine. En effet, tout comme l'aldostérone, la fludrocortisone a un effet minéralocorticoïde prédominant. Néanmoins, elle possède une activité glucocorticoïde non négligeable et même supérieure à celle du cortisol à doses égales (Schorderet, 1998). Commercialisée sous forme d'acétate de fludrocortisone, elle n'est actuellement disponible chez l'homme que sous forme orale. Pendant longtemps en France, la fludrocortisone en comprimés de 10 µg et 50 µg était restée une préparation hospitalière fabriquée et distribuée exclusivement par l'AGEPS Etablissement Pharmaceutique – Hôpitaux de Paris et bénéficiait du statut de préparation hospitalière. Ce médicament est désormais disponible en pharmacie d'officine depuis février 2012.

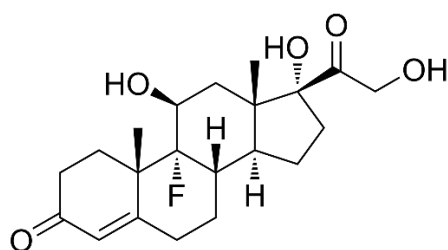


Figure 4. Structure chimique de la fludrocortisone.

La fludrocortisone est principalement utilisée en thérapeutique substitutive dans le traitement des insuffisances surrénaliennes chroniques notamment dans la maladie d'Addison caractérisée par un déficit sécrétoire en cortisol et en aldostérone. Le traitement consiste en l'administration de fludrocortisone en association avec un glucocorticoïde lorsque l'activité de ce dernier s'avère insuffisante pour pallier le déficit en minéralocorticoïdes. Elle est administrée à des doses usuelles de 50 à 100 µg/j chez l'adulte. La fludrocortisone peut également être proposée chez les patients en choc septique en raison de l'insuffisance corticosurrénalienne généralement rencontrée chez ces patients (Rothwell et al., 1991). Cependant, la preuve de son efficacité clinique chez les patients en choc septique en administration seule n'a jamais été établie.

1.2.2. Pharmacocinétique & pharmacodynamique

La pharmacocinétique de la fludrocortisone a fait l'objet de trois études chez l'homme. La première étude en 1971 a été menée chez 5 volontaires sains (Vogt et al., 1971). Dans cette étude, il a été montré que l'absorption de la fludrocortisone par le tractus digestif était rapide et complète. Après administration de 100 µg en per os, la fludrocortisone était détectable dans le

plasma dès la 10^{ème} minute et le pic des concentrations était atteint en 1,7 h. La fludrocortisone administrée sous forme estérifiée est rapidement hydrolysée et seule la forme non estérifiée est détectable dans le sang. La fixation de la fludrocortisone aux protéines plasmatiques est de l'ordre de 75%. Tout comme le cortisol, la fludrocortisone est également métabolisée en grande partie par le foie, sa cinétique peut donc être modifiée par des pathologies hépatiques ou la prise d'inducteurs enzymatiques. L'élimination se fait majoritairement par voie urinaire (80%) sous forme de dérivés conjugués. La fludrocortisone peut également subir un cycle entéro-hépatique avant son élimination fécale. La demi-vie plasmatique de la fludrocortisone a été estimée dans cette étude à 30 minutes.

La deuxième étude a été menée en 1994 chez 14 patients (Mitsky et al., 1994). Plusieurs doses ont été testées. Après administration orale de 200 µg de fludrocortisone, un pic plasmatique de 2.81 ng/mL a été observé 1-1.5 heures après traitement. La demi-vie et le volume de distribution apparent ont été estimés, respectivement, à 2.43 h et 74 L. La rapidité d'absorption digestive et le grand volume de distribution de la fludrocortisone seraient liés de l'importante lipophilie de la molécule ($\log P = 1.67$) (Hansch et al. 1995).

Dans la troisième et dernière étude, publiée récemment, la fludrocortisone à une dose de 100 µg a été testée chez 60 volontaires sains (Banda et al., 2015). Un pic plasmatique de 1.24 ± 0.36 ng/mL a été observé à 0.50 ± 0.25 h après administration et une demi-vie plasmatique estimée à 2.57 ± 0.44 h.

Cependant, aucune de ces trois études citées n'avait déterminé les paramètres pharmacocinétiques de la fludrocortisone par modélisation compartimentale selon une approche de population notamment chez les patients en choc septique. De plus, à notre connaissance, la relation concentration-effets de cette molécule n'a jamais été déterminée.

1.2.3. Mécanisme d'action moléculaire

Ses effets sont principalement ceux des minéralocorticoïdes endogènes (aldostérone) en agissant au niveau des cellules épithéliales du néphron, de l'intestin et du colon.

Tout comme le cortisol, le mécanisme d'action de la fludrocortisone est intracellulaire. La fludrocortisone diffuse à travers la paroi des cellules cibles par un mécanisme simple et se lie à un récepteur soluble cytosolique (MR) en induisant son activation. Le complexe ligan - récepteur ainsi formé migre dans le noyau et se fixe au niveau des régions promotrices des

gènes cibles des minéralocorticoïdes. Il en résulte une activation ou une répression de la synthèse de certaines protéines modulatrices de la perméabilité cellulaire à certains minéraux. Parmi ces protéines induites figure la pompe à sodium Na^+/K^+ ATPase.

La fludrocortisone induit des effets analogues à ceux de l'aldostérone. Elle réduit l'excrétion rénale du sodium et augmente l'élimination du potassium et des ions H^+ (Rogerson et al., 2004). Comme conséquence, une élévation de la pression artérielle est observée, qui est secondaire à l'augmentation de la natrémie et de la volémie. L'élévation de la pression artérielle peut être également la conséquence indirecte de l'accroissement de la sensibilité des muscles lisses des vaisseaux aux catécholamines induit par la fludrocortisone comme pour le cortisol et l'aldostérone (Fadel et al., 2017). La fludrocortisone pourrait également présenter des propriétés glucocorticoïdes anti-inflammatoires et d'autres propriétés cardiovasculaires telles qu'elles ont été décrites pour le cortisol avec des intensités qui restent à déterminer. (cf. *Effets pharmacodynamiques du cortisol et des corticoïdes en général*).

1.3 Les corticoïdes et le choc septique

Les corticoïdes sont supposés avoir un effet bénéfique en tant que traitements substitutifs des insuffisances surrénaliennes que ce soit chez les patients septiques (Annane et al., 2002; Laviolle et al., 2012) ou non septiques (Oelkers, 1996; Arlt and Allolio, 2003). Nous nous sommes intéressés ici au seul cas du choc septique.

1.3.1 Rappels sur le sepsis et le choc septique

Le sepsis est défini comme une dysfonction d'organe menaçant le pronostic vital et causé par une réponse inappropriée de l'hôte à une infection (Singer et al., 2016). L'infection en cause est dans la plupart des cas d'origine respiratoire (50%) ou intra-abdominale (25%) (Group, 2004). Il est aussi proposé une définition pratique qui est une augmentation liée à l'infection du score SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) d'au moins 2 points. La mortalité hospitalière est estimée autour de 10%, justifiant d'une prise en charge adaptée rapide.

Le choc septique est un sous-groupe du sepsis avec anomalies importantes circulatoires et métaboliques et une mortalité d'environ 40%. Se définit donc comme un sepsis associé à une hypotension artérielle réfractaire au remplissage vasculaire et qui nécessite le recours à des

substances vasoactives (catécholamines) afin de rétablir et maintenir une pression artérielle adéquate (pression artérielle moyenne ≥ 65 mmHg) (Seymour et al., 2016). Sur le plan biologique, on retrouve une lactatémie supérieure à 2 mmol/l. Ce choc septique peut être encore plus grave et responsable en grande partie de la surmortalité chez les patients atteints lorsqu'une résistance aux catécholamines est observée.

Le choc septique s'accompagne également de perturbations importantes de la microcirculation, notamment au niveau digestif dont l'intensité est également liée au mauvais pronostic du patient (Seguin et al., 2006). Sur le plan physiopathologique, une libération massive de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α et l'IL-1 β est à l'origine de l'induction et de l'amplification de la réaction inflammatoire. La production de ces cytokines est stimulée soit par l'intermédiaire du complément soit par l'interaction directe des cellules immunitaires de l'hôte avec les composants de la paroi des bactéries responsables de l'infection (exemple du lipopolysaccharide [LPS] de la paroi des bactéries Gram négatif) (Cohen, 2002; Cornélie et al., 2002). Une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) peut également se produire aggravant davantage l'hypoperfusion des organes et induisant une défaillance de ces derniers (Gonda et al., 1993; Cohen, 2002). Le monoxyde d'azote (NO) est également produit en grande quantité au cours du sepsis secondairement à la production et à l'activation de la NO-synthétase inductible (Bateman et al., 2003). Il est responsable d'une vasodilatation artérielle accrue et d'une résistance à l'action vasoconstrictrice des catécholamines et de l'angiotensine.

Enfin, une insuffisance surrénale relative est fréquemment retrouvée chez les patients en choc septique associée à une résistance des tissus périphériques à l'action des corticoïdes (Annane et al., 1998, 2006).

1.3.2 L'insuffisance surrénale dans le choc septique

Dans les situations physiologiques, une agression infectieuse sévère de l'organisme, entraîne une réponse des glandes surrénales qui sécrètent des corticoïdes endogènes (**Figure 3**). Ces corticoïdes exercent des effets modulateurs sur la réponse inflammatoire et sur l'hémodynamique. Cependant, certaines affections tel que le choc septique peuvent altérer le bon fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien qui peut s'accompagner d'une insuffisance corticostéroïde perturbant ainsi le contrôle de la réaction inflammatoire. Dans le cas du sepsis sévère et du choc septique, la prévalence rapportée de l'insuffisance

corticostéroïde est d'environ 60% selon une étude basée sur le test à la métopyrone (Annane et al., 2006).

Les causes de cette insuffisance corticostéroïde peuvent être d'origines diverses en rapport ou non avec le bon fonctionnement de la glande surrénale. L'insuffisance surrénalienne est la cause principale, elle peut être primaire liée à une atteinte de la surrénale elle-même ou secondaire d'origine hypophysaire caractérisée par une diminution de la production de l'ACTH. Le choc septique lui peut s'accompagner d'une insuffisance surrénalienne relative qui peut être la conséquence d'une nécrose (lié entre autre à l'hypo-perfusion de ces tissus à cause du choc hémodynamique) ou d'une hémorragie au niveau d'un élément de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Cette défaillance a donc comme résultat une diminution de la synthèse du cortisol. L'autre cause de l'insuffisance corticostéroïde dans le choc septique est probablement une diminution de la sensibilité périphérique aux glucocorticoïdes consécutive à une altération qualitative ou quantitative des récepteurs tissulaires de ces derniers (Prigent et al., 2004).

L'examen de référence permettant le diagnostic de l'insuffisance surrénalienne se fait habituellement à l'aide du test au synacthène. Le principe consiste en la mesure de la cortisolémie basale à T0 puis après injection de 250 µg de synacthène (ACTH de synthèse) à T30 et à T60 minutes. La variation du taux de cortisol plasmatique entre la valeur basale à T0 et après injection du synacthène reflète la capacité du système endocrinien à répondre au stress. Dans le choc septique, une élévation de la cortisolémie inférieure à 9 µg/dL (250 nmol/L) indique généralement la présence d'une insuffisance surrénale.

Ces observations ont donc mené au principe du traitement substitutif par les faibles doses de corticoïdes pouvant constituer une thérapeutique de choix pour l'amélioration du pronostic vital des patients souffrant de choc septique réfractaire au remplissage vasculaire et aux catécholamines.

1.3.3 La corticothérapie dans le choc septique

1.3.3.1 Rappel historique

Les premières évaluations des effets de la corticothérapie dans le choc septique ont été réalisées en administrant des doses relativement fortes de corticoïdes. Deux méta-analyses des différents

essais réalisés durant ces premières évaluations avaient montré une absence de bénéfice sur la morbi-mortalité et même, à l'inverse, un effet délétère secondaire aux infections (Cronin et al., 1995; Lefering and Neugebauer, 1995) probablement dues à une immunosuppression excessive induite par ces doses de corticoïdes trop fortes. Ces résultats décevants ont donc amené à conclure dans un premier temps à l'inefficacité de la corticothérapie dans le traitement du choc septique.

Cependant, des années plus tard, grâce aux nouvelles connaissances des mécanismes d'action des corticoïdes et de la physiopathologie du choc septique, le protocole du traitement par corticothérapie a été revu et une nouvelle approche a été adoptée. Elle consiste en l'utilisation de doses beaucoup plus faibles de corticoïdes (doses dites physiologiques). En effet, comme mentionné plus haut, le sepsis s'accompagne fréquemment d'une insuffisance corticostéroïde, laquelle peut contribuer à l'instabilité hémodynamique et à l'entretien de l'inflammation. L'apport de corticostéroïdes exogènes à des doses physiologiques permettrait donc de substituer les corticoïdes endogènes déficitaires sans toutefois induire les effets secondaires habituellement rencontrés avec les fortes doses. Partant de ce constat, trois études testant l'hydrocortisone à faibles doses (200-300 mg/jour) chez des patients en choc septique nécessitant des catécholamines avaient montré, après un traitement d'une durée minimale de 5 jours, une réduction du délai de sevrage aux catécholamines et une amélioration clinique des patients (Bollaert et al., 1998; Briegel et al., 1999; Chawla et al., 1999).

La première étude de morbi-mortalité testant les faibles doses de corticoïdes (200 mg/jour d'hydrocortisone associée pour la première fois à de la fludrocortisone 50 µg/jour) chez des patients présentant un choc septique réfractaire a été réalisée en 2002 (Annane et al., 2002). Cette étude a montré une amélioration significative de la survie des malades à J28, notamment chez ceux présentant une insuffisance surrénale relative.

D'autres études ont suivi mais avec des effectifs plus faibles et n'ayant pas comme critère principal la survie. Ces études ont montré une tendance favorable sur la mortalité avec les faibles doses de corticoïdes sans toutefois atteindre la significativité (Keh et al., 2003; Confalonieri et al., 2005; Oppert et al., 2005; Rinaldi et al., 2006).

Enfin, une autre étude réalisée en 2008 (Sprung et al., 2008) testant l'hydrocortisone seule (à la même dose qu'en 2002), n'a pas permis de retrouver les mêmes résultats sur la survie qu'en 2002. Ces résultats discordants ont favorisé l'apparition d'un débat sur l'intérêt des faibles doses de corticoïdes dans le choc septique.

Deux méta-analyses ont ensuite été réalisées en 2004 et 2009 regroupant l'ensemble des études antérieures avec les faibles et les fortes doses de corticoïdes dans le sepsis sévère et le choc septique (Annane et al., 2004, 2009). Ces deux analyses ont montré une réduction significative de la mortalité à J28 chez les patients traités pendant plusieurs jours (≥ 5 jours) uniquement avec les faibles doses (≤ 300 mg/jour).

S'inspirant de ces derniers résultats, les recommandations actuelles (Dellinger et al., 2013) préconisent d'associer les corticoïdes au traitement du choc septique résistant au remplissage vasculaire et aux catécholamines. La posologie recommandée est de 200 mg d'hydrocortisone par jour en administration intraveineuse. Mais aucune recommandation n'existe actuellement pour la fludrocortisone dans cette indication.

1.3.3.2 L'intérêt de la fludrocortisone dans le choc septique

L'intérêt potentiel de la fludrocortisone dans le choc septique résiderait dans ses caractéristiques pharmacologiques. D'une part, la fludrocortisone serait intéressante en raison de son puissant effet minéralocorticoïde. Et d'autre part, même s'il est admis que l'effet minéralocorticoïde induit par 20 mg d'hydrocortisone correspond à celui induit par 50 μ g de fludrocortisone (Oelkers et al., 1992; Arlt and Allolio, 2003), cette dernière pourrait supplanter l'hydrocortisone pour la raison suivante : durant le choc septique, il existe probablement une activité accrue de la 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 ayant pour effet de diminuer la liaison du cortisol sur les récepteurs minéralocorticoïdes (Venkatesh et al., 2007). Ceci pourrait donc avoir comme conséquence une diminution des effets minéralocorticoïdes de l'hydrocortisone.

Concernant son intérêt sur la survie, les résultats discordants entre l'étude de 2002 (association hydrocortisone + fludrocortisone) (Annane et al., 2002) et celle de 2008 (hydrocortisone seule) (Sprung et al., 2008), ont amené à penser que l'adjonction de la fludrocortisone apportait probablement un bénéfice supplémentaire par rapport à l'utilisation de l'hydrocortisone seule bien que cette dernière molécule soit supposée avoir un effet minéralocorticoïde non négligeable aux doses utilisées (Arlt and Allolio, 2003).

Plus récemment, il a été montré que l'association hydrocortisone + fludrocortisone induisait les effets biologiques attendus chez des patients en choc septique sans toutefois être en mesure de distinguer les effets spécifiques de chaque molécule (Laviolle et al., 2012).

En somme, il existe actuellement très peu d'études sur les effets de la fludrocortisone, et ses effets propres dans le choc septique restent encore à explorer.

Sur le plan pharmacocinétique, il est intéressant de noter que le choc septique est souvent associé à une diminution du débit de perfusion hépato-splanchnique ayant probablement un impact sur la biodisponibilité de la molécule par voie orale (baisse de la biodisponibilité) et donc sur son effet (Reilly et al., 2001; Seguin et al., 2002, 2006). La preuve du passage systémique de la fludrocortisone administrée par voie orale chez les patients en choc septique reste donc à démontrer afin d'affirmer le lien entre cette molécule et les effets observés.

Par ailleurs, chez les volontaires sains, en utilisant les mêmes doses unitaires de fludrocortisone et d'hydrocortisone que chez les malades en choc septique, il a été observé que la fludrocortisone induisait des effets minéralocorticoïdes (évalués par le rapport Na^+/K^+ urinaire) moins marqués et plus tardifs que ceux de l'hydrocortisone. En revanche, des effets hémodynamiques (sur le débit cardiaque, les résistances vasculaires systémiques et la pression artérielle) transitoires n'ont été observés qu'avec l'hydrocortisone (Laviolle et al., 2010). Ces résultats suggéraient que la dose de fludrocortisone utilisée était trop faible pour induire les effets hémodynamiques recherchés et qu'il serait nécessaire de réévaluer cette dose avant de l'utiliser chez les patients en choc septique.

Enfin, une étude plus récente sur un modèle murin de choc endotoxinique évaluant l'effet de la fludrocortisone seule à différentes doses (Laviolle et al., 2014), a confirmé chez l'animal l'effet bénéfique de la molécule sur la pression artérielle et sur la réactivité vasculaire. Une relation dose-effet significative sur la pression artérielle a été notamment observée sur la contraction d'artères mésentériques de rats *in vitro*. Cet effet sur la pression artérielle pourrait résulter de l'accroissement de la sensibilité des cellules vasculaires aux catécholamines vasoconstrictrices induit par l'action d'un minéralocorticoïde. Le mécanisme sous-jacent impliquerait une augmentation de l'expression des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques au niveau vasculaire (Fadel et al., 2017).

Dans le cadre de cette thèse nous avons voulu caractériser la pharmacocinétique et la relation pharmacocinétique-pharmacodynamique de la fludrocortisone par une approche de population afin de quantifier les effets propres de cette molécule et déterminer la posologie optimale à utiliser chez les patients.

Chapitre 2. La modélisation en pharmacométrie par approche de population

2.1 La pharmacométrie

La pharmacométrie est une discipline regroupant l'ensemble des méthodes permettant de quantifier l'activité pharmacologique d'un médicament en tenant compte de la variabilité qui peut exister entre les différents individus d'une même population ou d'une population à une autre. Elle occupe actuellement une place incontestable dans le processus de développement des médicaments. Elle consiste à analyser quantitativement des données obtenues lors d'essais précliniques et cliniques de médicaments, afin de décrire dans un premier temps et ensuite de prédire l'efficacité et la toxicité de ces produits chez les patients. L'objectif est d'évaluer et d'optimiser des protocoles thérapeutiques pour une meilleure efficacité du médicament. Elle englobe deux composantes qui sont la pharmacocinétique (PK) et la pharmacodynamique (PD) ainsi que la combinaison des deux, la pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) (Figure 5).

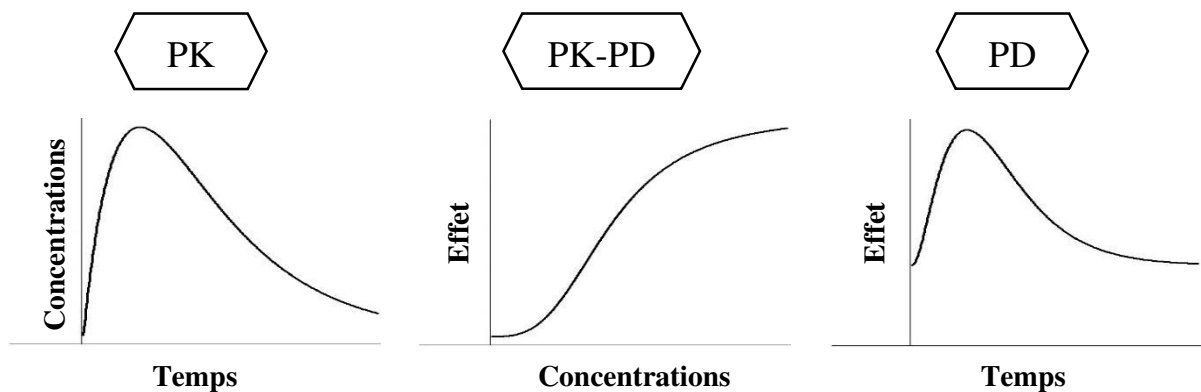


Figure 5. Les différentes composantes de la pharmacométrie.

2.1.1 La pharmacocinétique

La première composante de la pharmacométrie est la pharmacocinétique permettant de décrire le devenir du médicament dans l'organisme après son administration (Mould and Upton, 2012). Elle est définie par quatre processus qui sont : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion (ADME) (**Figure 6**).

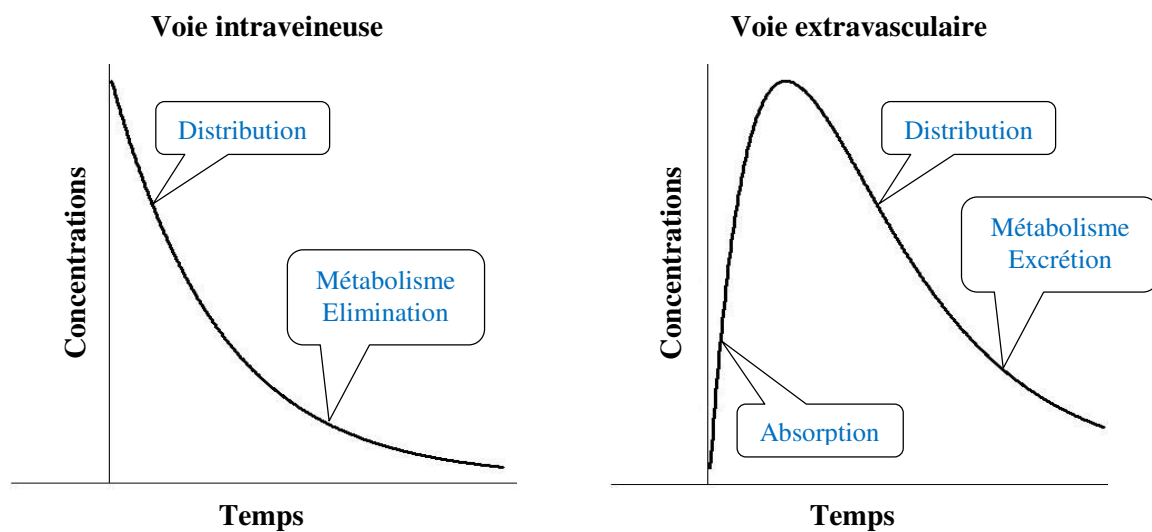


Figure 6. Les différentes phases pharmacocinétiques mises en jeu après administration intraveineuse et extravasculaire du médicament.

L'absorption

Un mécanisme d'absorption est mis en jeu lorsque l'administration du médicament se fait par une voie extravasculaire (Mould and Upton, 2013). Le médicament diffuse alors du compartiment d'administration vers le compartiment vasculaire. Cette diffusion se fait le plus souvent de manière passive mais d'autres mécanismes différents peuvent intervenir (transport actif saturable ou facilité). La vitesse d'absorption dépend à la fois de la voie d'administration et des propriétés physicochimiques du médicament administré. En règle générale plus une molécule est lipophile et moins ionisée plus son absorption est rapide et complète.

L'efficacité de l'absorption est évaluée par la biodisponibilité (F) qui se définit comme étant la fraction de la dose du médicament administré qui atteint réellement la circulation générale par rapport à la voie intraveineuse qui est considérée comme la référence (F est comprise entre 0 et 100%).

La distribution

La distribution est un processus qui se déroule au fur et à mesure que le médicament est absorbé dans la circulation sanguine aux différents tissus de l'organisme. Comme pour l'absorption, la distribution fait intervenir en général un mécanisme de diffusion passive à travers les parois des vaisseaux vers les tissus. La vitesse de ce processus dépend également des propriétés physicochimiques du médicament et de la nature du tissu considéré. Une molécule de faible poids moléculaire et fortement lipophile a tendance à se distribuer très rapidement et dans un grand volume de l'organisme à partir du compartiment sanguin. Inversement, une molécule très hydrophile avec un grand poids moléculaire a tendance à s'accumuler dans le compartiment sanguin.

Un paramètre à considérer également dans le processus de distribution est la fixation du médicament aux protéines plasmatiques et tissulaires (protéines de transport spécifiques et non spécifiques) ayant un impact considérable sur le volume de distribution. Enfin, il est utile de noter que seule la forme libre du médicament est susceptible de traverser passivement les membranes biologiques.

Le métabolisme et l'excrétion

L'élimination d'un médicament de l'organisme résulte de l'association de plusieurs processus. Elle comprend la métabolisation de celui-ci par différents organes, principalement le foie, et son excrétion sous forme inchangée ou sous forme de métabolites, en particulier par voie rénale (urine) mais aussi hépatique (bile). La métabolisation implique la transformation, par une réaction enzymatique du médicament en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs sur le plan pharmacologique. Le métabolisme des médicaments fait intervenir des complexes pluri-enzymatiques. Le complexe enzymatique le plus important et le plus connu est représenté par les cytochromes P450 qui comprennent plusieurs iso-enzymes et qui peuvent être le siège de nombreuses interactions médicamenteuses. Un autre élément important à prendre en compte lors du processus d'élimination est le cycle entéro-hépatique. En effet, lorsque le médicament est excrété par le foie via le système biliaire, celui-ci se retrouve au niveau de la lumière intestinale où il peut à nouveau être réabsorbé prolongeant ainsi la durée de présence du médicament ou de ces métabolites dans l'organisme.

Comme pour la distribution, là aussi les propriétés physicochimiques du médicament administré ont une influence considérable sur son élimination. En général, les médicaments

polaires et hydrophiles ont une élimination majoritairement rénale sous forme inchangée alors que les médicaments lipophiles subissent une transformation hépatique avant d'être éliminés. Là aussi, il est important de rappeler que seule la forme libre du médicament est susceptible d'être métabolisée ou excrétée.

2.1.2 La pharmacodynamique et la relation pharmacocinétique-pharmacodynamique

L'autre composante de la pharmacométrie est la pharmacodynamique qui correspond à la mesure de l'effet d'un médicament dans l'organisme, qui dépend de la dose du médicament reçue (Upton and Mould, 2014). L'étude de la relation concentrations-effets ou relation PK-PD permet de caractériser l'effet d'une dose administrée du médicament en fonction du temps (Wright et al., 2011). Une fois les paramètres de cette relation déterminés, un modèle mathématique peut permettre de prédire une posologie optimale de façon à maximiser l'efficacité du traitement et à minimiser ses effets indésirables. Les effets pharmacodynamiques étudiés peuvent être de nature quantitative (mesure de l'intensité de l'effet en fonction des concentrations du médicament dans le compartiment d'intérêt) ou qualitative (binaire, c'est-à-dire succès ou échec, mort ou survie).

2.2 L'approche de population en pharmacométrie

L'approche de population ou approche non-linéaire à effets mixtes en pharmacométrie implique l'utilisation d'un ensemble d'individus et où chaque individu contribue avec un certain nombre de mesures à établir les profils PK et/ou PD du médicament testé. L'unité d'analyse est donc une "population", contrairement aux études classiques de pharmacométrie où l'unité d'analyse est l'individu. L'intérêt essentiel de cette approche est de pouvoir estimer à la fois les valeurs moyennes des paramètres PK et PD et leurs intervalles de variation dans la population étudiée, mais aussi, d'identifier et de mesurer l'influence des facteurs physiologiques ou pathologiques (covariables) susceptibles de modifier ces paramètres.

Les modèles actuellement utilisés en pharmacométrie moderne sont donc le mixte entre une composante mathématique décrivant le phénomène observé (modèle structural) et une composante statistique (modèle statistique) décrivant toutes les variabilités existantes sur les paramètres du modèle.

2.2.1 Modèles structuraux

Le modèle structural, que ce soit en pharmacocinétique ou en pharmacodynamique, est constitué d'un ensemble d'équations mathématiques permettant de décrire le phénomène observé.

2.2.1.1 Modèles structuraux en pharmacocinétique (approche compartimentale)

L'outil de modélisation mathématique utilisé couramment en PK pour décrire l'évolution des concentrations du médicament dans l'organisme est l'analyse compartimentale. Un compartiment est défini comme un espace réel (reflétant une réalité anatomique) ou virtuel dans lequel le médicament est supposé se distribuer de façon homogène sur la totalité de son volume. Un modèle PK peut être constitué d'un ou de plusieurs compartiments (central et un ou plusieurs périphériques) agencés de façon à pouvoir décrire au mieux les concentrations observées. Le compartiment central correspond généralement au plasma mais aussi aux tissus périphériques ayant les mêmes propriétés que le plasma vis-à-vis du médicament testé. Par ailleurs, il est à noter que les concentrations du médicament sont mesurées le plus souvent au niveau plasmatique, le plasma étant le liquide biologique (avec l'urine) le plus facilement accessible en expérimentation notamment humaine. En conséquence, le volume de distribution du compartiment central observé ne reflète pas forcément le volume plasmatique réel. D'autant plus qu'une fixation importante du médicament aux protéines plasmatiques augmenterait fortement ce volume apparent de distribution. Ceci étant vrai aussi pour les compartiments périphériques.

Des échanges ou transferts de médicament se font entre les différents compartiments. Ces transferts peuvent être réversibles ou irréversibles (élimination vers le compartiment extérieur). Ils obéissent habituellement à des cinétiques d'ordre 1 (c'est-à-dire que la vitesse de transfert (dQ/dt) est proportionnelle à chaque instant à la quantité (Q) du médicament présente dans le compartiment en amont). Les modèles PK incluant ce type de cinétique sont dits linéaires. Les échanges dans ces modèles sont symbolisés par des constantes de transfert (ou constante de vitesse en h^{-1}) notées k_{ij} .

Par ailleurs, dans les modèles linéaires, les échanges peuvent également être exprimés par des débits ou clairances (CL, L/h) en multipliant les constantes de vitesses par les volumes de distribution (V_d) des compartiments correspondants ($CL = k_{ij} \cdot V_{di}$).

La **figure 7** ci-dessous illustre quelques exemples de modèles compartimentaux les plus couramment utilisés avec les équations différentielles permettant de décrire les transferts de médicament entre les différents compartiments. Ici nous avons pris l'exemple des deux voies d'administration les plus souvent rencontrées en pratique (intraveineuse et orale).

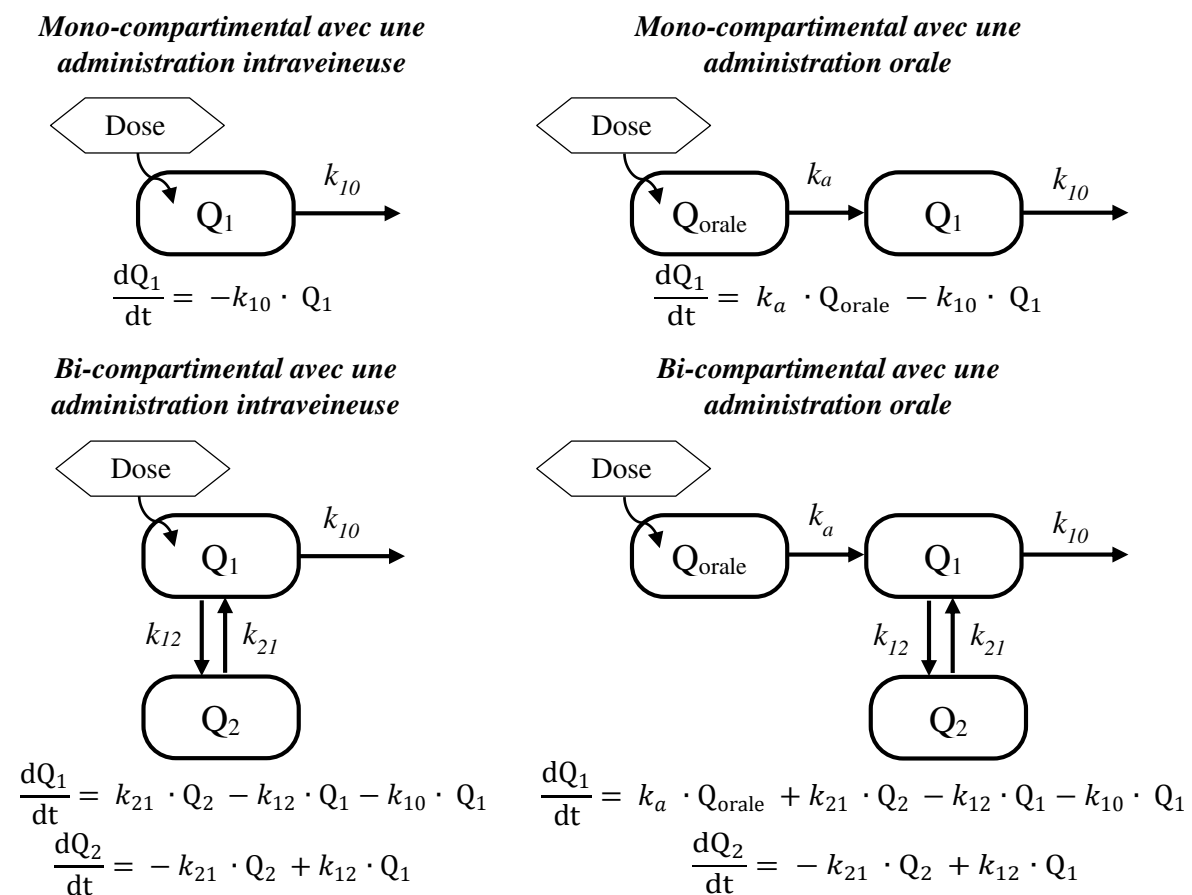


Figure 7. Les modèles compartimentaux les plus courants. Q_1 : quantité de médicament dans le compartiment central. Q_2 : quantité de médicament dans le compartiment périphérique. Q_{orale} : quantité de médicament dans le compartiment d'administration (oral). k_a : constante d'absorption. k_{12} et k_{21} : constantes de transferts entre les deux compartiments 1 et 2, respectivement, dans le sens 1 vers 2 et de 2 vers 1. k_{10} : constante d'élimination du compartiment 1 vers l'extérieur.

La résolution analytique des équations différentielles décrivant les transferts permet d'estimer les paramètres PK du modèle.

Dans certains cas particuliers, il arrive que le mécanisme régissant les transferts, notamment celui de l'absorption, soit différent de l'ordre 1. Il peut s'agir en l'occurrence d'une cinétique d'ordre 0 dans laquelle la vitesse de transfert (dQ/dt) est constante et indépendante de la concentration instantanée en médicament ($dQ/dt = \pm k_{ij}$).

D'autres mécanismes plus complexes tels que la cinétique de Michaelis-Menten permettent de décrire l'évolution d'une réaction de dégradation du médicament catalysée par une enzyme. La cinétique de Michaelis-Menten décrit un mécanisme saturable dont la vitesse de réaction dépend à la fois de la concentration en substrat « médicament » et de paramètres constants spécifiques de l'enzyme. Les cinétiques décrites par des modèles incluant des mécanismes d'ordre 0 et/ou Michaelis-Menten sont dites non-linéaires.

2.2.1.2 Notion de clairance et de demi-vie pour les cinétiques d'ordre 1

La clairance est la capacité globale de l'organisme à éliminer une molécule. Elle est définie comme le volume de plasma totalement épuré du médicament par unité de temps. Elle est ainsi habituellement exprimée comme un débit (volume par unité de temps). La clairance totale est l'addition de l'ensemble des clairances spécifiques de chaque organe susceptible d'intervenir dans l'élimination du médicament (clairance rénale, hépatique, intestinale, pulmonaire, etc). La clairance propre d'un organe donné est la capacité de cet organe à extraire un médicament d'un volume sanguin par unité de temps. On s'intéresse le plus souvent à la clairance hépatique et à la clairance rénale.

La clairance sanguine totale (ou systémique) est généralement calculée à partir des concentrations plasmatiques du médicament obtenues après injection intraveineuse (bolus) selon la formule :

$$CL = \frac{\text{Dose}}{ASC_{0-\infty} \text{ (intraveineuse)}}$$

où l' $ASC_{0-\infty}$ est l'Aire Sous la Courbe des concentrations plasmatiques du médicament entre l'administration (temps 0) et l'infini.

Lorsque le médicament est administré par voie orale (ou par une autre voie extravasculaire) la clairance calculée est une clairance apparente. Le calcul de la clairance vraie doit tenir compte de la biodisponibilité qui est la fraction du médicament qui atteint réellement la circulation sanguine (F). Dans le cas d'une administration orale elle s'exprime donc par :

$$CL = \frac{\text{Dose} \cdot F}{ASC_{0-\infty} \text{ (orale)}}$$

Avec

$$F = \frac{ASC_{0-\infty} \text{ (orale)}}{ASC_{0-\infty} \text{ (intraveineuse)}}$$

La demi-vie ($T_{1/2}$) est un paramètre synthétique largement utilisé pour exprimer l'élimination d'un médicament de l'organisme. Elle correspond au temps nécessaire pour que la concentration plasmatique diminue de moitié, quel que soit le niveau initial de cette concentration. Une autre manière d'exprimer la même notion est de considérer la $T_{1/2}$ comme le temps nécessaire pour diminuer de moitié la quantité totale de molécule contenue dans l'organisme quelle que soit la dose.

Généralement la demi-vie est calculée à partir des concentrations plasmatiques mesurées durant la phase terminale d'élimination avec la formule suivante :

$$T_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_e}$$

Avec

$$k_e = \frac{\ln \left(\frac{C_i}{C_j} \right)}{t_j - t_i}$$

où C_i est la concentration au temps i (t_i) et C_j la concentration au temps j (t_j).

Le facteur de proportionnalité, entre la dose administrée et la concentration plasmatique, est le volume de distribution (V_d). Comme par ailleurs la quantité de médicament dans le plasma à tout moment dépend du volume de distribution, la vitesse de disparition du médicament dépendra à la fois de la clairance (CL) et du volume de distribution. D'où :

$$T_{1/2} = \frac{\ln(2) \cdot V_d}{CL}$$

2.2.1.3 Modèles pharmacocinétique-pharmacodynamiques

Pour relier les données PK (mesures des concentrations du médicament au cours du temps) et les données PD (mesures de l'effet du médicament au cours du temps), des modèles dit PK-PD sont employés. Nous nous sommes limités ici à ne décrire que les modèles les plus couramment utilisés. Selon leur type de relation, deux sortes de modèle PK-PD peuvent être distingués : les modèles de réponse directe et indirecte.

2.2.1.3.1 Modèles de réponse directe

Le modèle le plus basique suppose un lien direct et sans délai entre les concentrations du médicament (C) et ces effets pharmacodynamiques (modèles E_{max}). La **figure 8** ci-dessous illustre les deux possibilités d'écriture du modèle de réponse directe selon la nature de l'effet (effet du médicament inducteur ou inhibiteur).

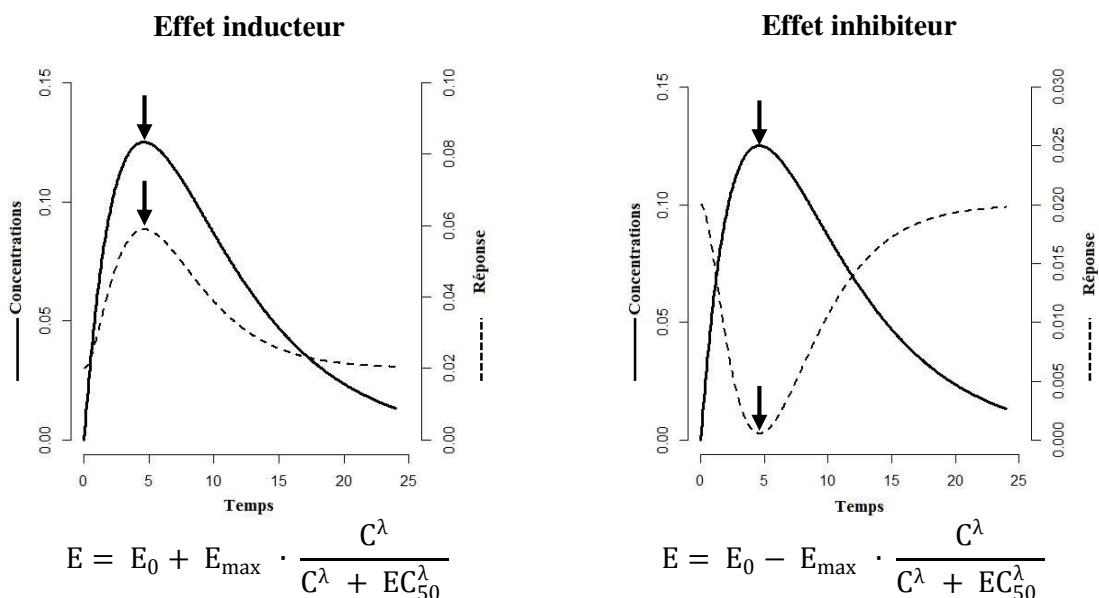


Figure 8. Modèle de réponse directe. E_0 est la valeur basale du paramètre avant l'administration du médicament, E_{max} est l'effet maximal théorique que peut induire le médicament sur ce paramètre si les concentrations venaient à être augmentées à l'infini (témoigne de l'efficacité du médicament sur sa cible), EC_{50} est la concentration du médicament qui induit 50% de l' E_{max} (témoigne de la puissance du médicament), et λ est un paramètre (coefficient de Hill) donnant sa forme à la relation concentration-effet. Selon la valeur du paramètre λ , on peut avoir des

relations de type hyperbolique ($\lambda < 1$), de type sigmoïde ($\lambda > 1$) et une relation concentration-effet de type tout ou rien ($\lambda > 5$).

Ce modèle assez simpliste est généralement mal adapté pour la plupart des médicaments. Il existe souvent un décalage entre le profil des concentrations et le profil des effets à cause de la mise en jeu de certains mécanismes en amont et/ou en aval du site d'action retardant l'apparition effective de la réponse PD. Ce décalage est illustré dans la **figure 9** ci-dessous en superposant les profils PK et PD sur un même graphe en fonction du temps (**Figure 9A**). La représentation de la réponse PD en fonction des concentrations mesurées permet également d'illustrer ce décalage qui se manifeste graphiquement par une boucle d'hystérèse (**Figure 9B**).

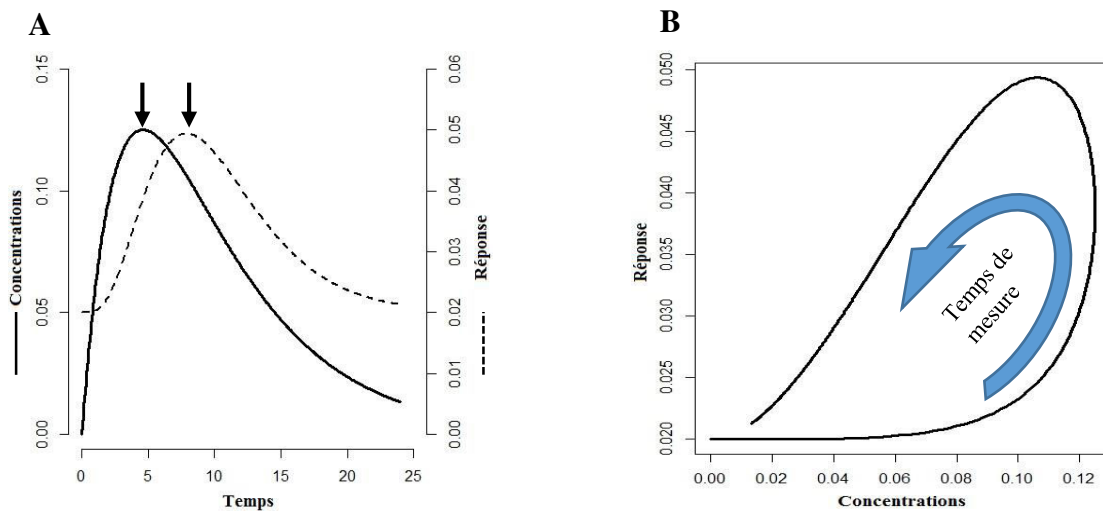


Figure 9. Phénomène d'hystérèse. A : décalage entre profil PK et profil PD. B : boucle d'hystérèse.

Une solution proposée pour tenir compte de ce délai, est de considérer l'existence d'un « compartiment d'effet ». Dans la plupart du temps il s'agit d'un compartiment virtuel additionnel. Sur le plan physiologique ce compartiment peut être assimilé à une cellule cible où le médicament peut agir sur un site intracellulaire par exemple. Le décalage entre les concentrations mesurées au niveau du compartiment central et les effets est alors expliqué par le temps mis par le médicament pour diffuser à l'intérieur de la cellule et atteindre sa cible.

2.2.1.3.2 Modèles de réponse indirecte

L'autre modèle permettant de tenir compte du délai qui peut exister entre le profil des concentrations et les effets est le modèle dit « de réponse indirecte ». Il suppose que le médicament n'agit pas directement sur le paramètre PD étudié mais agit en amont en stimulant ou en inhibant la synthèse d'un précurseur qui lui agit directement sur la réponse PD (R) (Dayneka et al., 1993).

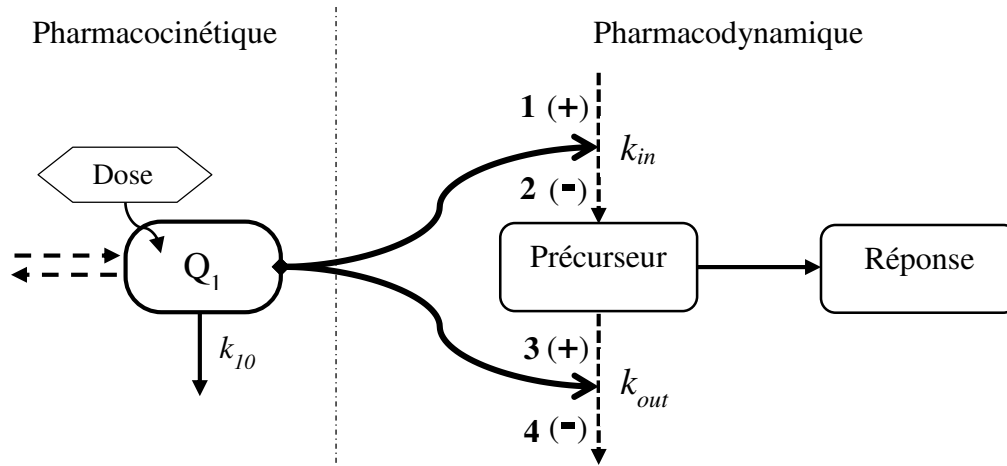


Figure 10. Modèle de réponse indirecte. k_{in} est la constante de production du précurseur (d'ordre 0). k_{out} est la constante de dégradation du précurseur (d'ordre 1).

En l'absence de médicament, la réponse PD est supposée constante et égale au rapport k_{in}/k_{out} . Le médicament une fois administré agit en modulant soit la production du précurseur (k_{in}) ou bien son élimination (k_{out}). Par ailleurs, l'effet du médicament sur ces deux paramètres peut être stimulateur ou inhibiteur. Quatre types de modèle indirect peuvent donc être distingués. Les équations permettant de décrire la relation concentration-réponse dans ces modèles selon le cas sont les suivantes :

1. Cas d'une stimulation de la production :
$$\frac{dR}{dt} = k_{in} \cdot \left(1 + E_{max} \cdot \frac{C^\lambda}{C^\lambda + EC_{50}^\lambda}\right) - k_{out} \cdot R$$

2. Cas d'une inhibition de la production :
$$\frac{dR}{dt} = k_{in} \cdot \left(1 - E_{max} \cdot \frac{C^\lambda}{C^\lambda + EC_{50}^\lambda}\right) - k_{out} \cdot R$$

3. Cas d'une stimulation de l'élimination :
$$\frac{dR}{dt} = k_{in} - k_{out} \cdot \left(1 + E_{max} \cdot \frac{C^\lambda}{C^\lambda + EC_{50}^\lambda}\right) \cdot R$$

4. Cas d'une inhibition de l'élimination :
$$\frac{dR}{dt} = k_{in} - k_{out} \cdot \left(1 - E_{max} \cdot \frac{C^\lambda}{C^\lambda + EC_{50}^\lambda}\right) \cdot R$$

Devant l'existence d'une telle diversité de modèles pharmacodynamiques, le choix du modèle à utiliser doit s'opérer selon des critères logiques comprenant entre autres la plausibilité biologique et le bon ajustement aux données observées.

2.2.2 Modèles statistiques

Les profils PK et/ou PD peuvent fluctuer d'un individu à un autre d'une manière physiologique ou pathologique. Des modèles statistiques permettent de quantifier cette fluctuation et de l'imputer soit à la variabilité interindividuelle des paramètres structuraux ou bien à une variabilité résiduelle non expliquée incluant généralement les erreurs de mesure, des temps de recueil et des déviations du modèle mathématique par rapport à la réalité. Cette approche repose essentiellement sur l'utilisation de modèles non linéaires à effets mixtes (MNLEM) (Sheiner et al., 1972).

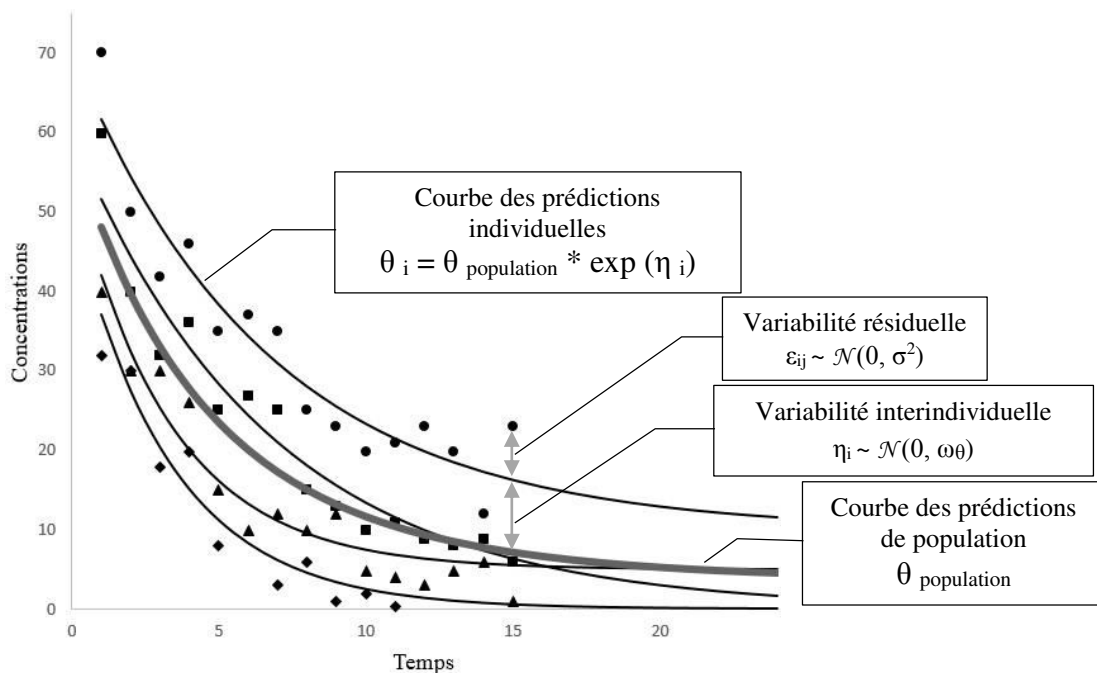


Figure 11. Les différents types de variabilité modélisés dans l'approche de population. ●, ▲, ◆ et ■ représentent les concentrations observées pour 4 individus d'une population donnée.

Le modèle interindividuel suppose que les paramètres PK et PD dans la population étudiée se distribuent selon des lois statistiques bien définies, le plus souvent normale ou log-normale. La valeur d'un paramètre PK ou PD chez un individu donné est l'addition d'un terme constant (qui

est la valeur moyenne de ce paramètre dans toute la population étudiée ou effet fixe) et d'un terme variable (variable d'un individu à un autre) spécifique à cet individu. Une partie plus ou moins importante de cette variabilité interindividuelle peut être également expliquée par l'effet d'une covariable (poids corporel, âge,...). La valeur d'un paramètre PK ou PD chez un individu donné peut alors s'exprimer par l'équation suivante :

$$\theta_i = h(x_i, \theta_{\text{population}}, \eta_i) \text{ avec } \eta_i \sim \mathcal{N}(0, \omega_\theta)$$

où θ_i est la valeur du paramètre chez l'individu i , $\theta_{\text{population}}$ est la valeur moyenne du paramètre dans la population étudiée, x_i est la valeur de la covariable x chez l'individu i , η_i est le terme aléatoire chez l'individu i , ω_θ est la variance du paramètre η_i dans la population étudiée, et h est la fonction du modèle de variabilité interindividuel. h symbolise généralement une fonction exponentielle comme suite :

$$\theta_i = \theta_{\text{population}} * \exp(\eta_i)$$

La variabilité résiduelle ou erreur résiduelle définit l'écart entre ce qui est prédit par le modèle (Pred) et l'observation (Obs) et inclut généralement la variabilité intra-individuelle (par opposition à l'interindividuelle) et les erreurs de mesures et peut être modélisée et quantifiée comme pour la variabilité interindividuelle. Les trois principaux types de modèles d'erreur résiduelle généralement rencontrés sont : l'additif, le proportionnel et la combinaison des deux (modèle combiné). Là aussi, ces modèles supposent une distribution normale de ces erreurs appelées également résidus.

Dans le modèle additif (homoscédastique), la variance de l'erreur est supposée constante et indépendante du niveau de concentration ou d'effet. En revanche dans le modèle proportionnel (hétéroscédastique), celle-ci devient dépendante de la mesure (**Figure 12**).

L'équation du modèle d'erreur combiné (comprenant les deux termes additif et proportionnel) peut s'écrire de la manière suivante :

$$Y_{ij} = f(D_i, t_{ij}, \theta_i) \cdot (1 + \varepsilon_{\text{prop } ij}) + \varepsilon_{\text{add } ij} \text{ avec } \varepsilon_{\text{prop } ij} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_{\text{prop}}^2) \text{ et } \varepsilon_{\text{add } ij} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_{\text{add}}^2)$$

où Y_{ij} est l'observation pour l'individu i au temps j , $f()$ est l'équation mathématique du modèle structural (modèle compartimental), D_i est le schéma posologique chez l'individu i , ε_{add} est le terme résiduel additif et $\varepsilon_{\text{prop}}$ est le terme résiduel proportionnel ($\varepsilon_{ij} = \text{Pred}_{ij} - \text{Obs}_{ij}$).

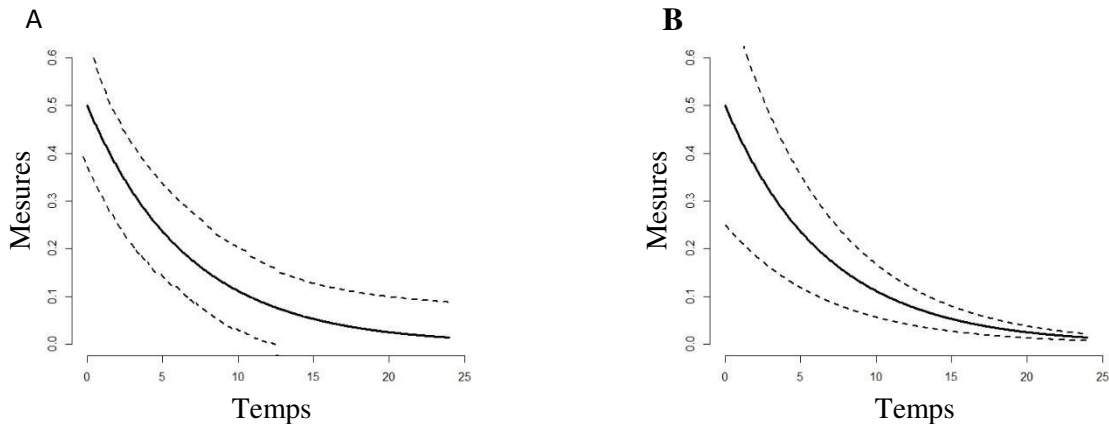


Figure 12. Modèle d'erreur résiduelle additif (A) et proportionnel (B).

2.2.3 Choix du modèle et estimation des paramètres

L'objectif final du processus de modélisation est la sélection d'un modèle décrivant au mieux les données expérimentales tout en restant plus simple (principe de parcimonie) et plus proche possible des mécanismes physiologiques.

La première étape de ce processus de sélection est la construction du modèle structural. Elle consiste dans le cas de la PK à tester plusieurs combinaisons différentes de modèles compartimentaux en partant du plus simple (monocompartimental) et différents modes d'absorption et d'élimination du médicament (ordre 1, ordre 0 et Michaelis Menten).

Dans le cas de la pharmacodynamique, elle consiste à tester plusieurs modèles décrivant des mécanismes d'action différents du médicament dans l'organisme. Parmi ces modèles pharmacodynamiques on retrouve en général le modèle à effet direct qui suppose une action immédiate et sans délai du médicament sur son site d'action et le modèle indirecte qui considère un délai entre l'apparition des concentrations plasmatiques du médicament et le début de l'effet (lié à des processus intermédiaires en amont de la cible).

Dans tous les cas, le choix d'un modèle structural s'opère selon la valeur de certaines métriques en rapport avec le bon ajustement de ce modèle. La métrique la plus fréquemment utilisée est le logarithme de la vraisemblance ou Likelihood (L) exprimée comme suite :

$$LL = -2 \cdot \log(L)$$

Les algorithmes implémentés dans les logiciels de modélisation (tel que MONOLIX®) permettent d'estimer des valeurs optimales de paramètres minimisant au maximum la valeur du LL et ajustant au mieux le modèle aux données observées.

La comparaison entre deux modèles emboîtés (c'est-à-dire que l'un des modèles peut être considéré comme un cas particulier de l'autre) s'effectue à l'aide du test du rapport de vraisemblance. Ce test consiste à confronter la différence des deux valeurs de LL obtenues à partir des deux modèles comparés à une distribution de χ^2 . Le nombre de degrés de liberté utilisé pour ce test est alors égal à la différence du nombre de paramètres entre les deux modèles. D'autres métriques peuvent également être utilisées dans la sélection des modèles tels que l'AIC (Akaike Information Criterion) et le BIC (Bayesian Information Criterion) notamment lorsque les deux modèles comparés ne sont pas emboîtés.

$$AIC = 2 \cdot k - 2 \cdot \log(L)$$

où k est le nombre de paramètres à estimer du modèle.

La recherche des covariables ayant une influence significative sur un ou plusieurs paramètres structuraux se fait également selon le test du rapport de vraisemblance en comparant les deux modèles avec et sans covariable. Quand il existe plusieurs covariables différentes, la recherche devient plus complexe et le recours à une méthode de sélection ascendante ou descendante devient nécessaire.

Comme cela a été mentionné plus haut, les logiciels de modélisation utilisent des algorithmes permettant une estimation optimale des paramètres du modèle étudié. Nous n'évoquerons dans ce mémoire que la méthode SAEM (Stochastic Approximation Expectation Maximization) qui fait intervenir l'algorithme EM (Expectation Maximisation) et qui représente actuellement l'algorithme le plus abouti en terme d'estimation des paramètres (Chan et al., 2011). Brièvement, cette méthode associe une étape de simulation des paramètres individuels suivie d'une étape d'approximation stochastique pour l'estimation de la vraisemblance.

2.2.4 Validation du modèle

Une fois que le modèle final (incluant la partie structurale et statistique) a été sélectionné, l'étape suivante consiste à le valider. Il existe deux procédés de validations différents et complémentaires. Le premier consiste à confronter le modèle final à un échantillon de données

n'ayant pas servi à la construction du modèle et à tester sa capacité prédictive (validation externe). C'est le procédé le plus robuste. Néanmoins, il est rarement utilisé dans les études PK-PD à cause des faibles effectifs rencontrés. Le deuxième procédé de validation le plus courant est la validation interne basée sur le diagnostic graphique du modèle. Parmi ces graphes utilisés pour le diagnostic figurent le VPC (Visual Predictive Checks) qui consiste à simuler des données à partir du modèle final et à les comparer aux données observées, et le graphe des NPDEs qui représentent un type transformé de résidus (Normalized Prediction Distribution Errors) qui permettent d'apprécier la performance prédictive du modèle (Comets et al., 2008). Enfin, un autre critère intéressant à considérer dans l'évaluation du modèle est l'incertitude sur les paramètres calculés qui témoigne de la qualité du processus d'estimation. Pour cela, le logiciel MONOLIX renvoie, pour chaque paramètre estimé, l'erreur standard sur cette estimation, ou SE (Standard Error), généralement exprimée en valeur relative (Relative Standard Error, RSE en %). Dans la pratique, il est généralement admis qu'une valeur de RSE supérieure à 30% sur l'estimation des effets fixes et/ou supérieure à 50% sur les variabilités témoigne de la mauvaise adéquation du modèle.

2.2.5 Application aux corticoïdes

Les corticoïdes du fait de leur grande lipophilie ont des caractéristiques PK et pharmacodynamiques spécifiques. En effet, leurs propriétés physicochimiques leur permettent d'avoir sur le plan PK une forte absorption digestive et une très large distribution tissulaire y compris intracellulaire. Par ailleurs, ils sont caractérisés par une importante liaison aux protéines plasmatiques (albumine) et tissulaire induisant un accroissement important de leur volume de distribution dans l'organisme.

Sur le plan pharmacodynamique, les corticoïdes sont caractérisés par leur mode d'action intracellulaire expliquant le décalage entre le profil des concentrations plasmatiques du médicament et le début de la réponse (Rhen and Cidlowski, 2005). En effet, ce décalage correspond théoriquement au temps nécessaire aux molécules corticoïdes pour atteindre leur site d'action intracellulaire et à la transduction du signal. Graphiquement, en représentant le niveau de réponse en fonction des concentrations plasmatiques du corticoïde, ce phénomène est illustré par une boucle appelée boucle d'hystérèse (**Figure 9**).

Le choix du modèle pharmacodynamique doit tenir compte du mécanisme d'action du médicament et des réalités biologiques. Dans les cas des corticoïdes, les modèles les plus appropriés permettant de décrire la relation entre leurs concentrations plasmatiques et les effets sont de type indirect. Ces modèles supposent un effet indirect sur la réponse en agissant sur un ou plusieurs précurseurs produits en amont dans le processus aboutissant à la réponse. L'intensité de la réponse est directement proportionnelle à la quantité disponible de ce précurseur. Par ailleurs, le médicament peut agir sur le précurseur soit en stimulant ou au contraire en inhibant sa synthèse modulant ainsi la réponse.

L'autre paramètre dont il faut aussi tenir compte lors de la modélisation PK-PD des corticoïdes est la présence d'une sécrétion endogène de corticostéroïdes ayant une analogie structurale plus au moins proche et les mêmes sites d'action que les médicaments administrés. Le principal corticostéroïde endogène est le cortisol dont la cinétique de libération suit un cycle circadien avec un pic de sécrétion très tôt le matin et un minimum le soir. L'influence de ce cycle sur la réponse étudiée est donc non négligeable d'autant plus que les études PK-PD se font généralement sur des durées égales ou supérieures à 24 h et que le niveau du cortisol varie sensiblement durant cette période. D'autre part, les corticoïdes administrés peuvent avoir à leur tour un effet inhibiteur (effet feed-back négatif) sur la sécrétion du cortisol endogène risquant ainsi de perturber le cycle normal de libération de ce dernier (Rohatagi et al., 1996).

Dans le cadre de cette thèse nous avons réalisé plusieurs travaux dans le but de caractériser la PK de la fludrocortisone, de quantifier ses effets propres sur des paramètres hémodynamiques et biologiques et de sélectionner une posologie efficace qui pourrait être testée chez les patients en choc septique. Une première étude (Article 1) a été menée chez des volontaires sains dont l'objectif était d'étudier la PK ainsi que la relation concentration-effet de fludrocortisone orale en administration unique seule ou en association avec l'hydrocortisone intraveineuse (étude AFLUCO2). Puis, une deuxième étude (Article 2) a été réalisée chez des patients en état de choc septique où il était question de caractériser la PK de la molécule dans les conditions physiopathologiques du choc septique. Et enfin, à nouveau chez des volontaires sains, une troisième étude (étude AFLUCO4) a été réalisée dans l'intention de quantifier l'effet de la fludrocortisone sur la relation dose de phényléphrine-pression artérielle (réactivité vasculaire) (Article 3) et de caractériser la PK et la relation concentration-effet sur la pression artérielle de la fludrocortisone après 5 jours d'administration répétée.

Chapitre 3. Première étude

Modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamique de la fludrocortisone par voie orale et l'hydrocortisone par voie intraveineuse chez les volontaires sains

Auteurs : Noureddine Hamitouche, Emmanuelle Comets, Mégane Ribot, Jean-Claude Alvarez, Eric Bellissant, Bruno Laviolle

3.1. Résumé

Justification

L'intérêt des faibles doses de corticoïdes en général et de la fludrocortisone en particulier dans le traitement du choc septique reste encore discuté. Les premiers résultats publiés en 2010 de cette étude chez les volontaires sains avaient montré que l'hydrocortisone en intraveineux induisait un effet minéralocorticoïde plus marqué et plus précoce que la fludrocortisone per os (Laviolle et al., 2010). L'hydrocortisone induisait également des effets hémodynamiques non observés avec la dose de fludrocortisone utilisée. Ces résultats suggéraient déjà de réévaluer la dose de fludrocortisone qui pourrait être testée chez les patients en choc septique. Cependant, la recherche de la dose optimale nécessite de caractériser la PK ainsi que la relation PK-PD de la fludrocortisone. Cela a été rendu possible actuellement grâce à la mise au point d'une méthode de dosage de faibles concentrations plasmatiques de fludrocortisone.

Objectif

L'objectif de ce travail était de modéliser la PK de la fludrocortisone administrée par voie orale et de l'hydrocortisone administrée par voie intraveineuse ainsi que la relation concentration-effet des deux molécules sur le rapport Na/K urinaire. Cet effet minéralocorticoïde étant un effet commun observé pour les deux molécules, permet donc de les comparer.

Méthodes

Les données PK et PD analysées sont issues d'un essai contrôlé contre placebo, randomisé, réalisé en double-aveugle et en cross-over chez 12 volontaires sains selon un plan factoriel 2×2 comprenant 4 périodes de traitement pour chaque sujet (fludrocortisone seule [50 µg per os], hydrocortisone seule [50 mg en intraveineux], l'association des deux ou double placebo). Les concentrations plasmatiques en fludrocortisone et/ou en hydrocortisone ont été mesurées par technique LC-MS/MS sur des prélèvements réalisés à des temps successifs après l'administration. Le rapport Na/K urinaire a été mesuré avant traitement et de façon répétée pendant 24 heures. Des modèles non-linéaires à effet mixtes ont été utilisés pour décrire la PK ainsi que la relation PK-PD des deux molécules. Le logiciel Monolix a été utilisé pour l'estimation des paramètres. Des simulations de différents schémas posologiques avec leurs effets sur le rapport Na/K urinaire ont ensuite été réalisées en utilisant les paramètres PK et PD estimés.

Résultats

Un modèle monocompartimental a été retenu pour décrire les concentrations plasmatiques de l'hydrocortisone. De manière similaire, un modèle monocompartimental a été retenu pour décrire les concentrations plasmatiques de fludrocortisone avec cependant une constante d'absorption orale d'ordre 1 en plus. Les demi-vies plasmatiques de la fludrocortisone et de l'hydrocortisone ont été estimées, respectivement, à 1.4 h (IC 95% [0.8, 2.1]) et 2.1 h (IC 95% [1.7, 2.4]). Une variabilité plus importante des concentrations plasmatiques a été observée dans le cas de la fludrocortisone. Un modèle de réponse indirect a été utilisé pour décrire la relation entre les concentrations plasmatiques des deux molécules et l'évolution du rapport Na/K urinaire. La concentration plasmatique produisant 50% de l'effet minéralocorticoïde maximal (IC₅₀) était environ 200 fois plus basse pour la fludrocortisone que pour l'hydrocortisone. Une variabilité pharmacodynamique plus importante a été également observée avec la fludrocortisone. Les simulations ont montré qu'un meilleur effet de la fludrocortisone sur le paramètre pharmacodynamique étudié était obtenu avec un schéma d'administration répétée 4 fois par jour (200 µg/jour).

Conclusion

La fludrocortisone et l'hydrocortisone avaient montré des demi-vies courtes et semblables. Cependant, la fludrocortisone a montré plus de variabilité interindividuelle à la fois au niveau des concentrations plasmatiques et de son effet sur le rapport Na/K urinaire. En plus des simulations, ces résultats suggèrent de reconsidérer le régime d'administration de la fludrocortisone (4 ×/jour au lieu de 1× /jour) et probablement aussi la voie d'administration. Une voie intraveineuse permettrait en effet de réduire cette variabilité notamment en vue d'une utilisation future chez les patients en choc septique.

3.2. Article

Research Article

Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model of Oral Fludrocortisone and Intravenous Hydrocortisone in Healthy Volunteers

Noureddine Hamitouche,^{1,2} Emmanuelle Comets,¹ Mégane Ribot,³ Jean-Claude Alvarez,^{3,4}
Eric Bellissant,^{1,2,5} and Bruno Laviolle^{1,2,5,6}

Received 7 September 2016; accepted 30 December 2016

Abstract. This study aimed at describing the pharmacokinetics and the concentration-effect relationships of fludrocortisone and hydrocortisone on urinary sodium/potassium excretion in healthy volunteers. This was a placebo-controlled, randomized, double blind, crossover study, of oral fludrocortisone and intravenous hydrocortisone, given alone or in combination, in 12 healthy male volunteers. Nonlinear mixed-effects modeling was used to describe the pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships on urinary sodium/potassium ratio for each drug. A one-compartment model was used to describe fludrocortisone and hydrocortisone pharmacokinetics. Mean plasma half-life was 1.40 h (95%CI [0.80;2.10]) for fludrocortisone and 2.10 h (95%CI [1.78;2.40]) for hydrocortisone. Clearance was 40.8 L/h (95%CI [33.6;48]) for fludrocortisone and 30 L/h (95%CI [25.3;34.7]) for hydrocortisone. An indirect response model was used to describe effects on urinary sodium/potassium ratio. Fludrocortisone plasma concentrations showed a wider inter-individual dispersion than hydrocortisone plasma concentrations. Urinary sodium/potassium ratio variability was also higher with fludrocortisone as compared to hydrocortisone. The plasma concentration of drug producing 50% of maximal inhibition of urinary sodium/potassium (IC_{50}) was about 200 times lower for fludrocortisone (0.08 $\mu\text{g/L}$, 95%CI [0.035;0.125]) than for hydrocortisone (16.7 $\mu\text{g/L}$, 95%CI [10.5;22.9]). Simulations showed that a 4-time per day administration regimen allow to achieve steady fludrocortisone plasma concentrations with stable decrease in urinary sodium/potassium ratio after the second administration of fludrocortisone. Fludrocortisone and hydrocortisone have short and similar plasma elimination half-lives in healthy subjects. Fludrocortisone plasma concentrations and effect on urinary sodium/potassium ratio had a higher inter-individual variability as compared to hydrocortisone. The administration regimen of fludrocortisone should be reconsidered.

KEY WORDS: fludrocortisone; hydrocortisone; modeling; pharmacodynamics; pharmacokinetics.

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1208/s12248-016-0041-9) contains supplementary material, which is available to authorized users.

¹ Inserm, CIC 1414 Clinical Investigation Centre, Rennes, France.

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

³ Department of Pharmacology and Toxicology, Raymond Poincaré University Hospital, Garches, France.

⁴ Inserm U-1173, Versailles Saint-Quentin University, Versailles, France.

⁵ Department of Biological and Clinical Pharmacology and Pharmacovigilance, Rennes University Hospital, Rennes, France.

⁶ To whom correspondence should be addressed. (e-mail: bruno.laviolle@chu-rennes.fr)

INTRODUCTION

Corticosteroids are used for substitution therapy in the management of primary adrenal insufficiency both in non-septic (1) and septic shock patients (2,3). The physiological replacement is best achieved with a combination of hydrocortisone and fludrocortisone (4). Hydrocortisone is the pharmaceutical name of the endogenous active steroid cortisol and is the most commonly used glucocorticoid for cortisol replacement (1,5–7). Fludrocortisone is a synthetic steroid used for its potent mineralocorticoid action (8). Contrary to hydrocortisone, very few data on the pharmacokinetics and the pharmacokinetic-pharmacodynamic

relationships of fludrocortisone are available (9). Moreover, the effects of the co-administration of the two drugs on their pharmacokinetic parameters and pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships have never been assessed. Concerning the pharmacodynamics, we showed in healthy volunteers that hydrocortisone induced transient biological mineralocorticoid effect (evaluated by the urinary sodium/potassium ratio) that appeared more marked and occurred earlier for hydrocortisone compared to fludrocortisone (8). In this study, blood samples were collected to assess the pharmacokinetics of the two drugs but unfortunately, no quantification method was available for fludrocortisone at this time. The later development of a quantification method allowing the detection of low plasma concentrations of fludrocortisone now allows the undertaking of such a study (10).

Thus, the purpose of the present study was to investigate the pharmacokinetics of fludrocortisone and hydrocortisone in healthy volunteers, to assess the effect of the co-administration of the two drugs on the pharmacokinetic parameters of each drug, and to develop a population pharmacokinetic-pharmacodynamic model that characterizes the mineralocorticoid effect of both drugs (assessed through the urinary sodium/potassium ratio).

MATERIALS AND METHODS

Our study was conducted in compliance with the principles of the Declaration of Helsinki. All subjects gave their informed consent prior to their inclusion in the study. The study was approved by the local ethics committee (*Comité de Protection des Personnes de Rennes Ouest V*) and was registered at ClinicalTrials.gov under study ID NCT00673270.

Study Design and Bioassay

The study was performed in 12 healthy young Caucasian (24 ± 3 years old, weighing 74 ± 10 kg) male volunteers. It was a placebo-controlled, randomized, double-blind, cross-over, 4-period study performed according to a 2×2 factorial-design. The study protocol was previously reported in details (8). Subjects received, in a random order, fludrocortisone placebo + hydrocortisone placebo, fludrocortisone + hydrocortisone placebo, fludrocortisone placebo + hydrocortisone, or fludrocortisone + hydrocortisone with washout intervals of at least 14 days. Fludrocortisone and hydrocortisone were given at the same doses and routes of administration as in patients with septic shock. Fludrocortisone (50 μ g) was administered orally, and hydrocortisone (50 mg) was injected intravenously as a bolus. Subjects received an intravenous infusion of 2000 mL of NaCl 0.9% during 2 h in order to decrease plasma renin activity and aldosterone. At the end of this saline infusion, baseline blood and urine sampling were performed and were followed by treatment administration (T0). Blood samples were taken 0.50, 1, 1.50, 2, 2.50, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, and 24 h after T0. Samples were immediately centrifuged at 1000 G for 10 mins, and plasmas were separated and stored at -80°C until assay. Plasma fludrocortisone and hydrocortisone concentrations were measured by liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry method as previously described (10). The lower limit of quantification

was 0.10 μ g/L for fludrocortisone and 15 μ g/L for hydrocortisone with an intra-assay and inter-assay coefficients of variation lower than 10.9%. Urine samples were collected before T0 (from -2 h to 0 h), and at the following intervals thereafter (0–1 h), (1–4 h), (4–6 h), (6–8 h), (8–10 h), (10–12 h), and (12–24 h). Urinary sodium and potassium were measured in urine collected during these intervals using standard biochemical techniques (indirect potentiometry, Olympus AU 2700).

Data Analysis

Nonlinear mixed effects modeling was used to analyze pharmacokinetic and pharmacodynamic data. Parameter estimation was performed using the Stochastic Approximation Expectation Maximization (SAEM) algorithm implemented in Monolix program (11). The algorithm takes into account censored data (below the quantification limit) for the estimation of maximum likelihood and structural parameters (12). The likelihood ratio test (assessing the likelihood ratio against a χ^2 distribution, $\text{LL} = -2 \times \log\text{-likelihood}$) was used to compare nested structural models and to select the best one. A difference (ΔLL) larger than 3.84 between the nested models was considered statistically significant, and the model with the significantly smallest LL was retained (13). Inter-individual variability was modeled as log-normal distribution with a diagonal variance-covariance matrix. Several residual error models (additive, proportional, and combined) were tested to describe residual variability, and the model with the smallest Bayesian Information Criterion was chosen. The goodness-of-fit of final pharmacokinetic and pharmacokinetic-pharmacodynamic models was evaluated graphically by visual examination of Visual Predictive Checks (VPC with 80% confidence intervals), plots of observed data *versus* predicted ones, and Normalized Prediction Distribution Error (NPDE) *versus* time (14).

Pharmacokinetic Modeling

For fludrocortisone, one- and two-compartment structural models with first-order oral absorption and first-order elimination were tested. Similarly, for hydrocortisone, one- and two-compartment structural models with bolus input and first-order elimination were tested. Given that a washout period of at least 14 days was performed, we assumed that there was no period effect on pharmacokinetic parameters. Consequently, for each parameter, inter-occasion variability was retained in the final model only if it improved (significantly decreased) the LL value.

Because of the presence of censored data in fludrocortisone plasma concentrations, the elimination half-life ($T_{1/2}$) and the area under the curve extrapolated from 0 to infinity ($\text{AUC}_{0-\infty}$) of plasma concentrations of fludrocortisone and hydrocortisone were calculated indirectly from the estimated pharmacokinetic parameters.

As fludrocortisone and hydrocortisone were administered alone and in combination, a possible pharmacokinetic interaction between the two drugs was tested using a therapy covariate. The effect of body weight covariate on the pharmacokinetic parameters of both fludrocortisone and hydrocortisone was also tested. The covariates were introduced in the final model only if they had a significant effect on

PK-PD of Fludrocortisone and Hydrocortisone

the pharmacokinetic parameters (also assessed by the likelihood ratio test).

Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling

In the first published part of this study (8), we showed that a single administration of hydrocortisone induced hemodynamic effects whereas fludrocortisone did not (likely due to the low dose used). However, for both drugs, we observed a common mineralocorticoid effect, which was quantified by the urinary sodium/potassium ratio. To compare and determine the specific effect of each drug on this mineralocorticoid response, an integrated pharmacokinetic-pharmacodynamic model was developed.

Given that sodium and potassium homeostasis is under the influence of cortisol, the effect of endogenous cortisol (C_{en}) was entered in this model. Under normal physiological conditions, blood cortisol concentrations follow a circadian-episodic profile which can be described by a turnover model with a first-order elimination rate constant (k_e), using the following differential equation (15,16):

$$\frac{dC_{en}}{dt} = R_C(t) - k_e \cdot C_{en}$$

where $R_C(t)$ is the cortisol release rate. Since hydrocortisone and C_{en} are chemically identical, we assumed that they have identical k_e ($k_e = CL/V_d$ with CL and V_d being the estimated mean pharmacokinetic parameters of administered hydrocortisone).

The circadian evolution of $R_C(t)$ was modeled as previously described (15) using a piecewise linear function with two straight lines, one with a negative slope from the maximum release rate (R_{max}) at t_{max} (4:45 am) to the minimum release rate at t_{min} (10:45 pm):

$$R_C(t) = \frac{R_{max} \cdot t}{V_d \cdot (t_{max} - t_{min} - 24)} - \frac{R_{max} \cdot t_{min}}{V_d \cdot (t_{max} - t_{min} - 24)}$$

and one with a positive slope from t_{min} to t_{max} :

$$R_C(t) = \frac{R_{max} \cdot t}{V_d \cdot (t_{max} - t_{min})} - \frac{R_{max} \cdot t_{min}}{V_d \cdot (t_{max} - t_{min})}$$

The inhibitory effect of hydrocortisone on cortisol secretion was also integrated so that the previous equation (describing the evolution of blood cortisol concentrations) can be modified as follows (15):

$$\frac{dC_{en}}{dt} = R_C(t) \cdot \left(1 - \frac{C_{HC}}{IC_{in,50} + C_{HC}}\right) - k_e \cdot C_{en}$$

where C_{HC} is the hydrocortisone concentration and $IC_{in,50}$ is the concentration of hydrocortisone that produces 50% of maximum inhibitory effect on cortisol secretion (maximum inhibitory effect equal to 1). For fludrocortisone, we have assumed that the low dose used in our study had a negligible suppressive effect on endogenous cortisol. In fact, when using a dose of fludrocortisone 10 times higher than ours, the

decrease of endogenous cortisol does not exceed 20 $\mu\text{g/L}$ after 5 h compared with placebo (17).

Since blood concentrations of cortisol were not measured in our study, we predicted these concentrations and estimated the parameters R_{max} and $IC_{in,50}$ indirectly from the response observed during placebo administration.

The pharmacodynamic effect (inhibitory effect IE) of both endogenous and exogenous corticoids on urinary sodium/potassium ratio was modeled using the following equation (18,19):

$$IE = 1 - I_{max} \cdot \frac{\left(\frac{C_{FC}}{IC_{50,FC}} + \frac{C_{HC} + C_{en}}{IC_{50,HC}}\right)^{hill}}{1 + \left(\frac{C_{FC}}{IC_{50,FC}} + \frac{C_{HC} + C_{en}}{IC_{50,HC}}\right)^{hill}}$$

where I_{max} is the maximum inhibitory effect on urinary sodium/potassium ratio, C_{FC} is the fludrocortisone concentration, IC_{50} is the drug concentration producing 50% of I_{max} ($IC_{50,FC}$ for fludrocortisone and $IC_{50,HC}$ for both hydrocortisone and predicted endogenous cortisol), and $hill$ is the Hill-factor characterizing the steepness of the concentration-effect relationship. C_{FC} and C_{HC} were set at 0 when placebo data were analyzed. In this model, endogenous cortisol was assumed to have the same pharmacodynamic effect as hydrocortisone (the two molecules are chemically identical).

A delay between the kinetics of plasma concentrations of corticosteroids and the kinetics of response (urinary sodium/potassium ratio) was observed for both treatments. This phenomenon was characterized by a hysteresis loop which indicated that the pharmacodynamic response could not be directly related to plasma concentrations. In order to consider this delay, an indirect response model was used (20). The rate of change of the response (R) over time was described as follows:

$$\frac{dR}{dt} = (1 + SE) \cdot k_{in} \cdot IE - k_{out} \cdot R$$

with $\frac{dSE}{dt} = -SE \cdot k_{in}$ where k_{in} is the apparent zero-order rate constant for production of the response, k_{out} is the first-order rate constant for loss of the response, and SE is the effect of the initial saline infusion on the urinary sodium/potassium ratio. With no drug present, R is assumed to be stationary with an initial value $R_0 = k_{in}/k_{out}$. Drugs can affect either k_{in} or k_{out} but here, we assumed that both drugs and endogenous cortisol had an inhibitory effect only on k_{in} as showed in the above equation.

Simulation Study

The pharmacokinetic and pharmacokinetic-pharmacodynamic models were used to perform simulations of effects of different administration regimens of fludrocortisone (one, two, three, or four times daily) on urinary sodium/potassium ratio. Five hundred Monte Carlo simulations were performed for each administration regimen using the estimated fixed and random effects model parameters in the final model.

RESULTS

Pharmacokinetic Modeling

Fludrocortisone concentrations were best described (as reflected by the smallest log-likelihood value) by a one-compartmental model with first-order absorption and first-order elimination. Similarly, hydrocortisone concentrations were best described by a one-compartmental model with bolus input and first-order elimination. The residual variability was described using a proportional error model for fludrocortisone and a combined error model for hydrocortisone. The VPC is displayed in Fig. 1 for fludrocortisone and in Fig. 2 for hydrocortisone. Plots of predicted population and individual values *vs* observations, and of NPDE *vs* time, are presented in Fig. S1 for fludrocortisone and in Fig. S2 for hydrocortisone (see supplementary files). Visual inspection of these goodness-of-fit plots indicates a good predictive performance of both pharmacokinetic models. Fludrocortisone plasma concentrations (Fig. 1) showed a wider inter-individual dispersion than hydrocortisone plasma concentrations (Fig. 2).

Final pharmacokinetic parameter estimates, inter-individual variability, inter-occasion variability, and residual variability are presented in Table I for fludrocortisone and in Table II for hydrocortisone. All parameters were reliably estimated as reflected by small Relative Standard-Errors

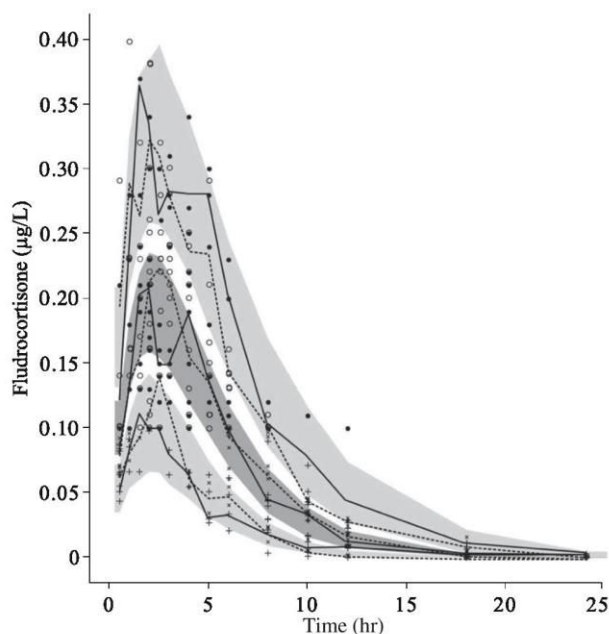


Fig. 1. Visual predictive check for fludrocortisone pharmacokinetic model. Observed 10th, median, and 90th percentiles (*bottom to top*) are represented by *continuous lines* for administration of fludrocortisone alone and by *dashed lines* for co-administration with hydrocortisone. *Shaded areas* show corresponding prediction intervals calculated from simulated data. Observed concentrations are plotted as *closed circles* (●) for administration of fludrocortisone alone and as *open circles* (○) for co-administration with hydrocortisone. *Crosses* show censored data (below the quantification limit) for administration of fludrocortisone alone (*plus sign*) for co-administration with hydrocortisone (*multiplication sign*)

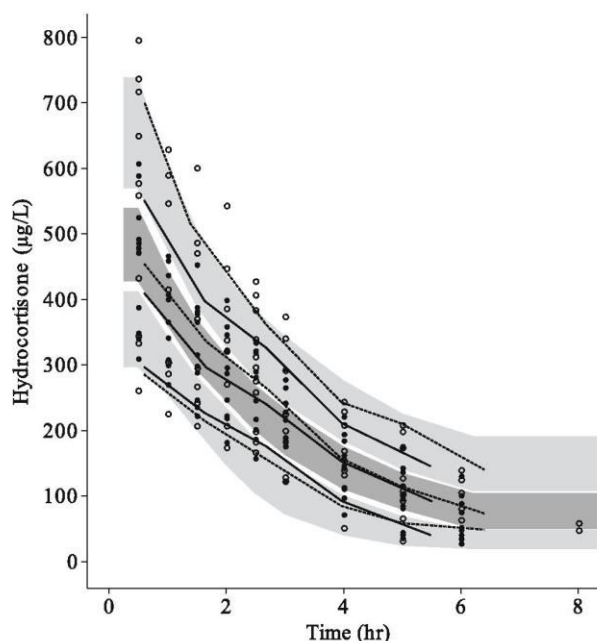


Fig. 2. Visual predictive check for hydrocortisone pharmacokinetic model. Observed 10th, median, and 90th percentiles (*bottom to top*) are represented by *continuous lines* for administration of hydrocortisone alone and by *dashed lines* for co-administration with fludrocortisone. *Shaded areas* show corresponding prediction intervals calculated from simulated data. Observed concentrations are plotted as *closed circles* (●) for administration of hydrocortisone alone and as *open circles* (○) for co-administration with fludrocortisone

(RSE) except for the inter-individual variability parameter on CL/F in the fludrocortisone pharmacokinetic model. As the estimated value of this parameter was very low (8%) and the error on its estimation was large (RSE = 369%), it was fixed at zero in the final model. Fludrocortisone was rapidly absorbed after oral administration. Mean \pm standard-deviation fludrocortisone peak plasma concentration (C_{max}) was 0.20 ± 0.08 $\mu\text{g/L}$ and was reached after 2.00 ± 0.40 h (T_{max}). After T_{max} , fludrocortisone concentrations declined rapidly and became undetectable 6 h after dosing. Fludrocortisone plasma half-life was 1.40 h, 95% confidence interval [0.80; 2.10]. Hydrocortisone was also rapidly eliminated after intravenous administration with a plasma half-life of 2.10 h, 95% confidence interval [1.78; 2.40]. The $AUC_{0-\infty}$ of hydrocortisone was about 1000 times higher than that of fludrocortisone (respectively, 1700 $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, 95% confidence interval [1572; 1851], and 1.22 $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, 95% confidence interval [1.12; 1.34]). We did not find any significant pharmacokinetic interaction between fludrocortisone and hydrocortisone (Table S1). Similarly, we did not find any significant effect of the body weight covariate on the pharmacokinetic parameters of both molecules.

Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling

The final pharmacodynamic parameter estimates are summarized in Table III. A proportional error model was selected to describe residual variability. All parameters were reliably estimated as reflected by the small RSEs. As for the

PK-PD of Fludrocortisone and Hydrocortisone

Table I. Parameter estimates from the final pharmacokinetic model for oral fludrocortisone

Parameter	Description	Estimate	RSE%	CI _{95%}
Fixed effects				
k_a (h ⁻¹)	Absorption rate constant	0.43	37	
V_d/F (L)	Apparent volume of distribution	82.4	38	
CL/F (L/h)	Apparent clearance	40.8	9	
Interindividual variability (SD, %)				
ω (k_a)		17	2	
ω (V_d/F)		25	5	
ω (CL/F)		0 fixed	–	
Inter-occasion variability (SD, %)				
γ (CL/F)		37	8	
Residual variability (variance)				
σ_{prop}		0.34	3	
$T_{1/2}$ (h)	Time to plasma half-life	1.4	–	[0.80 ; 2.10]
AUC _{0-∞} (μg.h.L ⁻¹)	Area under curve from t_0 to t_∞	1.22	–	[1.12 ; 1.34]

RSE relative standard error, SD standard deviation, CI_{95%} confidence interval of 95%

σ_{prop} , variance parameter of proportional residual model as follows: $C_{observed,ij} = C_{predicted,ij} + C_{predicted,ij} * \epsilon_{prop,ij}$ with $\epsilon_{prop} \sim N(0, \sigma_{prop})$

pharmacokinetic model, visual inspection of VPC (Fig. 3), plot of predicted population, individual values vs observations, and NPDE (Fig. S3, supplementary files) indicate a good predictive performance of the pharmacokinetic-pharmacodynamic model. Sodium/potassium ratio dispersion was higher with fludrocortisone (Fig. 3a) as compared with hydrocortisone (Fig. 3b), especially between 4 and 8 h after treatment administration (i.e., during the period of maximal mineralocorticoid effect).

The plasma concentration of drug producing 50% of maximal inhibition of urinary sodium/potassium ratio (IC₅₀) was about 200 times lower for fludrocortisone than for hydrocortisone. The inter-individual variability of IC₅₀ was approximately three times higher for fludrocortisone (71%) than for hydrocortisone (26%). There was a delay between the

kinetics of fludrocortisone and hydrocortisone concentrations and the kinetics of effects on urinary sodium/potassium ratio thus inducing hysteresis loops when effects were plotted against plasma concentrations. The hysteresis loops were more pronounced with hydrocortisone than with fludrocortisone. Peak urinary sodium/potassium ratios were observed at 10 h for both treatments, corresponding to the nadir of endogenous cortisol secretion (between 8 and 12 h after administration).

Simulations of different administration regimens of fludrocortisone (one, two, three or four times daily) on the kinetics of fludrocortisone plasma concentrations and on the kinetics of effects on urinary sodium/potassium ratio were performed in 500 virtual subjects. Repeated administrations allowed the reduction of time-to-steady-state and a quicker stable decrease of urinary sodium/potassium ratio (Fig. 4). Simulations

Table II. Parameter estimates from the final pharmacokinetic model for intravenous hydrocortisone

Parameter	Description	Estimate	RSE%	CI _{95%}
Fixed effects				
V_d (L)	Volume of distribution	85.5	7	
CL (L/h)	Clearance	30	8	
Interindividual variability (SD, %)				
ω (V_d)		15	53	
ω (CL)		21	34	
Inter-occasion variability (SD, %)				
γ (V_d)		22	26	
γ (CL)		21	25	
Residual variability (variance)				
σ_{add}		20	7	
σ_{prop}		0.04	14	
$T_{1/2}$ (h)	Time to plasma half-life	2.10	–	[1.78 ; 2.40]
AUC _{0-∞} (μg.h.L ⁻¹)	Area under curve from t_0 to t_∞	1700	–	[1572 ; 1851]

RSE relative standard error, SD standard deviation, CI_{95%} confidence interval of 95%

σ_{add} and σ_{prop} , variance parameters of combined (additive and proportional) residual model as follows: $C_{observed,ij} = C_{predicted,ij} + C_{predicted,ij} * \epsilon_{prop,ij} + \epsilon_{add,ij}$ with $\epsilon_{prop} \sim N(0, \sigma_{prop})$ and $\epsilon_{add} \sim N(0, \sigma_{add})$

Table III. Parameter estimates from the final pharmacodynamic model

Parameters		Estimate	RSE%
Fixed effects			
IC _{50,FC} (µg/L)	Concentration of fludrocortisone producing 50% of maximum response	0.08	29
IC _{50,HC} (µg/L)	Concentration of hydrocortisone producing 50% of maximum response	16.7	19
I_{max}	Maximum response	1 fixed	–
hill	Steepness of the concentration-effect relationship	1 fixed	–
R_{max} (µg/h)	Maximum release rate of cortisol	1630	10
k_{in} (h ⁻¹)	Zero-order rate for production of the response	4.6	3
k_{out} (h ⁻¹)	First-order rate for loss of the response	0.46	8
IC _{in,50} (µg/L)	Cortisol sensitivity constant	9.2	27
Interindividual variability (SD, %)			
ω (IC _{50, FC})		71.3	36
ω (IC _{50, HC})		26	60
ω (k_{in})		0 fixed	–
ω (k_{out})		16.6	34
Residual variability (variance)			
σ_{prop}		0.36	4

RSE relative standard error, SD standard deviation

σ_{prop} , variance parameter of proportional residual model as follows: $R_{observed,ij} = R_{predicted,ij} + R_{predicted,ij} * \epsilon_{prop,ij}$ with $\epsilon_{prop,ij} \sim N(0, \sigma_{prop})$

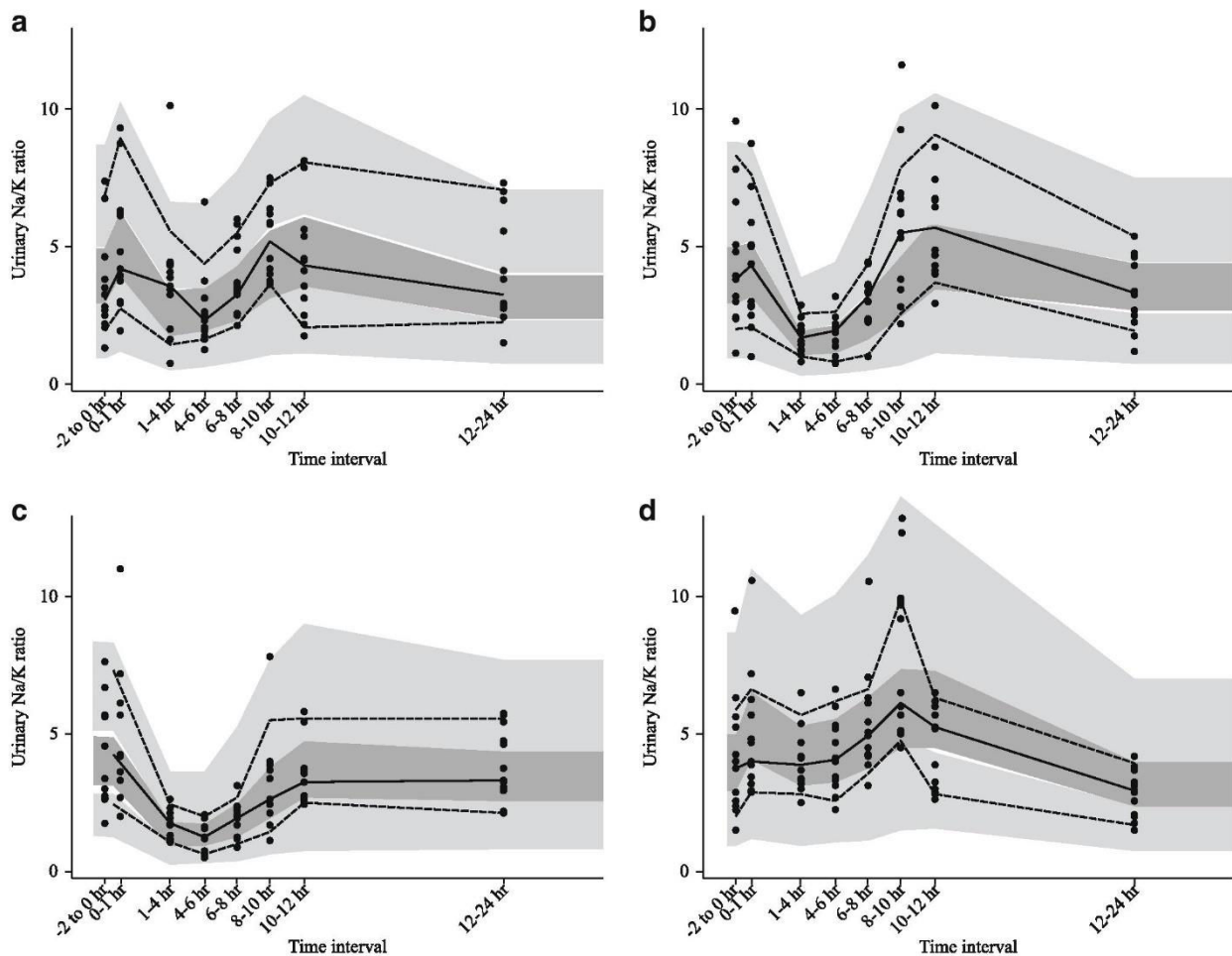


Fig. 3. Visual predictive check for pharmacokinetic-pharmacodynamic model for **a** fludrocortisone, **b** hydrocortisone, **c** fludrocortisone + hydrocortisone, and **d** placebo. *Continuous line* represents median observed values, and *dashed lines* represent 10th and 90th observed percentiles. *Shaded areas* show corresponding prediction intervals calculated from simulated data. Observed urinary sodium/potassium ratios over time interval of urine collection are plotted as *closed circles*

PK-PD of Fludrocortisone and Hydrocortisone

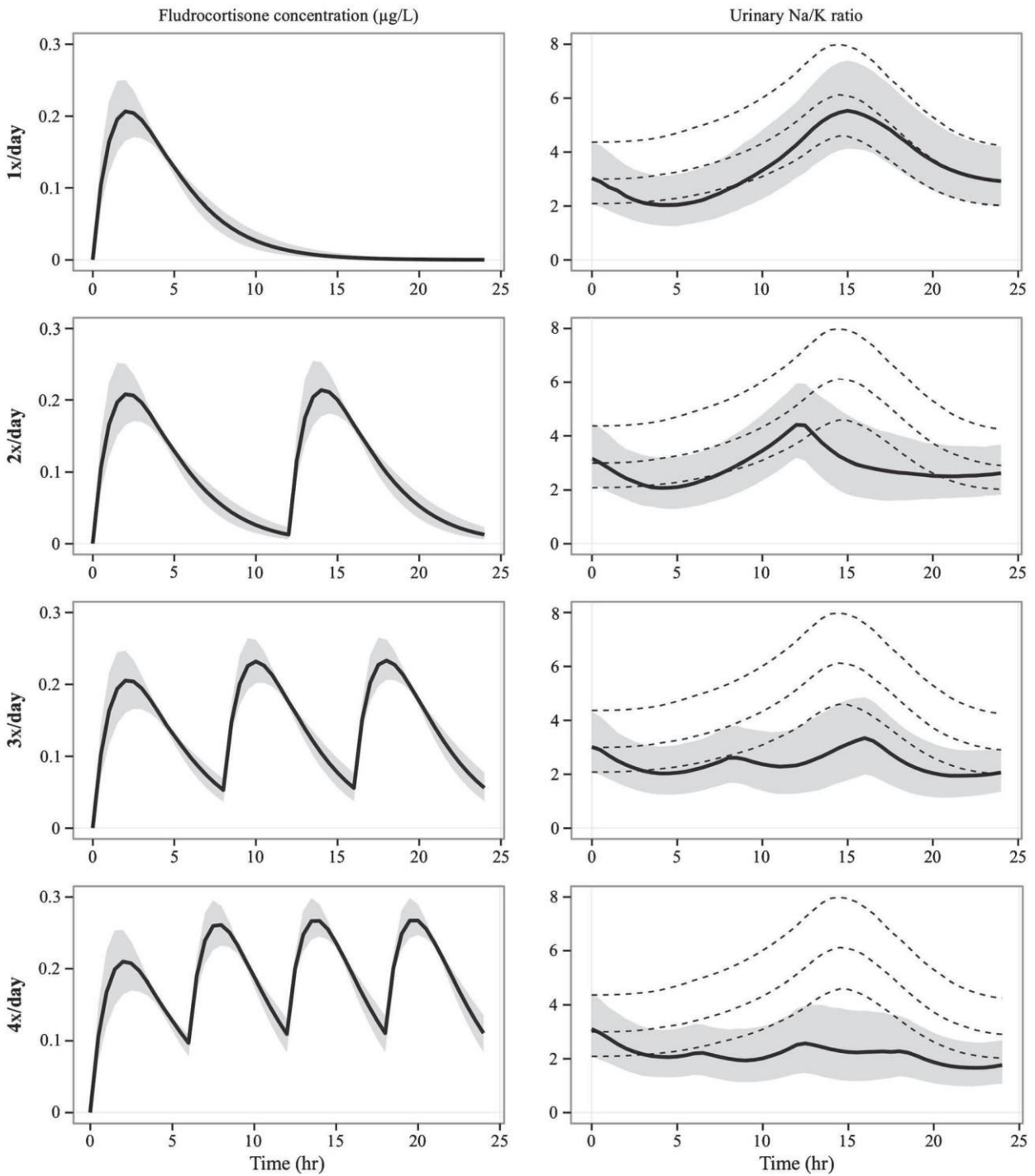


Fig. 4. Simulations of effects of different administration schedules of fludrocortisone (one, two, three, or four times per day) on the kinetics of fludrocortisone plasma concentrations and urinary sodium/potassium ratio. *Continuous lines* represent median predicted values, and *shaded areas* show corresponding 80% prediction intervals. *Dashed lines* represent 10th, 50th, and 90th percentiles of the urinary sodium/potassium ratio under placebo

showed that a 4-time per day administration regimen allowed achieving steady fludrocortisone plasma concentrations with stable decrease in urinary sodium/potassium ratio after the second administration of fludrocortisone. The coefficient of variation

(standard deviation/mean) of simulated fludrocortisone plasma concentrations at C_{max} (illustrating inter-individual variability) decreased after multiple dosing (from 40% after single administration to 8.4% after the fourth administration). The coefficient of

variation of simulated urinary Na/K ratio at time of maximum effect was unchanged after multiple dosing (61% after single administration and 66% after the fourth administration).

DISCUSSION

In this study in healthy volunteers, we assessed the pharmacokinetics of single administrations of fludrocortisone and hydrocortisone given alone or in combination. Our main findings were the following: 1) Fludrocortisone and hydrocortisone have similar short plasma half-lives. 2) The pharmacokinetic parameters of each drug are not influenced by the co-administration of the other drug. 3) Fludrocortisone plasma concentrations and effect on urinary sodium/potassium ratio had a higher inter-individual variability as compared to those of hydrocortisone. 4) Giving fludrocortisone every 6 h would create a sustained inhibition of urinary sodium/potassium excretion.

As recently observed in septic shock patients, we found that fludrocortisone concentrations were best described by a one-compartmental model with first-order absorption and first-order elimination (21). Hydrocortisone concentrations were also best described by a one-compartment model confirming other reports (22–25).

Previously published studies on the pharmacokinetics of fludrocortisone using higher single doses (between 100 µg and 2 mg) in healthy volunteers found a wide range of plasma half-lives between 0.50 and 3.60 h (9,26,27). One study found an apparent volume of distribution of 85 L similar to our findings, but an apparent clearance two times lower ranging from 16–22 L/h (27). However, plasma fludrocortisone was measured by radioimmunoassay that cross-reacted with endogenous cortisol and consequently increased artificially plasma concentration of fludrocortisone. In our study, this problem was avoided by using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry method that specifically assayed plasma fludrocortisone. In addition, the pharmacokinetic parameters in these studies were estimated using a nonlinear regression method or non-compartmental approach. In our study, both pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters were estimated using a nonlinear mixed effects model (also called population approach). The main advantages of this approach are 1) to take into account censored or missing data, 2) to quantify the influence of covariates on pharmacokinetic parameters, and 3) to estimate inter-individual and inter-occasion variability in addition to the mean value for each parameter (12,28,29). We could therefore obtain good estimates of pharmacokinetic parameters despite censored data (concentrations under the quantification limit) due to the low doses used. Our model also used a compartmental approach. The addition of the treatment covariate in the model also allowed showing that the pharmacokinetic parameters of both fludrocortisone and hydrocortisone were not influenced by the co-administration of the other drug.

As illustrated in Figs. 1 and 2, inter-individual dispersion of plasma concentrations was higher for fludrocortisone than for hydrocortisone. At C_{max} for example, the coefficient of variation of plasma concentrations was 40% for

fludrocortisone and 28% for hydrocortisone. Consequently, a larger inter-individual variability of urinary sodium/potassium ratio was observed with fludrocortisone than with hydrocortisone. The coefficient of variation at 4 h (time of maximum effect) for example was 61% for fludrocortisone and 34% for hydrocortisone. This could be explained by the different pharmaceutical forms of the two drugs. Only one study performed on three subjects previously assessed fludrocortisone bioavailability and suggested total absorption of the drug (9). In the absence of existing intravenous form of fludrocortisone, we could not study its bioavailability but our data clearly illustrate an inter-individual variability of oral fludrocortisone absorption. Variations in fludrocortisone absorption was also recently illustrated in septic shock patients in which we found that 1/3 had undetectable plasma concentrations after oral administration of 50 µg (21). Despite mean pharmacokinetic parameters (plasma elimination half-life, apparent clearance, and apparent volume of distribution) similar to those of healthy volunteers, the inter-individual variability was more important in patient (75% for apparent volume of distribution and 49% for apparent clearance) than in healthy volunteers (25% for apparent volume of distribution and 0% for apparent clearance). In addition, a lag time before the absorption phase was observed in patients and not in our healthy volunteers.

Both fludrocortisone and hydrocortisone showed similar delays of elimination and duration of effect on urinary sodium/potassium ratio. Our results do not support the use of different administration regimens for fludrocortisone (once daily) and hydrocortisone (four times a day) as previously used in septic shock studies (2). Our simulation study showed that fludrocortisone should also be given four times daily to rapidly achieve steady-state for both fludrocortisone plasma concentrations and urinary sodium/potassium ratio.

Taken together, our results in healthy volunteers and septic shock patients suggest that the administration scheme of fludrocortisone should be reconsidered and that an intravenous form would be useful in particular in septic shock conditions.

Our study has some limitations. First, concentrations of endogenous cortisol were not measured and cortisol effect was estimated indirectly using the urinary sodium/potassium ratio measured during the placebo sequence. However, the estimated maximum release rate of secretion of cortisol (Table III) was similar to what has been previously reported in studies (1972 µg/h) that directly measured cortisol plasma concentrations (15). In the same way, the plasma concentration of hydrocortisone producing 50% of maximal suppression of endogenous cortisol release rate was also similar to that previously published (5.52 µg/L) (30). Second, the parameters that have been used to simulate the effects of a 4-time per day fludrocortisone administration were estimated using data collected after a single administration. The results of these simulations need therefore to be prospectively confirmed in further studies using a 4-time per day administration regimen in healthy volunteers and in septic shock patients. Finally, the pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship was only assessed on the mineralocorticoid potency of both drugs (assessed by urinary sodium/potassium ratio) and should be further studied on other relevant pharmacodynamic endpoints.

PK-PD of Fludrocortisone and Hydrocortisone

CONCLUSION

Our study showed that fludrocortisone and hydrocortisone have short and similar plasma elimination half-lives and that fludrocortisone plasma concentrations and effect on urinary sodium/potassium ratio have a higher inter-individual variability as compared to hydrocortisone. These results suggest that the administration regimen of fludrocortisone should be reconsidered and that an intravenous formulation of fludrocortisone would be useful to reduce its pharmacokinetic and pharmacodynamic variability.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Nolwenn Boissel, Viviane Fortuna, and Cecile Reminiac (research nurses, Clinical Investigation Unit, Inserm CIC 1414 Clinical Investigation Centre) for technical assistance and Stuart Byrom for English editing. We also thank Pr Djillali Annane for his comments on the results.

REFERENCES

1. Arlt W, Allolio B. Adrenal insufficiency. *Lancet*. 2003;361(9372):1881–93.
2. Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert P-E, François B, Korach J-M, *et al*. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA*. 2002;288(7):862–71.
3. Laviolle B, Annane D, Fougere C, Bellissant E. Gluco- and mineralocorticoid biological effects of a 7-day treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone in septic shock. *Intensive Care Med*. 2012;38(8):1306–14.
4. Oelkers W. Adrenal insufficiency. *N Engl J Med*. 1996;335(16):1206–12.
5. Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, *et al*. Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med*. 2008;358(2):111–24.
6. COITSS Study Investigators, Annane D, Cariou A, Maxime V, Azoulay E, D'honneur G, *et al*. Corticosteroid treatment and intensive insulin therapy for septic shock in adults: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2010;303(4):341–8.
7. Annane D. Corticosteroids for severe sepsis: an evidence-based guide for physicians. *Ann Intensive Care*. 2011;1(1):7.
8. Laviolle B, Le Maguet P, Verdier M-C, Massart C, Donal E, Lainé F, *et al*. Biological and hemodynamic effects of low doses of fludrocortisone and hydrocortisone, alone or in combination, in healthy volunteers with hypoaldosteronism. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;88(2):183–90.
9. Vogt W, Fischer I, Ebenroth S, Appel S, Knedel M, Lücker PW, *et al*. [Pharmacokinetics of 9-fluorhydrocortisone]. *Arzneimittelforschung*. 1971;21(8):1133–43.
10. Ribot M, Polito A, Grassin-Delyle S, Annane D, Alvarez J-C. Human plasma quantification of fludrocortisone using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after low-dosage administration. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2013;420:109–13.
11. Chan PLS, Jacqmin P, Lavielle M, McFadyen L, Weatherley B. The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2011;38(1):41–61.
12. Beal SL. Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2001;28(5):481–504.
13. Bertrand J, Comets E, Mentre F. Comparison of model-based tests and selection strategies to detect genetic polymorphisms influencing pharmacokinetic parameters. *J Biopharm Stat*. 2008;18(6):1084–102.
14. Comets E, Brendel K, Mentré F. Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models: the npde add-on package for R. *Comput Methods Programs Biomed*. 2008;90(2):154–66.
15. Rohatagi S, Bye A, Mackie AE, Derendorf H. Mathematical modeling of cortisol circadian rhythm and cortisol suppression. *Eur J Pharm Sci*. 1996;4(6):341–50.
16. Derendorf H, Hochhaus G, Meibohm B, Möllmann H, Barth J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;101(4 Pt 2):S440–446.
17. Otte C, Jahn H, Yassouridis A, Arlt J, Stober N, Maass P, *et al*. The mineralocorticoid receptor agonist, fludrocortisone, inhibits pituitary-adrenal activity in humans after pre-treatment with metyrapone. *Life Sci*. 2003;73(14):1835–45.
18. Gaddum JH. Theories of drug antagonism. *Pharmacol Rev*. 1957;9(2):211–8.
19. Greco WR, Bravo G, Parsons JC. The search for synergy: a critical review from a response surface perspective. *Pharmacol Rev*. 1995;47(2):331–85.
20. Dayneka NL, Garg V, Jusko WJ. Comparison of four basic models of indirect pharmacodynamic responses. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1993;21(4):457–78.
21. Polito A, Hamitouche N, Ribot M, Polito A, Laviolle B, Bellissant E, *et al*. Pharmacokinetics of oral fludrocortisone in septic shock. *Br J Clin Pharmacol*. 2016.
22. Toothaker RD, Craig WA, Welling PG. Effect of dose size on the pharmacokinetics of oral hydrocortisone suspension. *J Pharm Sci*. 1982;71(10):1182–5.
23. Simon N, Castinetti F, Ouliac F, Lesavre N, Brue T, Oliver C. Pharmacokinetic evidence for suboptimal treatment of adrenal insufficiency with currently available hydrocortisone tablets. *Clin Pharmacokinet*. 2010;49(7):455–63.
24. Derendorf H, Möllmann H, Barth J, Möllmann C, Tunn S, Krieg M. Pharmacokinetics and oral bioavailability of hydrocortisone. *J Clin Pharmacol*. 1991;31(5):473–6.
25. Thomson AH, Devers MC, Wallace AM, Grant D, Campbell K, Freel M, *et al*. Variability in hydrocortisone plasma and saliva pharmacokinetics following intravenous and oral administration to patients with adrenal insufficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007;66(6):789–96.
26. Banda J, Lakshmanan R, Vvs SP, Gudla SP, Prudhivi R. A highly sensitive method for the quantification of fludrocortisone in human plasma using ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and its pharmacokinetic application. *Biomed Chromatogr BMC*. 2015.
27. Mitsky VP, Workman RJ, Nicholson WE, Vernikos J, Robertson RM, Robertson D. A sensitive radioimmunoassay for fludrocortisone in human plasma. *Steroids*. 1994;59(9):555–8.
28. Sheiner L, Wakefield J. Population modelling in drug development. *Stat Methods Med Res*. 1999;8(3):183–93.
29. Karlsson MO, Sheiner LB. The importance of modeling interoccasion variability in population pharmacokinetic analyses. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1993;21(6):735–50.
30. Hong Y, Mager DE, Blum RA, Jusko WJ. Population pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of systemic corticosteroid inhibition of whole blood lymphocytes: modeling interoccasion pharmacodynamic variability. *Pharm Res*. 2007;24(6):1088–97.

Figures annexes

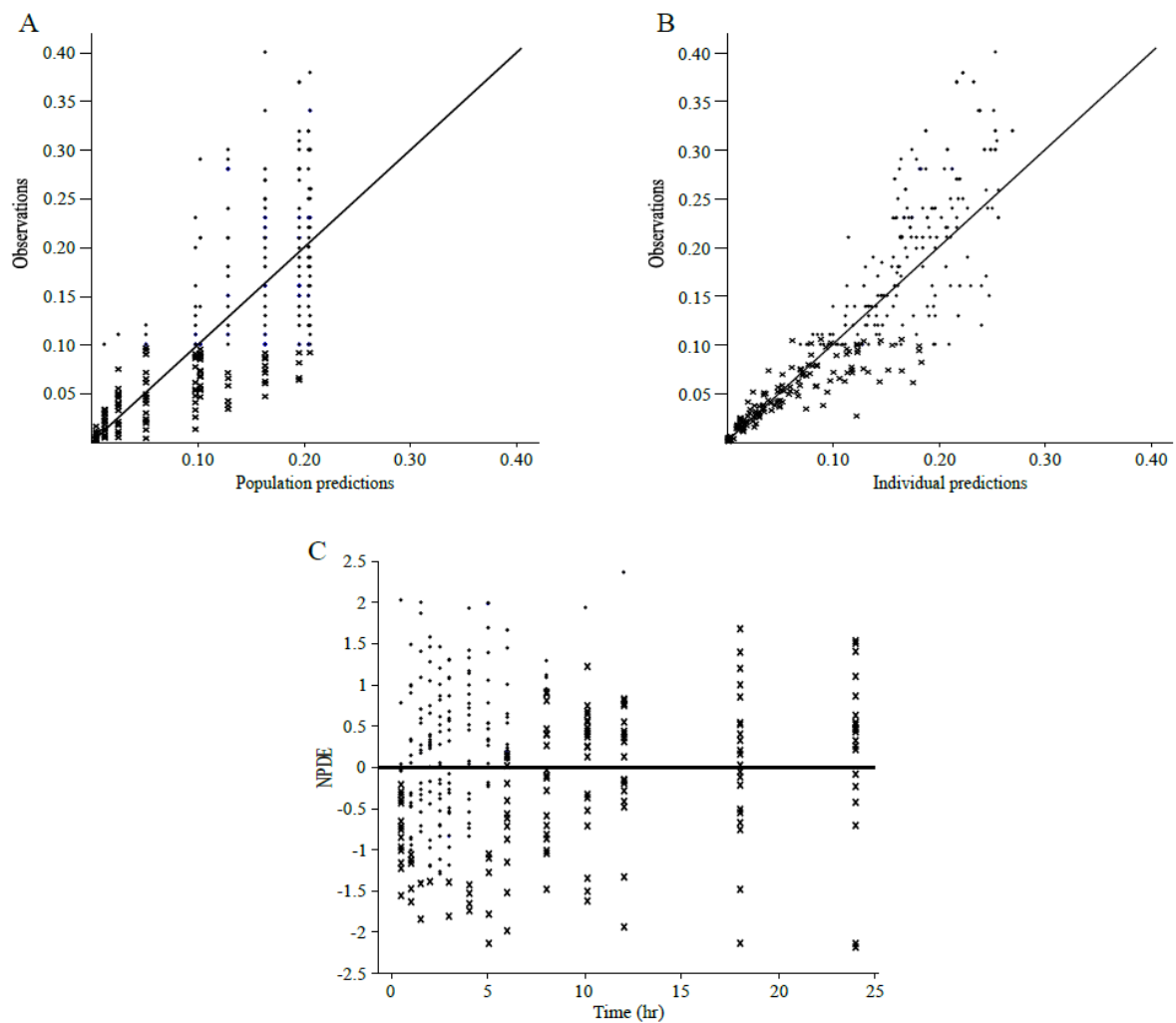


Figure S1. Goodness-of-fit plots for the final pharmacokinetic model of FC: (a) Observations versus population predicted values. (b) Observations versus individual predicted values. LOWESS smoothed curves are plotted as blue curves. (c) Normalized Prediction Distribution Error (NPDE) versus time. Observations are plotted as blue points and below of quantification limit data as red points.

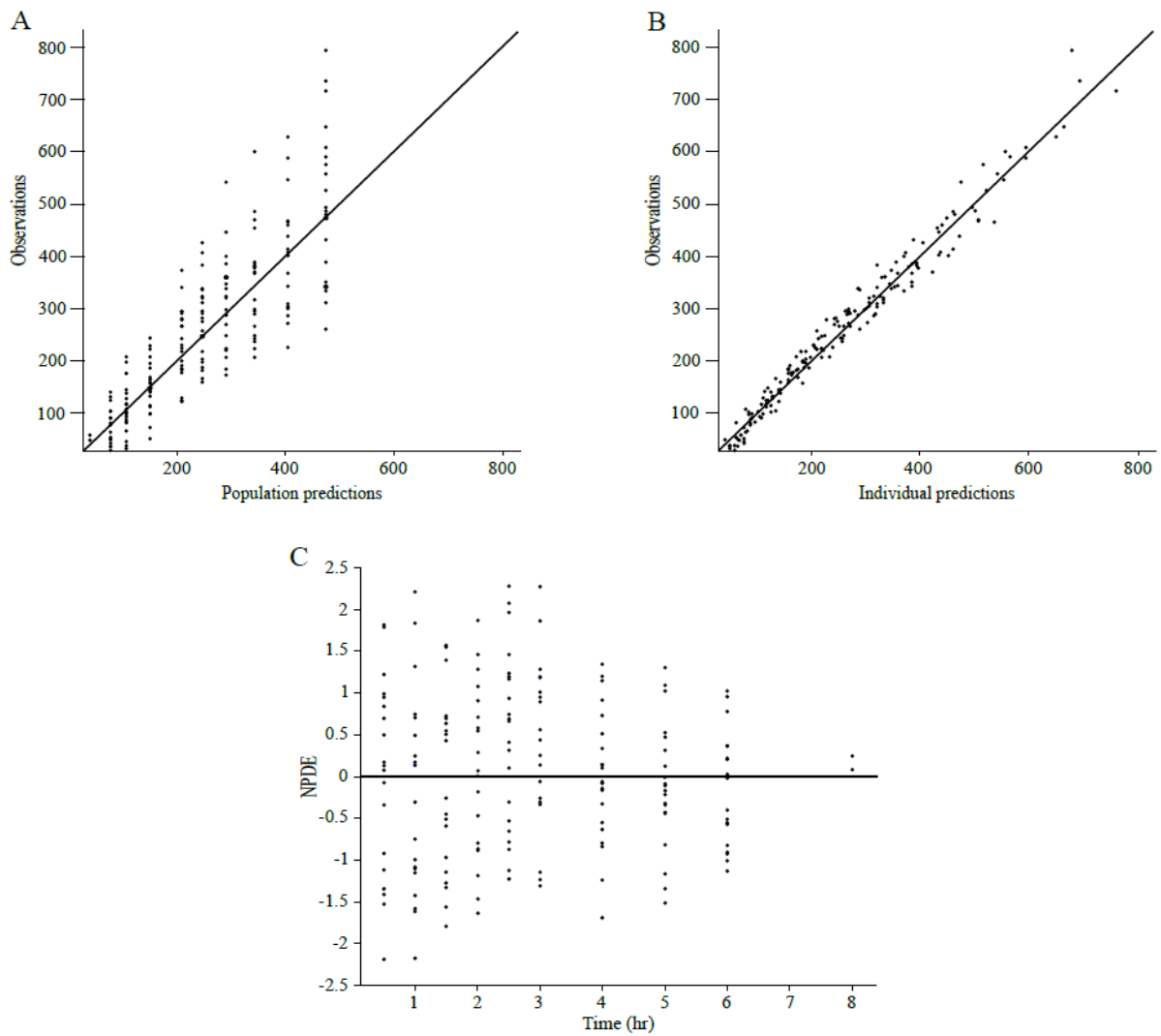


Figure S2. Goodness-of-fit plots for the final pharmacokinetic model of HC: (a) Observations versus population predicted values. (b) Observations versus individual predicted values. LOWESS smoothed curves are plotted as blue curves. (c) Normalized Prediction Distribution Error (NPDE) versus time. Observations are plotted as blue points.

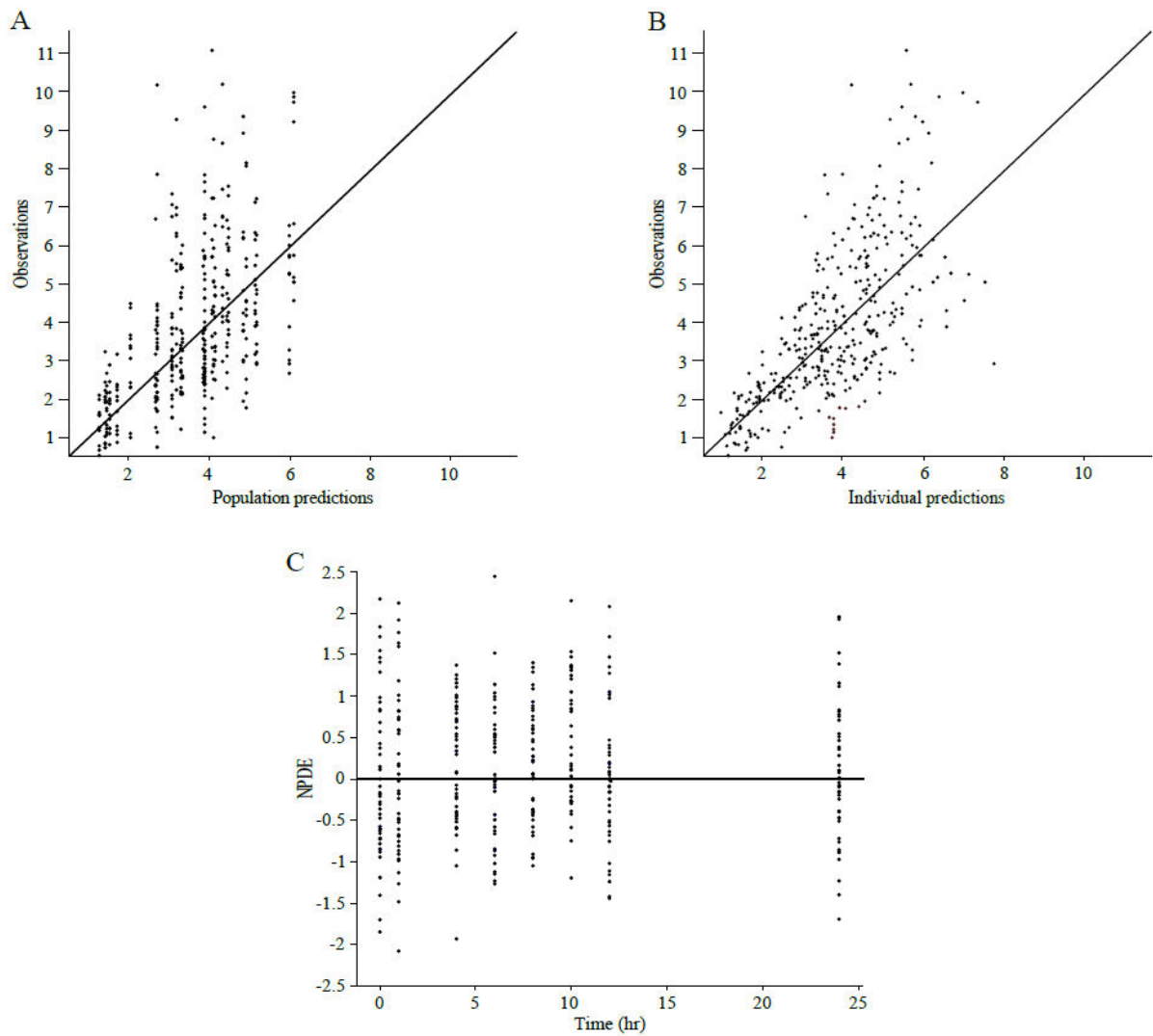


Figure S3. Goodness-of-fit plots for the final pharmacokinetic -pharmacodynamic model: (a) Observations versus population predicted values. (b) Observations versus individual predicted values. LOWESS smoothed curves are plotted as blue curves. (c) Normalized Prediction Distribution Error (NPDE) versus time. Observations are plotted as blue points.

Chapitre 4. Deuxième étude

Pharmacocinétique de la fludrocortisone orale chez des patients en choc septique

Auteurs : Andrea Polito*, Noureddine Hamitouche*, Mégane Ribot*, Angelo Polito, Bruno Laviolle, Eric Bellissant, Djillali Annane, Jean-Claude Alvarez

* *premiers co-auteurs*

Résumé

Justifications

L'association de faibles doses de fludrocortisone et d'hydrocortisone a montré un bénéfice sur la survie chez des patients en choc septique notamment chez ceux présentant une insuffisance surrénale relative (Annane et al., 2002). Cependant, la preuve du passage systémique de la fludrocortisone administrée par voie orale et sa PK chez les patients en choc septique n'ont jamais été étudiées.

Objectif

L'objectif était de modéliser les concentrations plasmatiques de fludrocortisone chez les patients en choc septique par approche de population.

Méthodes

Les données proviennent d'une étude de PK, mono-centrique et complémentaire faisant partie d'un essai plus large (multicentrique) comparant les cristalloïdes aux colloïdes dans le traitement de l'hypovolémie chez les patients en réanimation (Annane et al., 2013). L'étude PK a été réalisée chez 21 patients adultes en choc septique. La fludrocortisone a été administrée en dose unique de 50 µg par voie orale en association avec l'hydrocortisone par voie intraveineuse toute les 6 heures. Les concentrations plasmatiques de fludrocortisone ont été mesurées par

méthode LC-MS/MS. Les paramètres PK ont été estimés grâce à un modèle non-linéaire à effet mixtes en utilisant le logiciel Monolix.

Résultats

Des concentrations plasmatiques indétectables ont été observées chez 7/21 des patients traités par la fludrocortisone. Chez les 14 patients restants, les concentrations étaient détectables avec cependant une variabilité interindividuelle très importante. Un modèle mono-compartimental avec une constante d'absorption d'ordre 1, un lag-time (Tlag) avant la phase d'absorption et une constante d'élimination d'ordre 1 a été retenu pour décrire la PK. La sévérité du choc quantifiée par le score SAPSII semblait augmenter significativement le Tlag et la clairance d'élimination. Une forte variabilité inter-individuelle sur les paramètres PK a été observée. Les valeurs moyennes des paramètres (variabilité interindividuelle) Tlag, clairance apparente, volume de distribution apparent étaient respectivement, de 0.65 h (98%), 40 L/h (49%) et 78 L (75%). La demi-vie et l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques ont été estimées, respectivement, à 1.35 h (IC 95%, 0.84-2.03) et 1.25 $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ (IC 95%, 1.09–1.46).

Conclusion

L'administration orale de fludrocortisone a montré qu'un tiers des patients traités n'absorbaient pas ou très peu la molécule. Chez les patients restants (14/21), une demi-vie plasmatique courte et une forte variabilité interindividuelle ont été observées. Au vu des résultats, la mise au point d'une forme intraveineuse de la fludrocortisone semblerait nécessaire pour réduire la variabilité au niveau des profils PK chez les patients en choc septique.

4.1. Article

PHARMACOKINETICS

Pharmacokinetics of oral fludrocortisone in septic shock

Correspondence Djillali Annane, MD, PhD, Service de réanimation médicale, Centre Hospitalier Universitaire Raymond Poincaré, AP-HP, 104, Boulevard R. Poincaré, 92380 Garches, France. Tel.: +33 1 4710 7782; Fax: +33 1 4710 7923; E-mail: djillali.annane@rpc.aphp.fr

Received 17 January 2016; **Revised** 28 June 2016; **Accepted** 10 July 2016

Andrea Polito^{1,2}, Noureddine Hamitouche^{3,4}, Mégane Ribot^{2,5}, Angelo Polito⁶, Bruno Laviolle^{3,4}, Eric Bellissant^{3,4}, Djillali Annane^{1,2} and Jean-Claude Alvarez^{2,5}

¹Department of Intensive Care, Raymond Poincaré Hospital (AP-HP), Garches, France, ²Laboratory of Cell Death, Inflammation and Infection, INSERM UMR 1173 University of Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Garches, France, ³INSERM 1414 Clinical Investigation Centre, Rennes, France, ⁴Department of Pharmacology, Rennes 1 University, Rennes, France, ⁵Department of Pharmacology, Raymond Poincaré Hospital (AP-HP), University of Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Garches, France, and ⁶Department of Cardiology, Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy

Keywords Fludrocortisone, pharmacokinetics, sepsis, shock

AIM

The combination of hydrocortisone and fludrocortisone improved outcomes in septic shock. However, the specific role of fludrocortisone remains controversial and its pharmacokinetics (PK) has never been investigated in septic shock. This study aimed at characterizing the PK of fludrocortisone in septic shock.

METHODS

This was a single-centre ancillary PK study of a large multinational trial of crystalloids versus colloids for acute hypovolemia in intensive care unit (ICU) patients. In 21 adults with septic shock, fludrocortisone plasma concentrations were measured by liquid chromatography–mass spectrometry tandem analysis, before and repeatedly until 18 h after an oral dose of 50 µg. PK parameters were estimated using a nonlinear mixed-effects modelling.

RESULTS

Undetectable plasma concentrations were observed in 7 out of 21 patients. In the remaining 14 patients, plasma fludrocortisone concentrations were best described by a one-compartmental model with first-order absorption, a lag time (T_{lag}) before the absorption phase, and first-order elimination. Severity of illness, as quantified by Simplified Acute Physiology Score II, significantly increased T_{lag} and apparent clearance. There was a large inter-individual variability in PK parameters. The population estimates of PK parameters (inter-individual variability) were: T_{lag} 0.65 h (98%), apparent clearance 40 l h⁻¹ (49%) and apparent volume of distribution 78 l (75%). Plasma half-life was estimated at 1.35 h (95% CI, 0.84–2.03) and area under the curve of plasma concentrations was estimated at 1.25 µg h l⁻¹ (95% CI, 1.09–1.46).

CONCLUSIONS

A single oral dose of fludrocortisone yielded undetectable plasma concentrations in one-third of adults with septic shock. Fludrocortisone PK showed a short plasma elimination half-life and a large inter-individual variability.

WHAT IS ALREADY KNOWN ABOUT THIS SUBJECT

- Low doses of corticosteroids improves outcomes in septic shock but the effectiveness of fludrocortisone is debated.
- The pharmacokinetics of fludrocortisone in septic shock patients has never been studied.

WHAT THIS STUDY ADDS

- This study shows that one third of our septic patients had undetectable fludrocortisone plasma concentrations after oral administration.
- The pharmacokinetics of oral fludrocortisone shows a large inter-individual variability and a short plasma elimination half-life.

Table of Links

LIGANDS
fludrocortisone
hydrocortisone / cortisol
sufentanil

This Table lists key ligands in this article, which are hyperlinked to corresponding entries in <http://www.guidetopharmacology.org>, the common portal for data from the IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY [1].

Introduction

Septic shock is the most severe complication of infection. Its incidence is about 300 per 100 000 inhabitants worldwide [2, 3]. Its mortality rate ranges from 20 to 40% in the short term, and rises up to 60% in the long term [2, 3]. About half of survivors may develop long-term sequelae [2]. Corticosteroids may improve patient morbidity and mortality [4]. Current Surviving Sepsis Campaign guidelines suggest giving moderate doses of corticosteroids in catecholamine-dependent septic shock [5].

Though one large randomized controlled trial showed the benefit of a combination of hydrocortisone and fludrocortisone [4], the role of fludrocortisone remains controversial [5]. In particular, the pharmacokinetics of fludrocortisone given orally in septic shock has not been investigated so far.

Fludrocortisone is usually given in its acetate form as an inactive pro-drug that requires hydrolization. Hydrolysis by esterases or pseudoesterases may occur in body fluids and mainly in the liver but may be only partial.

Our group has recently developed a robust and sensitive assay for measuring plasma levels of active fludrocortisone concentrations [6]. In the current study, we investigated in adults with septic shock the absorption of fludrocortisone given orally and its pharmacokinetics.

Materials and methods

Patients and settings

This study was ancillary to the CRISTAL study [7]. This trial was a multinational randomized controlled trial of crystalloids versus colloids resuscitation for acute hypovolemia in intensive care unit (ICU) patients. In this trial, randomization was stratified according to patient's case mix (sepsis, trauma

or hypovolemic shock without sepsis or trauma). This trial was registered in clinicaltrials.gov (NCT00318942) and was approved by ethics committee and regulatory agencies according to national legislation. For France, the study protocol was approved by the Committee for the Protection of People of Saint-Germain-en-Laye with waiver of consent. The CRISTAL trial recruited patients from February 2003 to August 2012. CRISTAL study patients with evidence of septic shock [8] were recruited for this ancillary study at Raymond Poincaré Hospital (Garches, France) from December 2010 to May 2012 (corresponding with the completion of the CRISTAL study). Thus, there was no planned sample size for this ancillary study. Criteria for septic shock included: (i) clinically or microbiologically documented source of infection; (ii) at least two of the following signs of tissue hypoperfusion/organ dysfunction: urinary output $< 20 \text{ ml h}^{-1}$, Glasgow coma score < 10 , need for mechanical ventilation, arterial lactate levels $> 2 \text{ mmol l}^{-1}$; (iii), need for vasopressor therapy to maintain a systolic blood pressure $> 90 \text{ mmHg}$ or a mean blood pressure $> 65 \text{ mmHg}$. Patients with known endocrine disorders or any condition or treatment that may have affected cortisol synthesis or metabolism [9] were excluded.

Patients were managed according to the 2008 edition of the Surviving Sepsis Campaign guidelines [10]. They received both hydrocortisone 50 mg four times per day and fludrocortisone 50 μg daily for seven days. Within the first three hours of septic shock onset and prior to any corticotherapy, 50 μg of fludrocortisone were given via a naso-gastric tube as previously reported [4]. Whole blood was sampled (7 ml) from an arterial access before fludrocortisone administration and every 30 min for 6 h, then hourly for 18 h. Plasma was separated by centrifugation at 5000 tr min^{-1} for 10 min and kept frozen at -80°C until analysis.

Blood sample analysis

Sensitive quantification of fludrocortisone in plasma was obtained by a solid-phase extraction using Oasis[®]-HLB

cartridge, followed by liquid chromatography–mass spectrometry tandem (LC–MS/MS) analysis as described elsewhere [6]. This LC–MS/MS method allows very low fludrocortisone plasma concentrations with a lower limit of quantification of $0.10 \mu\text{g l}^{-1}$ to be analysed.

Data analysis

Patient characteristics. To investigate reasons for a possible non-absorption of fludrocortisone, we compared patients with detectable ($\geq 0.10 \mu\text{g l}^{-1}$) and undetectable ($< 0.10 \mu\text{g l}^{-1}$) fludrocortisone plasma levels on demographic data, severity of illness, concomitant therapies, and hemodynamic and biological status. Wilcoxon test for quantitative variables and Fisher exact test for categorical variables were used to compare the two groups. The statistical analysis was performed using R statistical software [11].

Population pharmacokinetic analysis. Nonlinear mixed effects modelling was used to analyse the pharmacokinetic data, using the Stochastic Approximation Expectation Maximization (SAEM) algorithm implemented in MONOLIX 4.3.0 software (LIXOFT, France) as previously described [12]. The algorithm takes into account censored data (below the quantification limit) for the estimation of maximum likelihood and structural parameters [13]. The inter-individual variability was described by an exponential variance model as follows:

$$\theta_i = \theta_{pop} \cdot \exp(\eta_i)$$

where θ_i and θ_{pop} are individual and population parameters, respectively; η describes the inter-individual variability, which was assumed to be normally distributed around zero with a standard deviation ω_θ , by which the i th individual's parameter differed from the average population value (θ_{pop}). A diagonal variance–covariance matrix of parameters (Ω) was used.

A basic population pharmacokinetic model without covariates was first developed. For the structural pharmacokinetic model, one- and two-compartment models with zero- or first-order absorption and first-order elimination were compared. A model with lag time in the absorption phase was also tested. The likelihood ratio test (assessing the likelihood ratio against a χ^2 distribution, $LL = -2 \times \log\text{-likelihood}$) was used to compare nested structural models and to select the best one. The model with the significantly smallest LL (a difference $\Delta LL > 3.84$ between the nested models was considered statistically significant) was selected [14].

From the basic model, nine covariates were studied and chosen for their impact on pharmacokinetic parameters. These covariates were: age, gender, total body weight, Simplified Acute Physiology Score II (SAPSII) [15], serum levels of total protein, albumin, creatinine, diuresis and proton pump inhibitors. A reduction of LL by 3.84 ($P < 0.05$) for forward inclusion and an increase of LL by 6.64 ($P < 0.01$) for backward elimination were the criteria for retaining a covariate in the model. The parameter–covariate relationships were modelled multiplicatively by the

following equations (the first equation for continuous and the second one for binary covariates):

$$\theta_i = \theta_{pop} \cdot \exp(\eta_i) \cdot (\text{Cov}_i / \text{median}(\text{Cov}_i))^{\beta}$$

$$\theta_i = \theta_{pop} \cdot \exp(\eta_i) \cdot (\beta' \wedge \text{Cov}_i')$$

where Cov_i and Cov_i' are the values of the continuous and binary (= 0 or 1) covariates in patient i , respectively; β and β' are the respective estimated parameters describing the magnitude of the covariate–parameter relationships.

Several residual error models (additive, proportional and combined) were investigated to describe residual variability. The residual model with the significantly smallest Bayesian Information Criterion was chosen.

The elimination half-life time ($t_{1/2}$) and the area under the curve extrapolated from zero to infinity ($\text{AUC}_{0-\infty}$) of plasma concentrations of fludrocortisone were calculated from the following equations:

$$t_{1/2} = \ln(2) \cdot (V/F) / (CL/F)$$

$$\text{AUC}_{0-\infty} = \text{Dose} / (CL/F)$$

where $V F^{-1}$ is the apparent volume of distribution and $CL F^{-1}$ is the apparent plasma clearance, both issued from the population pharmacokinetic parameters of the final model.

Goodness-of-fit of the final model was evaluated using a graphic approach by visual examination of a plot of observed concentrations vs. predicted ones and a plot of normalized prediction distribution error (NPDE) vs. time [16]. Model validation was performed by visual predictive check (VPC) using simulations. Predicted plasma concentrations of fludrocortisone were calculated based on the randomly sampled pharmacokinetic parameter values and residual variability. Several simulations were performed and 80% confidence intervals (i.e., 10th and 90th percentiles) were computed from simulated pharmacokinetic profiles and compared with the median and the 10th and 90th percentiles of observed pharmacokinetic profiles. The predictive performance of the final model was considered acceptable if the majority of original data points were contained inside predicted confidence intervals, with no major systematic deviation between simulated and observed data.

Complementary analysis. In a further exploratory analysis, correlations between fludrocortisone plasma levels and mean blood pressure, heart rate, urinary and plasma sodium and potassium levels at different time-points were tested by means of Pearson or Spearman correlation coefficients as appropriate. STATA software, Version 11.1 data analysis and statistical software (StataCorp LP, College Station, TX, USA) was used for statistical analysis.

Results

Patient characteristics

Twenty-one patients were included in this ancillary study. One-third (7 out of 21 patients) had undetectable fludrocortisone plasma concentrations. Table 1 displays the

Table 1

Characteristics of patients with detectable ($\geq 0.10 \mu\text{g l}^{-1}$) and undetectable ($< 0.10 \mu\text{g l}^{-1}$) fludrocortisone plasma concentrations before administration

Variables	Patients with detectable fludrocortisone plasma concentrations		P
	Yes (n = 14)	No (n = 7)	
Age (years)	65 (57–75)	55 (54–65)	>0.10
Male sex	8 (57)	2 (29)	>0.10
Weight (kg)	71 (60–84)	64 (62–69)	>0.10
Severity			
Severity Acute Physiologic Score II	53 (35–68)	42 (37–50)	>0.10
Sequential organ failure assessment	11.5 (9.3–14.0)	11.0 (10.0–12.5)	>0.10
Septicemia	0 (0)	3 (43)	0.02
Disseminated intravascular coagulation	5 (36)	2 (29)	>0.10
Diuresis (ml 24 h ⁻¹)	1205 (124–1470)	800 (490–1807)	>0.10
Heart rate (beats min ⁻¹)	102 (87–125)	91 (78–101)	>0.10
Mean arterial pressure (mmHg)	76.5 (70.3–89.7)	89.0 (74.0–94.5)	>0.10
Concomitant treatments			
Sedation	11 (79)	3 (43)	>0.10
Sufentanyl ($\mu\text{g hr}^{-1}$)	10.0 (1.8–18.7)	10.0 (0.0–12.5)	>0.10
Catecholamine dose ($\mu\text{g kg}^{-1} \text{min}^{-1}$)	0.10 (0.06–0.50)	0.29 (0.08–0.29)	>0.10
Proton pump inhibitor	9 (64)	7 (100)	0.06
Blood biological markers			
Alanine aminotransferase (IU l ⁻¹)	69 (44–370)	34 (30–55)	>0.10
Aspartate aminotransferase (IU l ⁻¹)	97 (50–192)	39 (27–162)	>0.10
Lactate (mmol l ⁻¹)	2.05 (1.52–3.57)	2.20 (1.45–3.15)	>0.10
Protein (g l ⁻¹)	52.5 (38.5–60.0)	47.0 (41.5–52.0)	>0.10
Albumin (g l ⁻¹)	18.0 (16.0–21.5)	16.5 (12.7–18.0)	>0.10
Haemoglobin (g/dl)	8.75 (7.47–9.92)	7.20 (6.65–7.95)	0.06
Cortisol ($\mu\text{g l}^{-1}$)	605 (235–1161)	337 (82–339)	>0.10
Creatinine ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	114 (77–242)	114 (57–124)	>0.10
Urea (mmol l ⁻¹)	7.7 (5.0–16.4)	7.8 (3.3–11.6)	>0.10
Death in ICU	7 (50)	4 (57)	>0.10

Continuous variables are expressed as medians (25th percentile–75th percentile); qualitative variables are expressed as number (%)

Data were available for 21 patients except for albumin (n = 10 + 6) and cortisol (n = 12 + 5)

IU, international unit

main baseline characteristics of patients with detectable ($\geq 0.10 \mu\text{g l}^{-1}$) and undetectable ($< 0.10 \mu\text{g l}^{-1}$) fludrocortisone plasma levels. There was no major difference between the two groups of patients except a higher rate of septicemia, i.e. patients with positive blood cultures ($P=0.02$), and a trend towards a higher rate of patients receiving proton pump inhibitors and lower haemoglobin blood level ($P=0.06$ for both) in the group with undetectable fludrocortisone plasma concentrations.

Population pharmacokinetic analysis

A comparison of fits of each of tested structural mathematical models indicated that fludrocortisone plasma concentrations

were best described by a one-compartmental model. This model was parameterized in terms of apparent clearance ($\text{CL F}^{-1}; \text{l h}^{-1}$), apparent volume of distribution ($V \text{ F}^{-1}; \text{L}$), and first-order absorption rate constant ($k_a; \text{h}^{-1}$) with a lag time before the absorption phase ($T_{\text{lag}}; \text{h}$). A proportional model was selected to describe residual variability. Among tested covariates, inclusion of SAPSII was found to significantly increase T_{lag} ($\Delta\text{LL} = -4.35, P = 0.037$) and CL F^{-1} ($\Delta\text{LL} = -8.22, P = 0.004$). Thus the effect of SAPSII on the two parameters was retained in the final model.

Final pharmacokinetic parameter estimates, inter-individual variability, residual variability and covariate effects are presented in Table 2. All parameters were reliably

Table 2

Parameter estimates from the final pharmacokinetic model of oral fludrocortisone

Parameter	Description	Estimate	R.S.E (%)	P ^a
Population parameter				
k_a (h ⁻¹)	Oral absorption rate constant	0.67	23	
$V F^{-1}$ (l)	Apparent volume of distribution	78	28	
$CL F^{-1}$ (l h ⁻¹)	Apparent clearance	40	15	
T_{lag} (h)	Lag time in the absorption phase	0.65	34	
Inter-individual variability^b				
ω_{k_a} (%)		42	36	
$\omega_{V F^{-1}}$ (%)		75	23	
$\omega_{CL F^{-1}}$ (%)		49	23	
$\omega_{T_{lag}}$ (%)		98	24	
Covariate effect^b				
$\beta_{(T_{lag} \sim S\text{APSII})}$		0.036	39	0.037
$\beta_{(CL F^{-1} \sim S\text{APSII})}$		0.019	35	0.004
Residual variability				
σ_{prop}		0.20	25	
Secondary parameters				
$t_{1/2}$ (h)	Time to plasma half-life	1.35 CI _{95%} (0.84–2.03)		
$AUC_{0-\infty}$ (μg h L ⁻¹)	Area under curve from t_0 to t_{∞}	1.25 CI _{95%} (1.09–1.46)		
C_{max} (μg l ⁻¹) (Mean ± SD)	Maximum observed concentration	0.19 ± 0.11		
T_{max} (h) (Mean ± SD)	Time to C_{max}	2.92 ± 0.74		

CI_{95%}, confidence interval of 95%; RSE, relative standard error; SAPSII, Simplified Acute Physiology Score II (covariate); SD, standard deviation; σ_{prop} , variance parameter of proportional residual model as follows: $C_{observed,ij} = C_{predicted,ij} + C_{predicted,ij} * \epsilon_{prop,ij}$ with $\epsilon_{prop,ij} \sim N(0, \sigma_{prop})$.

^aP values from the likelihood ratio test (comparison between model without vs. model with the covariate)

^b $\theta_i = \theta_{population} * \exp(\eta_i) * (SAPSII_i / \text{median}(SAPSII)) \wedge \beta_{(\theta \sim S\text{APSII})}$, where θ is the parameter $CL F^{-1}$ or T_{lag} , i indicates the i th individual and $\eta \sim N(0, \omega_{\theta})$

estimated as reflected by the small relative standard errors (RSEs < 40%). Mean population pharmacokinetic parameter estimations were: $CL F^{-1} = 40 \text{ l h}^{-1}$, $V F^{-1} = 78 \text{ l}$, $k_a = 0.67 \text{ h}^{-1}$ and $T_{lag} = 0.65 \text{ h}$. A large inter-individual variability in pharmacokinetic parameters was observed particularly on $V F^{-1}$ and T_{lag} (75% and 98%, respectively). Mean ± standard deviation peak plasma concentration was $0.19 \pm 0.11 \mu\text{g l}^{-1}$ and was achieved $2.92 \pm 0.74 \text{ h}$ after administration. Plasma half-life was estimated at 1.35 h (95% CI, 0.84–2.03) and $AUC_{0-\infty}$ at $1.25 \mu\text{g h l}^{-1}$ (95% CI, 1.09–1.46).

Goodness-of-fit plots of the final pharmacokinetic model including SAPSII as covariate are shown in Figure 1. The model adequately described the observations as shown by the plots of observations vs. population predictions and vs. individual predictions. Moreover, the VPC (Figure 2) and NPDE vs. time plots (Figure 1, C) indicate a good predictive performance of the model.

Fludrocortisone effects

Fludrocortisone plasma levels did not correlate with mean blood pressure, heart rate and urinary sodium and potassium

levels. Significant associations were found between plasma levels of fludrocortisone and sodium 2.50 h after administration ($r = 0.74$, $P = 0.03$) and between plasma levels of fludrocortisone and potassium 4.50 h after administration ($r = -0.58$, $P = 0.02$) of fludrocortisone.

Discussion

The current study showed that a single oral administration of 50 μg of fludrocortisone resulted in detectable plasma concentrations in two-thirds of adults with catecholamine-dependent sepsis. In these patients, we found that fludrocortisone concentrations were best described by a one-compartmental model with first-order absorption, lag time, and first-order elimination. The peak plasma concentration was obtained almost 3 h after administration. Plasma half-life was short (around 1 h). Severity of illness, as quantified by SAPSII score, delayed the time of absorption and increased the apparent clearance.

No data has previously been published on the pharmacokinetics of fludrocortisone in septic shock patients. The only

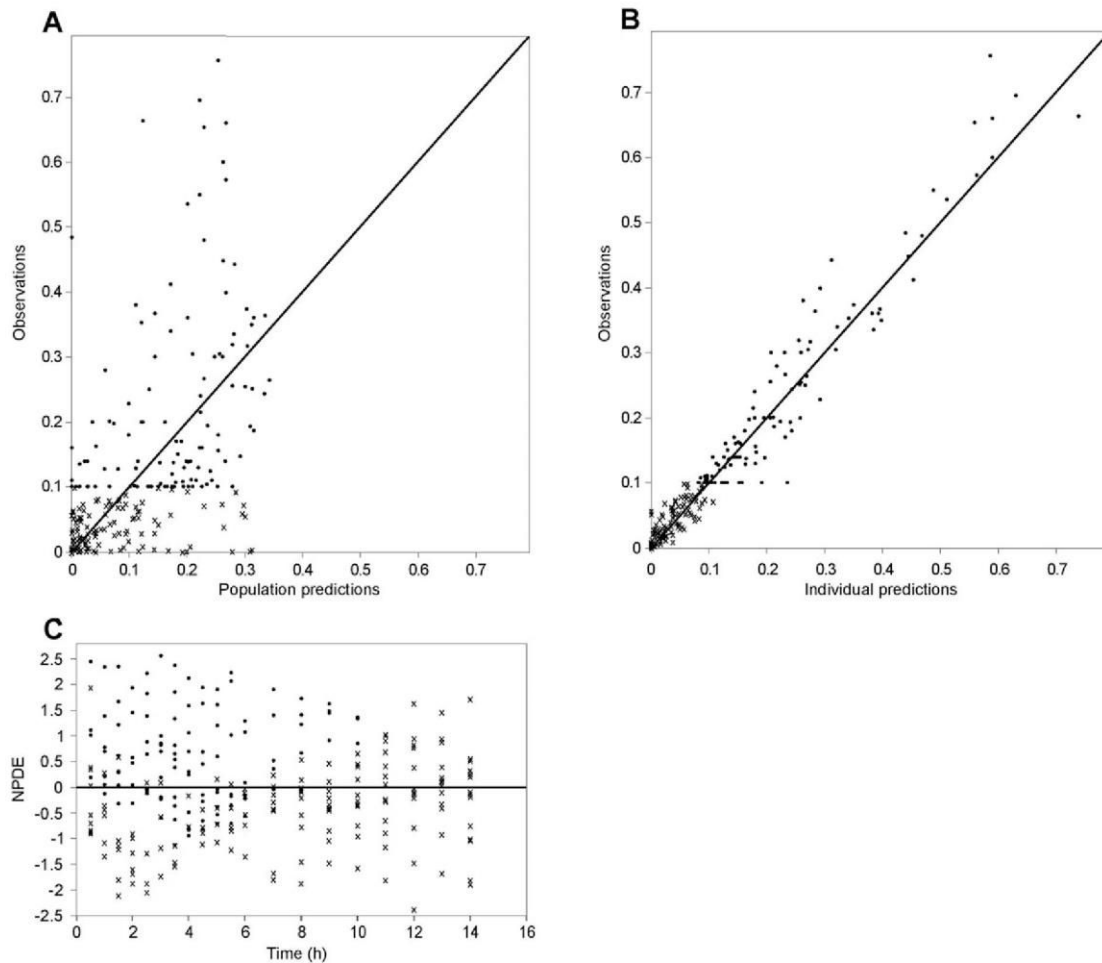


Figure 1

Goodness-of-fit plots for the final pharmacokinetic model with Simplified Acute Physiology Score II (SAPSII) covariate. (A) Observations vs. population predicted values. (B) Observations vs. individual predicted values. (C) Normalized Prediction Distribution Error (NPDE) vs. time. Observations are plotted as closed circles and censored data (below the quantification limit) as crosses

available data were assessed in healthy volunteers but using higher single doses (between 100 μg and 2 mg) and found a wide range of plasma half-lives between 0.5 h and 3.6 h [17–19]. Our results are in this range of values (1.35 h), suggesting that fludrocortisone elimination is similar in septic shock patients and in healthy volunteers. However, contrary to previous studies, a population approach (non-linear mixed effects models) was used in the current study allowing the quantification of the inter-individual variability and the influence of covariates on pharmacokinetic parameters. Similar pharmacokinetic modelling in healthy volunteers using the same approach is therefore needed to properly assess whether septic shock affects fludrocortisone pharmacokinetics. Fludrocortisone concentrations were associated with biological mineralocorticoid activity as shown by a significant positive correlation with plasma sodium levels and a significant negative correlation with plasma potassium levels. These results are consistent with the findings of Laviolle *et al.*, who showed sodium and potassium modification between 6 and 12 h after fludrocortisone

administration [20]. These results are also in keeping with the observed higher increase ($>5 \text{ mmol l}^{-1}$ from baseline) of plasma sodium concentrations in the Ger-Inf trial that investigated 200 mg of hydrocortisone combined with 50 μg of fludrocortisone [4] than in the CORTICUS trial (2 mmol l^{-1} from baseline) that investigated 200 mg of hydrocortisone alone [21].

One-third of our patients had undetectable fludrocortisone plasma levels that could reflect a lack of absorption in these patients, and which was not explained by the severity of illness. Indeed, fludrocortisone plasma levels were independent of the severity of shock as assessed by lactate levels, mean blood pressure or the amount of vasopressor therapy to maintain mean blood pressure. Likewise, fludrocortisone plasma levels were not dependent on hepato-splanchnic function as assessed by hepatic enzymes and proteins. The current study also suggests that proton pump inhibitors may alter fludrocortisone absorption. Detection of fludrocortisone 40 minutes after enteral administration suggests that the

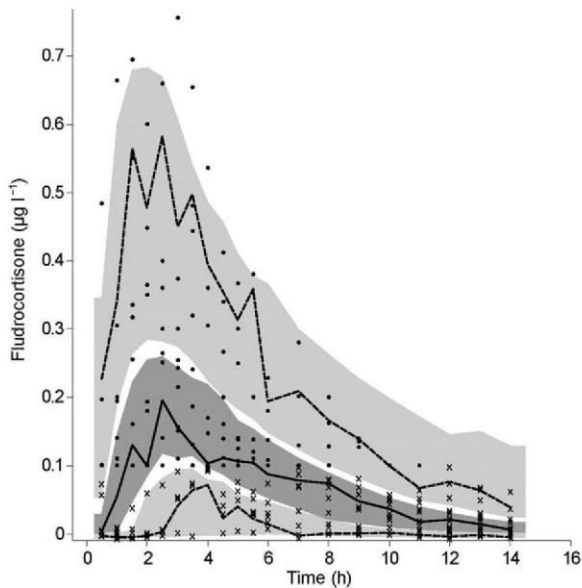


Figure 2

Visual predictive check for the final pharmacokinetic model with Simplified Acute Physiology Score II (SAPSII) covariate. Continuous line represents median observed values and dashed lines represent 10th and 90th observed percentiles. Shaded areas show corresponding prediction intervals calculated from simulated data. Observations are plotted as closed circles and censored data (below the quantification limit) as crosses

absorption occurs mainly in the stomach. We administered fludrocortisone acetate. It is known that acetate crosses the gastric barrier in its non-ionized form [22]. Because the ionization of acetate is dependent on gastric pH and that its uptake is stimulated by low mucosal pH [23], concomitant therapy with proton pump inhibitors may accelerate acetate ionization [24] and therefore reduce fludrocortisone bioavailability.

This work has some limitations. We investigated the pharmacokinetics of fludrocortisone after a single administration of 50 µg. Thus the pharmacokinetics of fludrocortisone given daily for 7 days as suggested in septic shock [5] remains to be investigated. In addition, as one-third of the patients had undetectable plasma fludrocortisone concentration, the pharmacokinetic parameters were estimated in only two-thirds of the patients. However, the population approach allowed us to build a model with good predictive performance as assessed by goodness-of-fit plots.

Conclusion

This work demonstrated that a single 50 µg oral dose of fludrocortisone yielded detectable plasma drug concentrations in two-thirds of adults with septic shock. The main factors preventing fludrocortisone absorption may be the use of pump proton inhibitors and anaemia. Fludrocortisone pharmacokinetics showed a short plasma elimination half-life and a large inter-individual variability.

Competing Interests

All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

Contributors

Andrea P. designed and performed the research, interpreted the data and drafted the manuscript. N.H. analyzed and interpreted the pharmacokinetic data and drafted the manuscript. M.R. designed and performed the research and interpreted the data. Angelo P. analysed and interpreted the data. B.L. and E.B. interpreted the data and revised the manuscript. DA designed the research, took responsibility for the study, interpreted the data and drafted the manuscript. J.C.A. designed the research, interpreted the data and revised the manuscript. The first three authors contributed equally to this work.

References

- 1 Southan C, Sharman JL, Benson HE, Faccenda E, Pawson AJ, Alexander SP, *et al*. The IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY in 2016: towards curated quantitative interactions between 1300 protein targets and 6000 ligands. *Nucl Acids Res* 2016; 44: D1054–68.
- 2 Annane D, Sharshar T. Cognitive decline after sepsis. *Lancet Respir Med* 2015; 3: 61–9.
- 3 Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 840–51.
- 4 Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert P-E, François B, Korach J-M, *et al*. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288: 862–71.
- 5 Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, *et al*. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39: 165–228.
- 6 Ribot M, Polito A, Grassin-Delyle S, Annane D, Alvarez J-C. Human plasma quantification of fludrocortisone using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after low-dosage administration. *Clin Chim Acta* 2013; 420: 109–13.
- 7 Annane D, Siami S, Jaber S, Martin C, Elatrous S, Declère AD, *et al*. Effects of fluid resuscitation with colloids vs. crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock: the CRISTAL randomized trial. *JAMA* 2013; 310: 1809–17.
- 8 American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864–74.

- 9 Oelkers W. Adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 1996; 335: 1206–12.
- 10 Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, *et al.* Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med* 2008; 34: 17–60.
- 11 Team RC. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2012.
- 12 Chan PLS, Jacqmin P, Lavielle M, McFadyen L, Weatherley B. The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2011; 38: 41–61.
- 13 Beal SL. Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2001; 28: 481–504.
- 14 Bertrand J, Comets E, Mentre F. Comparison of model-based tests and selection strategies to detect genetic polymorphisms influencing pharmacokinetic parameters. *J Biopharm Stat* 2008; 18: 1084–102.
- 15 Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA* 1993; 270: 2957–63.
- 16 Comets E, Brendel K, Mentre F. Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models: the npde add-on package for R. *Comput Methods Programs Biomed* 2008; 90: 154–66.
- 17 Banda J, Lakshmanan R, Prasad S, Gudla SP, Prudhivi R. A highly sensitive method for the quantification of fludrocortisone in human plasma using ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and its pharmacokinetic application. *Biomed Chromatogr BMC* 2015; 29: 1213–9.
- 18 Mitsky VP, Workman RJ, Nicholson WE, Vernikos J, Robertson RM, Robertson D. A sensitive radioimmunoassay for fludrocortisone in human plasma. *Steroids* 1994; 59: 555–8.
- 19 Vogt W, Fischer I, Ebenroth S, Appel S, Knedel M, Lückner PW, *et al.* [Pharmacokinetics of 9-fluorhydrocortisone]. *Arzneimittelforschung* 1971; 21 (Suppl): 1133–43.
- 20 Laviolle B, Le Maguet P, Verdier M-C, Massart C, Donal E, Lainé F, *et al.* Biological and hemodynamic effects of low doses of fludrocortisone and hydrocortisone, alone or in combination, in healthy volunteers with hypoadosteronism. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 88: 183–90.
- 21 Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, *et al.* Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008; 358: 111–24.
- 22 Bugaut M. Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive tract of mammals. *Comp Biochem Physiol B* 1987; 86: 439–72.
- 23 Aschenbach JR, Bilk S, Tadesse G, Stumpff F, Gäbel G. Bicarbonate-dependent and bicarbonate-independent mechanisms contribute to nondiffusive uptake of acetate in the ruminal epithelium of sheep. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G1098–G1107.
- 24 Pohl O, Osterloh I, Lecomte V, Gotteland J-P. Changes in gastric pH and in pharmacokinetics of ulipristal acetate – a drug–drug interaction study using the proton pump inhibitor esomeprazole. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2013; 51: 26–33.

Chapitre 5. Troisième étude

Effets de trois doses croissantes de fludrocortisone sur la réponse pressive à la phényléphrine chez le sujet sain

Auteurs : **Noureddine Hamitouche***, Karima Hammas*, Erwan Donal, Clément Palpacuer, Fabrice Lainé, Eric Bellissant, Bruno Laviolle

* *Premiers co-auteurs*

5.1. Résumé

Justifications

L'hydrocortisone a montré des effets cardiovasculaires directs en modulant la réactivité vasculaire. En effet, l'administration d'hydrocortisone chez des patients en choc septique a permis de montrer une amélioration significative de la réponse pressive à la phényléphrine (Bellissant and Annane, 2000) et à la noradrénaline (Annane et al., 1998). D'autres études encore ont montré une réduction du délai de sevrage aux catécholamines chez des patients traités par des faibles doses de corticoïdes (Briegel et al., 1994; Annane et al., 2002; Seymour et al., 2016). Cependant, aucune étude chez l'homme évaluant les effets de la fludrocortisone seule en administration répétée sur la réactivité vasculaire et la pression artérielle n'a été réalisée à ce jour alors que des résultats prometteurs ont été retrouvés auparavant chez l'animal avec cette molécule (Laviolle et al., 2014).

Objectifs

Les objectifs de cette étude étaient : i) Tester les effets de trois doses de fludrocortisone sur la réponse pressive à la phényléphrine chez des sujets sains afin de déterminer la posologie permettant d'obtenir la meilleure réponse sur ce paramètre. ii) Evaluer les effets combinés de la fludrocortisone et des doses croissantes de phényléphrine sur la fonction cardiaque.

Méthodes

Il s'agissait d'un essai prospectif, randomisé, contrôlé contre placebo, en double aveugle et en cross-over réalisé chez 12 volontaires sains selon un plan factoriel 2x2 comprenant 4 périodes de traitement pour chaque sujet correspondants aux différentes doses de fludrocortisone administrées (100, 200 et 400 µg par jour ou placebo en 4 administrations par voie orale). Après 5 jours de d'administration réitérée de la fludrocortisone ou du placebo, une étude de la relation dose de phényléphrine-pression artérielle moyenne (PAM) était réalisée après chaque période. Cette étude consistait en l'administration de doses croissantes (de 0,1 à 4 µg/kg/min) de phényléphrine en perfusion intraveineuse, 1h30 après la dernière prise du traitement, et à la mesure de la PAM résultante. Chaque dose était maintenue 5 minutes avant chaque mesure de PAM. Un modèle pharmacodynamique de type sigmoïde $E = E_0 + [E_{max} \cdot D^\gamma / (DE_{50}^\gamma + D^\gamma)]$ a été utilisé pour décrire cette relation et quantifier l'effet du traitement reçu sur celle-ci. E_0 étant la PAM basale (avant l'administration de la phényléphrine), E_{max} l'effet maximum théorique, D la dose de phényléphrine, DE_{50} la dose de phényléphrine induisant 50% de l' E_{max} et γ le coefficient de Hill. Enfin, des mesures d'échographie cardiaque ont été également réalisées en fonction des différentes doses de phényléphrine administrée pour tester les effets de l'imprégnation pendant 5 jours par la fludrocortisone sur la fonction cardiaque.

Résultats

Seule la dose de 400 µg de fludrocortisone a induit une augmentation significative de la réponse pressive à la phényléphrine comparativement au placebo ($p < 0,05$). Elle a significativement diminué la DE_{50} (-29%, $p = 0,0043$) et augmenté l' E_0 (+10%, $p = 0,0010$), sans affecter l' E_{max} . La fludrocortisone n'a induit aucune altération de la fonction cardiaque.

Conclusion

L'administration de fludrocortisone 400 µg par jour (100 µg x 4 par jour) améliore la réponse pressive à la phényléphrine et potentialise son effet sur la PAM chez des volontaires sains sans altérer la fonction cardiaque.

5.2. Article

Effect of three increasing doses of fludrocortisone on phenylephrine-mean arterial pressure dose-response relationship: a population pharmacodynamic modeling study in healthy volunteers

Authors: Noureddine Hamitouche^{1,3}, Karima Hammas^{1,2}, Erwan Donal,^{1,4} Clément Palpacuer^{1,2}, Fabrice Lainé¹, Eric Bellissant^{1,2,3}, Bruno Laviolle^{1,2,3}

¹ Inserm, CIC 1414 Clinical Investigation Centre, Rennes, France

² Department of Biological and Clinical Pharmacology and Pharmacovigilance, Rennes University Hospital, Rennes, France

³ Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes 1 University, Rennes, France

⁴ Department of cardiology, Rennes University Hospital, Rennes, France

Correspondence

Professor Bruno Laviolle

Service de Pharmacologie Clinique – CIC Inserm 1414

Hôpital Pontchaillou - 2, rue Henri Le Guilloux

35033 RENNES Cedex 9, France

Phone: +33 299289668, Fax: +33 299283716

E-mail: bruno.laviolle@chu-rennes.fr

Keywords: fludrocortisone, mineralocorticoids, steroids, pharmacodynamics, septic shock, vascular reactivity, vasopressor

ABSTRACT

Hydrocortisone and fludrocortisone administered together have been shown to enhance the pressor response to vasopressors in septic shock. This has not been demonstrated with fludrocortisone alone and its utility remains discussed. We assessed the effects of three increasing doses of fludrocortisone (100, 200 and 400 $\mu\text{g}/\text{day}$) on phenylephrine mean arterial pressure and cardiac systolic and diastolic function dose–response relationships in twelve healthy male volunteers in a placebo-controlled, randomized, double blind, crossover study. On the sixth day of treatment, incremental doses of phenylephrine were infused and phenylephrine-mean arterial pressure dose–response relationship was described using an E_{max} nonlinear mixed-effects model. Only the dose of 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ significantly increased the pressor response compared with placebo ($P < 0.05$). E_0 was increased (+ 10%, $P = 0.001$), ED_{50} decreased (- 29%, $P = 0.0043$) and no significant effect was observed on E_{max} . Fludrocortisone did not induce any alteration of cardiac function. In healthy volunteers, administration of 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ of fludrocortisone improves the pressor response to phenylephrine and increases its potency without altering cardiac function.

INTRODUCTION

Sepsis is defined as a syndrome of physiopathologic and biochemical abnormalities caused by a dysregulated host response to infection. Sepsis can lead to septic shock when vasopressor therapy is required to maintain an adequate mean arterial pressure (MAP) despite hypovolemia correction¹. Sepsis is associated with increased mortality^{2,3} and can lead to long-term physical, psychological and cognitive impairments⁴⁻⁶.

Treatment options for patients with vasopressor-resistant shock are limited. Regarding the use of corticosteroids, only intravenous (i.v.) hydrocortisone is currently recommended for most severe septic shock (patients poorly responsive to fluid replacement and vasopressor therapy)⁷. The utility of fludrocortisone remains under debate given the lack of consistent data concerning its effects on restoration of hemodynamic stability and catecholamines requirement, and on morbimortality. The combination of hydrocortisone (steroid with both glucocorticoid and mineralocorticoid action) and fludrocortisone (synthetic steroid with a potent mineralocorticoid action) given at low doses for one week has been shown to be associated with reduced duration of shock and of organ failure and reduced mortality among patients with septic shock, particularly in those with adrenal insufficiency⁸. These beneficial effects have not been demonstrated neither with the use of hydrocortisone alone in non-refractory septic shock⁹, nor with fludrocortisone used as an add-on therapy to hydrocortisone¹⁰. Regarding hemodynamic effects, improvement of vascular responsiveness to phenylephrine (PE)¹¹ and to noradrenaline¹² was found with hydrocortisone in septic shock patients and in healthy volunteers, whether it has not been shown with fludrocortisone. We previously reported that single administrations of fludrocortisone (50 µg orally) and hydrocortisone (50 mg i.v.) decreased the pressor response to PE in healthy volunteers with hypoaldosteronism¹³. These similar effects of hydrocortisone and fludrocortisone probably expressed a rapid non-genomic vasodilating effect of the two steroids at the tested doses and in a context of acute volume loading. In another study, we assessed in endotoxemic rats the effects of two doses of fludrocortisone (5 and 20 µg/kg, single i.v. administration) on *in vivo* systolic arterial pressure (SAP) and on *in vitro* vascular contraction of mesenteric artery rings to PE¹⁴. The higher dose was more effective in increasing SAP, and was the only one to increase artery rings contraction. These observations suggest that the magnitude of hemodynamic effects and vascular reactivity may depend on the dose of fludrocortisone used, which thus needs to be reconsidered. The aim of this placebo-controlled randomized study was therefore to assess the effects of three

increasing doses of fludrocortisone on vascular responsiveness to PE in healthy volunteers, in order to identify which dose may improve pressor response.

RESULTS

Subjects

Sixteen Caucasian healthy male volunteers (aged 22 ± 2 years; body mass index of 21.6 ± 2.0 kg/m²) were randomized. Twelve subjects completed the four planned treatment periods and were analyzed, in accordance with the protocol. One subject withdrew consent following a urinary tract infection occurring during the third treatment period. Participation to the study was stopped at the first treatment period for three subjects at the discretion of the investigator: two subjects presented adverse drug reactions during PE infusion (one subject had a reversible cerebral vasoconstriction syndrome at PE dose of 8 µg/kg/min, considered as a serious adverse event; one subject presented headaches during PE infusion, considered as a non-serious adverse event), and for one subject data collected during PE infusion were considered unreliable because of a technical issue occurring during the experimentation.

Baseline (D0) hemodynamic variables

There were no significant differences at baseline in systolic arterial pressure (SAP), diastolic arterial pressure (DAP), MAP and heart rate (HR) between the four treatment periods (Table I). There was no significant carry-over effect between successive treatment periods.

Hemodynamic and cardiac function after 6 days of fludrocortisone administration

Table II and III show the values of hemodynamic variables and cardiac function parameters, respectively, at D6 1.5 h after treatment administration, just before PE infusion (D6 basal values). Fludrocortisone significantly increased MAP after six days of treatment (ANCOVA Fludrocortisone effect, $P = 0.003$). Two-by-two comparisons showed that MAP was significantly increased only at the dose of 400 µg/day of fludrocortisone as compared to placebo (+ 9.8%, Tukey adjusted P value < 0.05). No significant effect on cardiac function parameters was observed.

Pressure and cardiac response to phenylephrine after 6 days of fludrocortisone administration

Seven doses of PE were administered, except for one subject for whom infusion was stopped at 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ during one of his four periods of treatment due technical issue.

Effect on mean arterial pressure

Figure 1 shows the effects of fludrocortisone and stepwise infusion of PE on systolic (Fig. 1A), diastolic (Fig. 1B) and mean arterial pressures (Fig. 1C) and on heart rate (Fig. 1D), by treatment group. PE significantly increased systolic, diastolic and mean arterial pressures (PE effect, $P < 0.0001$). Two-by-two comparisons showed that the pressor response to PE on systolic, diastolic and mean arterial pressures was significantly higher with the dose of 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ of fludrocortisone as compared to the doses of 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{day}$ and placebo (P values < 0.05 after Tukey adjustment). PE significantly decreased heart rate (PE effect, $P < 0.0001$). There was no significant effect of fludrocortisone on heart rate response ($P = 0.458$).

Pharmacodynamic modeling

Data was described using a structural sigmoid E_{max} model. The best residual model was additive. A significant correlation was found between the interindividual distributions of E_0 and ED_{50} , and was implemented in the model as it significantly decreased the $-2 \cdot \ln$ -likelihood ($-2LL$) value. Fludrocortisone treatment had a significant influence at the predefined level $\alpha=0.20$ on E_0 ($P = 0.108$) and ED_{50} ($P = 0.022$). These effects were kept in the final model; fludrocortisone treatment at the dose of 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ significantly increased E_0 (+ 10%, $P = 0.001$) and decreased ED_{50} (- 29%, $P = 0.004$) compared to placebo. Figure 2 shows the plots of observed effects of phenylephrine infusion on mean arterial pressure vs simulated data obtained from the final pharmacodynamic model.

Plots of residual distribution and Normalized Prediction Distribution Error (NPDE, Figure S1), plots of predicted population and individual values vs observations (Figure S2) and Visual Predictive Checks (VPC, Figure S3) were obtained from the final model. Visual inspection of these plots indicated a good fit to the data and a good predictive performance of the model.

Final pharmacodynamic parameter estimates, interindividual variability and residual variability are presented in Table IV. All parameters were estimated with a good precision as reflected by the relative standard errors (RSE), except for the interindividual variability parameter ω_k on the

constant k . The estimated value of this parameter was low (5.8%) with a large error on its estimation (RSE = 377%); it was thus fixed at zero in the final model.

Effect on the cardiac function

Figure 3 and 4 show the effects of fludrocortisone on different parameters of cardiac function during phenylephrine administrations. Fludrocortisone showed a significant effect ($P = 0.012$) on systemic vascular resistance (SVR) but only fludrocortisone 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ showed a significant increase of SVR by +19.6% as compared with placebo (P values < 0.05 after Tukey adjustment). Even if statistical significance was not reached ($P = 0.057$), fludrocortisone at 200 $\mu\text{g}/\text{day}$ tended to increase SVR as compared with placebo. Fludrocortisone showed also a significant effect on E/e' ($P = 0.025$) but only fludrocortisone 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ showed a significant increase of E/e' by +10.7%, +16.6%, and by +9.1% combatively with placebo, fludrocortisone 100, and 200 $\mu\text{g}/\text{day}$ respectively (P values < 0.05 after Tukey adjustment). There was no effect of fludrocortisone on the rest of the parameters.

DISCUSSION

In this study, we investigated the effects of three increasing doses of fludrocortisone on vascular and cardiac responsiveness to PE in healthy volunteers. Given the lack of consistent data regarding effects of fludrocortisone on morbimortality in septic shock^{8,10,13} and in the light of previous results suggesting that the magnitude of vascular reactivity may depend on the dose of fludrocortisone used¹⁴, we aimed to identify the optimal dose that may be useful in this context. We found that fludrocortisone at the dose of 400 µg/day significantly improved pressor response to phenylephrine in healthy subjects without altering the cardiac function. This effect was not observed at the doses of 100 and 200 µg/day.

In a previous study, we assessed the pharmacokinetics of oral single administration of fludrocortisone in healthy volunteers¹⁵. Fludrocortisone plasma half-life was estimated to 1.40 h (95% confidence interval [0.80; 2.10]). Whereas fludrocortisone was previously used in septic shock in a once-daily regimen⁸, we showed by simulations of effects of different administration regimens (one, two, three or four times daily) that fludrocortisone should be given four times daily to rapidly achieve steady-state for fludrocortisone plasma concentrations and effect. We therefore implemented in the current study a four-time per day regimen to confirm our previous simulated data. Hemodynamic effects of fludrocortisone and vascular responsiveness to PE were investigated on the sixth day of treatment to allow for attainment of pharmacokinetic and pharmacodynamic steady states.

In order to fit a sigmoid E_{max} model to the data (consistent with ligand-receptor interaction models) and to observe the maximal effect of PE on MAP, it was initially planned in the protocol to infuse PE up to 9 µg/kg/min, other studies having tested higher doses¹¹. Despite the reduction of maximal PE dose infused to 4 µg/kg/min after occurrence of adverse drug reactions, we were able to develop a pharmacodynamic model with a good fit to the data and a good predictive performance, as reflected by the goodness of fit plots. We used a population approach (nonlinear mixed effects model), which is a robust method to assess the interindividual variability of the dose-response relationship and the influence of covariates on pharmacodynamic parameters^{16,17}. We found that fludrocortisone at the dose of 400 µg/day significantly increase MAP. This finding was consistent with our pharmacodynamic model where basal MAP (E_0) was increased by 10% compared to placebo. Endothelial mineralocorticoid receptors are known to regulate vasoconstrictor tone and blood pressure independently of stimulation of renal tubular sodium transport or direct activation of smooth muscle mineralocorticoid receptors¹⁸. Furthermore, hypertensive effects of steroids

have been widely described in clinical and preclinical studies, including with fludrocortisone^{19,20}. In our study, fludrocortisone at the dose of 400 µg/day significantly increased PE potency, as reflected by ED₅₀ decrease by 29% compared to placebo (MAP response to PE).

Whether or not the use of corticosteroids in septic patients is associated with beneficial effects have been debated for decades. This is reflected by recently published systematic reviews and meta-analyses coming to contradictory conclusions especially regarding reduction of mortality^{21–24}. This absence of reproducible results might be explained by differences in severity of illness, differences in studied populations or differences in treatment modalities (high vs low doses, duration of treatment, steroid regimen combining or not glucocorticoids and mineralocorticoids). Molecular mechanisms of action of glucocorticoids involve genomic and non-genomic effects that help to counteract the uncontrolled systemic inflammatory response during sepsis^{25,26}. Effects of mineralocorticoids such as aldosterone and fludrocortisone include regulation of electrolytes, volemia, blood pressure and endothelial function²⁷, and may more benefit septic patients than anti-inflammatory effects of steroids²⁸. It has been argued that given its action on mineralocorticoid receptors²⁹, the use of hydrocortisone could render unnecessary the need to treat septic patients with fludrocortisone. Several studies suggest however a proper effect of mineralocorticoids that might have therapeutic relevance. Desoxycorticosterone pivalate, a selective mineralocorticoid agonist, has been shown to reverse shock and improve survival when given prophylactically in a canine model of severe septic shock due to *Staphylococcus aureus* pneumonia³⁰. A retrospective study showed a shorter shock duration in septic children treated with fludrocortisone + hydrocortisone compared to hydrocortisone alone, which is in favor of an additive mineralocorticoid effect of fludrocortisone³¹.

More recently, Fadel et al. found a beneficial effect of aldosterone on survival, blood pressure and vascular reactivity in a murine model of endotoxic shock³². Pressor response to PE was improved and efficiency of the diastolic arterial pressure (DAP) response to PE was higher in aldosterone-treated endotoxemic mice. In Fadel's study, vascular α -1 adrenoreceptors (main target of PE in the vessels) were found to be strongly down-regulated in endotoxemic mice, which has been shown to be mediated by proinflammatory cytokines^{33,34}, and aldosterone treatment restored adrenoreceptor transcript expression. The authors also found vascular mineralocorticoid receptors expression to be decreased in non-treated endotoxemic mice, whereas it was maintained in aldosterone-treated mice. Interestingly, vascular glucocorticoid receptors expression was unchanged in endotoxemic mice. Mineralocorticoid receptors and α -1 adrenoreceptors were also found to be down-regulated in *in vitro* cultured human vascular cells exposed to plasma obtained from septic patients. These results highlights the potential beneficial effect of mineralocorticoid

therapy and are consistent with our previous study in a LPS-induced septic model in rats where we found an increase of systolic arterial pressure (SAP) and vascular contraction of mesenteric artery rings with fludrocortisone¹⁴. These findings taken together with the results in healthy volunteers presented in the current study emphasize that mineralocorticoid therapy may have a clinical benefit in septic patients.

In conclusion, we performed a population pharmacodynamic analysis of the effect of fludrocortisone on PE-MAP dose-response relationship. Fludrocortisone improved pressor response to phenylephrine in healthy volunteers. This effect was observed only at the dose of 400 µg/day, suggesting that fludrocortisone at higher doses than previously administered (50 µg/day) may be useful in septic shock. These results need to be confirmed in septic shock patients.

METHODS

Ethics

The study was approved by a Committee for Protection of People in Biomedical Research (*Comité de Protection des Personnes de Rennes Ouest V*) on 7 February 2014 (14/03-919) and by the French National Agency for the Safety of Medicine and Health Products (ANSM) on 26 February 2014 (131433B-21). The study was registered in the European clinical trial database (EudraCT 2013-00479427) and in the US database ClinicalTrials.gov (NCT 02140918). All subjects gave written informed consent before participation. The study was performed according to the ethical principles for medical research involving human subjects (Helsinki Declaration).

Subjects

Healthy male volunteers aged 20-25 years, with a body mass index of 20-25 kg/m², non-smokers and medication-free were eligible for this study. Exclusion criteria were a history of major medical or psychiatric disease, a history of drug or alcohol abuse, a heart rate at rest of less than 50 beats/min, any significant abnormality at selection assessments (physical examination, 12-lead electrocardiogram, transthoracic echocardiography, routine biological test, urinary drug screening), or subject under legal protection.

Study design

This monocentric phase IIb study had a placebo-controlled, randomized, double-blind, crossover, four-period design and was conducted at the clinical investigation unit of the Inserm 1414 Clinical Investigation Centre of Rennes University Hospital between September 2014 and April 2016. Randomization for study drug period (computer-generated randomization schedule by block-size of 4) as well as labeling of blinded medications was done centrally by the pharmacy of Rennes University Hospital. Fludrocortisone and placebo were prepared as identical tablets and packaged in containers labeled with the randomization code and sequentially numbered according to the period (1 to 4). Participants and investigators remained fully blinded until database lock.

All study periods were strictly identical and each period was separated from the next one by a washout interval of at least 14 days. Each subject received fludrocortisone 100 µg/day, 200 µg/day, 400 µg/day or placebo. Treatments were administered orally in a 4-time per day regimen. All experiments were conducted in a quiet, temperature-controlled (20 ± 2 °C) room. The day before each study period (D0), subjects were seen by a physician at the clinical investigation unit. A

physical examination and hemodynamic measurements (D0 baseline values) were performed. Treatment was provided to subjects and taken on an outpatient basis for 5 days (D1 to D5). To control for compliance, subjects were asked to send a text message after each treatment intake (8.00 am, 2.00 pm, 8.00 pm, 2.00 am). Compliance was also assessed by pills counting and interviewing subjects. Subjects were instructed to have diets with normal levels of salt (150 mmol/day) during the treatment period. No alcoholic or caffeine-containing beverages were allowed from 48 h before each treatment period through the end of the period.

On the sixth day (D6), subjects arrived at the clinical investigation unit at 07:00 AM after an overnight fast. At 07:15 AM, they had a standardized breakfast and were placed in the supine position. An indwelling catheter with a heparinized lock was inserted into a forearm vein for i.v. infusion of PE. Treatment was orally administered at 8:00 AM. At 9:30 AM (1.5 h after treatment administration), PE was infused in a stepwise manner (each dose being maintained for 5 min) at 0, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1, 2 and 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. It was initially planned to infuse PE up to 9 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. After two subjects having experienced adverse drug reactions, the protocol was amended and PE infusion was stopped at 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$.

Data

Hemodynamic variables

Systolic (SAP, mmHg), diastolic (DAP, mmHg) and mean arterial (MAP, mmHg) pressures and heart rate (HR, bpm) were recorded non-invasively just before PE infusion and at the end of each dose 5 min-infusion at rest in the supine position, using a brachial sphygmomanometer (Dynamap ProCare, GE Healthcare, Freiburg, Germany). At each dose, the values reported for the hemodynamic variables were the means of three measurements. All measures were taken with the same sphygmomanometer for each subject.

Echocardiographic variables

Echocardiography was performed using a ViVid Q (GE Healthcare, Horten, Norway). At every step, loops of three heart beats (with ECG tracing) were saved considering the parasternal long axis view, the parasternal short axis view centered on the papillary muscle and the apical 4, 2 and 3 chambers views. The frame rate was 70 Hz. Images were recorded with a dedicated attention to get the best border delineation of the epi- and endo-cardial left ventricular (LV) walls. Pulse Doppler was also recorded as well as pulse tissue Doppler. Each examination was digitally

recorded for treatment afterwards on the dedicated EchoPAC workstation with the Q-analysis capability (GE Healthcare, Horten, Norway). The following variables were drawn from this analysis: LV ejection fraction, stroke volume and cardiac output. LV systolic function was assessed considering each component of LV deformation in systole (longitudinal shortening, radial thickening and circumferential shortening)³⁵. Right ventricular (RV) systolic function was assessed using the longitudinal strain and tissue Doppler recorded at the tricuspid annulus. Diastolic function was assessed using left atrial size, mitral inflow and pulse tissue Doppler according to guidelines³⁶.

Predefined endpoints

The primary endpoint of the study was vascular responsiveness as measured by PE-MAP dose-response relationship. The secondary endpoints were hemodynamic state (SAP, DAP, MAP and heart rate) and cardiac systolic and diastolic function.

Pharmacodynamic modeling

PE-MAP dose-response relationship was analyzed with a population approach using the nonlinear mixed-effects program MONOLIX software (version 2016R1), Lixsoft, France³⁷, which combines the stochastic expectation-maximization (SAEM) algorithm for parameters estimation and a Markov chain Monte-Carlo procedure for likelihood maximization.

The relationship between MAP and PE infusion was described using a structural model based on a sigmoid E_{max} relationship. The initial MAP decrease observed at the beginning of PE infusion was modeled through a decreasing exponential function for PE doses less or equal to the first infused dose (0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$). The pharmacodynamic effect (E) of PE infusion on MAP was modeled using the following equations:

$$E = E_0 \cdot e^{-k \cdot D} + \frac{E_{max} \cdot D^\gamma}{ED_{50} + D^\gamma} \quad \text{for PE doses} \leq 0,1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$$

$$E = E_0 \cdot e^{-k \cdot 0,1} + \frac{E_{max} \cdot D^\gamma}{ED_{50} + D^\gamma} \quad \text{for PE doses} > 0,1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$$

where E_0 is the basal value of MAP (before PE infusion), k an estimated constant, D the infused PE dose, E_{max} the maximum effect on MAP, ED_{50} the PE dose at which E is 50% of E_{max} and γ the Hill coefficient³⁸ (which describes the steepness of the dose–response curve).

The interindividual variability of pharmacodynamic parameters was described using an exponential model $\theta_i = \theta_{TV} * \exp(\eta_i)$, where θ_i is the estimated individual parameter for the i^{th}

patient, θ_{TV} the typical value of the parameter and η_i the random effect. The values of η_i were assumed to be normally distributed (mean=0, variance= ω^2). Correlations between random effects were tested. To describe the residual variability, several residual error models ε_{ij} (additive, proportional, and mixed) were tested. The values of ε_{ij} were assumed to be normally distributed (mean=0, variance= σ^2_{error}).

The influence of fludrocortisone treatment on the pharmacodynamic parameters was tested through the introduction of a categorical covariate.

Interindividual, residual and covariate models were compared using -2LL and Akaike Information Criterion (AIC) defined as: $AIC = -2LL + 2p$, where p is the number of the model parameters to be estimated. The model with the lowest significant -2LL value assessed by a likelihood ratio test (testing likelihood ratio against a χ^2 distribution) and the lowest AIC was selected. The influence of fludrocortisone treatment covariate on each pharmacodynamic parameter was kept in the final model if it significantly decreased -2LL.

The goodness of fit of the final pharmacodynamic model was evaluated graphically by visual examination of VPC with 90% confidence intervals, plots of observed data versus predicted ones, graphical inspection of weighted residual distributions, and NPDE³⁹ versus time.

Statistical analysis

It was planned in the protocol that the analyzed population would consist of randomized subjects having performed all of the four treatment periods.

Statistical analyses were performed using SAS statistical software V9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Results are expressed as means \pm standard deviations (SD) in text and tables and as means \pm standard errors of means (SEM) in figures for clarity. Baseline values of hemodynamic variables at D0 before fludrocortisone administration were analyzed using a three way ANOVA (subject, period, treatment). hemodynamic variables at D6 before PE infusion were analyzed using a 3-way ANCOVA (subject, period, treatment) adjusted on baseline (D0) value. Carry-over effects between successive treatment periods were tested. In case of significant treatment effect, two-by-two comparisons (least-square means procedure, LSMeans) were performed with a Tukey adjustment for multiple testing. Hemodynamic response induced by PE infusion was analyzed using a 3-way ANCOVA (subject, treatment, PE dose), adjusted on baseline (D0) value. In case significant treatment effect two-by-two comparison (LSMeans) were performed with a Tukey adjustment. For all analyses, adjusted P values < 0.05 were considered significant.

Study Highlights

- **What is the current knowledge on the topic?**

Hydrocortisone (glucocorticoid and mineralocorticoid actions) has been shown to enhance the pressor response to phenylephrine in healthy volunteers and to norepinephrine in patients with septic shock. Proper benefit of mineralocorticoids on vascular reactivity has been demonstrated in preclinical studies, but not in adult septic patients. The use of fludrocortisone (mineralocorticoid) is currently not recommended during septic shock.

- **What question did this study address?**

The effect of fludrocortisone on phenylephrine-mean arterial pressure dose-response relationship was studied in healthy volunteers.

- **What this study adds to our knowledge?**

Fludrocortisone at the dose of 400 µg/day improves pressor response to phenylephrine and increases its potency. The magnitude of vascular reactivity depends on the dose of fludrocortisone used.

- **How this might change clinical pharmacology and therapeutics**

Contradictory data regarding effects of fludrocortisone on septic shock morbimortality may be explained by insufficient doses administered in previous studies. Fludrocortisone at higher doses may be a useful therapeutic option for patients with septic shock when hypotension remains poorly responsive to adequate fluid resuscitation and vasopressors.

Acknowledgments

This study was supported by a grant from Rennes University Hospital. Fludrocortisone was supplied by HAC Pharma pharmaceutical company.

The authors thank Nolwenn Boissel, Viviane Fortuna, Béatrice Hazevis, Cécile Reminiac (research nurses, Clinical Investigation Unit, Inserm CIC 1414 Clinical Investigation Centre), Pierre-Emmanuel Arcade, Marie Lefebvre, Marie-Alexia Marchand, Emmanuelle Sylvestre and Benoît Viault (medical interns, Rennes University Hospital) for technical assistance.

Conflict of interest

All authors report no conflict of interest.

Author contributions

K.H., N.H., E.D. and B.L. wrote paper; E.B. and B.L. designed research; K.H., C.P., F.L. and B.L. performed research; K.H. and N.H. analyzed the data.

REFERENCES

1. Singer, M. *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* **315**, 801–810 (2016).
2. Fleischmann, C. *et al.* Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **193**, 259–272 (2016).
3. Gaieski, D. F., Edwards, J. M., Kallan, M. J. & Carr, B. G. Benchmarking the incidence and mortality of severe sepsis in the United States. *Crit. Care Med.* **41**, 1167–1174 (2013).
4. Annane, D. & Sharshar, T. Cognitive decline after sepsis. *Lancet Respir. Med.* **3**, 61–69 (2015).
5. Iwashyna, T. J., Cooke, C. R., Wunsch, H. & Kahn, J. M. Population burden of long-term survivorship after severe sepsis in older Americans. *J. Am. Geriatr. Soc.* **60**, 1070–1077 (2012).
6. Iwashyna, T. J., Ely, E. W., Smith, D. M. & Langa, K. M. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *JAMA* **304**, 1787–1794 (2010).
7. Rhodes, A. *et al.* Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* **43**, 304–377 (2017).
8. Annane, D. *et al.* Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* **288**, 862–871 (2002).
9. Sprung, C. L. *et al.* Hydrocortisone Therapy for Patients with Septic Shock. *N. Engl. J. Med.* **358**, 111–124 (2008).
10. COITSS Study Investigators *et al.* Corticosteroid treatment and intensive insulin therapy for septic shock in adults: a randomized controlled trial. *JAMA* **303**, 341–348 (2010).
11. Bellissant, E. & Annane, D. Effect of hydrocortisone on phenylephrine-mean arterial pressure dose-response relationship in septic shock. *Clin. Pharmacol. Ther.* **68**, 293–303 (2000).
12. Annane, D. *et al.* Impaired pressor sensitivity to noradrenaline in septic shock patients with and without impaired adrenal function reserve. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **46**, 589–597 (1998).
13. Laviolle, B., Donal, E., Le Maguet, P., Lainé, F. & Bellissant, E. Low doses of fludrocortisone and hydrocortisone, alone or in combination, on vascular responsiveness to phenylephrine in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **75**, 423–430 (2013).
14. Laviolle, B., Nesseler, N., Massart, C. & Bellissant, E. Fludrocortisone and hydrocortisone, alone or in combination, on in vivo hemodynamics and in vitro vascular reactivity in normal and endotoxemic rats: a randomized factorial design study. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **63**, 488–496 (2014).

15. Hamitouche, N. *et al.* Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model of Oral Fludrocortisone and Intravenous Hydrocortisone in Healthy Volunteers. *AAPS J.* **19**, 727–735 (2017).
16. Upton, R. N. & Mould, D. R. Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development: Part 3—Introduction to Pharmacodynamic Modeling Methods. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* **3**, e88 (2014).
17. Sheiner, L. & Wakefield, J. Population modelling in drug development. *Stat. Methods Med. Res.* **8**, 183–193 (1999).
18. Cat, A. N. D. *et al.* The endothelial mineralocorticoid receptor regulates vasoconstrictor tone and blood pressure. *FASEB J.* **24**, 2454–2463 (2010).
19. Whitworth, J. A. *et al.* 9- α -Fluorocortisol-induced hypertension: a review. *J. Hypertens.* **4**, 133–139 (1986).
20. Whitworth, J. A., Saines, D. & Thatcher, R. Differential blood pressure and metabolic effects of 9 α -fluorocortisol in man. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **10**, 351–354 (1983).
21. Annane, D. *et al.* Corticosteroids for treating sepsis. *Cochrane Database Syst. Rev.* **12**, CD002243 (2015).
22. Sligl, W. I., Milner, D. A., Sundar, S., Mphatswe, W. & Majumdar, S. R. Safety and efficacy of corticosteroids for the treatment of septic shock: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **49**, 93–101 (2009).
23. Minneci, P. C., Deans, K. J., Eichacker, P. Q. & Natanson, C. The effects of steroids during sepsis depend on dose and severity of illness: an updated meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* **15**, 308–318 (2009).
24. Volbeda, M. *et al.* Glucocorticosteroids for sepsis: systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Intensive Care Med.* **41**, 1220–1234 (2015).
25. Norman, A. W., Mizwicki, M. T. & Norman, D. P. G. Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**, 27–41 (2004).
26. Rhen, T. & Cidlowski, J. A. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. *N. Engl. J. Med.* **353**, 1711–1723 (2005).
27. Viengchareun, S. *et al.* The mineralocorticoid receptor: insights into its molecular and (patho)physiological biology. *Nucl. Recept. Signal.* **5**, (2007).
28. Druce, L. A., Thorpe, C. M. & Wilton, A. Mineralocorticoid effects due to cortisol inactivation overload explain the beneficial use of hydrocortisone in septic shock. *Med. Hypotheses* **70**, 56–60 (2008).

29. Becker, K. L. *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*. (Lippincott Williams & Wilkins, 2001).
30. Hicks, C. W. *et al.* Efficacy of selective mineralocorticoid and glucocorticoid agonists in canine septic shock. *Crit. Care Med.* **40**, (2012).
31. Hebbar, K. B., Stockwell, J. A. & Fortenberry, J. D. Clinical effects of adding fludrocortisone to a hydrocortisone-based shock protocol in hypotensive critically ill children. *Intensive Care Med.* **37**, 518–524 (2011).
32. Fadel, F. *et al.* Aldosterone and Vascular Mineralocorticoid Receptors in Murine Endotoxic and Human Septic Shock. *Crit. Care Med.* **Publish Ahead of Print**, (2017).
33. Schmidt, C., Kurt, B., Höcherl, K. & Bucher, M. Inhibition Of Nf- κ b Activity Prevents Downregulation Of α 1-adrenergic Receptors And Circulatory Failure During Clp-induced Sepsis. *Shock* **32**, 239–246 (2009).
34. Bucher, M., Kees, F., Taeger, K. & Kurtz, A. Cytokines down-regulate α 1-adrenergic receptor expression during endotoxemia. *Crit. Care Med.* **31**, 566–571 (2003).
35. Marwick, T. H. Measurement of strain and strain rate by echocardiography: ready for prime time? *J. Am. Coll. Cardiol.* **47**, 1313–1327 (2006).
36. Nagueh, S. F. *et al.* Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur. J. Echocardiogr. J. Work. Group Echocardiogr. Eur. Soc. Cardiol.* **10**, 165–193 (2009).
37. Bauer, R. J., Guzy, S. & Ng, C. A survey of population analysis methods and software for complex pharmacokinetic and pharmacodynamic models with examples. *AAPS J.* **9**, E60 (2007).
38. Hill, A. V. The possible effects of the aggregation of the molecules of hemoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.* **40**, iv–vii (1910).
39. Comets, E., Brendel, K. & Mentré, F. Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models: the npde add-on package for R. *Comput. Methods Programs Biomed.* **90**, 154–166 (2008).

Figures legends

Figure 1

Effects of stepwise phenylephrine infusion on systolic (A), diastolic (B) and mean arterial pressures (C) and on heart rate (D) by treatment group on the sixth day of treatment (fludrocortisone 100 (F100), 200 (F200), 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ (F400) or placebo). Data are means \pm standard error of mean.

Figure 2

Observed effects (symbols) of phenylephrine infusion on mean arterial pressure on the sixth day of treatment (fludrocortisone 100 (F100), 200 (F200), 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ (F400) or placebo) *vs* data simulated from final pharmacodynamic model (lines). Data are means \pm standard error of mean.

Figure 3

Effects of stepwise phenylephrine infusion on left ventricular ejection fraction (A), cardiac output (B), stroke volume (C), systemic vascular resistances (D) and longitudinal global strain (E) by treatment group on the sixth day of treatment (fludrocortisone 100 (F100), 200 (F200), 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ (F400) or placebo). Data are means \pm standard error of mean.

Figure 4

Effects of stepwise phenylephrine infusion on the parameter E/A (A), E' lateral (B), E' septal (C), and E/e' (E) by treatment group on the sixth day of treatment (fludrocortisone 100 (F100), 200 (F200), 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ (F400) or placebo). Data are means \pm standard error of mean.

Figure S1

Distribution of population weighted residuals (PWRES, left column), individual weighted residuals (IWRES, middle column) and normalized prediction distribution error (right column) *vs* phenylephrine dose (first line) and *vs* mean arterial pressure (middle line).

Figure S2

Predicted population (A) and individual (B) values *vs* observations of mean arterial pressure.

Figure S3

Visual predictive check for final pharmacodynamic model for placebo, fludrocortisone 100 (FC 100), 200 (FC 200) and 400 $\mu\text{g/day}$ (FC 400). Dots represent observed mean arterial pressures. Lines represent observed 10th, median, and 90th percentiles (bottom to top) of mean arterial pressure. Shaded areas represent corresponding 90% prediction intervals calculated from simulated data from the pharmacodynamic model.

Table I. Hemodynamic variables at baseline by treatment group

Variable	Placebo	FC 100 µg/day	FC 200 µg/day	FC 400 µg/day	P value
SAP (mmHg)	118 ± 10	117 ± 9	117 ± 9	120 ± 9	0.528
DAP (mmHg)	68 ± 7	68 ± 6	69 ± 8	71 ± 6	0.479
MAP (mmHg)	81 ± 6	80 ± 5	81 ± 7	82 ± 6	0.786
Heart rate (beats/min)	62 ± 9	63 ± 8	63 ± 9	66 ± 10	0.319

Data are means ± SD. DAP: diastolic arterial pressure; FC: fludrocortisone; MAP: mean arterial pressure; SAP: systolic arterial pressure. *P* values correspond to comparisons between the four groups of treatment (ANOVA, FC effect).

Table II. Hemodynamic and cardiac function variables at D6 before PE infusion by treatment group

Variable	Placebo	FC 100 µg/day	FC 200 µg/day	FC 400 µg/day	P value
SAP (mmHg)	121 ± 12	122 ± 13	121 ± 9	125 ± 10	0.509
DAP (mmHg)	69 ± 6	71 ± 10	70 ± 6	72 ± 9	0.628
MAP (mmHg)	82 ± 7	85 ± 8	85 ± 6	90 ± 7 *	0.003
Heart rate (beats/min)	65 ± 8	64 ± 7	68 ± 9	65 ± 6	0.379
LV ejection fraction (%)	61 ± 5	64 ± 4	64 ± 5	63 ± 4	0.524
Cardiac output (l/min)	5.2 ± 1.5	5.5 ± 1.7	5.4 ± 1.6	5.4 ± 1.8	0.582
Stroke volume (ml)	83 ± 14	86 ± 14	81 ± 16	81 ± 18	0.152
Systemic vascular resistance (dyne·s·cm ⁻⁵)	1349 ± 427	1323 ± 386	1330 ± 354	1477 ± 556	0.489
E/A	2 ± 0.8	2.2 ± 0.4	2.2 ± 1.0	2.2 ± 0.6	0.694
E' lateral (cm/s)	20 ± 4	20 ± 4	20 ± 2	20 ± 3	0.964
E' septal (cm/s)	15 ± 3	16 ± 2	16 ± 3	16 ± 1	0.288
E/e' ratio	4.8 ± 0.6	4.8 ± 1.0	5.0 ± 1.2	5.2 ± 0.8	0.424
LV longitudinal global strain (%)	-21.5 ± 2.3	-21.3 ± 1.8	-20.8 ± 1.8	-22.0 ± 2.0	0.556

Data are means ± SD. DAP: diastolic arterial pressure; FC: fludrocortisone; MAP: mean arterial pressure; SAP: systolic arterial pressure; LV: left ventricular. *P* values correspond to comparisons between the four groups of treatment (ANCOVA, FC effect).

* *P* < 0.05 versus placebo (Tukey adjustment).

Table III. Estimated parameters from the final pharmacodynamic model

Parameter (unit)	Estimate	RSE (%)	P value
Fixed effects			
E ₀ (mmHg)			
Placebo	81.1	2	-
FC 100	84.7	2	0.14
FC 200	84.8	2	0.12
FC 400	89.2	2	0.001
ED ₅₀ (µg/kg/min)			
Placebo	2.21	10	-
FC 100	2.19	10	0.95
FC 200	2.19	10	0.96
FC 400	1.57	10	0.004
E _{max} (mmHg)	58.8	5	
γ	1.62	6	
k	0.361	19	
Interindividual variability (%)			
ω _{E0}	6.8	11	
ω _{ED50}	24.2	16	
ω _{E_{max}}	8.16	40	
ω _γ	20.3	18	
ω _k	0 (fixed)	-	
ω _{ED50, E0}	-38.5	44	
Residual variability			
σ _{add} (mmHg)	2.79	5	

RSE: relative standard error (RSE=(estimate/standard error)x100); E₀: basal value of mean arterial pressure; ED₅₀: PE dose at which E = E_{max}/2; E_{max}: maximum effect on mean arterial pressure; γ: Hill coefficient; ω: interindividual standard deviation of pharmacodynamic parameter distributions; σ_{add}: standard deviation of additive residual model as follows: E_{observed,ij} = E_{predicted,ij} + ε_{add,ij} with ε_{add,ij} ~ N(0, σ_{2add}); FC: fludrocortisone at the doses of 100, 200 and 400 µg/day. P values correspond to Wald tests on the estimates of the treatment effect coefficients (reference category = placebo).

Figure 1. Effects of stepwise phenylephrine infusion on systolic (A), diastolic (B) and mean arterial pressures (C) and on heart rate (D). Data are means \pm standard error of mean.

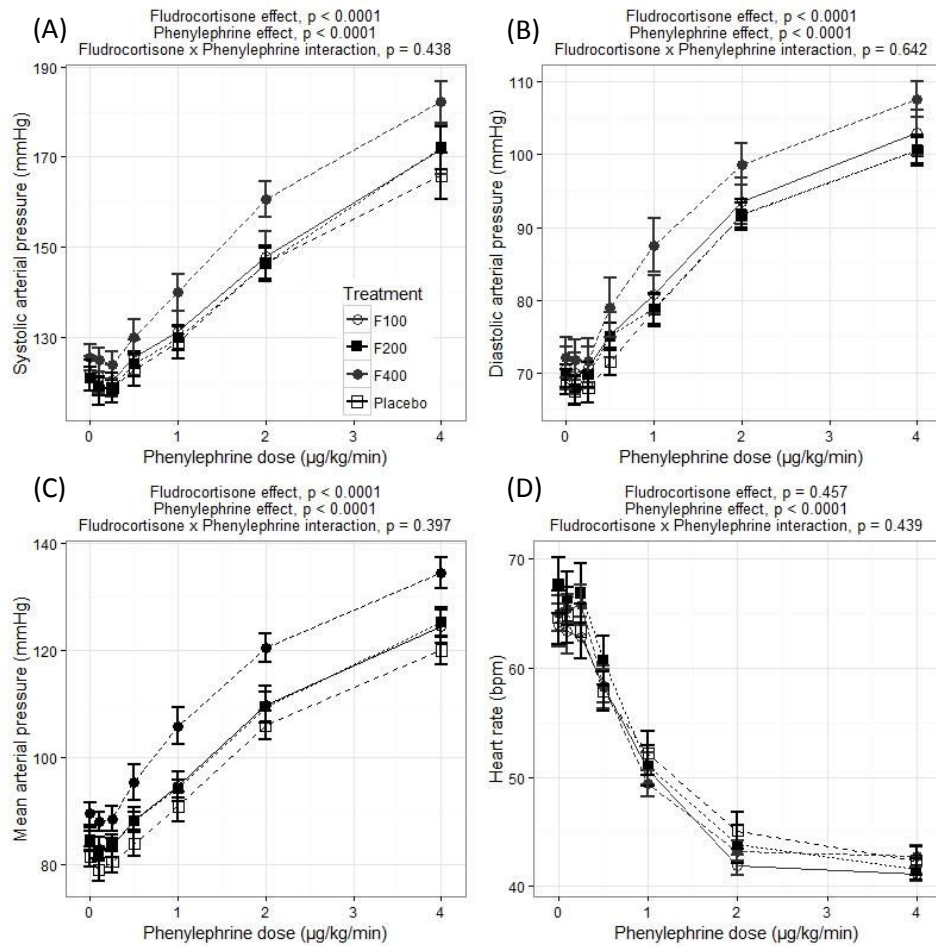


Figure 2. Observed effects (symbols) of phenylephrine infusion on mean arterial pressure on the sixth day of treatment (fludrocortisone 100 (F100), 200 (F200), 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ (F400) or placebo) vs data simulated from final pharmacodynamic model (lines). Data are means \pm standard error of mean.

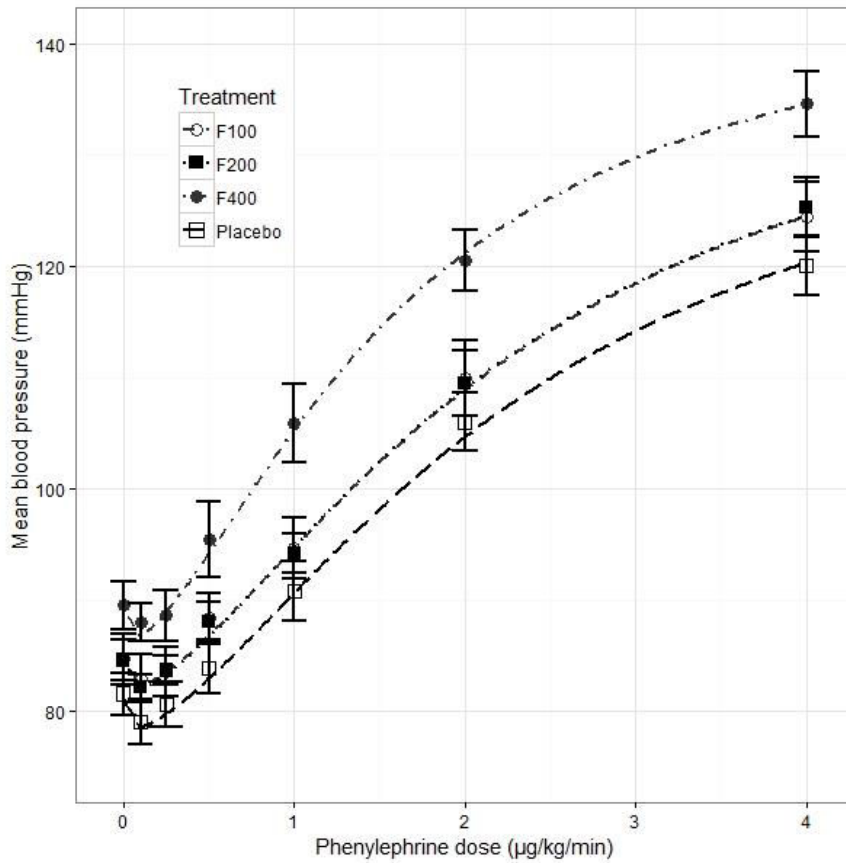


Figure 3. Effects of stepwise phenylephrine infusion on left ventricular ejection fraction (A), cardiac output (B), stroke volume (C), systemic vascular resistances (D) and longitudinal global strain (E). Data are means \pm standard error of mean.

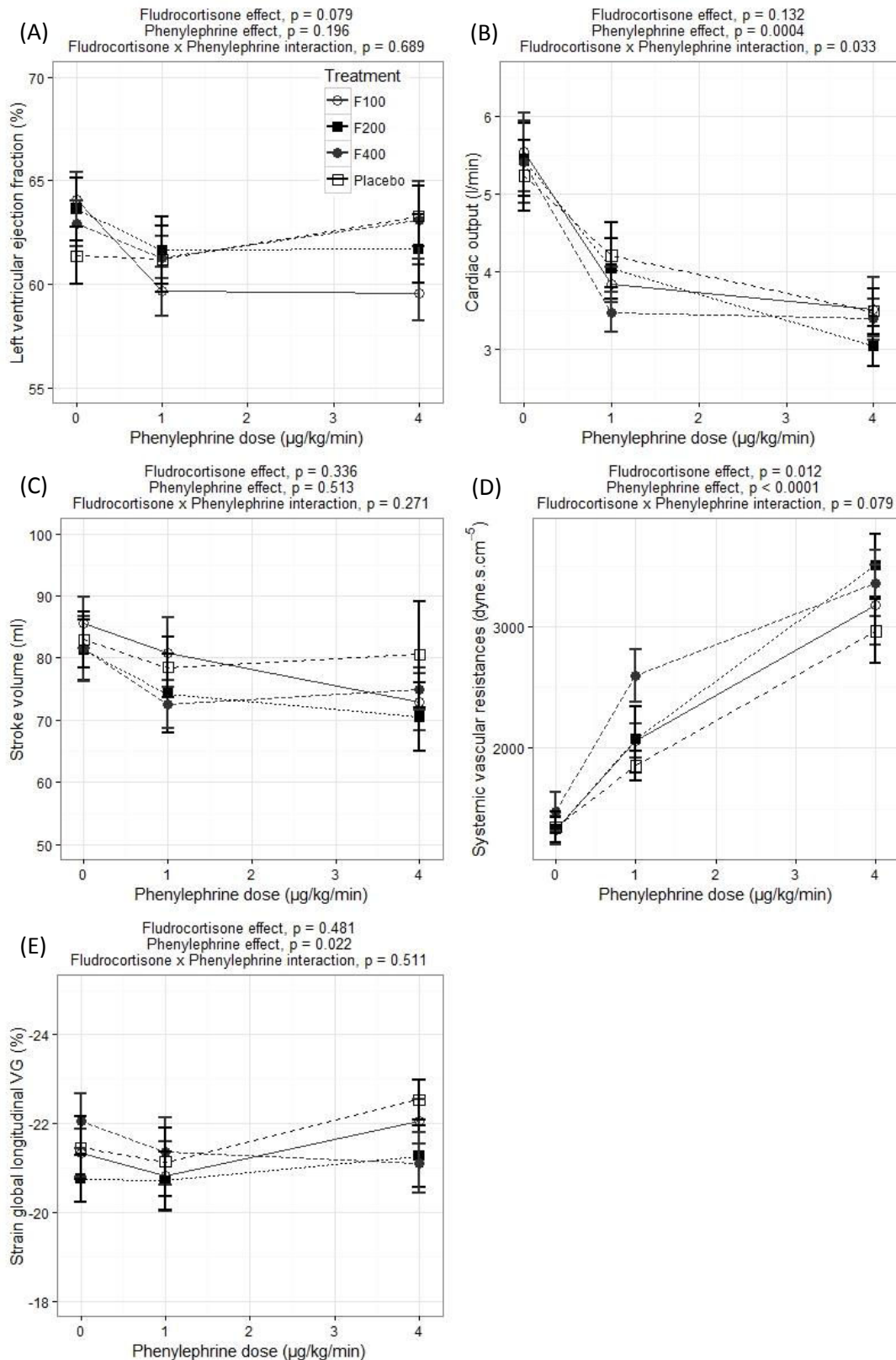


Figure 4. Effects of stepwise phenylephrine infusion on the parameter E/A (A), E' lateral (B), E' septal (C), and E/e' (D). Data are means \pm standard error of mean.

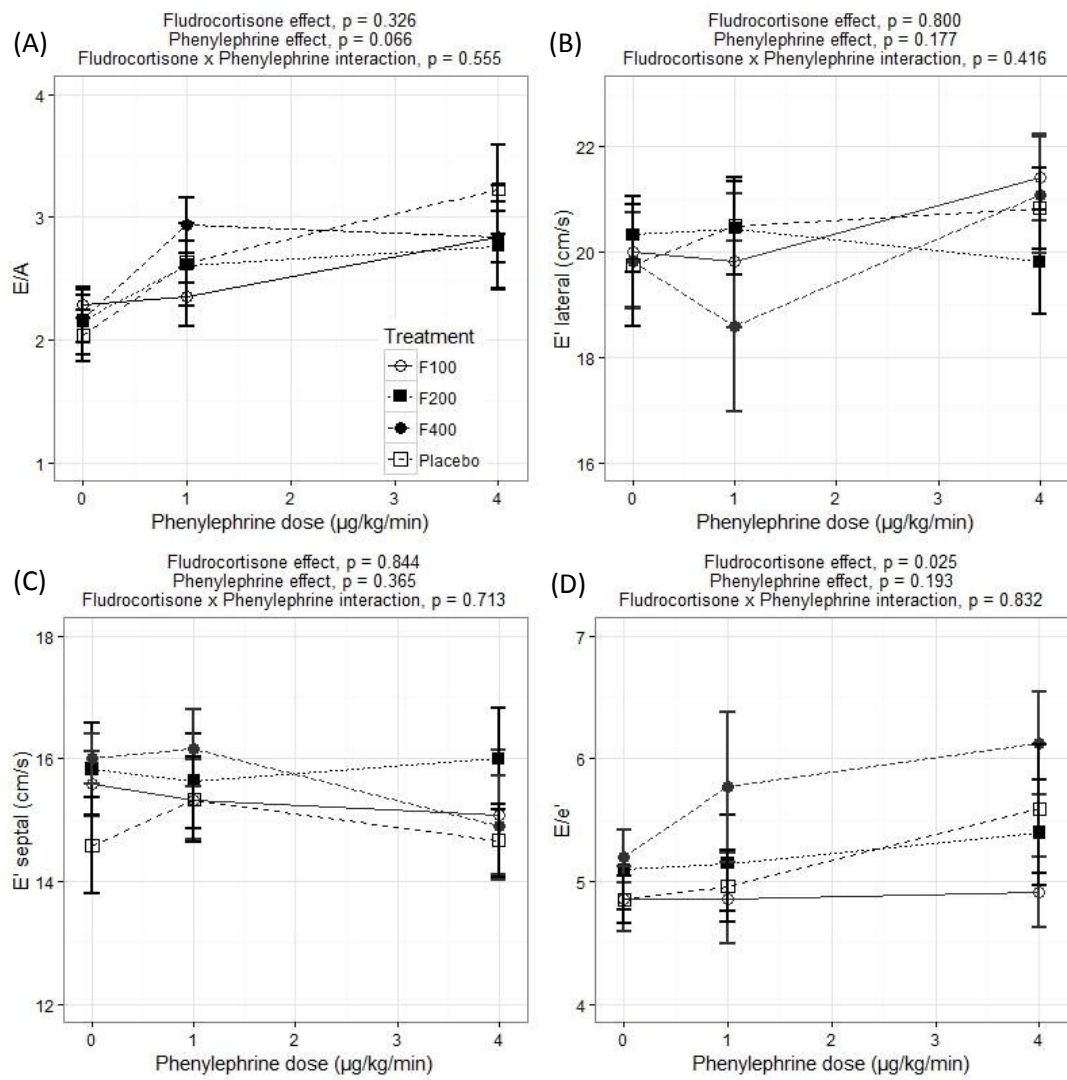


Figure S1. Distribution of population weighted residuals (PWRES, left column), individual weighted residuals (IWRES, middle column) and normalized prediction distribution error (right column) vs phenylephrine dose (first line) and vs mean arterial pressure (middle line).

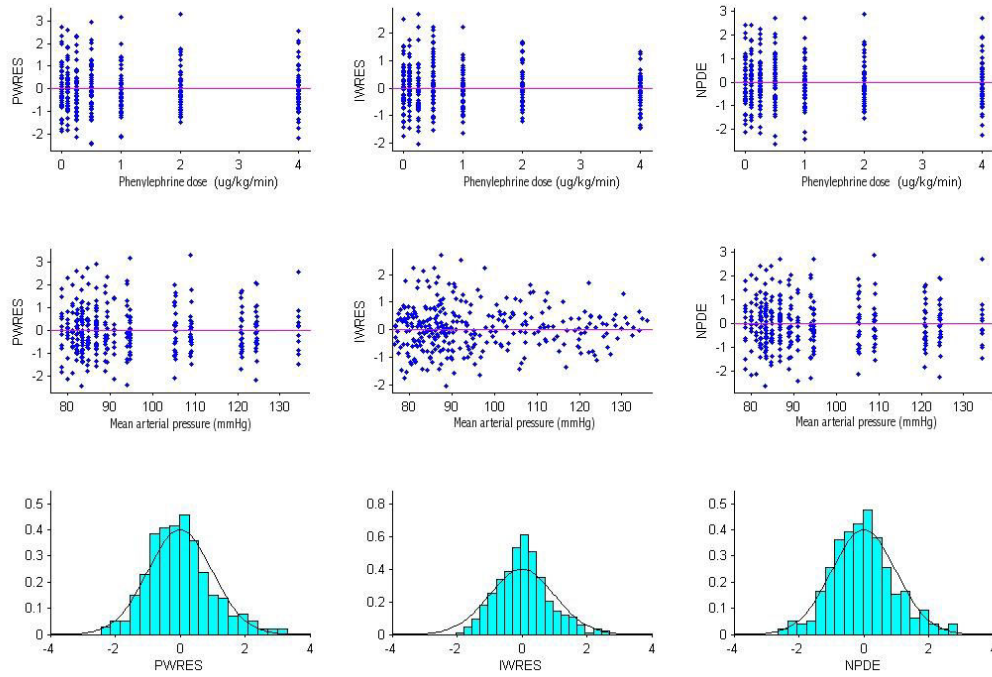


Figure S2. Predicted population (left) and individual (right) values vs observations of mean arterial pressure.

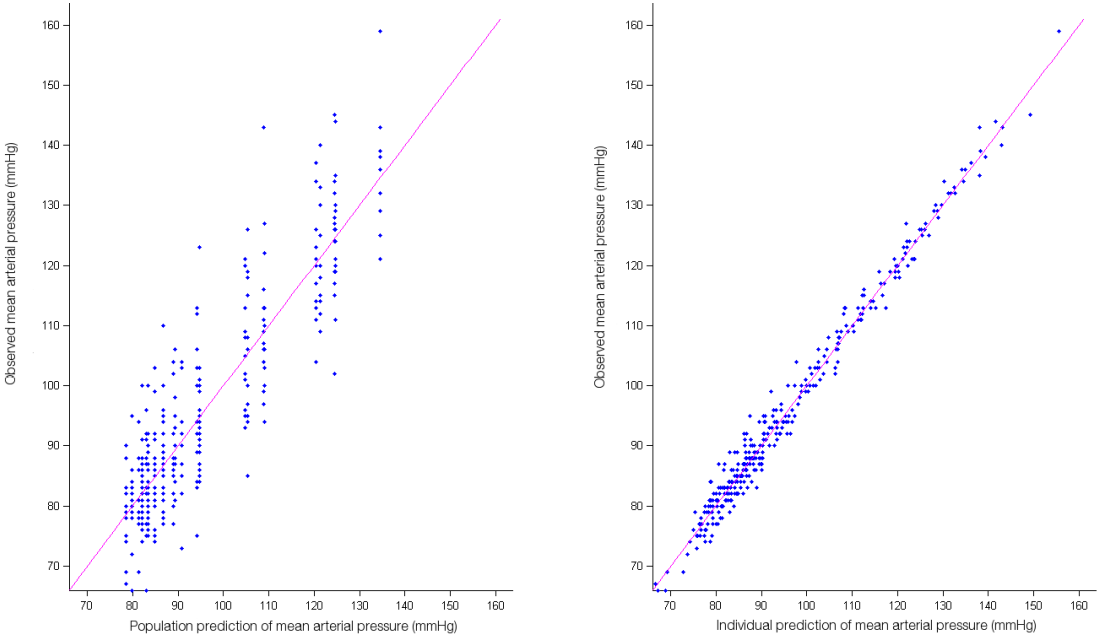
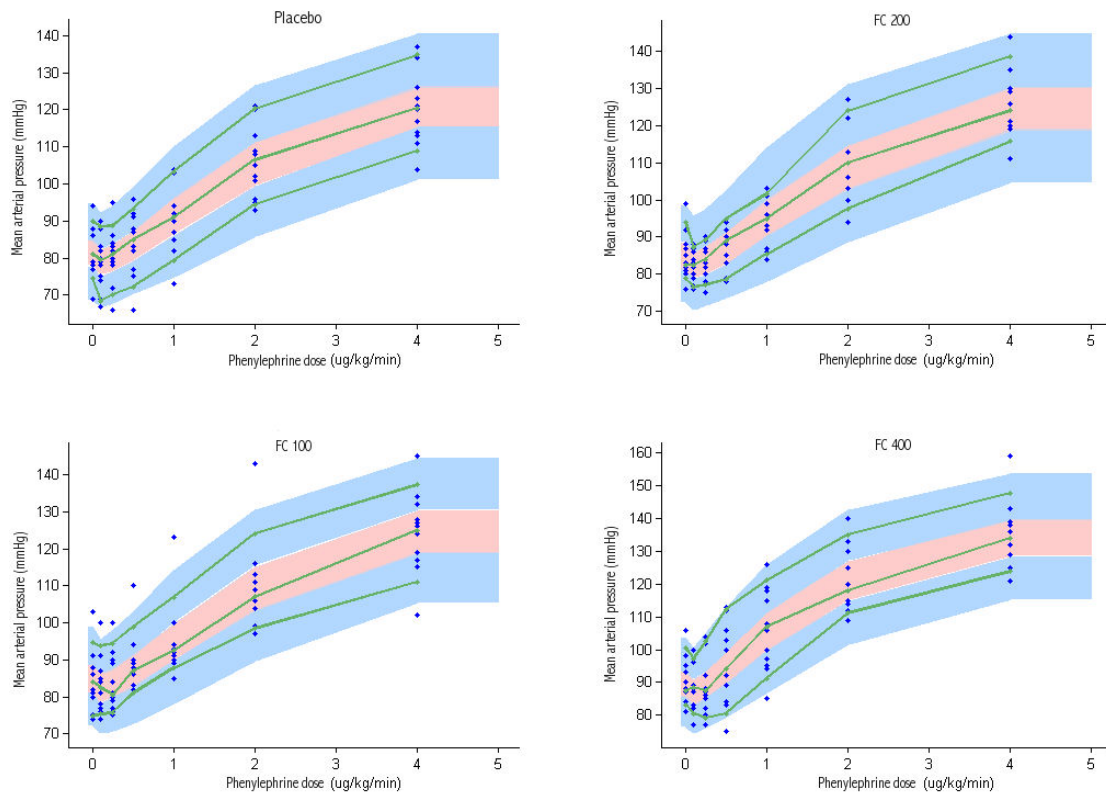


Figure S3. Visual predictive check for final pharmacodynamic model for placebo, fludrocortisone 100 (FC 100), 200 (FC 200) and 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ (FC 400). Dots represent observed mean arterial pressures. Lines represent observed 10th, median, and 90th percentiles (bottom to top) of mean arterial pressure. Shaded areas represent corresponding 90% prediction intervals calculated from simulated data from the pharmacodynamic model.



Chapitre 6. Quatrième étude

Modélisation pharmacocinétique et pharmacocinétique-pharmacodynamique sur la pression artérielle moyenne de la fludrocortisone après administration répétée

Auteurs : Noureddine Hamitouche, Eric Bellissant, Bruno Laviolle

6.1. Résumé

Justifications

Chez l'animal nous avons montré récemment que la fludrocortisone et l'hydrocortisone induisaient une augmentation similaire de la pression artérielle avec un effet plus important dans le groupe d'animaux en choc endotoxinique (Laviolle et al., 2014). Selon une autre étude expérimentale, le mécanisme impliqué serait lié probablement à une action minéralocorticoïde au niveau vasculaire qui aurait pour effet d'augmenter l'expression locale des récepteurs α 1-adrénergiques et par conséquent le tonus vasculaire. Ces observations ont conduit à tester chez l'homme l'effet de la fludrocortisone seule qui est un puissant minéralocorticoïde sur la pression artérielle.

Dans l'étude précédente chez les volontaires sains (Article 1), nous avons étudié la PK et la relation concentration-effet de la fludrocortisone orale (50 μ g) après administration unique seule ou associée à l'hydrocortisone (50 mg). Alors que dans toutes les études jusque-là réalisées chez les patients en choc septique, la fludrocortisone était testée avec un schéma d'administration en dose unique par jour, nous avons montré à l'aide de simulations qu'une administration 4 fois par jour permettrait d'obtenir rapidement un état d'équilibre des concentrations plasmatiques et des effets. Par ailleurs, nous avons montré que la fludrocortisone induisait un effet minéralocorticoïde mais qui était plus tardif et moins marqué que celui induit par l'hydrocortisone. En revanche, en plus de cet effet minéralocorticoïde, l'hydrocortisone a montré des effets hémodynamiques non observés avec la dose de fludrocortisone utilisée (Laviolle et al., 2010).

L'ensemble combiné de ces observations nous a amené à réévaluer le schéma d'administration ainsi que la dose de fludrocortisone à tester.

Objectif

L'objectif de cette étude était de caractériser la PK de la fludrocortisone et d'étudier la relation concentration-effet de la molécule sur la pression artérielle moyenne après administration répétée pendant plusieurs jours.

Méthodes

Il s'agissait d'un essai prospectif, randomisé, contrôlé contre placebo, en double aveugle et en cross-over réalisé chez 12 volontaires sains selon un plan factoriel 2×2 comprenant 4 périodes de traitement (fludrocortisone 100, 200 et 400 µg par jour ou placebo en 4 administrations par voie orale). Après 5 jours d'administration de fludrocortisone ou de placebo, une étude de la pharmacocinétique et de la relation concentration-effet sur la pression artérielle moyenne était réalisée au sixième jour. Des modèles non-linéaires à effet mixtes ont été utilisés pour décrire la pharmacocinétique ainsi que la relation pharmacocinétique-pharmacodynamique de la fludrocortisone. Le logiciel Monolix a été utilisé pour l'estimation des paramètres.

Résultats

Un modèle mono-compartmental avec une constante d'absorption orale d'ordre 1 a été retenu pour décrire les concentrations plasmatiques de fludrocortisone. La demi-vie plasmatique de la molécule a été estimée à 1.94 h (IC 95% [1.46 , 2.52]). Après 5 jours d'administration répétée, la fludrocortisone a induit des effets significatifs sur la pression artérielle. Un modèle de type E_{max} a été utilisé pour décrire et quantifier l'effet des concentrations plasmatiques de fludrocortisone sur la pression artérielle moyenne (PAM). Une équation de type cosinus a été intégrée dans ce modèle afin de tenir compte de l'évolution circadienne de la PAM. La concentration plasmatique de la fludrocortisone produisant 50% de l'augmentation maximale de la PAM (EC_{50}) était de 0.268 µg/L. Les concentrations plasmatiques maximales (C_{max}) obtenues après administration des doses 100, 200 et 400 µg/jour étaient, respectivement, de 0.18, 0.32 et 0.80 µg/L. Seule la dose de 400 µg/jour permettait d'avoir une C_{max} suffisamment importante pour induire une augmentation conséquente de la PAM (environ 75% de l'effet maximal qui correspond à une augmentation de +5.6 mmHg).

Conclusion

Les concentrations plasmatiques de fludrocortisone à l'état d'équilibre ont montré une demi-vie plasmatique courte et des paramètres PK similaires à ceux retrouvés lors d'une étude précédente chez des volontaires sains (administration unique). Ces observations confirment donc nos résultats. Après 5 jours d'administration répétée, la fludrocortisone a induit un effet significatif sur la pression artérielle. Cet effet était plus marqué avec la dose de 400 µg/jour. Nos résultats nécessitent à présent d'être confirmés chez les patients en choc septique.

6.2. Article

Population pharmacokinetic-pharmacodynamic model of oral fludrocortisone after six days of repeated administration in healthy volunteers

Authors: Noureddine Hamitouche^{1,3}, Eric Bellissant^{1,2,3}, Bruno Laviolle^{1,2,3}

1 Inserm, CIC 1414 Clinical Investigation Centre, Rennes, France

2 Department of Biological and Clinical Pharmacology and Pharmacovigilance, Rennes University Hospital, Rennes, France

3 Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Rennes 1 University, Rennes, France

ABSTRACT

Fludrocortisone have been shown in normal and endotoxemic rats to increase blood pressure. The involved mechanism may be partly result from the stimulation of the mineralocorticoid receptors in the vasculature which increases vascular α 1-adrenoceptor expression. This finding led to test in healthy volunteers the effect of fludrocortisone which is a potent mineralocorticoid on blood pressure.

This was a placebo-controlled, randomized, double blind, crossover study, of oral fludrocortisone (100, 200 and 400 μ g/day) in 12 healthy male volunteers. Nonlinear mixed-effects modeling was used to describe the pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship on mean blood pressure (MBP) at steady-state of plasma concentrations after 5 days of repeated administrations. A one-compartment model was used to describe fludrocortisone pharmacokinetics. Mean plasma half-life was 1.94 h (95%CI [1.46 ; 2.52]). Fludrocortisone significantly increase MBP. To characterize and quantify the concentration-effect on MBP relationship of fludrocortisone, we constructed a population pharmacokinetic-pharmacodynamic model. This model showed that the plasma concentration of fludrocortisone which can induce 50% of the maximum increase of MBP (EC_{50}) was 0.268 μ g/L. The effect was more marked at the dose of 400 μ g/day, suggesting that fludrocortisone at higher doses than usually administered (50 μ g/day) may be useful in septic shock.

INTRODUCTION

Fludrocortisone and hydrocortisone have been shown in normal and endotoxemic rats to increase blood pressure and the magnitude of this effect was superior in endotoxemic than in normal animals (1). In septic conditions, this effect may be partly explained by stimulation of the mineralocorticoid receptors expressed in vascular cells which restores the impaired vascular α 1-adrenoceptor expression that occurs during severe inflammation (2). This finding led to test in healthy volunteers the effect of fludrocortisone which is a potent mineralocorticoid on blood pressure.

In a previous study, we assessed the pharmacokinetics of oral single administration of 50 μ g of fludrocortisone alone or in combination with hydrocortisone in healthy volunteers. Fludrocortisone plasma half-life was estimated at 1.40 h (95% confidence interval [0.80; 2.10]). Whereas fludrocortisone was previously used in septic shock in a once-daily regimen (3–5), we showed by simulations of different administration regimens (one, two, three or four times daily) that fludrocortisone should be given four times daily to rapidly achieve steady-state for fludrocortisone plasma concentrations and for the effect (6). Concerning pharmacodynamics, fludrocortisone showed a mineralocorticoid effect which was less rapid and less marked than hydrocortisone. However, in addition to this biological effect, hydrocortisone showed transient systemic hemodynamic effects whereas fludrocortisone did not (7).

Taken together, these results highlighted the necessity for studying the effect of repeated administration of higher doses of fludrocortisone in order to determine the optimal dose to be considered for future utilization in septic shock. We therefore implemented in the current study a four-time per day regimen.

MATERIALS AND METHODS

Our study was conducted in compliance with the principles of the Declaration of Helsinki. All subjects gave their informed consent prior to their inclusion in the study. The study was approved by the local ethics committee (Comité de Protection des Personnes de Rennes Ouest V) on 7 February 2014 (14/03-919) and by the French National Agency for the Safety of Medicine and Health Products (ANSM) on 26 February 2014 (131433B-21). The study was registered in the European clinical trial database (EudraCT 2013-00479427) and in the US database ClinicalTrials.gov (NCT 02140918).

Subjects

Healthy male volunteers aged 20-25 years, with a body mass index of 20-25 kg/m², non-smokers and medication-free were eligible for this study. Exclusion criteria were a history of major medical or psychiatric disease, a history of drug or alcohol abuse, a heart rate at rest of less than 50 beats/min, any significant abnormality at selection assessments (physical examination, 12-lead electrocardiogram, transthoracic echocardiography, routine biological test, urinary drug screening), or subject under legal protection.

Study design

This monocentric phase IIb study had a placebo-controlled, randomized, double-blind, crossover, four-period design and was conducted at the clinical investigation unit of the Inserm 1414 Clinical Investigation Centre of Rennes University Hospital between September 2014 and April 2016. Randomization for study drug period (computer-generated randomization schedule, block-size of 4) as well as labeling of blinded medications was done centrally by the pharmacy of Rennes University Hospital. Fludrocortisone and placebo were prepared as identical tablets and packaged in containers labeled with the randomization code and sequentially numbered according to the period (1 to 4). Participants and investigators remained fully blinded until database lock.

All study periods were strictly identical and each period was separated from the next one by a washout interval of at least 14 days. Each subject received fludrocortisone 100 µg/day, fludrocortisone 200 µg/day, fludrocortisone 400 µg/day or placebo. Treatments were

administered orally in a 4-time per day regimen. All experiments were conducted in a quiet, temperature-controlled (20 ± 2 °C) room. The day before each study period (D0), subjects were seen by a physician at the clinical investigation unit. A physical examination and hemodynamic measurements (D0 baseline values) were performed. Treatment was provided to subjects and taken on an outpatient basis for 5 days (D1 to D5). To control for compliance, subjects were asked to send a text message after each treatment intake (8.00 am, 2.00 pm, 8.00 pm, 2.00 am). Compliance was also assessed by pills counting and interviewing subjects. Subjects were instructed to have diets with normal levels of salt (150 mmol/day) during the treatment period. No alcoholic or caffeine-containing beverages were allowed from 48 h before each treatment period through the end of the period.

On the sixth day (D6), subjects arrived at the clinical investigation unit at 07:00 am after an overnight fast. At 07:15 am, they had a standardized breakfast and were placed in the supine position. An indwelling catheter with a heparinized lock was inserted into a forearm vein for i.v. infusion of PE. Treatment was orally administered at 8:00 am. At 9:30 am (1.5 h after treatment administration), PE was infused in a stepwise manner (each dose being maintained for 5 min) at 0, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1, 2 and 4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. In the afternoon (at 02:00 pm), another dose of fludrocortisone was administered in order to characterize the pharmacokinetic and the concentration-effect relationship. Blood samples were drawn successively at pre-dose, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, and 6 h after the last fludrocortisone administration to determine plasma concentrations. Samples were immediately centrifuged at 1000 G for 10 mins, and plasmas were separated and stored at -80°C until assay. In parallel to blood collections, hemodynamic measurements were taken repeatedly every hour before and after treatment administration.

Assay of fludrocortisone plasma concentrations

Plasma fludrocortisone concentrations were measured by liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry method as previously described (8). The lower limit of quantification was 0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ with an intra-assay and inter-assay coefficients of variation lower than 10.9%. The mean fludrocortisone plasma concentration profiles for each tested dose are illustrated in **Fig. 1**.

Hemodynamic variable

Mean blood pressure (MBP, mmHg) was recorded noninvasively after 10 min of rest in the supine position, using a brachial sphygmomanometer (Dynamap ProCare; GE Healthcare, Freiburg, Germany). The evolutions with time of MBP according to the fludrocortisone dose are presented in **Fig. 2**.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SAS statistical software V9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Results are expressed as means \pm standard errors of means (SEM) in figures for clarity. The changes over time of hemodynamic variables were analyzed using a three-way analysis of covariance (subject, time, and fludrocortisone dose), adjusted on baseline values (values at day 0 before any treatment). In case of significant dose effect, two-by-two comparisons of the means (least-square means procedure, LSMeans) were performed with a Tukey adjustment for multiple testing.

Population modelling

Nonlinear mixed effects modeling was used to analyze pharmacokinetic and pharmacodynamic data. Parameter estimation was performed using the Stochastic Approximation Expectation Maximization (SAEM) algorithm implemented in Monolix program (9). The algorithm takes into account censored data (below the quantification limit) for the optimal estimation of maximum likelihood and structural parameters (10). The likelihood ratio test (assessing the likelihood ratio against a χ^2 distribution, $LL = -2 \times \log\text{-likelihood}$) was used to select the best model. Interindividual variability was modeled as log-normal distribution with a diagonal variance-covariance matrix. Several residual error models (additive, proportional, and combined) were tested to describe residual variability, and the model with the smallest Bayesian Information Criterion was chosen. For each pharmacokinetic parameter, inter-occasion variability was also estimated in the final model if it improved (significantly decreased) the LL value.

Pharmacokinetic

To select the best structural pharmacokinetic model, one- and two-compartment models with zero- or first-order absorption and first-order elimination were evaluated and compared. A model with lag time in the absorption phase was also tested.

Pharmacodynamic

Population pharmacodynamics modelling was performed according to a sequential approach using pharmacokinetic parameter estimates. Given that blood pressure changes within 24 h according to a circadian rhythm, a model for the rhythm was incorporated into the pharmacodynamic model of fludrocortisone effect for optimal estimation of the drug effect. The model of the circadian rhythm of the baseline MBP (with no drug present) was constructed based on a previously published study (11). This model consists in application of a cosine equation for baseline MBP change as follows:

$$\text{Bsl}_{\text{MBP}}(t) = \text{MESOR} - \text{Amp} \cdot \cos \left\{ 2 \cdot \pi \cdot \frac{(t - \text{hor})}{24} \right\}$$

where $\text{Bsl}_{\text{MBP}}(t)$ is the baseline of MBP as a function of time (t), MESOR is the rhythm-adjusted 24-h mean MBP, Amp is the parameter for amplitude of cosine term, and hor is the parameter for phase shift of the cosine term.

The concentration–effect relationship for the fludrocortisone effect on MBP was modeled by a sigmoid E_{max} pharmacodynamic model as follows:

$$\text{EFF} = \frac{E_{\text{max}} \cdot C^{\gamma}}{C^{\gamma} + EC_{50}^{\gamma}}$$

were EFF is the effect of fludrocortisone on MBP at concentration C , E_{max} is the maximum effect, EC_{50} is the concentration of fludrocortisone at which half of the maximum effect is achieved, and γ is the Hill-factor characterizing the steepness of the concentration-effect relationship.

By integrating this drug effect in the previous equation, the resulting change in MBP over time can then be modeled in the following way:

$$\text{MBP}(t) = \text{MESOR} \cdot (1 + \text{EFF}) - \text{Amp} \cdot \cos\left\{2 \cdot \pi \cdot \frac{(t - \text{hor})}{24}\right\}$$

Models validation

Goodness-of-fit of the final model was evaluated using a graphic approach by visual examination of a plot of observed concentrations vs. predicted ones and a plot of normalized prediction distribution error (NPDE) vs. time (12). Model validation was performed by visual predictive check (VPC) using simulations. Predicted plasma concentrations of fludrocortisone were calculated based on the randomly sampled pharmacokinetic parameter values and residual variability. Several simulations were performed and 80% confidence intervals (i.e., 10th and 90th percentiles) were computed from simulated pharmacokinetic profiles and compared with the median and the 10th and 90th percentiles of observed pharmacokinetic profiles. The predictive performance of the final model was considered acceptable if the majority of original data points were contained inside predicted confidence intervals, with no major systematic deviation between simulated and observed data. The precision in parameter estimations was evaluated using the relative standard error (RSE %). A value of RSE less than 30% for the population parameters and less than 50% for the interindividual parameters is communally considered as suitable.

RESULTS

Pharmacokinetic

The comparison of fits of each tested structural mathematical models indicated that fludrocortisone plasma concentrations were best described by a simple one-compartmental model. This model was parameterized in terms of apparent clearance (CL/F; L/h), apparent volume of distribution (V/F; L), and first-order absorption rate constant (k_a ; h⁻¹). An additive model was selected to describe residual variability.

The VPC is displayed in **Fig. 3** for the final pharmacokinetic model. Plots of predicted population and individual values vs observations, and of NPDE, are presented in **Fig. S1** (see supplementary files). Visual inspection of these goodness-of-fit plots indicates a good predictive performance of the pharmacokinetic model.

Final pharmacokinetic parameter estimates, interindividual variability, inter-occasion variability, and residual variability are summarized in **Table I**. All parameters were reliably estimated as reflected by small RSE except for the inter-individual variability parameter on V_d/F . In fact, estimation of this parameter resulted in large standard error of estimate (RSE > 100%). Ultimately, this parameter was fixed to zero. Fludrocortisone plasma half-life was estimated at 1.94 h, 95% confidence interval [1.46 ; 2.52].

Pharmacodynamic

Fludrocortisone showed a significant effect on MBP (**Fig. 2**). Comparatively with the placebo, MBP was increased by +2%, +3.7%, and +7.5% with the dose of 100, 200, and 400 µg/day respectively (P values < 0.05 after Tukey adjustment).

The final pharmacodynamic parameter estimates are summarized in **Table II**. A proportional error model was selected to describe residual variability. All population parameters were reliably estimated as reflected by the small RSEs. Estimation of interindividual variability for *hor* parameter (Shift of the cosine) resulted in large standard errors of estimates (RSE > 100%). Then, interindividual variability for this parameter was fixed to zero. As for the pharmacokinetic model, visual inspection of VPC (**Fig. 4**), plot of predicted population, individual values vs observations, and NPDE (**Fig. S2**, supplementary files) indicate a good predictive performance of the pharmacokinetic-pharmacodynamic model. This model showed

that the plasma concentration of fludrocortisone which can induce 50% of the maximum increase of MBP (EC_{50}) was 0.268 $\mu\text{g/L}$. This concentration was not achieved after administration of fludrocortisone at the dose of 100 $\mu\text{g/day}$ (the maximum concentration achieved with this dose was $C_{\text{max}} = 0.18 \mu\text{g/L}$). With the dose of 200 $\mu\text{g/day}$, a C_{max} slightly higher than EC_{50} was obtained (0.32 $\mu\text{g/L}$). However, with 400 $\mu\text{g/day}$, the obtained C_{max} was approximatively three times higher than EC_{50} (0.80 $\mu\text{g/L}$) allowing to achieve about 75% of maximum effect (corresponding to an increase of MBP by +5.6 mmHg). In addition, with 400 $\mu\text{g/day}$, plasma concentrations of fludrocortisone remain above the EC_{50} almost throughout the 6 hours of measurement.

DISCUSSION

In this study in healthy volunteers, we assessed the pharmacokinetics and the concentration-effect relationship of fludrocortisone after 5 days of repeated administration (four daily administration). It was found that fludrocortisone plasma concentrations were best described by a one-compartmental model as previously reported (6). A short plasma half-life (1.94 h) was estimated which is consistent with previous reported values (3,6). Furthermore, fludrocortisone showed a significant effect on MBP. Fludrocortisone increase MBP. Plasma fludrocortisone concentrations were correlated with simultaneously measured MBP by a suitable pharmacodynamic model which assumes a sigmoidal (E_{max}) concentration-effect relationship. This model was combined with predefined cosine function for circadian rhythm describing the MBP changes within 24 h.

In a previous study, we assessed the pharmacokinetics of oral fludrocortisone alone or in combination with hydrocortisone after a single administration in healthy volunteers (6). Fludrocortisone plasma half-life was estimated at 1.40 h (95% confidence interval [0.80; 2.10]). Whereas fludrocortisone was previously tested in septic shock patients in a once-daily regimen (3–5), we showed by simulations of different administration regimens (one, two, three or four times daily) that fludrocortisone should be given four times daily to rapidly achieve steady-state for fludrocortisone plasma concentrations and for the effect. Consistent with these results, we therefore implemented in the current study a four-time per day regimen. Then, contrary to the previous study, here, the pharmacokinetic was assessed at steady-state after 5 days of repeated administrations. Nevertheless, the population pharmacokinetic parameter estimates obtained in this current study (V_d/F and CL/F of 94.9 L and 33.8 L/h, respectively) remain similar to the previously published values after single administration (82.4 L and 40.8 L/h) (6).

The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship was assessed on MBP. This hemodynamic parameter is a relevant study endpoint in patients with septic shock because it is a quick and noninvasive measurement that reflect the prognostic of these patients and has been successfully demonstrated to be a primary outcome measure in septic shock (13).

In one of our previous studies, we investigated the effects of fludrocortisone and hydrocortisone, administered either alone or in combination, using the same single doses than

those used in septic shock (fludrocortisone at 50 μg and hydrocortisone at 50 mg). We found that, at the doses and schedule of administration used, hydrocortisone had more marked and earlier mineralocorticoid effects than fludrocortisone and also induced systemic hemodynamic effects (decrease MBP) whereas fludrocortisone did not (7). Hence, it was concluded that the dose of fludrocortisone used was probably low to observe the desired hemodynamic effects. In a model of septic shock in rat, we also showed that after a single administration, fludrocortisone and hydrocortisone could increase blood pressure but the magnitude of these effect depend on the doses of administered steroid and on the pathophysiological conditions. Indeed, the magnitude of the effect was superior in endotoxemic than in normal animals (1). In contrast, in the current study, we assessed the effects of fludrocortisone at steady-state of plasma concentrations after 5 days of repeated administrations in healthy volunteers. In this conditions, fludrocortisone showed a significant effect on MBP (**Fig. 2**). Comparatively with the placebo, MBP was increased by +2%, +3.7%, and +7.5% with the dose of 100, 200, and 400 $\mu\text{g}/\text{day}$ respectively (P values < 0.05 after Tukey adjustment).

To characterize and quantify the concentration-effect on MBP relationship, we constructed a population pharmacokinetic-pharmacodynamic model. This model showed that the plasma concentration of fludrocortisone which can induce 50% of the maximum increase of MBP (EC_{50}) was 0.268 $\mu\text{g}/\text{L}$. This concentration was not achieved after administration of fludrocortisone at the dose of 100 $\mu\text{g}/\text{day}$ (the maximum concentration achieved with this dose was $C_{\text{max}} = 0.18 \mu\text{g}/\text{L}$). With the dose of 200 $\mu\text{g}/\text{day}$, a C_{max} slightly higher than EC_{50} was obtained (0.32 $\mu\text{g}/\text{L}$). However, with 400 $\mu\text{g}/\text{day}$, the obtained C_{max} was approximatively three times higher than EC_{50} (0.80 $\mu\text{g}/\text{L}$) allowing to achieve about 75% of maximum effect (corresponding to an increase of MBP by +5.6 mmHg). In addition, with 400 $\mu\text{g}/\text{day}$, plasma concentrations of fludrocortisone remain above the EC_{50} almost throughout the 6 hours of measurement. This increase in MBP is considerable in view of the experimental conditions (healthy volunteers, without fluid resuscitation, and without catecholamines supplementation).

Our model was however applied to healthy volunteers who were not subjected to an infectious process, and these experimental conditions constitute a limitation to generalization of our results. Therefore, these results need to be confirmed in septic shock patients.

CONCLUSION

We showed that fludrocortisone had a short plasma half-life (1.94 h) which is consistent with our previously published study. After 5 days of repeated administration, fludrocortisone increased blood pressure in healthy volunteers. This effect was more marked at the dose of 400 $\mu\text{g}/\text{day}$, suggesting that fludrocortisone at higher doses than usually administered (50 $\mu\text{g}/\text{day}$) may be useful in septic shock. Our results need to be confirmed in septic shock patients.

REFERENCES

1. Laviolle B, Nessler N, Massart C, Bellissant E. Fludrocortisone and hydrocortisone, alone or in combination, on in vivo hemodynamics and in vitro vascular reactivity in normal and endotoxemic rats: a randomized factorial design study. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2014 Jun;63(6):488–96.
2. Fadel F, André-Grégoire G, Gravez B, Bauvois B, Bouchet S, Sierra-Ramos C, et al. Aldosterone and Vascular Mineralocorticoid Receptors in Murine Endotoxic and Human Septic Shock. *Crit Care Med*. 2017 Apr 25;
3. Polito A, Hamitouche N, Ribot M, Polito A, Laviolle B, Bellissant E, et al. Pharmacokinetics of oral fludrocortisone in septic shock. *Br J Clin Pharmacol*. 2016 Dec 1;82(6):1509–16.
4. Laviolle B, Annane D, Fougere C, Bellissant E. Gluco- and mineralocorticoid biological effects of a 7-day treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone in septic shock. *Intensive Care Med*. 2012 May 15;38(8):1306–14.
5. Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert P-E, François B, Korach J-M, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA*. 2002 Aug 21;288(7):862–71.
6. Hamitouche N, Comets E, Ribot M, Alvarez J-C, Bellissant E, Laviolle B. Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model of Oral Fludrocortisone and Intravenous Hydrocortisone in Healthy Volunteers. *AAPS J*. 2017 May 1;19(3):727–35.
7. Laviolle B, Le Maguet P, Verdier M-C, Massart C, Donal E, Lainé F, et al. Biological and Hemodynamic Effects of Low Doses of Fludrocortisone and Hydrocortisone, Alone or in Combination, in Healthy Volunteers With Hypoaldosteronism. *Clin Pharmacol Ther*. 2010 Aug 1;88(2):183–90.
8. Ribot M, Polito A, Grassin-Delye S, Annane D, Alvarez J-C. Human plasma quantification of fludrocortisone using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after low-dosage administration. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2013 May;420:109–13.
9. Chan PLS, Jacqmin P, Lavielle M, McFadyen L, Weatherley B. The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J Pharmacokinetic Pharmacodyn*. 2011 Feb;38(1):41–61.

10. Beal SL. Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2001 Oct;28(5):481–504.
11. Hempel G, Karlsson MO, Alwis DP, Toublanc N, McNay J, Schaefer HG. Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of moxonidine using 24-hour ambulatory blood pressure measurements. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 1998 [cited 2017 Sep 6];64. Available from: [http://www.readcube.com/articles/10.1016/S0009-9236\(98\)90053-4](http://www.readcube.com/articles/10.1016/S0009-9236(98)90053-4)
12. Comets E, Brendel K, Mentré F. Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models: The npde add-on package for R. *Comput Methods Programs Biomed*. 2008 May;90(2):154–66.
13. Seymour, C.W., Liu, V.X., Iwashyna, T.J., Brunkhorst, F.M., Rea, T.D., Scherag, A., et al. (2016). Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315: 762–774.

Figure legends

Figure 1. Observed mean fludrocortisone plasma concentration profiles for each tested dose.

Figure 2. Evolutions with time of MBP according to the fludrocortisone dose.

Figure 3. Visual predictive check for fludrocortisone pharmacokinetic model according to the fludrocortisone dose.

Figure 4. Visual predictive check for fludrocortisone pharmacokinetic-pharmacodynamic model according to the fludrocortisone dose.

Figure S1. Goodness-of-fit plots of the fludrocortisone pharmacokinetic model.

Figure S2. Goodness-of-fit plots of the fludrocortisone pharmacokinetic-pharmacodynamic model.

Figure 1.

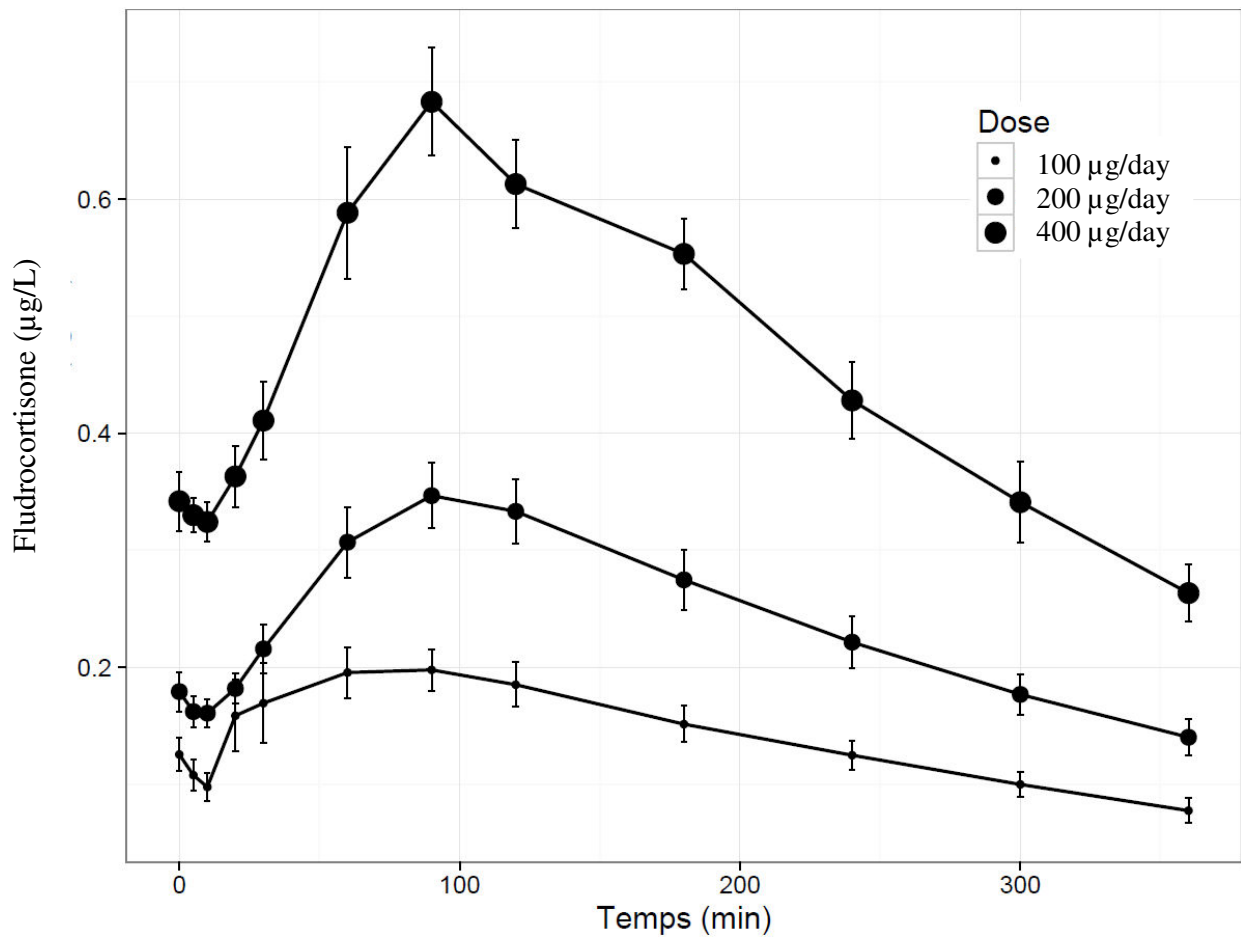


Figure 2.

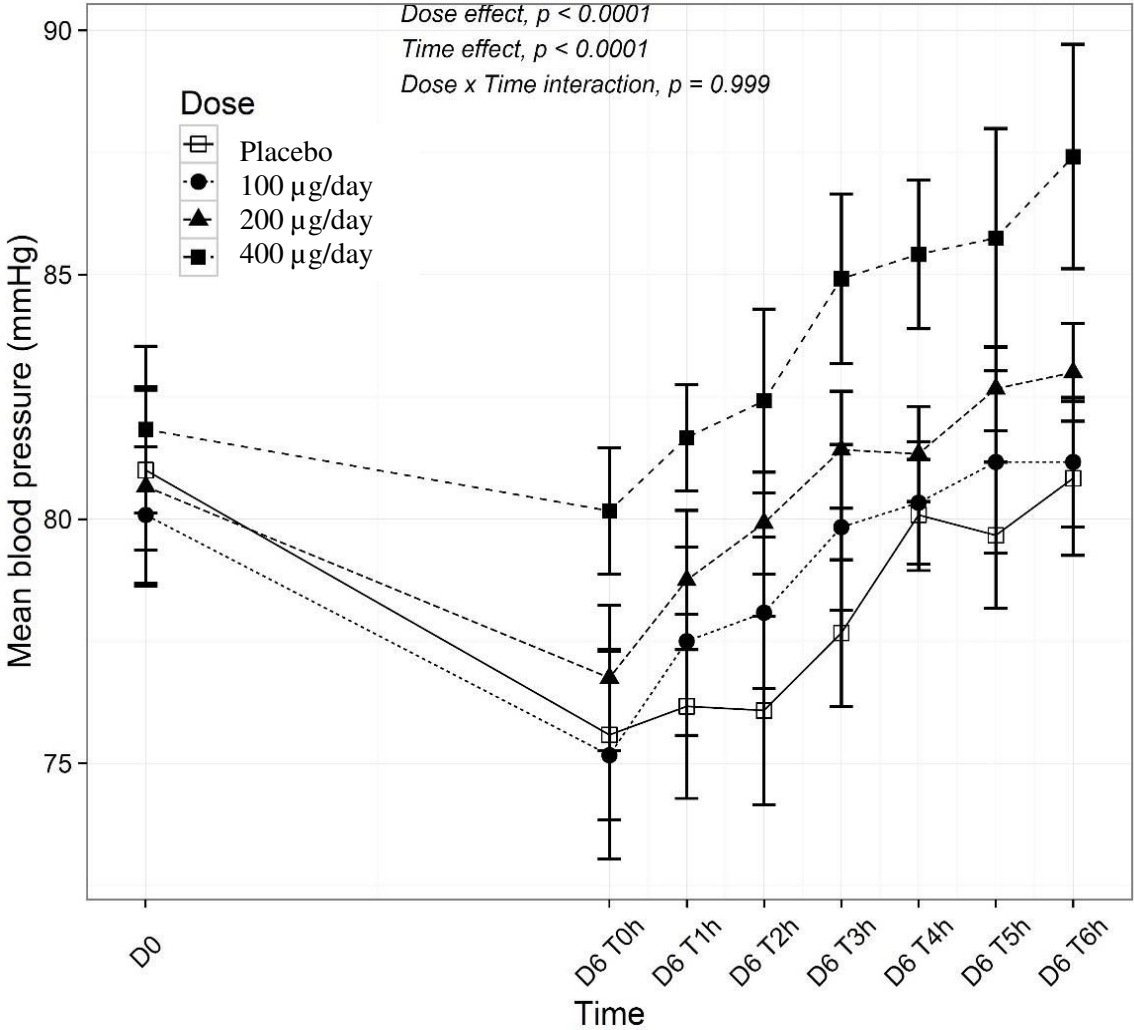


Figure 3.

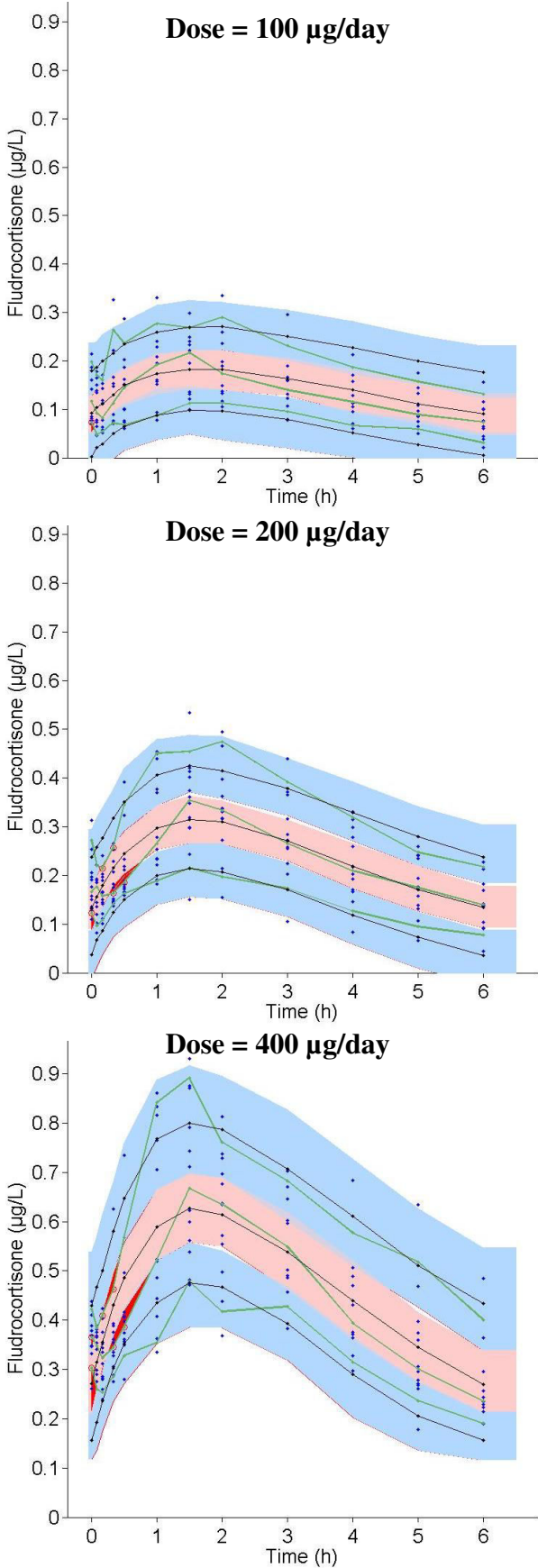


Figure 4.

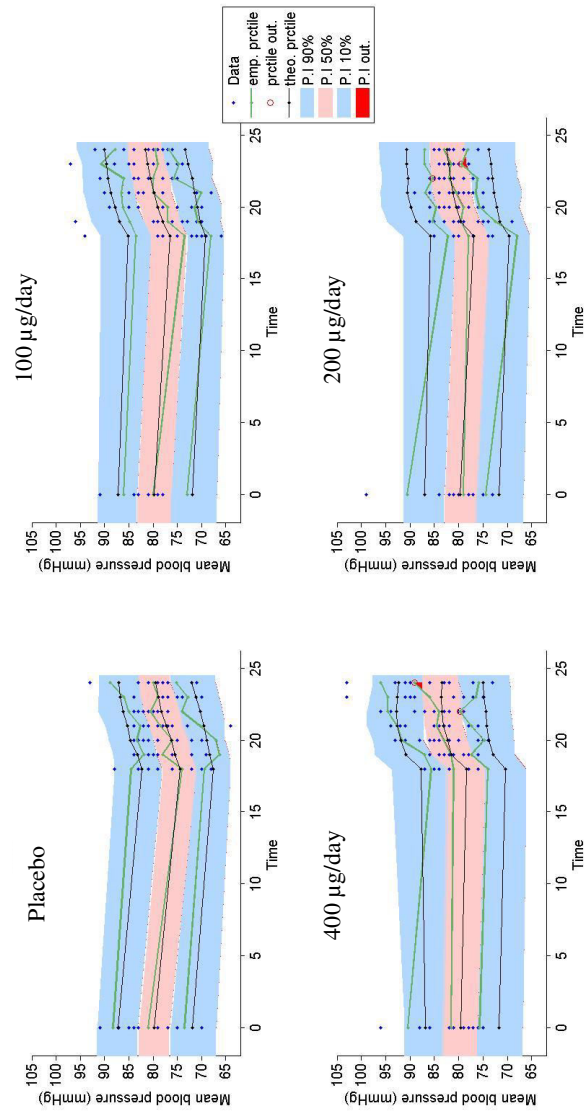


Figure S1.

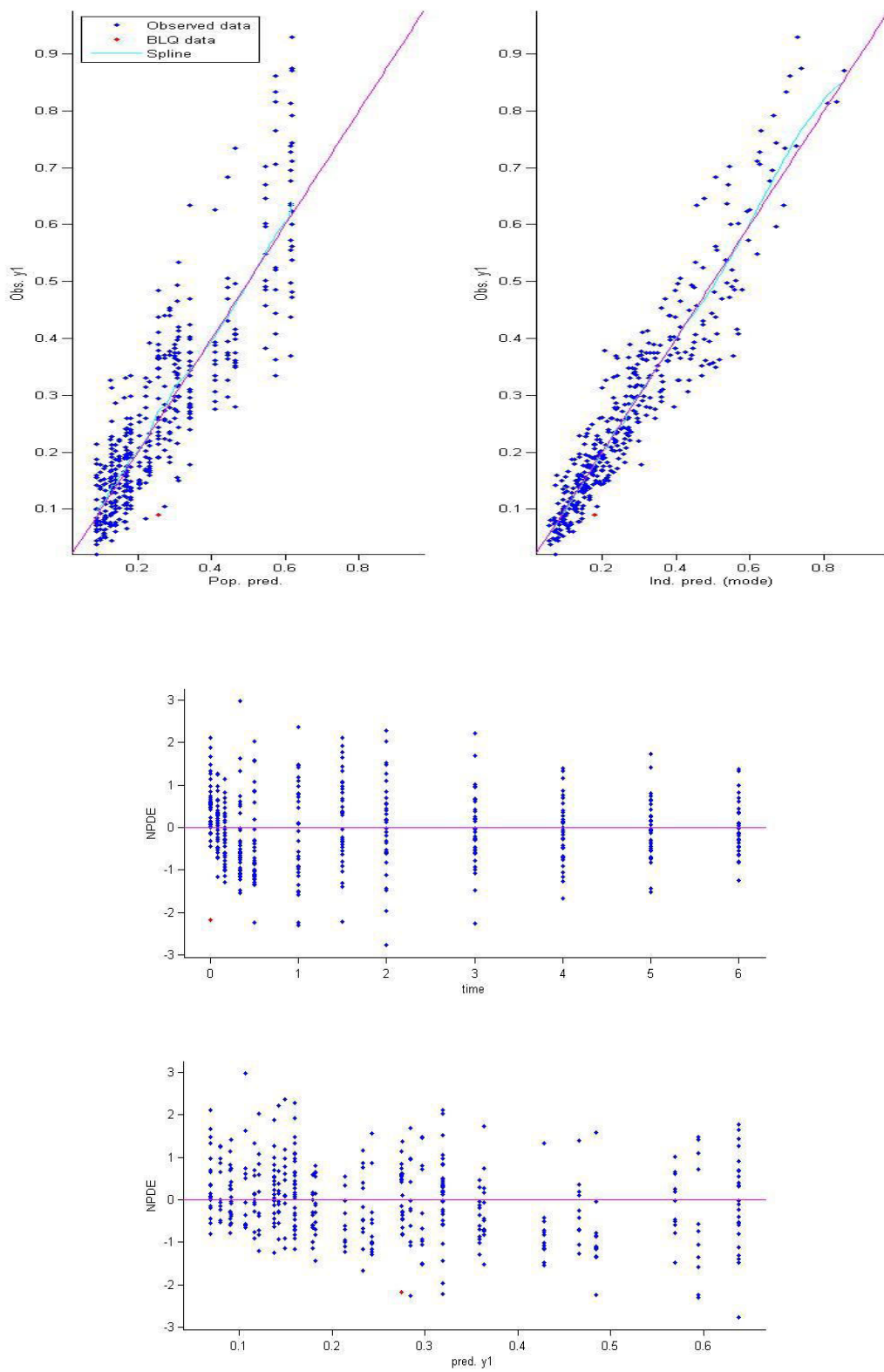


Figure S2.

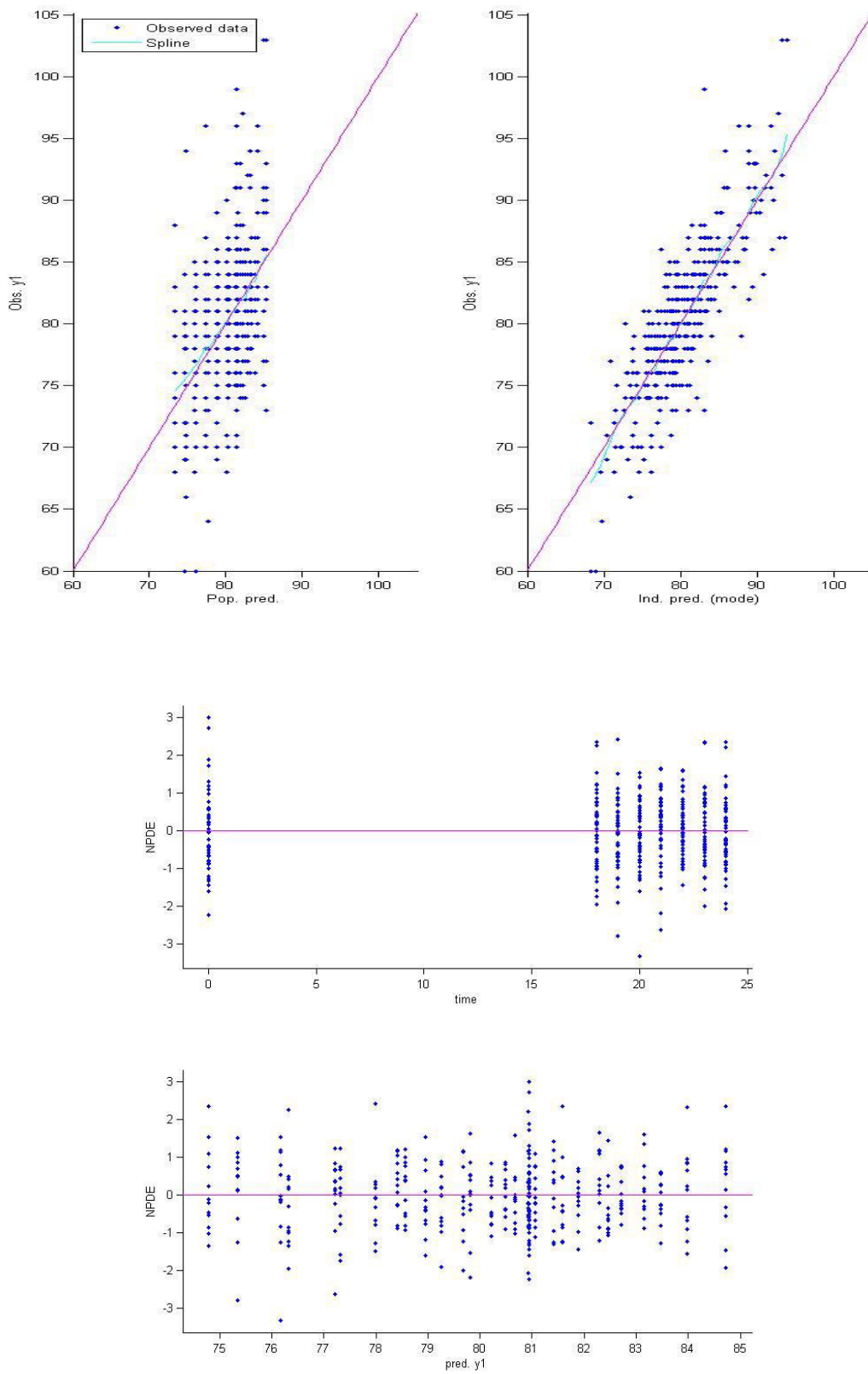


Table I. Parameter estimates from the final pharmacokinetic model for oral fludrocortisone

Parameter	Description	Estimate	RSE %	CI _{95%}
Fixed effects				
k_a (hr ⁻¹)	Absorption rate constant	0.59	17	
V_d/F (L)	Apparent volume of distribution	94.9	11	
CL/F (L/hr)	Apparent Clearance	33.8	5	
Interindividual variability (SD %)				
ω (k_a)		32	37	
ω (V_d/F)		0	-	
ω (CL/F)		14	36	
Inter-occasion variability (SD %)				
γ (k_a)		31	32	
γ (CL/F)		17	18	
Residual variability (variance)				
σ_{add}		0.06	4	
T_{1/2} (hr)	Time to plasma half-life	1.94	-	[1.46 ; 2.52]

RSE, Relative Standard Error; SD, Standard Deviation; CI_{95%}, Confidence Interval of 95%;

σ_{add} , variance parameter of additive residual model as follow:

$$C_{observed,ij} = C_{predicted,ij} + \epsilon_{add,ij} \text{ with } \epsilon_{add} \sim N(0, \sigma_{add})$$

Table II. Parameter estimates from the final pharmacodynamic model

Parameter	Description	Estimate	RSE%
Fixed effects			
MESOR (mmHg)	Rhythm-adjusted 24-h mean MBP	79.4	2
Amp (mmHg)	Amplitude of the cosine	4.87	17
<i>hor</i> (h)	Shift of the cosine	16.8	7
E_{max}	Maximum effect	9.4% (7.46 mmHg)	19
EC_{50} ($\mu\text{g/L}$)	Fludrocortisone concentration producing 50% of E_{max}	0.268	18
h	Steepness of the concentration-effect relationship	1 fixed	-
Interindividual variability (SD %)			
ω (MESOR)		4.73	22
ω (Amp)		19.7	63
ω (<i>hor</i>)		0 fixed	-
ω (E_{max})		51.4	29
ω (EC_{50})		34.6	45
Residual variability (variance)			
σ_{prop}		0.046	4

RSE, Relative Standard Error; SD, Standard Deviation; σ_{prop} , variance parameter of proportional residual model as follow:

$$C_{observed,ij} = C_{predicted,ij} * (1 + \epsilon_{prop,ij}) \text{ with } \epsilon_{add} \sim N(0, \sigma_{add})$$

Discussion

Dans le cadre de cette thèse nous avons étudié la PK et la relation concentration-effet de la fludrocortisone selon une approche de population. Il s'agit d'une réelle démarche de recherche translationnelle dont le but est de sélectionner la posologie efficace de la fludrocortisone en termes de dose et de schéma d'administration pouvant éventuellement être testée chez les patients en choc septique.

Les recommandations actuelles préconisent l'emploi de l'hydrocortisone seule dans le traitement du choc septique réfractaire au remplissage vasculaire et aux catécholamines (Dellinger et al., 2013). Cependant, aucune recommandation n'est actuellement disponible concernant la fludrocortisone dans cette indication. Des résultats en faveur d'un bénéfice sur la survie des patients ont pourtant été rapportés avec l'association fludrocortisone + hydrocortisone et pas avec l'hydrocortisone seule (Annane et al., 2002; Sprung et al., 2008). Ces constatations nous ont donc conduits tout naturellement à réévaluer les effets spécifiques de la fludrocortisone et à rechercher une posologie qui pourrait être efficace.

Par conséquent, avant une éventuelle évaluation de la fludrocortisone chez les patients en choc septique, il était question ici tout d'abord d'étudier la PK et la relation PK-PD de molécule chez le volontaire sain et la PK chez le patient en choc septique. L'évaluation des effets de la molécule a été réalisée en utilisant des critères intermédiaires hémodynamiques tels que la pression artérielle et la réactivité vasculaire et biologiques comme le rapport Na/K urinaire (effet minéralocorticoïde).

Brièvement comme résultats importants, nous avons observé une demi-vie plasmatique courte de la fludrocortisone orale que ce soit chez les volontaires sains ou chez les patients en choc septique et une PK très variable notamment chez les patients. De plus, une variabilité importante sur l'effet minéralocorticoïde de la fludrocortisone était également constatée chez les volontaires sains. Ces résultats suggéreraient de revoir la posologie et très probablement aussi la voie d'administration de cette molécule.

Toujours chez le volontaire sain et en s'inspirant des résultats des simulations de la première étude, un schéma d'administration de la fludrocortisone 4 fois par jours pendant 5 jours a été testé. Il a été montré que seule la dose de 400 µg/jour entraînait une augmentation significative de la réponse pressive à la phényléphrine. Ces derniers résultats confirmeraient donc d'une part,

l'effet potentiellement bénéfique que pourrait avoir cette molécule dans le choc septique en augmentant la pression artérielle et d'autre part, la nécessité de revoir comme cela a été évoqué la posologie de la molécule.

Les travaux réalisés dans le cadre de ma thèse constituent la continuité des recherches initiées par notre équipe « Prévention et traitement du sepsis » du CIC-Inserm 1414 de Rennes sur l'intérêt des corticoïdes dans le choc septique et sur la place de la fludrocortisone en particulier dans cette indication. Le point de départ de ces recherches était la publication en 2002 d'une étude ayant montré une amélioration significative de la survie chez des patients en choc septique traités par l'association fludrocortisone + hydrocortisone (Annane et al., 2002). Deux autres études réalisées quelques années plus tard avaient montré des résultats différents. La première réalisée chez des patients en sepsis sévère et en choc septique moins grave n'avait pas montré de bénéfice sur la survie avec l'hydrocortisone seule (Sprung et al., 2008). La deuxième étude malgré qu'elle ait été réalisée chez des patients comparables à ceux inclus dans l'étude de 2002 n'avait cependant pas montré de bénéfice additionnel sur la survie avec l'association hydrocortisone + fludrocortisone comparée à l'hydrocortisone seule (Annane et al., 2010). Ces résultats contradictoires n'ont pas permis de statuer sur un éventuel bénéfice de la fludrocortisone chez ces patients pour deux raisons principales. Premièrement, les effets propres de la fludrocortisone seule dans le choc septique n'ont pas été explorés, et deuxièmement, la preuve de son passage systémique après administration orale n'a jamais été établie. Par conséquent, l'intérêt de la fludrocortisone dans le traitement du choc septique restait encore discuté.

Notre équipe a alors entrepris la réalisation d'un ensemble de travaux de recherche afin d'évaluer la pharmacologie de la fludrocortisone, seule ou en association avec l'hydrocortisone, d'abord chez le patient en choc septique, puis chez le volontaire sain, et enfin chez le rat en choc endotoxinique. Chez le patient en choc septique, il s'agissait d'une analyse complémentaire des données biologiques de l'étude de 2002 (Annane et al., 2002). Il a été montré que l'association fludrocortisone + hydrocortisone aux doses utilisées induisait les effets biologiques glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes attendus sans pouvoir distinguer entre les effets propres de chaque molécule (Laviolle et al., 2012) et que ces effets étaient corrélés à une amélioration clinique des patients.

Par la suite, une étude chez le volontaire sain a été réalisée testant la fludrocortisone et d'hydrocortisone seules ou en association avec les mêmes doses unitaires (respectivement 50 µg et 50 mg) et les mêmes voies d'administration (respectivement voie orale et intraveineuse)

que chez le malade (Laviolle et al., 2010). L'objectif était de déterminer les effets propres de chaque molécule administrée seule ou en association. Les sujets ont été placés en hypoaldostéronisme à l'aide d'une perfusion suffisante de sérum physiologique afin de reproduire les conditions d'insuffisance surrénale relative rencontrée dans le choc septique. Cette étude avait montré que les deux molécules avaient des effets minéralocorticoïdes (évalués sur le rapport Na/K urinaire et la fraction excrétée du Na) lesquels étaient plus précoces et plus marqués avec l'hydrocortisone qu'avec la fludrocortisone. L'hydrocortisone avait montré par ailleurs des effets hémodynamiques non observés avec la fludrocortisone seule. Ces résultats suggéraient de revoir la dose de fludrocortisone à utiliser pour obtenir des effets biologiques et hémodynamiques significatifs et stables. Toutefois, la recherche de la dose efficace implique une connaissance précise de la pharmacocinétique et de la relation concentration-effet de la molécule. Chose qui n'était alors pas envisageable en raison de l'absence d'une méthode de dosage permettant la mesure des faibles concentrations plasmatiques de fludrocortisone. La mise au point ultérieure d'une méthode de dosage sensible permettant d'effectuer de telles mesures, nous a permis de réaliser ici une étude complémentaire de modélisation PK-PD chez ces volontaires sains.

Par ailleurs, dans une étude complémentaire chez ces mêmes sujets sains, il a été mis en évidence une diminution inattendue de la réactivité vasculaire à la phényléphrine aussi bien avec l'hydrocortisone qu'avec la fludrocortisone 1h30 après l'administration des traitements, avec un effet additif des deux molécules, suggérant un effet vasodilatateur rapide non génomique des deux corticoïdes après la perfusion du sérum physiologique (Laviolle et al., 2013). Ces résultats discordants avec ceux rapportés chez les malades avec l'hydrocortisone, où une augmentation de la réponse pressive à la phényléphrine (Bellissant and Annane, 2000) et à la noradrénaline (Annane et al., 1998) avaient été observées, étaient expliqués par des conditions expérimentales différentes (volontaires sains, remplissage vasculaire et hypoaldostéronisme). En revanche, dans notre récente étude chez le volontaire sain en conditions normales (i.e. sans hypoaldostéronisme) et après imprégnation de fludrocortisone de 5 jours (délai ayant déjà permis d'objectiver les effets hémodynamiques et biologiques de la fludrocortisone chez les patients), nous avons retrouvé l'augmentation attendue de la réactivité vasculaire mais avec des doses supérieures à celles précédemment utilisées (400 µg/jour).

Enfin une dernière étude a été réalisée sur un modèle de rat en choc endotoxinique dans le but d'expliquer les différences observées entre les malades et les volontaires sains, notamment concernant la réactivité vasculaire (Laviolle et al., 2014). Là aussi il était question d'évaluer les

effets d'une administration unique de chacune des deux molécules seule ou associée sur la pression artérielle et la réactivité vasculaire ex vivo à la phényléphrine chez des rats normaux et en choc endotoxinique. Deux doses de chacune des deux molécules ont été testées. Les deux molécules avaient induit une augmentation similaire de la pression artérielle avec un effet plus important chez les animaux en choc sans effet dose. Les deux molécules avaient également induit une augmentation similaire de la réactivité vasculaire évaluée sur l'artère mésentérique ex vivo uniquement avec les doses les plus élevées confirmant ainsi les observations faites chez les malades (Annane et al., 1998; Bellissant and Annane, 2000). Cependant, avec les doses les plus faibles, l'hydrocortisone avait entraîné plutôt une diminution de la réactivité vasculaire chez les animaux normaux et n'avait pas d'effet chez les animaux en choc et la fludrocortisone n'avait pas montré d'effet significatif. Les effets observés avec ces faibles doses étaient donc comparables à ceux observés chez les volontaires sains. Ces résultats d'une part ne remettaient donc pas en cause l'effet vasoconstricteur des corticoïdes rapporté chez les patients en choc septique et confirmaient d'autre part que cet effet variait selon les conditions expérimentales et selon la dose testée.

Les premières données analysées dans le cadre de cette thèse proviennent de l'étude réalisée chez des volontaires sains (étude AFLUCO2) dont une partie des résultats était publiée en 2010 (Laviolle et al., 2010). Il s'agissait donc d'une analyse complémentaire de ces données dans l'objectif était de caractériser la PK et la relation concentration-effet de la fludrocortisone seule ou en association avec l'hydrocortisone (Article publié 1). La fludrocortisone orale avait montré une demi-vie plasmatique courte (1.4 h [0.80; 2.10]) semblable à celle de l'hydrocortisone (2.1 h [1.78; 2.40]). Cependant, une variabilité beaucoup plus importante au niveau des concentrations plasmatiques était observée avec la fludrocortisone, due probablement à la différence au niveau des voies d'administration des deux molécules.

Concernant l'effet pharmacodynamique, la fludrocortisone a montré une puissance de l'effet minéralocorticoïde environ 200 fois supérieure à celle de l'hydrocortisone (en comparant les IC_{50} des deux molécules) suggérant son intérêt potentiel. En effet, une étude expérimentale publiée récemment sur un modèle murin de choc endotoxinique, a montré que la stimulation des récepteurs minéralocorticoïdes localisés au niveau vasculaire par l'intermédiaire de l'aldostérone (équivalent naturel de la fludrocortisone) serait responsable de la restauration de l'expression des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques (Fadel et al., 2017). Ce mécanisme aurait donc

pour effet de rétablir la sensibilité vasculaire aux catécholamines endogènes et/ou exogènes et par conséquent, la pression artérielle altérées dans le choc septique.

Par ailleurs, comme pour la PK, une variabilité plus importante s'observait également au niveau de l'effet pharmacodynamique de la fludrocortisone comparée à l'hydrocortisone.

Les résultats de cette première étude suggéreraient la nécessité d'administrer la fludrocortisone par voie intraveineuse afin de réduire les variabilités. En outre, un changement de régime d'administration quatre fois par jour au lieu d'une fois par jour semblerait également être indispensable au vu des résultats des simulations. Toutefois, ces derniers nécessitent d'être confirmés dans un autre essai chez le volontaire sain avec une administration répétée des doses de fludrocortisone.

La deuxième étude réalisée dans le cadre de cette thèse consistait à analyser les données PK recueillies chez des patients en choc septique (Article publié 2). La fludrocortisone dans cette étude a été administrée par voie orale en dose unique associée à l'hydrocortisone intraveineuse toutes les six heures. Les résultats de l'analyse avaient montré que 1/3 des patients traités par la fludrocortisone présentaient des concentrations plasmatiques indétectables de cette molécule. Il a été conclu que ces patients n'absorbaient pas correctement la fludrocortisone administrée par voie orale dû probablement à leur état de santé et à la prise concomitante d'un inhibiteur de la pompe à protons. En effet, le choc septique s'accompagne comme cela a été montré (Reilly et al., 2001) d'une altération des débits de perfusion hépato-splanchniques qui pourrait être à l'origine d'une baisse de la biodisponibilité par voie orale de la molécule. En parallèle à cela, les 2/3 des patients restants montraient des concentrations plasmatiques détectables mais les profils PK résultants demeuraient néanmoins très variables entre les individus de ce groupe. Il est intéressant de noter que cette variabilité était par ailleurs beaucoup plus importante que celle observée chez les volontaires sains. Enfin, un délai (Tlag) entre le moment de l'administration et l'apparition des concentrations plasmatiques de la fludrocortisone était observé chez ces patients. Comparativement, ce délai n'était pas retrouvé chez les volontaires sains.

L'ensemble de ces observations laisse supposer que les résultats discordants obtenus lors des études de morbi-mortalité avec la dose de 50 µg (Annane et al., 2002; Sprung et al., 2008; COITSS Study Investigators et al., 2010) étaient liés probablement à une absorption insuffisante et qu'il est aujourd'hui indispensable de reconsidérer à la fois la dose et la voie d'administration de la fludrocortisone dans le choc septique.

Concernant les effets pharmacodynamiques chez ces patients, des données complètes permettant une caractérisation de la relation concentration-effet de la molécule n'étaient malheureusement pas disponibles dans cette étude. Toutefois, étant donné le plan expérimental qui associait systématiquement la fludrocortisone à l'hydrocortisone, il n'aurait de tout façon pas été possible là aussi de déterminer la part respective de chaque molécule dans les effets observés.

La troisième étude conduite dans le cadre de cette thèse (étude AFLUCO4) a été réalisée de nouveau chez des volontaires sains en s'inspirant des résultats de la première étude (simulations). Son objectif principal était d'évaluer les effets de 3 doses croissantes de fludrocortisone en administration répétée 4 fois par jour (100, 200 et 400 µg/jour) afin de déterminer la posologie produisant la meilleure réponse pressive à l'administration de phényléphrine (Article 3). Les objectifs secondaires étaient de caractériser la PK et d'évaluer les effets hémodynamiques systémiques induits par les 3 doses testées (Article 4). Contrairement à la première étude, les effets ici ont été étudiés à l'état d'équilibre des concentrations plasmatiques de fludrocortisone après 5 jours d'administration répétée (délai ayant déjà permis d'objectiver les effets hémodynamiques et biologiques de la fludrocortisone chez les patients en choc septique).

Concernant l'objectif principal de cette étude, nous avons montré pour la première fois que la fludrocortisone à la dose de 400 µg par jour, permettait d'améliorer de façon significative la réponse pressive à la phényléphrine chez des sujets sains. Ces résultats confirment d'autre part les observations rapportées chez le rat en choc endotoxinique où il a été testé l'effet de deux doses d'hydrocortisone et de fludrocortisone sur la pression artérielle et sur la réactivité vasculaire à la phényléphrine d'anneaux d'artère mésentérique in vitro (Laviolle et al., 2014). Il a été montré notamment que les deux molécules induisaient une augmentation significative de la pression artérielle et de la réponse contractile à la phényléphrine mais seulement avec la dose la plus élevée.

Par ailleurs, les paramètres PK de la fludrocortisone estimés dans cette étude étaient semblables à ceux retrouvés précédemment après administration unique. La demi-vie été également proche de celle retrouvée dans la première étude (1.4 h dans la première étude et 1.94 h dans la seconde) confirmant ainsi nos précédents résultats.

Sur le plan pharmacodynamique, la fludrocortisone a induit une augmentation attendue de la pression artérielle moyenne qui était beaucoup plus intense avec la dose de 400 µg/jour. Enfin,

il est intéressant de noter que cet effet hémodynamique a été obtenu sans adjonction de catécholamines et sans remplissage vasculaire.

Conclusion

Chez les volontaires sains en administration unique ou répétée, la fludrocortisone orale a montré une demi-vie courte et proche de celle de l'hydrocortisone intraveineuse. Cependant, elle a montré plus de variabilité interindividuelle à la fois au niveau des concentrations plasmatiques et de ses effets. Ces observations combinées aux résultats des simulations suggèrent de reconsidérer le régime d'administration de la fludrocortisone (4 \times /jour au lieu de 1 \times /jour) et probablement aussi la voie d'administration. Une voie intraveineuse permettrait en effet de réduire cette variabilité notamment en vue d'une utilisation future chez les patients en choc septique.

Chez les patients en choc septique, l'administration orale de fludrocortisone a montré que 30% environ des patients traités n'absorbaient pas ou très peu, pour être détectable, la molécule. Chez les patients restants (2/3), une demi-vie plasmatique courte et une forte variabilité interindividuelle ont été retrouvées. Compte tenu de ces observations, il semblerait encore une fois que la mise au point d'une forme intraveineuse de la fludrocortisone serait nécessaire afin de réduire la variabilité au niveau des profils PK chez les patients en choc septique.

Enfin, chez les volontaires sains après une administration répétée durant 5 jours, la fludrocortisone a montré une amélioration significative de la réponse pressive à la phényléphrine uniquement avec la dose de 400 μ g/jour (100 μ g \times 4 par jour) avec une augmentation consécutive de la pression artérielle sans pour autant altérer la fonction cardiaque. La fludrocortisone a montré par ailleurs sans une supplémentation en phényléphrine et sans remplissage vasculaire une augmentation significative de la pression artérielle moyenne notamment avec la dose de 400 μ g/jour.

En somme, compte tenu de nos résultats, une évaluation de la fludrocortisone chez les patients en choc septique pourrait éventuellement être envisageable et la posologie optimale pouvant être testée serait de 400 μ g/ jour (100 μ g 4 fois par jour) idéalement par voie intraveineuse. La forme intraveineuse étant actuellement non disponible chez l'homme.

Références

- Angus, D.C., Linde-Zwirble, W.T., Lidicker, J., Clermont, G., Carcillo, J., and Pinsky, M.R. (2001). Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit. Care Med.* 29: 1303–1310.
- Annane, D. (2010). Corticosteroid Treatment and Intensive Insulin Therapy for Septic Shock in Adults: A Randomized Controlled Trial. *JAMA* 303: 341–348.
- Annane, D., Bellissant, E., Bollaert, P.-E., Briegel, J., Confalonieri, M., Gaudio, R.D., et al. (2009). Corticosteroids in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock in Adults: A Systematic Review. *JAMA* 301: 2362–2375.
- Annane, D., Bellissant, E., Bollaert, P.E., Briegel, J., Keh, D., and Kupfer, Y. (2004). Corticosteroids for severe sepsis and septic shock: a systematic review and meta-analysis. *BMJ* 329: 480.
- Annane, D., Bellissant, E., Bollaert, P.E., Briegel, J., Keh, D., and Kupfer, Y. (2015). Corticosteroids for treating sepsis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 12: CD002243.
- Annane, D., Bellissant, E., and Cavaillon, J.-M. (2005). Septic shock. *The Lancet* 365: 63–78.
- Annane, D., Bellissant, E., Sebille, V., Lesieur, O., Mathieu, B., Raphael, J., et al. (1998). Impaired pressor sensitivity to noradrenaline in septic shock patients with and without impaired adrenal function reserve. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 46: 589–597.
- Annane, D., Maxime, V., Ibrahim, F., Alvarez, J.C., Abe, E., and Boudou, P. (2006). Diagnosis of adrenal insufficiency in severe sepsis and septic shock. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 174: 1319–1326.
- Annane, D., Sébille, V., Charpentier, C., Bollaert, P.-E., François, B., Korach, J.-M., et al. (2002). Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 288: 862–871.
- Annane, D., and Sharshar, T. (2015). Cognitive decline after sepsis. *Lancet Respir. Med.* 3: 61–69.
- Arlt, W., and Allolio, B. (2003). Adrenal insufficiency. *The Lancet* 361: 1881–1893.
- Bailey, J.M., Makheja, A.N., Pash, J., and Verma, M. (1988). Corticosteroids suppress cyclooxygenase messenger RNA levels and prostanoid synthesis in cultured vascular cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157: 1159–1163.

- Banda, J., Lakshmanan, R., Vvs, S.P., Gudla, S.P., and Prudhivi, R. (2015). A highly sensitive method for the quantification of fludrocortisone in human plasma using ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and its pharmacokinetic application. *Biomed. Chromatogr.* 29: 1213–1219.
- Bateman, R.M., Sharpe, M.D., and Ellis, C.G. (2003). Bench-to-bedside review: Microvascular dysfunction in sepsis –hemodynamics, oxygen transport, and nitric oxide. *Crit. Care* 7: 359–373.
- Bauer, R.J., Guzy, S., and Ng, C. (2007). A survey of population analysis methods and software for complex pharmacokinetic and pharmacodynamic models with examples. *AAPS J.* 9: E60.
- Beal, S.L. (2001). Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 28: 481–504.
- Becker, K.L. (2001). *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism* (Lippincott Williams & Wilkins).
- Bellissant, E., and Annane, D. (2000). Effect of hydrocortisone on phenylephrine– mean arterial pressure dose-response relationship in septic shock. *Clin. Pharmacol. Ther.* 68: 293–303.
- Bone, R.C., Balk, R.A., Cerra, F.B., Dellinger, R.P., Fein, A.M., Knaus, W.A., et al. (1992). Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* 101: 1644–1655.
- Briegel, J., Kellermann, W., Forst, H., Haller, M., Bittl, M., Hoffmann, G.E., et al. (1994). Low-dose hydrocortisone infusion attenuates the systemic inflammatory response syndrome. The Phospholipase A2 Study Group. *Clin. Investig.* 72: 782–787.
- Bucher, M., Kees, F., Taeger, K., and Kurtz, A. (2003). Cytokines down-regulate α 1-adrenergic receptor expression during endotoxemia. *Crit. Care Med.* 31: 566–571.
- Cat, A.N.D., Griol-Charhbili, V., Loufrani, L., Labat, C., Benjamin, L., Farman, N., et al. (2010). The endothelial mineralocorticoid receptor regulates vasoconstrictor tone and blood pressure. *FASEB J.* 24: 2454–2463.
- Chan, P.L.S., Jacqmin, P., Lavielle, M., McFadyen, L., and Weatherley, B. (2011). The use of the SAEM algorithm in MONOLIX software for estimation of population pharmacokinetic-pharmacodynamic-viral dynamics parameters of maraviroc in asymptomatic HIV subjects. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 38: 41–61.
- Charloux, A., Lonsdorfer-Wolf, E., Richard, R., Lampert, E., Oswald-Mammosser, M., Mettauer, B., et al. (2000). A new impedance cardiograph device for the non-invasive

evaluation of cardiac output at rest and during exercise: comparison with the 'direct' Fick method. *Eur. J. Appl. Physiol.* 82: 313–320.

- Cohen, J. (2002). The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 420: 885–891.
- COITSS Study Investigators, Annane, D., Cariou, A., Maxime, V., Azoulay, E., D'honneur, G., et al. (2010). Corticosteroid treatment and intensive insulin therapy for septic shock in adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 303: 341–348.
- Comets, E., Brendel, K., and Mentré, F. (2008). Computing normalised prediction distribution errors to evaluate nonlinear mixed-effect models: The npde add-on package for R. *Comput. Methods Programs Biomed.* 90: 154–166.
- Confalonieri, M., Urbino, R., Potena, A., Piattella, M., Parigi, P., Puccio, G., et al. (2005). Hydrocortisone Infusion for Severe Community-acquired Pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 171: 242–248.
- Cornélie, S., Wiel, E., Lund, N., Lebuffe, G., Vendeville, C., Riveau, G., et al. (2002). Cytosine-phosphate-guanine (CpG) motifs are sensitizing agents for lipopolysaccharide in toxic shock model. *Intensive Care Med.* 28: 1340–1347.
- Cronin, L., Cook, D.J., Carlet, J., Heyland, D.K., King, D., Lansang, M.A., et al. (1995). Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit. Care Med.* 23: 1430–1439.
- Daughaday, W.H. (1956). BINDING OF CORTICOSTEROIDS BY PLASMA PROTEINS. II. PAPER ELECTROPHORESIS AND EQUILIBRIUM PAPER ELECTROPHORESIS 12. *J. Clin. Invest.* 35: 1434–1438.
- Dayneka, N.L., Garg, V., and Jusko, W.J. (1993). Comparison of four basic models of indirect pharmacodynamic responses. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 21: 457–478.
- Dellinger, R.P., Levy, M.M., Rhodes, A., Annane, D., Gerlach, H., Opal, S.M., et al. (2013). Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive Care Med.* 39: 165–228.
- Derendorf, H., Hochhaus, G., Meibohm, B., Möllmann, H., and Barth, J. (1998). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of inhaled corticosteroids. *J. Allergy Clin. Immunol.* 101: S440–S446.
- Druce, L.A., Thorpe, C.M., and Wilton, A. (2008). Mineralocorticoid effects due to cortisol inactivation overload explain the beneficial use of hydrocortisone in septic shock. *Med. Hypotheses* 70: 56–60.

- Fadel, F., André-Grégoire, G., Gravez, B., Bauvois, B., Bouchet, S., Sierra-Ramos, C., et al. (2017). Aldosterone and Vascular Mineralocorticoid Receptors in Murine Endotoxic and Human Septic Shock. *Crit. Care Med.*
- Fleischmann, C., Scherag, A., Adhikari, N.K.J., Hartog, C.S., Tsaganos, T., Schlattmann, P., et al. (2016). Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* *193*: 259–272.
- Gaieski, D.F., Edwards, J.M., Kallan, M.J., and Carr, B.G. (2013). Benchmarking the incidence and mortality of severe sepsis in the United States. *Crit. Care Med.* *41*: 1167–1174.
- Gonda, Y., Hirata, S., Saitoh, K., Aoki, Y., Mohri, M., Gomi, K., et al. (1993). Antithrombotic effect of recombinant human soluble thrombomodulin on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Res.* *71*: 325–335.
- Group, T.E.S. (2004). EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med.* *30*: 580–588.
- Hamitouche, N., Comets, E., Ribot, M., Alvarez, J.-C., Bellissant, E., and Laviolle, B. (2017). Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model of Oral Fludrocortisone and Intravenous Hydrocortisone in Healthy Volunteers. *AAPS J.* *19*: 727–735.
- Hardy, R., Rabbitt, E.H., Filer, A., Emery, P., Hewison, M., Stewart, P.M., et al. (2008). Local and systemic glucocorticoid metabolism in inflammatory arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* *67*: 1204–1210.
- Hebbbar, K.B., Stockwell, J.A., and Fortenberry, J.D. (2011). Clinical effects of adding fludrocortisone to a hydrocortisone-based shock protocol in hypotensive critically ill children. *Intensive Care Med.* *37*: 518–524.
- Hempel, G., Karlsson, M.O., Alwis, D.P., Toubanc, N., McNay, J., and Schaefer, H.G. (1998). Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of moxonidine using 24-hour ambulatory blood pressure measurements. *Clin. Pharmacol. Ther.* *64*:
- Hicks, C.W., Sweeney, D.A., Danner, R.L., Eichacker, P.Q., Suffredini, A.F., Feng, J., et al. (2012). Efficacy of selective mineralocorticoid and glucocorticoid agonists in canine septic shock. *Crit. Care Med.* *40*:
- Iwashyna, T.J., Cooke, C.R., Wunsch, H., and Kahn, J.M. (2012). Population burden of long-term survivorship after severe sepsis in older Americans. *J. Am. Geriatr. Soc.* *60*: 1070–1077.

- Iwashyna, T.J., Ely, E.W., Smith, D.M., and Langa, K.M. (2010). Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *JAMA* 304: 1787–1794.
- Keh, D., Boehnke, T., Weber-Cartens, S., Schulz, C., Ahlers, O., Bercker, S., et al. (2003). Immunologic and Hemodynamic Effects of ‘Low-Dose’ Hydrocortisone in Septic Shock. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 167: 512–520.
- Laviolle, B., Annane, D., Fougerou, C., and Bellissant, E. (2012). Gluco- and mineralocorticoid biological effects of a 7-day treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone in septic shock. *Intensive Care Med.* 38: 1306–1314.
- Laviolle, B., Donal, E., Le Maguet, P., Lainé, F., and Bellissant, E. (2013). Low doses of fludrocortisone and hydrocortisone, alone or in combination, on vascular responsiveness to phenylephrine in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 75: 423–430.
- Laviolle, B., Le Maguet, P., Verdier, M.-C., Massart, C., Donal, E., Lainé, F., et al. (2010). Biological and Hemodynamic Effects of Low Doses of Fludrocortisone and Hydrocortisone, Alone or in Combination, in Healthy Volunteers With Hypoaldosteronism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 88: 183–190.
- Laviolle, B., Nesseler, N., Massart, C., and Bellissant, E. (2014). Fludrocortisone and hydrocortisone, alone or in combination, on in vivo hemodynamics and in vitro vascular reactivity in normal and endotoxemic rats: a randomized factorial design study. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 63: 488–496.
- Lefering, R., and Neugebauer, E.A. (1995). Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis. *Crit. Care Med.* 23: 1294–1303.
- Levy, M.M., Fink, M.P., Marshall, J.C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., et al. (2003). 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit. Care Med.* 31: 1250–1256.
- Martin, G.S., Mannino, D.M., Eaton, S., and Moss, M. (2003). The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N. Engl. J. Med.* 348: 1546–1554.
- McGee, S. (2008). Use of Corticosteroids in Treating Infectious Diseases. *Arch. Intern. Med.* 168: 1034.
- Melby, J.C., and Spink, W.W. (1958). Comparative Studies on Adrenal Cortical Function and Cortisol Metabolism in Healthy Adults and in Patients with Shock Due to Infection. *J. Clin. Invest.* 37: 1791–1798.

- Minneci, P.C., Deans, K.J., Eichacker, P.Q., and Natanson, C. (2009). The effects of steroids during sepsis depend on dose and severity of illness: an updated meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* 15: 308–318.
- Mitsky, V.P., Workman, R.J., Nicholson, W.E., Vernikos, J., Robertson, R.M., and Robertson, D. (1994). A sensitive radioimmunoassay for fludrocortisone in human plasma. *Steroids* 59: 555–558.
- Mould, D.R., and Upton, R.N. (2012). Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* 1: e6.
- Mould, D.R., and Upton, R.N. (2013). Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development—Part 2: Introduction to Pharmacokinetic Modeling Methods. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* 2: e38.
- Mukaida, N., Zachariae, C.C., Gusella, G.L., and Matsushima, K. (1991). Dexamethasone inhibits the induction of monocyte chemotactic-activating factor production by IL-1 or tumor necrosis factor. *J. Immunol.* 146: 1212–1215.
- Norman, A.W., Mizwicki, M.T., and Norman, D.P.G. (2004). Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3: 27–41.
- Oelkers, W. (1996). Adrenal insufficiency. *N. Engl. J. Med.* 335: 1206–1212.
- Oelkers, W., Diederich, S., and Bähr, V. (1992). Diagnosis and therapy surveillance in Addison's disease: rapid adrenocorticotropin (ACTH) test and measurement of plasma ACTH, renin activity, and aldosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75: 259–264.
- Oppert, M., Schindler, R., Husung, C., Offermann, K., Gräf, K.-J., Boenisch, O., et al. (2005). Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduces cytokine levels in early hyperdynamic septic shock. *Crit. Care Med.* 33: 2457–2464.
- Pilkis, S., and Granner (1992). Molecular Physiology of the Regulation of Hepatic Gluconeogenesis and Glycolysis. *Annu. Rev. Physiol.* 54: 885–909.
- Polito, A., Hamitouche, N., Ribot, M., Polito, A., Laviolle, B., Bellissant, E., et al. (2016). Pharmacokinetics of oral fludrocortisone in septic shock. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 82: 1509–1516.
- Prigent, H., Maxime, V., and Annane, D. (2004). Science review: Mechanisms of impaired adrenal function in sepsis and molecular actions of glucocorticoids. *Crit. Care* 8: 243–252.

- Radomski, M.W., Palmer, R.M., and Moncada, S. (1990). Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87: 10043–10047.
- Reilly, P.M., Wilkins, K.B., Fuh, K.C., Haglund, U., and Bulkley, G.B. (2001). The mesenteric hemodynamic response to circulatory shock: an overview. *Shock August Ga 15*: 329–343.
- Rhen, T., and Cidlowski, J.A. (2005). Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. *N. Engl. J. Med.* 353: 1711–1723.
- Rhodes, A., Evans, L.E., Alhazzani, W., Levy, M.M., Antonelli, M., Ferrer, R., et al. (2017). Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* 43: 304–377.
- Ribot, M., Polito, A., Grassin-Delyle, S., Annane, D., and Alvarez, J.-C. (2013). Human plasma quantification of fludrocortisone using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after low-dosage administration. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* 420: 109–113.
- Rinaldi, S., Adembri, C., Grechi, S., and De Gaudio, A.R. (2006). Low-dose hydrocortisone during severe sepsis: effects on microalbuminuria. *Crit. Care Med.* 34: 2334–2339.
- Rogerson, F.M., Brennan, F.E., and Fuller, P.J. (2004). Mineralocorticoid receptor binding, structure and function. *Mol. Cell. Endocrinol.* 217: 203–212.
- Rohatagi, S., Bye, A., Falcoz, C., Mackie, A.E., Meibohm, B., Möllmann, H., et al. (1996). Dynamic Modeling of Cortisol Reduction after Inhaled Administration of Fluticasone Propionate. *J. Clin. Pharmacol.* 36: 938–941.
- Rohatagi, S., Bye, A., Mackie, A.E., and Derendorf, H. (1996). Mathematical modeling of cortisol circadian rhythm and cortisol suppression. *Eur. J. Pharm. Sci.* 4: 341–350.
- Rohatagi, S., Täuber, U., Richter, K., and Derendorf, H. (1996). Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling of Cortisol Suppression after Oral Administration of Fluocortolone. *J. Clin. Pharmacol.* 36: 311–314.
- Rothwell, P.M., Udawadia, Z.F., and Lawler, P.G. (1991). Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *The Lancet* 337: 582–583.
- Schmidt, C., Kurt, B., Höcherl, K., and Bucher, M. (2009). Inhibition Of Nf- κ b Activity Prevents Downregulation Of α 1-adrenergic Receptors And Circulatory Failure During Clp-induced Sepsis. *Shock* 32: 239–246.

- Schorderet, M. (1998). *Pharmacologie : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques* 3e édition (Paris: Editions Frison-Roche).
- Seguin, P., Bellissant, E., Le Tulzo, Y., Laviolle, B., Lessard, Y., Thomas, R., et al. (2002). Effects of epinephrine compared with the combination of dobutamine and norepinephrine on gastric perfusion in septic shock. *Clin. Pharmacol. Ther.* *71*: 381–388.
- Seguin, P., Laviolle, B., Guinet, P., Morel, I., Mallédant, Y., and Bellissant, E. (2006). Dopexamine and norepinephrine versus epinephrine on gastric perfusion in patients with septic shock: a randomized study [NCT00134212]. *Crit. Care* *10*: R32.
- Seymour, C.W., Liu, V.X., Iwashyna, T.J., Brunkhorst, F.M., Rea, T.D., Scherag, A., et al. (2016). Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* *315*: 762–774.
- Sheiner, L., and Wakefield, J. (1999). Population modelling in drug development. *Stat. Methods Med. Res.* *8*: 183–193.
- Sheiner, L.B., Rosenberg, B., and Melmon, K.L. (1972). Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput. Biomed. Res. Int. J.* *5*: 411–459.
- Singer, M., Deutschman, C.S., Seymour, C.W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., et al. (2016). The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* *315*: 801–810.
- Sligl, W.I., Milner, D.A., Sundar, S., Mphatswe, W., and Majumdar, S.R. (2009). Safety and efficacy of corticosteroids for the treatment of septic shock: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* *49*: 93–101.
- Sprung, C.L., Annane, D., Keh, D., Moreno, R., Singer, M., Freivogel, K., et al. (2008). Hydrocortisone Therapy for Patients with Septic Shock. *N. Engl. J. Med.* *358*: 111–124.
- Sweetman, S.C. (2009). *Martindale: the complete drug reference* (Pharmaceutical Press).
- Thiemermann, C., Ruetten, H., Wu, C.C., and Vane, J.R. (1995). The multiple organ dysfunction syndrome caused by endotoxin in the rat: attenuation of liver dysfunction by inhibitors of nitric oxide synthase. *Br. J. Pharmacol.* *116*: 2845–2851.
- Upton, R.N., and Mould, D.R. (2014). Basic Concepts in Population Modeling, Simulation, and Model-Based Drug Development: Part 3—Introduction to Pharmacodynamic Modeling Methods. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* *3*: e88.

- Venkatesh, B., Cohen, J., Hickman, I., Nisbet, J., Thomas, P., Ward, G., et al. (2007). Evidence of altered cortisol metabolism in critically ill patients: a prospective study. *Intensive Care Med.* 33: 1746–1753.
- Viengchareun, S., Le Menuet, D., Martinerie, L., Munier, M., Pascual-Le Tallec, L., and Lombès, M. (2007). The mineralocorticoid receptor: insights into its molecular and (patho)physiological biology. *Nucl. Recept. Signal.* 5:.
- Vogt, W., Fischer, I., Ebenroth, S., Appel, S., Knedel, M., Lücker, P.W., et al. (1971). [Pharmacokinetics of 9 -fluorhydrocortisone]. *Arzneimittelforschung.* 21: Suppl:1133-1143.
- Volbeda, M., Wetterslev, J., Gluud, C., Zijlstra, J.G., Horst, I.C.C. van der, and Keus, F. (2015). Glucocorticosteroids for sepsis: systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Intensive Care Med.* 41: 1220–1234.
- Whitworth, J.A., Butkus, A., Coghlan, J.P., Denton, D.A., Mills, E.H., Spence, C.D., et al. (1986). 9-alpha-Fluorocortisol-induced hypertension: a review. *J. Hypertens.* 4: 133–139.
- Whitworth, J.A., Saines, D., and Thatcher, R. (1983). Differential blood pressure and metabolic effects of 9 alpha-fluorocortisol in man. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 10: 351–354.
- Wright, D.F.B., Winter, H.R., and Duffull, S.B. (2011). Understanding the time course of pharmacological effect: a PKPD approach. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 71: 815–823.

Publications et abstracts publiés à partir de travaux réalisés

Publications internationales

- **Hamitouche N.**, Comets E, Ribot M, Alvarez J-C, Bellissant E, Laviolle B. Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model of Oral Fludrocortisone and Intravenous Hydrocortisone in Healthy Volunteers. AAPS J. 2017 Jan 12;
- Polito A*, **Hamitouche N***, Ribot M*, Polito A, Laviolle B, Bellissant E, et al. Pharmacokinetics of oral fludrocortisone in septic shock. Br J Clin Pharmacol. 2016 Dec;82(6):1509–16. *co-premiers auteurs

Abstracts

- Hammas K., **Hamitouche N.**, Palpacuer C., Lainé F., Bellissant E., Laviolle B. Population pharmacodynamics analysis of effect of three increasing doses of fludrocortisone on phenylephrine-mean arterial pressure dose-response relationship in healthy volunteers. Oral Communication Abstracts. Fundam Clin Pharmacol. 2017 Apr 1;31:5–20.
- Laviolle B., Abergel S., **Hamitouche N.**, Rousseau C., Ferrand-Sorre MJ., Querzerho-Raguideau J., Ruel R., Bellissant E. Effects of ivabradine on hemodynamics and inflammation in LPS-induced endotoxemic shock in rats. Oral Communication Abstracts. Fundam Clin Pharmacol. 2016 Apr 1;30:5–24.
- **Hamitouche N.**, Ribot M., Polito A., Annane D., Alvarez JC., Comets E., Bellissant E., Laviolle B. Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamics Modeling of Fludrocortisone and Hydrocortisone, Administered Alone or in Combination, in Healthy Volunteers. Discussed Poster Abstracts. Fundam Clin Pharmacol. 2015 Apr 1;29:20–33.
- Ribot M., Polito And., **Hamitouche N.**, Polito Ang., Laviolle B., Annane D., Alvarez JC. Population pharmacokinetic modeling of oral fludrocortisone in septic shock patients. Poster Abstracts. Fundam Clin Pharmacol. 2015 Apr 1;29:47–61.

- Ribot M., Polito And., **Hamitouche N.**, Polito Ang., Laviolle B., Alvarez JC., Annane D. Tissue and plasma pharmacokinetics and distribution of fludrocortisone in two models of sepsis. Discussed Poster Abstracts. Fundam Clin Pharmacol. 2015 Apr 1;29:20–33.

RESUME

Introduction. Les corticoïdes sont supposés avoir des effets bénéfiques à faibles doses chez les patients en choc septique réfractaire. Ces effets ont été retrouvés dans plusieurs études utilisant l'hydrocortisone. Mais des données similaires n'existent cependant pas pour la fludrocortisone. Pourtant, l'hypothèse est que ces effets seraient liés en partie à l'action minéralocorticoïde. Or, la fludrocortisone est considérée comme un puissant minéralocorticoïde. Avant une éventuelle évaluation de la fludrocortisone chez les patients en choc septique, il est nécessaire dans un premier temps d'étudier sa pharmacocinétique (PK) et sa relation pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) afin de mieux cerner ses effets et de sélectionner sa posologie efficace.

Méthodes. Pour répondre aux objectifs, plusieurs travaux ont été réalisés. La modélisation en pharmacométrie par approche de population a été utilisée dans ces travaux pour caractériser la PK et la relation PK-PD de la fludrocortisone chez des volontaires sains après administration unique et répétée et la PK chez les patients en choc septique.

Résultats. Chez les volontaires sains en administration unique seule ou en association avec l'hydrocortisone, la fludrocortisone a montré une demi-vie courte et proche de celle de l'hydrocortisone. Par ailleurs, la fludrocortisone présentait une puissance de l'effet minéralocorticoïde environ 200 fois plus importante que celle de l'hydrocortisone. Les simulations ont montré que la fludrocortisone nécessiterait d'être administrée à raison de quatre fois par jour. Chez les patients en choc septique, l'absorption de la fludrocortisone était très variable (7/21 des patients n'absorbaient pas la molécule) ce qui suggérait la nécessité de mettre au point une forme administrable par voie intraveineuse. A nouveau chez les volontaires sains mais en administration répétée pendant plusieurs jours, la fludrocortisone a montré une demi-vie et des paramètres pharmacocinétiques semblables à ceux retrouvés lors de la première étude et sur le plan pharmacodynamique, des effets hémodynamiques favorables (sur la réactivité vasculaire, la pression artérielle...) montrés pour la première fois avec cette molécule.

Conclusion. La fludrocortisone a montré qu'elle pouvait induire les effets biologiques et hémodynamiques recherchés. Les effets hémodynamiques sur la réactivité vasculaire et la pression artérielle ont été observés après une imprégnation de 5 jours d'administration répétée de la fludrocortisone notamment avec la dose de 400 µg/jour. Une évaluation de l'efficacité de la fludrocortisone chez les patients en choc septique est maintenant envisageable et nécessaire pour confirmer les résultats obtenus.