



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Présentée et soutenue par :
Quentin CHALRET du RIEU

le vendredi 26 septembre 2014

Titre :

Apport de la modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD)
dans l'analyse des effets thrombopéniants des médicaments anticancéreux

École doctorale et discipline ou spécialité :

ED BSB : Biotechnologies, Cancérologie

Unité de recherche :

EA 4553 : Individualisation des traitements des cancers ovariens et ORLs (ITCO)

Directeur(s) de Thèse :

Pr. Etienne CHATELUT

Dr. Marylore CHENEL

Jury :

Dr. René BRUNO (Rapporteur)

Dr. Bernard ROYER (Rapporteur)

Pr. Michel TOD (Examineur)

Pr. Jean-Edouard GAIRIN (Examineur)

Pr. Etienne CHATELUT (Directeur de Thèse)

Dr. Marylore CHENEL (Co-Directrice de Thèse)

Dr. Mélanie WHITE-KONING (Membre invité)

"Tout est poison, et rien n'est sans poison ; ce qui fait le poison c'est la dose"

Paracelse (1493-1541)

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Docteur René BRUNO,

Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail en acceptant d'en être rapporteur. C'est un honneur pour moi de vous avoir parmi les membres du jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

À Monsieur le Docteur Bernard ROYER,

Je vous remercie d'avoir accepté d'examiner mon travail de Thèse en étant aujourd'hui rapporteur. C'est un honneur pour moi de vous avoir parmi les membres du jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

À Monsieur le Professeur Michel TOD,

Je vous suis très reconnaissant et vous remercie pour l'honneur que vous me faites en participant à mon jury de Thèse. Veuillez trouver ici la marque de ma profonde gratitude.

À Monsieur le Professeur Jean-Édouard GAIRIN,

Je vous remercie d'avoir accepté d'être membre non seulement de mon comité de Thèse mais également aujourd'hui de mon jury. Veuillez trouver ici la marque de ma profonde gratitude.

À Monsieur le Professeur Etienne CHATELUT,

Un immense merci... La liste des choses pour lesquelles je tenais à te remercier aujourd'hui est sûrement trop longue, mais laisse-moi tout de même en citer quelques unes. Merci de m'avoir "coaché" depuis le début de mes études de Pharmacie. Tes nombreux conseils m'ont toujours été d'une aide précieuse. Merci d'avoir accepté d'être, il y a déjà 4 ans, mon Président de Thèse d'Exercice, mais surtout aujourd'hui le Directeur de ma Thèse de Sciences. Ta rapidité de réflexion, ton recul sur la pharmacocinétique mais plus généralement sur la pharmacologie clinique m'ont toujours stupéfait. Merci pour toutes ces connaissances que tu m'as transmises et ce tout au long de ces quelques années que j'ai pu passer parmi vous au sein du labo. Il m'aura fallu du temps pour être totalement à l'aise avec toi lors de nos discussions ou même te tutoyer, mais soit sûr aujourd'hui de l'immense estime que je te porte. Je regrette que nos travaux communs ne puissent se poursuivre plus longtemps. Trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

À Madame le Docteur Marylore CHENEL,

Je tenais à te remercier tout particulièrement pour m'avoir fait confiance dans ce projet ; en espérant avoir été à la hauteur de tes attentes. Quatre ans déjà depuis mes débuts en stage à vos côtés. Merci pour ton aide, ta disponibilité, ton accessibilité mais surtout ton accueil au sein de ce service. Pour ma part, c'est toujours avec beaucoup de plaisir que je venais travailler parmi vous lors de mes allées et venues parisiennes. Merci pour le dynamisme, la qualité scientifique mais également l'excellente ambiance que tu imprimes au service de Pharmacocinétique Clinique !

À Madame le Docteur Mélanie WHITE-KONING,

Un grand merci à toi Mélanie pour tes nombreux conseils, qu'ils soient personnels ou scientifiques (particulièrement en stats !), ta gentillesse mais surtout pour ton humanité. Toujours à l'écoute, se souciant du bien-être des autres, merci du fond du cœur pour les

nombreuses discussions que nous avons pu partager. Pardon d'avoir été sûrement un peu (trop ?) bavard à certains moments, mais je crois qu'on partage ce trait de caractère, non ?
Trouve ici la marque de ma profonde gratitude.

À Monsieur Sylvain FOULIARD,

Maître de stage puis conseiller précieux pendant toute la durée de ma thèse, tu as toujours été d'une grande disponibilité pour me sortir de certaines difficultés scientifiques. Merci pour ton aide dans la conduite de ces travaux.

À tous les membres (ou anciens membres) du service de Pharmacocinétique Clinique,

Maud, Charlotte, Sophie P., Anne, Isabelle, Marie-Hélène, Karl, Tanguy, Marie-Cécile, Clémence, Jacques, Marylène, Camille, Katie, Sophie G., Emilie et l'ensemble des personnes que j'ai oublié de citer (dont les nombreux stagiaires) : MERCI ! Je vous remercie tous pour votre accueil au sein de ce service si chaleureux. Chacun d'entre vous contribue à cette excellente ambiance et ce dynamisme qui y règne. Merci pour votre soutien et votre aide dans mon projet sur le 78. J'espère qu'un jour nous aurons de nouveau l'occasion de re-travailler ensemble ou encore, tel que nous avons pu le faire régulièrement, boire un pot !

À toute l'équipe de l'EA4553,

Quelle équipe ! Thierry, les Isas, Sabrina, Thomas, Peggy, Céline, Ben, Cécile, Fabienne, Bettina, Chloé, Céline, Augustin, Clothilde ou encore tous ceux que j'ai oubliés (dont les nombreux stagiaires), vous êtes au top ! Merci à tous pour ces bons moments partagés, ces nombreuses discussions (plus ou moins avouables aujourd'hui), cette ambiance, ces pauses cafés (et leurs mots fléchés...), bref ce tout qui fait de ce service un service agréable où l'on aime venir travailler. Merci de m'avoir entouré dans tous mes projets, dont mon mariage.

J'espère tous vous revoir par la suite. Je vous souhaite à tous et du plus profond de mon cœur de belles réussites tant professionnelles que personnelles.

Des remerciements plus particuliers iront vers vous deux, Diane-Charlotte et Benoît, mes co-thésards. Benoît merci pour tout, et en particulier tous ces délires et ces discussions magiques que l'on a pu partager dans notre petit bureau. On s'est quand même bien marrés pétard ! Bon courage à vous deux au Canada, et revenez vite, on a encore plein de bons moments à partager. Diane-Charlotte,... Merci pour ta gentillesse, tes nombreuses attentions, ton soutien, mais surtout merci d'être celle que tu es. Très calme et discrète de prime abord, mais par la suite,... J'adore ! Courage pour la fin de ta thèse, mais surtout gardons contact.

À mes Grands-parents & Parents,

Sans vous rien n'aurait été possible. Les mots sont faibles pour vous témoigner tout l'amour, le respect et la reconnaissance que je vous porte. Vous avez toujours été là pour moi, et c'est grâce à vous que je suis devenu la personne que je suis aujourd'hui. Merci pour cette unité que vous réussissez à maintenir au sein de notre famille. Je vous aime.

À mes Beaux-parents,

Un grand merci à vous de m'avoir ouvert les bras de votre famille mais surtout de m'avoir confié ceux de votre fille. De nombreux projets sont en route,...

À mes frères, sœur, beaux-frères, belles-sœurs, neveux, nièces,

Un grand merci à tous pour ce bonheur que vous m'apportez au quotidien. Nous avons la chance d'être unis, soudés, ne perdons jamais cette chance. Merci pour les exemples que vous êtes pour moi. Je vous aime.

À mes amis,

A Guillaume, Antoine, Pierrick, Emilie, Dorian, Matthieu, Benjamin, Floris, Adrien, Thomas, Marie-Sabine, Aude F., Aude C., Marie D., Olympe, Christophe, Aurélie, Greg, Nassima, Jeff, Aurélien,... Merci à tous pour tous ces bons moments partagés. Soyez assurés que mon amitié restera fidèle envers vous.

À mon épouse Caroline,

Caroline, tu es tout pour moi. Merci d'être constamment pour moi une source de bonheur, de bien-être, de soutien, de réconfort. Merci d'être présente dans nos moments de joies comme de peines. Cinq ans que nous sommes ensemble, un an de mariage et tant de merveilleux moments à venir à tes côtés. Notre amitié, gonflée de notre amour nous fera déplacer des montagnes ! Que la vie est belle à tes côtés. Qu'elle le sera à vos côtés : bientôt trois ! Je t'aime.

SOMMAIRE

RÉSUMÉ	20
RÉSUMÉ EN ANGLAIS	24
INTRODUCTION	27
1. Phase I en oncologie.....	30
1.1. Généralités	30
1.1.1. Objectifs	31
1.1.1.1. Etudes de phase I des médicaments cytotoxiques	32
1.1.1.2. Etudes de phase I des médicaments non-cytotoxiques (thérapies ciblées).....	34
1.1.2. Patients.....	37
1.1.2.1. Etudes de phase I des médicaments cytotoxiques	37
1.1.2.2. Etudes de phase I des médicaments non-cytotoxiques (thérapies ciblées).....	38
1.1.3. Considérations éthiques relatives aux essais de phase I en oncologie.....	39
1.1.3.1. Information préalable à l'inclusion dans un essai	40
1.1.3.2. Rapport Bénéfices/Risques	43
1.1.4. Principaux effets indésirables	47
1.2. Méthodologies d'escalade de dose	48
1.2.1. Schémas de phase I basés sur un algorithme décisionnel	50
1.2.1.1. Schéma 3+3	50
1.2.1.2. "Accelerated Titration Design" (ATD).....	52

1.2.1.3. Escalade de dose guidée pharmacologiquement (EDGP)	54
1.2.2. Schémas de phase I adaptatifs, basés sur des modèles statistiques	56
1.2.2.1. "Continual Reassessment Method"	56
1.2.2.2. "Continual Reassessment Method" modifiés	57
1.2.3. Schémas de phase I pour l'évaluation des thérapies ciblées.....	59
1.2.4. Implémentation des différents schémas d'escalade de dose en phase I	60
1.3. "Model-based Drug Development"	62
2. Méthodes de Pharmacocinétique de Population	64
2.1. Modèles non linéaires à effets mixtes	64
2.1.1. Modèles de structure	65
2.1.2. Modèles statistiques	66
2.1.3. Etudes de covariables.....	68
2.1.4. Simulations	70
2.2. Modèles pharmacocinétiques (PK)	72
2.3. Modèles pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PKPD) : exemple des thrombopénies.....	76
2.3.1. Les plaquettes sanguines	77
2.3.1.1. Structure et fonction	77
2.3.1.2. Thrombopoïèse	78
2.3.2 Thrombopénies médicamenteuses.....	81
2.3.2.1. Définition d'une thrombopénie	81

2.3.2.2. Profil des thrombopénies en fonction du temps	83
2.3.2.3. Mécanismes d'actions des thrombopénies médicamenteuses	84
2.3.2.4. Fréquence des thrombopénies médicamenteuses.....	85
2.3.2.5. Conséquences des thrombopénies médicamenteuses	86
2.3.2.6. Prises en charges cliniques.....	88
2.3.3 Modèles PKPD de thrombopénies	91
2.3.3.1. Modèles empiriques.....	92
2.3.3.2. Modèles semi-mécanistiques.....	93
RÉSULTATS.....	97
1. Les thrombopénies au sein du développement clinique : exemple des inhibiteurs des histones déacétylases.....	98
Travaux personnels 1	104
Article 1 : Application of Hematological Toxicity Modeling in Clinical Development of Abexinostat (S-78454, PCI-24781), A New Histone Deacetylase Inhibitor	106
Résultats complémentaires : Semi-mechanistic thrombocytopenia model of a new histone deacetylase inhibitor (HDACi) in development, with a drug-induced apoptosis of megakaryocytes.	121
Travaux personnels 2	127
Article 2 : Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of abexinostat-induced thrombocytopenia across different patient populations: application for the determination of the maximum tolerated doses in both lymphoma and solid tumour patients	128
2. Les thrombopénies en pratique clinique : exemple des chimiothérapies hyperthermiques intra-péritonéales à base d'oxaliplatine.....	139

Travaux personnels 3	145
Article 3 : Population pharmacokinetics of peritoneal, plasma ultrafiltrated and protein-bound oxaliplatin concentrations in patients with disseminated peritoneal cancer after intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion of oxaliplatin following cytoreductive surgery: correlation between oxaliplatin exposure and thrombocytopenia.....	146
DISCUSSION	159
Les thrombopénies au sein du développement clinique : exemple des inhibiteurs des histones déacétylases.....	161
Les thrombopénies en pratique clinique : exemple des chimiothérapies hyperthermiques intra-péritonéales à base d'oxaliplatine.....	169
CONCLUSION	173
ANNEXES.....	175
ANNEXE 1.....	176
Article 4 : Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling-based optimisation of administration schedule for the histone deacetylase inhibitor abexinostat (S78454/PCI-24781) in phase I	176
ANNEXE 2.....	184
Code Nonmem (Control Stream) du modèle final de l'Article 1 : Application of hematological Toxicity Modeling in Clinical Development of Abexinostat (S-78454, PCI-24781), A New Histone Deacetylase Inhibitor	184
ANNEXE 3.....	187
Code Nonmem (Control Stream) du modèle final de l'Article 2 : Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of abexinostat-induced thrombocytopenia across different patient populations: application for the determination of the maximum tolerated doses in both lymphoma and solid tumour patients	187

ANNEXE 4.....	191
Code Nonmem (Control Stream) du modèle final de l'Article 3 : Population pharmacokinetics of peritoneal, plasma ultrafiltrated and protein-bound oxaliplatin concentrations in patients with disseminated peritoneal cancer after intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion of oxaliplatin following cytoreductive surgery: correlation between oxaliplatin exposure and thrombocytopenia.....	191
ANNEXE 5.....	194
Code Nonmem (Control Stream) du modèle présenté au PAGE Meeting à Venise en 2012 : Semi-mechanistic thrombocytopenia model of a new histone deacetylase inhibitor (HDACi) in development, with a drug-induced apoptosis of megacaryocytes.	194
ANNEXE 6.....	197
Poster présenté au PAGE Meeting à Venise en 2012 : Semi-mechanistic thrombocytopenia model of a new histone deacetylase inhibitor (HDACi) in development, with a drug-induced apoptosis of megacaryocytes.....	197
BIBLIOGRAPHIE.....	199

FIGURES

Figure 1 : Schéma d'escalade de dose 3+3. DLT signifie la survenue chez un patient d'une toxicité limitant l'escalade de dose.....	51
Figure 2 : Paradigme du développement de médicaments basé sur des modèles. Des approches de modeling & simulation sont réalisées avant chaque prise de décision, évaluant quantitativement le risque de poursuivre le développement. Des modèles d'efficacités et de toxicités sont constamment actualisés grâce aux données continuellement collectées lors du développement clinique. Figure extraite de Lalonde <i>et al.</i> [107].....	63
Figure 3 : Exemple de modèle compartimental caténaire.....	72
Figure 4 : Exemple de modèle compartimental mamillaire.....	73
Figure 5 : Modèle pharmacocinétique d'oxaliplatine libre, adapté de Delord <i>et al.</i> [135]. représente la perfusion ; V_1 et V_2 respectivement les volumes de distribution du compartiment central (1) et périphérique (2) ; Q la clairance inter-compartimentale, et CL la clairance d'élimination totale.....	74
Figure 6 : Chaîne de maturation thrombopoïétique. Figure extraite de Deutsch <i>et al.</i> [138]. RBC : Red blood Cell ; Gran : Granulocyte ; Mo : Monocyte.....	78
Figure 7 : Structure du modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique semi-mécanistique de myélosuppression chimio-induites : figure adaptée de Friberg <i>et al.</i> [185]. PROL, Tr. et CIRC correspondent respectivement aux compartiments de prolifération, de transits, et de cellules circulantes. k_{prol} , k_{tr} et k_{el} correspondent respectivement aux constantes de prolifération, de transits et d'élimination. BASE représente le taux de cellules circulantes à l'inclusion ; γ le coefficient de retrocontrôle négatif ; MTT le temps moyen de transit ; E l'effet médicament.....	93
Figure 8 : Mécanismes d'action des Histones acétylases (HAT) et histones déacétylases (HDAC) au niveau de la chromatine. L'inhibition des HDACs conduit à une augmentation de	

l'acétylation des histones, une relaxation de la chromatine, et l'activation de la transcription. Figure extraite de Harrison <i>et al.</i> [205]	99
Figure 9 : Implications des histones déacétylases (HDACs) dans les processus d'oncogénèse. Figure extraite de Benedetti <i>et al.</i> [207]	100
Figure 10 : Structure chimique de l'abexinostat (PCI-24781 ou S-78454). Figure extraite du site Selleckchem.com [217].....	104
Figure 11 : Prédictions individuelles des modèles BASIC et EXTENDED. Pour les cycles supérieur à 1 (°), les prédictions individuelles furent établies par simulations. Les ronds pleins (•) et creux (◦) correspondent respectivement aux données observées des cycles 1 ou supérieurs à 1.	124
Figure 12 : Evaluation interne basée sur des simulations de la distribution des erreurs de prédiction normalisées des données (NPDE) en fonction du temps.	124
Figure 13 : Evaluations externes par <i>Individual Visual Predictive Check</i> des modèles BASIC (en bleu) et EXTENDED (en rouge). Les zones hachurées correspondent aux intervalles de prédictions à 80% ; les traits plein aux médianes de simulations. Les ronds (◦) représentent les données observées des patients.	125
Figure 14 : Structure chimique de l'oxaliplatine. Figure extraite de Chatelut <i>et al.</i> [223]	139
Figure 15 : Chimiothérapie périopérative intra-péritonéale hyperthermique à ventre ouvert (<i>Coliseum technique</i>). Une manipulation continue des viscères permet une distribution uniforme de la chaleur et de la chimiothérapie dans l'ensemble du péritoine. Figure extraite de Sugarbaker <i>et al.</i> [232].	143
Figure 16 : Schéma récapitulatif des différents schémas de traitement observés et simulés. En couleur, les jours de traitement ; en blanc, les jours sans traitement. Les couleurs rouge ou bleue font respectivement référence aux schémas d'administration testés cliniquement ou simulés.....	162

TABLEAUX

Tableau 1 : Revue de la littérature du ratio bénéfice/risque des patients inclus dans des essais cliniques de phase I entre 1972 et 2007. Le bénéfice est évalué par le taux de réponse globale (réponse complète + réponse partielle). Le risque est évalué par le taux de décès toxique.....	44
Tableau 2 : Définition de la sévérité des thrombopénies selon le taux de plaquettes sanguines circulantes, basé sur la définition de l'Institut National du Cancer (NCI), à partir des <i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i> (CTCAE) version 4 [157].	82
Tableau 3 : Paramètres finaux des modèles BASIC et EXTENDED	123

GLOSSAIRE

5-FU	5-Fluorouracile
ADME	Absorption, distribution, métabolisme, élimination
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ASC	Aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps
ASCO	Société américaine de cancérologie clinique (<i>American Society of Clinical Oncology</i>)
ATD	<i>Accelerated Titration Design</i>
B/R	Rapport bénéfices/risques
BAD	Dose biologiquement active (<i>Biologically active dose</i>)
BFU-MK	Progéniteurs mégacaryocytaires précoces
BSA	Surface corporelle (<i>Body Surface Area</i>)
CDT	Courbe doses/toxicités
CFU-MK	Progéniteurs mégacaryocytaires tardifs
CHIP	Chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéale
CL	Clairance d'élimination
CMP	Progéniteurs communs myéloïdes (<i>Common myeloid progenitors</i>)
CRM	<i>Continual reassessment method</i>

CTCAE	Critères de toxicités (<i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>)
CTCL	Lymphomes cutanés à cellules T (<i>Cutaneous T Cell Lymphoma</i>)
DACH	Diaminocyclohexane
DL₁₀	Dose létale chez 10% des rongeurs
DLT	Toxicité limitant la dose (<i>Dose-Limiting of Toxicity</i>)
<i>e.g.</i>	Par exemple (<i>exempli gratia</i>)
EBE	Prédictions individuelles des paramètres (<i>Empirical Bayesian Estimate</i>)
EDGP	Escalade de dose guidée pharmacologiquement
EMA	Agence européenne du médicament (<i>European Medicines Agency</i>)
EWOC	Escalade de dose avec contrôle du surdosage (<i>Escalation With Overdose Control</i>)
FDA	Agence américaine du médicament (<i>Food and Drug Administration</i>)
FOLFOX	5-fluorouracile, leucovorin, oxaliplatine
G/L	Giga par litre de sang
GM-CSF	<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating factor</i>
HAT	Histone acétylase
HDAC	Histone déacétylase
HDACi	Inhibiteur des histones déacétylases
HSC	Cellules souches hématopoïétiques (<i>Human Stem Cells</i>)
<i>i.e.</i>	c'est-à-dire (<i>id est</i>)
ICR	Institut Claudius-Regaud

IL	Interleukine
IPRED	Prédictions individuelles du modèle (<i>Individual predictions</i>)
IV	Intra-veineuse
LIF	<i>Leukemia inhibitory factor</i>
M&S	Modeling & Simulation
MBDD	Développement clinique basé sur des modèles (<i>Model-based Drug Development</i>)
MDICT	<i>Methodology for the Development of Innovative Cancer Therapies Task Force</i>
MEP	Progéniteurs communs mégacaryocytaires/érythrocytaires
MK	Mégacaryocytes
MKP	Progéniteurs mégacaryocytaires
MTCD	Dose maximale cumulée tolérée (<i>Maximum Tolerated Cumulative Dose</i>)
MTD	Dose maximale tolérée (<i>Maximal tolerated dose</i>)
NAD+	Nicotinamide-adénine dinucléotide
NCI	Institut National du Cancer (<i>National Cancer Institute</i>)
NOAEL	Dose sans effet toxique observable
NPDE	<i>Normalized Prediction Distribution Errors</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PD	Pharmacodynamie
PK	Pharmacocinétique

PKPD	Pharmacocinétique/Pharmacodynamique
PME	Produit médical expérimental
PTCL	Lymphomes périphériques à cellules T (<i>Peripheral T Cell Lymphoma</i>)
Q	Clairance inter-compartimentale
R&D	Recherche & Développement
ROS	Espèces réactives oxydatives
RP2D	Dose recommandée pour les études de phase II (<i>Recommended Phase-II Dose</i>)
SCF	<i>Stem Cell Factor</i>
Scr	Créatininémie
SDF-1	<i>Chemokine stromal cell-derived factor</i>
SIRTi	Inhibiteurs des sirtins
TCP	Thrombocytopénies ou thrombopénies
TITE-CRM	<i>Time To Event Continual Reassessment Method</i>
TPO	Thrombopoïétine
TSA	Trichostatine A
Vd	Volume de distribution
VPC	<i>Visual Predictive Check</i>
XELOX	Capécitabine, oxaliplatine

RÉSUMÉ

"Apport de la modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD) dans l'analyse des effets thrombopéniants des médicaments anticancéreux."

Une diminution du nombre d'autorisations de mise sur le marché (AMM) est constatée depuis quelques années. En particulier, un fort taux d'attrition en phases tardives de développement clinique est observé, notamment en oncologie. Les études cliniques précoces ne semblent par conséquent pas prédictives du taux de succès en phases finales.

L'objectif principal d'une étude clinique de phase I consiste en la détermination d'un schéma d'administration et/ou d'une dose optimale pour les futures études de phase II (RP2D). Généralement, leur détermination est basée sur l'observation de toxicités, dites doses limitantes (DLT), sur un nombre restreint de patients traités à des doses croissantes de médicaments. Une meilleure connaissance du produit à l'étude (profil de sécurité/toxicité) permettrait d'aider son développement clinique. En effet, une détermination plus précise de la dose maximale tolérée (MTD), nécessaire à la détermination de la RP2D, serait obtenue par une meilleure compréhension/maîtrise de la relation entre l'exposition en médicament et ses toxicités. De surcroît, les études cliniques se déroulant sur un nombre limité de participants, l'accumulation et l'analyse de données de patients traités par un médicament enregistré est essentielle afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique.

Les autorités de santé préconisent l'utilisation de nouvelles méthodologies, telles que les méthodes de pharmacocinétique de population, afin d'augmenter la quantité et la qualité des informations collectées tant au niveau des phases précoces (afin de guider le développement clinique), qu'en post-AMM (afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients). C'est dans ce contexte que s'inscrivent nos travaux de thèse. Nous verrons au travers de trois exemples comment les méthodes de pharmacocinétique de population permettent une meilleure connaissance de la pharmacocinétique (PK) et des relations pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PKPD) de médicaments anticancéreux, en développement ou enregistrés.

Dans un premier temps, les données de pharmacocinétique et de pharmacodynamie d'un candidat-médicament (abexinostat), actuellement en développement au sein des Laboratoires Servier, ont été analysées. Un modèle PKPD reliant les concentrations plasmatiques en abexinostat aux thrombopénies (toxicités limitant les doses d'abexinostat), chez des patients atteints de tumeurs solides a été construit. Grâce à des simulations, un schéma de traitement optimal a pu être proposé à ces patients. L'implémentation de ce schéma au sein d'un nouvel essai de phase I, après amendement au protocole, a permis la détermination d'une nouvelle MTD. Ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal *Pharmaceutical Research* en 2013.

L'inclusion des données de patients atteints de lymphomes a permis par la suite d'affiner le modèle PKPD établi. La description de l'évolution des cinétiques plaquettaires de l'ensemble de la population traitée a été rendue possible par la prise en compte de caractéristiques propres aux deux populations de patients incluses (*i.e.* tumeurs solides et lymphomes). Les faiblesses de l'utilisation, en phases I, d'un schéma d'escalade de dose 3+3 pour la détermination de la dose maximale tolérée ont été démontrées à l'aide de simulations. Dès lors, grâce au modèle PKPD de thrombopénies développé, une MTD, et par conséquent une RP2D, pour chaque population de patients traités, ont pu être proposées. Ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal *Investigational New Drugs* en 2014.

Finalement, des données de pharmacocinétique d'oxaliplatine, dans le cadre d'une administration particulière de chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéale après chirurgie cytoréductive, ont été analysées. Nos travaux ont permis la description simultanée des concentrations d'oxaliplatine péritonéales, plasmatiques libres (ultra-filtrables) et liées aux protéines plasmatiques. Les données d'exposition plasmatique ont par la suite été confrontées avec les données de toxicités observées (neuropathies, thrombopénies, hémopéritoines, sepsis, ascites) des patients traités. Une contribution de la pharmacocinétique, relative au phénomène d'absorption, vis-à-vis de l'intensité des thrombopénies a été mise en évidence. Ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* en 2014.

Ces travaux personnels seront exposés après une revue de la bibliographie présentant tout d'abord les études de phase I en oncologie. Nous aborderons les principes généraux de ces essais mais également leurs différences, relatives aux types de candidats-médicaments évalués (*i.e.* chimiothérapies cytotoxiques ou thérapies ciblées). Puis, nous définirons le principe des méthodes de pharmacocinétique de population au travers des modèles PK et PKPD. Afin d'illustrer ces derniers, nous définirons les thrombopénies, toxicités limitant les doses de nombreux médicaments de chimiothérapies, dont ceux à l'étude dans ce travail, et leurs conséquences afin de mieux appréhender les modèles PKPD établis.

RÉSUMÉ EN ANGLAIS

"Benefit of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modeling in the analysis of chemotherapy-induced thrombocytopenia"

A slight decrease in the number of marketing authorizations has been observed in the last few years. Notably in oncology, a high attrition rate in late clinical development phases can be noted. Consequently, early clinical trials do not appear predictive of success rate in later stages.

The main objective of a phase I clinical trial is the determination of an administration schedule and/or an optimal recommended phase 2 dose (RP2D). Most of the time, their determination is based on the observation of toxicities, named dose-limiting toxicity (DLT), on a small number of patients treated at increasing doses of drugs. A better understanding of the product (*i.e.* safety and security profiles) could help its clinical development. Indeed, a more accurate determination of the maximal tolerated dose (MTD), necessary to the RP2D determination, would be obtained through a better understanding and control of the relationship between the drug exposition and the observed toxicities. Moreover, clinical studies usually include a small number of participants, which is why the accumulation and analysis of data from patients treated with approved drugs are crucial to improve therapeutic management.

Health authorities support the use of new methodologies, such as population pharmacokinetic modelling, in order to improve the quality and quantity of collected information ; both in early clinical trials (to help clinical development) and clinical routine (to improve care). The present work was developed in this context. We will show with three examples how pharmacokinetic population modelling can provide a better understanding of the pharmacokinetics (PK) and the relationship between the PK and the pharmacodynamics (PD) of drugs, both in clinical development or approved drugs.

First, PK and PD data from a new anticancer drug (abexinostat) currently under clinical development in Laboratoires Servier were analysed. A PKPD model linking the plasmatic concentrations of abexinostat to the thrombocytopenia (DLT of abexinostat) from patients

with solid tumors was built. Thanks to simulations, an optimal administration schedule was suggested. The clinical protocol was amended, and this new administration schedule was clinically evaluated. A higher MTD was determined. This work was published in *Pharmaceutical Research* in 2013.

Then data from lymphoma patients were analysed and led to the refinement of the PKPD model. Features of both populations (*i.e.* solid tumor and lymphoma patients) were taken into account and allowed the proper description of the platelet count over time of all treated patients. The weakness of the standard 3+3 design to determine the MTD in phase I clinical trials was shown by simulations. Therefore, using the semi-physiological PKPD model of thrombocytopenia established in the first part of our work, a MTD and consequently a RP2D for both targeted populations were suggested. This work was published in *Investigational New Drugs* in 2014.

Finally PK data of oxaliplatin from patients who underwent hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) after cytoreductive surgery were analysed. The simultaneous description of the peritoneal, plasmatic ultra-filtrated and platinum protein-bound concentrations was now foreseeable with the PK model built. Thereafter, systemic exposure of oxaliplatin was confronted with observed toxicities (neuropathy, haemoperitoneum, sepsis, ascites and thrombocytopenia) in treated patients. A PK contribution, relative to the absorption phenomenon, on the severity of the thrombocytopenia was shown. This work was published in *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* in 2014.

INTRODUCTION

Une diminution du nombre d'autorisations de mise sur le marché (AMM) est constatée depuis quelques années avec, notamment, un fort taux d'attrition lors des phases tardives de développement clinique [1]. Le taux de succès d'un candidats-médicament, des études de *first-in-human* jusqu'à son enregistrement, est aujourd'hui en moyenne de 22%, mais varie selon les auteurs (7-78%) et selon les aires thérapeutiques [2-7]. C'est notamment en oncologie que ce taux de succès s'avère le plus faible avec seulement 5% selon Kola *et al.* [1] ou 26% selon DiMasi *et al.* [8]. Le taux d'attrition des produits médicaux expérimentaux (PME) en oncologie est respectivement d'environ 40%, 70% et 60% en phases I, II et III, pour un taux de refus d'autorisation de mise sur le marché par les autorités de santé d'environ 30% selon Kola *et al.* [1] ou 50% selon DiMasi *et al.* [8].

En parallèle, les coûts de la Recherche & Développement (R&D) ne cessent d'augmenter [1], avoisinant aujourd'hui en moyenne le milliard de dollars américain pour un candidat-médicament, pour un temps moyen de R&D de 11,9 ans [6]. Par rapport aux autres aires thérapeutiques, les produits anticancéreux à l'étude bénéficient souvent d'une revue prioritaire des autorités de santé (temps de revue et d'approbation plus court). Cependant le temps médian de développement s'avère plus long, et par conséquent plus coûteux, en oncologie que dans les autres aires thérapeutiques, avec respectivement 7,8 *versus* 6,3 ans [8].

Trois principaux facteurs pourraient en partie expliquer ces constatations [9]. Tout d'abord, l'accumulation des connaissances médicales (processus physiopathologiques mieux appréhendés), mais également l'amélioration de la qualité des traitements disponibles, rendent de plus en plus difficile la démonstration d'une amélioration du bénéfice thérapeutique (par comparaison aux traitements de référence), selon des critères de jugement de plus en plus fins [1]. Deuxièmement, l'industrie pharmaceutique se heurte à des exigences de plus en plus fortes des autorités de santé. Des mesures prises par de nombreux pays européens (baisse des prix des médicaments, restriction des AMMs, déremboursement de certaines spécialités,...) visent à freiner l'augmentation des dépenses de santé. Une diminution du chiffre d'affaires des industries pharmaceutiques est par conséquent constatée, impliquant une diminution des dépenses de R&D [10]. En effet, les

exigences réglementaires se sont accrues. Les recommandations concernant tant les designs que la conduite des essais cliniques se sont renforcées avec des méthodologies plus complexes, des résultats attendus plus importants, entraînant une augmentation de la taille, de la complexité et du coût des essais. Finalement, la confrontation vis-à-vis de pathologies de plus en plus complexes, comme l'oncologie, pourrait en partie expliquer cette diminution du nombre d'AMMs, du fait par exemple de la difficulté à inclure des patients ayant des critères d'inclusion de plus en plus restrictifs [9].

Bien qu'en oncologie un nombre plus important de candidat-médicaments entre en phases précoces de développement (comparativement aux autres domaines thérapeutiques), un taux d'échec plus élevé est constaté en phases tardives [8,9] ; là où les dépenses s'avèrent les plus importantes. Les phases de développement précoces ne semblent pas, par conséquent, prédictives du taux de succès en phases finales [9]. L'incapacité à démontrer, de façon fiable, l'efficacité et/ou l'absence de toxicités du produit à l'étude lors des phases précoces de développement clinique, en serait la principale cause [1,11]. Une meilleure connaissance de la pathologie impliquée (*e.g.* modèles animaux mieux adaptés, identification de cibles thérapeutiques), mais également du produit à l'étude (*e.g.* connaissance du mécanisme d'action, profil de sécurité et de toxicités), permettrait d'éviter cet écueil en phases tardives.

1. Phase I en oncologie

1.1. Généralités

A l'inverse des essais de phase III, dits confirmatoires, les essais de phase précoces (phases I et II) sont considérés comme exploratoires [12]. Avant toute investigation chez l'humain, certains pré-requis chez l'animal sont exigés de la part des autorités de santé [13].

Ces études pré-cliniques visent notamment à renseigner :

- la pharmacocinétique (PK) du PME (*i.e.* niveaux de concentrations sanguines ainsi que les caractéristiques d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination [ADME]),
- la pharmacodynamie (PD) du PME (*i.e.* effets du PME sur le corps),
- le profil de toxicité (détermination d'une plage de doses toxiques et des organes cibles, définition de la dose létale chez 10% des rongeurs [DL₁₀]),
- le profil de sécurité (détermination des doses sans effets toxiques observables [NOAEL] et études de toxicocinétique [toxicités en fonction de l'exposition en PME]).

Dès lors, l'*Investigational New Drug*, document incluant l'ensemble des résultats pré-cliniques ainsi que le protocole d'étude clinique, seront déposés auprès des autorités de santé. Ce dernier aura préalablement été revu par un comité d'éthique (*International Review Board*) [14], attestant que le protocole de recherche satisfait aux aspects légaux et éthiques en vigueur [15]. Les essais de phase I sont donc des études de transition entre les phases de développement pré-cliniques (chez l'animal) et cliniques (chez l'humain) [16].

1.1.1. Objectifs

Une étude de phase I en oncologie est une étude non-thérapeutique, exploratoire, chez des patients en situation de rechutes et réfractaires à l'ensemble des thérapies standards disponibles [14]. Ces études permettent d'avoir une meilleure connaissance du produit à l'étude [12]. Bien que l'obtention d'un bénéfice clinique ne constitue pas l'objectif principal des essais de phase I (*a contrario* des phases II et III), ces essais précoces peuvent toutefois être considérés comme un dernier recours thérapeutique pour les patients inclus [13].

Initialement, ces essais sont des études de première administration d'un traitement expérimental chez l'humain (*first-in-human*) [13]. Ils visent à évaluer la tolérance, la sécurité, la PK et si possible la PD du PME. Les données ainsi collectées seront comparées à celles obtenues lors des essais pré-cliniques.

Toutefois, de nombreuses études de phases I complémentaires pourront être réalisées précocement lors du développement clinique, tels que mentionnées dans les recommandations pour la conduite des essais de phase I (*Guideline for Phase 1 clinical trials* [13]) et traduites ci-après. Ces derniers permettent en effet d'évaluer :

- la variabilité inter-individuelle du PME (*e.g.* influence potentielle de la nourriture, du genre, de l'âge, de différences génétiques sur l'activité du PME),
- les relations doses (ou concentrations)/effets,
- des interactions PK potentielles,
- la biodisponibilité ou la bioéquivalence d'une PME,
- les effets du PME sur l'intervalle QT de l'électrocardiogramme,
- mais encore de nouvelles associations et/ou schémas d'administrations de médicaments ayant d'ores et déjà obtenus l'AMM [17].

La finalité d'une étude de phase I est de déterminer la dose et/ou le schéma d'administration optimaux du PME pour les futures études de phase II. Pour cela, des cohortes de patients sont incluses et traitées à des doses, habituellement uniques, croissantes de PME selon un schéma dit d'escalade de doses [18,19], jusqu'à obtention d'un critère d'arrêt pré-défini dans le protocole. Toutefois, la conduite et les critères de jugement de ces essais varieront selon qu'ils évaluent des candidats-médicament cytotoxiques ou de thérapies ciblées [12].

1.1.1.1. Etudes de phase I des médicaments cytotoxiques

Pendant de très nombreuses années, les chimiothérapies cytotoxiques couplées ou non à la chirurgie ont constitué les traitements de référence des patients atteints de pathologies malignes. C'est pourquoi, les essais de phase I ont préalablement été développés en regard de ces traitements cytotoxiques [20]. L'agence européenne des produits de santé (*European Medicines Agency* ou EMA) considère les composés cytotoxiques comme étant "tous les composés induisant des dommages cellulaires irréversibles, par le biais d'interférences avec la réplication de l'ADN, la mitose, etc..." [12]. Ces composés ne présentent pas de spécificités d'action sur les tissus cancérigènes, c'est pourquoi il est considéré que plus la dose administrée est élevée, plus les chances d'efficacité, mais également les risques de toxicité, sont importants [21]. Par conséquent, dans le cadre des essais de phase I des composés cytotoxiques, la toxicité est utilisée comme critère de substitution à l'efficacité du traitement [21].

Une escalade de dose est ainsi menée où des cohortes de patients sont traitées à des doses croissantes de PME jusqu'à ce qu'un pourcentage pré-défini de toxicités dites doses limitantes (DLT), soit observé. La dose de départ de l'escalade est en général déterminée à partir des données des études pré-cliniques de toxicologie [22]. Elle est d'un dixième de la dose induisant une toxicité sévère (ou la mort) chez 10% des rongeurs, si cette dose n'induit

pas de toxicité majeure et irréversible chez une espèce de non-rongeurs. Dans le cas échéant, un sixième de la dose la plus haute n'induisant pas de toxicité majeure chez les non-rongeurs sera utilisée comme dose de départ [23].

Par conséquent, il convient d'établir préalablement dans le protocole d'essai clinique, une définition précise de ces DLTs. Elles sont considérées comme étant des toxicités inacceptables (du fait de leur sévérité et/ou irréversibilité), imputables au traitement à l'étude et sont généralement définies grâce aux critères standardisés de toxicités de l'Institut National du Cancer (*National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events* ou *NCI CTCAE* version 4.0). Le plus fréquemment, les DLTs sont définies comme étant l'ensemble des toxicités de grade 3 ou plus, ou myélosuppressions de grade 4 [23].

La détermination de la dose recommandée pour les futures études de phase II (*Recommended Phase-II Dose* ou RP2D) constitue l'objectif principal des essais de phase I. Dans le cadre des médicaments cytotoxiques, la dose maximale tolérée (*Maximal Tolerated Dose* ou MTD) sera ainsi recherchée ; de cette MTD découlant la RP2D [12]. D'autres objectifs secondaires peuvent s'ajouter tels que l'étude des effets indésirables (et des organes cibles) en regard de la dose administrée, ou encore la sévérité, la durée et la réversibilité des toxicités. Finalement des études de PK, et de PKPD (reliant la dose [ou l'exposition] à l'efficacité et/ou à la toxicité) pourront également être menées [12].

Tel que nous l'évoquions, l'escalade de dose cessera lorsqu'un pourcentage cible de patients, pré-défini dans le protocole, présentera une DLT lors du premier cycle de traitement. Dès lors, la MTD sera atteinte. Ce pourcentage est habituellement de 33% pour les essais de phase I investiguant des composés cytotoxiques. Aux Etats-Unis, la MTD est donc définie comme la dose la plus haute induisant une DLT chez 33% ou moins des patients ($\leq 33\%$). En Europe et au Japon, la MTD est définie comme la plus petite dose induisant une DLT chez au moins 33% des patients ($\geq 33\%$).

La RP2D est définie comme la dose la plus haute, donc dans ce contexte la plus efficace, présentant un profil de toxicité acceptable [24]. Aux Etats-Unis, cette dose correspond à la MTD. En Europe et au Japon, cette dose correspond au palier de dose inférieur à la MTD [25].

L'essor des thérapies ciblées a cependant remis en question les critères de détermination de la RP2D, dont notamment l'utilisation de la toxicité comme critère de substitution à l'efficacité.

1.1.1.2. Etudes de phase I des médicaments non-cytotoxiques (thérapies ciblées)

L'EMA documente les composés non-cytotoxiques comme "un groupe très hétérogène de composés, dont la toxicité ne peut être utilisée comme critère de jugement approprié pour la détermination des doses et schémas de traitement optimaux" pour les phases de développement ultérieures [12]. A l'inverse des chimiothérapies cytotoxiques conventionnelles (induisant une régression tumorale), les composés non-cytotoxiques, dont les nouvelles thérapies ciblées, présentent une activité cytostatique (inhibition de la progression tumorale, prévention de métastases par action sur une cible spécifique,...). Ces composés bénéficient d'une fenêtre thérapeutique plus large que les composés cytotoxiques [26]. En effet, les agents de thérapies ciblés modulent des voies de signalisation aberrantes spécifiques dans les cellules cancéreuses, épargnant le plus souvent les tissus sains [24,27-29]. L'efficacité et la toxicité de ces agents ne sont donc pas forcément corrélées à la dose. Booth *et al.* ont montré que la MTD de certains produits de thérapies ciblées ne pouvait être obtenue selon les protocoles d'essais cliniques classiques [30]. L'utilisation de la toxicité comme marqueur intermédiaire d'efficacité pour la détermination de la RP2D s'avère donc inappropriée [26]. Un bénéfice clinique, par modulation de la cible thérapeutique, peut être

observé à des doses inférieures à celles induisant une toxicité significative, doses donc inférieures à la MTD [16,26].

Par conséquent de nombreux auteurs proposent que ces études de phase I soient menées afin de déterminer une dose biologiquement active (*Biologically Active Dose* ou BAD) [27,31,32], en complément des objectifs classiques d'une phase I (détermination de la MTD, étude PK, étude PD,...) [16]. L'identification de cette BAD s'avère cependant complexe, car nécessite la validation lors des études pré-cliniques de la cible thérapeutique, du mécanisme d'action du PME, de biomarqueurs d'activité,... [16,23,33].

D'autres critères que la toxicité ont donc été proposés afin de déterminer la RP2D, tel que l'inhibition d'une cible thérapeutique au sein de la tumeur (ou dans un tissu de substitution), ou encore la détection d'un niveau d'exposition plasmatique significatif [24,27-29].

L'inhibition d'une cible tumorale nécessite toutefois son accessibilité. La multiplicité des biopsies pose non seulement un problème éthique, mais restreint également la population éligible aux essais en n'incluant que les patients ayant un site tumoral accessible. De surcroît, les tissus tumoraux présentent une grande hétérogénéité, rendant difficile l'interprétation des résultats. L'utilisation de tissus de substitution (peau, cellules du sang périphérique) pourrait être une alternative, mais seulement après démonstration que les changements induits par le PME dans ces tissus périphériques sont corrélés à ceux induits au niveau de la tumeur. Finalement, un niveau optimal d'inhibition de la cible doit être préalablement établi.

Des critères pharmacocinétiques, tel que l'atteinte d'un niveau de concentration plasmatique pourrait aider au choix de la RP2D. Cependant, des études pré-cliniques PKPD sont nécessaires afin de démontrer la corrélation entre le niveau d'exposition en PME et l'activité biologique (inhibition d'une cible, activité anti-tumorale).

Finalement, même si l'étude de la toxicité s'avère moins appropriée dans la détermination de la RP2D au sein d'études évaluant des agents de thérapies ciblées, sa description reste néanmoins primordiale [28]. Tel que nous l'avons vu, les médicaments cytotoxiques, du fait d'un manque de spécificité d'action, présentent un caractère potentiellement toxique. Les effets indésirables de ces agents, tels que la myélosuppression, surviennent généralement

de façon aiguë, limitant ainsi la poursuite du traitement. *De facto*, ils sont habituellement administrés sur des périodes de courtes durées, mais de façon régulière (plusieurs cycles de traitement) ; permettant notamment la régénération de la moelle après myélosuppression chimio-induite. C'est pour cette raison que la MTD des médicaments cytotoxiques est déterminée sur le premier cycle de traitement des patients. A l'inverse de ces agents, les médicaments de thérapies ciblées, du fait notamment d'une meilleure tolérance, sont le plus souvent administrés de façon chronique, jusqu'à progression tumorale ou résistance du patient [34]. Dès lors des toxicités retardées, chroniques ou cumulatives pourront être observées. Il s'avère donc primordial de prendre en compte ces toxicités dans la détermination de la RP2D, et par conséquent d'élargir la période d'évaluation, en ne se limitant plus qu'au premier cycle de traitement [34].

Le rationnel des designs de phase I ne doit donc plus seulement se baser sur l'évaluation des toxicités, mais également sur l'établissement de l'efficacité moléculaire du PME sur une cible thérapeutique identifiée, et ce afin de maximiser les chances de succès du PME en phases tardives de développement clinique [35]. Aujourd'hui, un accent trop important est mis sur le report des toxicités du PME, au détriment de l'évaluation de sa pharmacodynamie [35], tel que l'ont montré Borden *et al.* basés sur l'ensemble des études de phase I présentées au congrès de l'*American Society of Clinical Oncology (ASCO)* en 2012.

L'EMA n'impose aucune réglementation quant à la conduite des essais de phase I des composés non-cytotoxiques, et préconise, comme pour les agents cytotoxiques, l'étude de la tolérance, la sécurité, la PK, et si possible la PD du PME [12]. L'EMA recommande l'utilisation de biomarqueurs d'activités ou des techniques d'imagerie sensibles pour la détermination de l'activité anti-tumorale du PME, en prenant soin de standardiser ces techniques afin de réduire la variabilité inter-centre [12]. Des recommandations concernant les informations minimales requises lors des études pré-cliniques ou de phases I pour guider la poursuite ou non du développement clinique ont été cependant proposées par la *Methodology for the Development of Innovative Cancer Therapies Task Force (MDICT)* - forum englobant les leaders académiques et les compagnies pharmaceutiques majeures pour discuter des

questions méthodologiques du développement des nouveaux agents anticancéreux - [30,36].

En conclusion, l'objectif principal des essais de phase I consiste en la détermination des doses et/ou schémas d'administration optimaux pour les futures études de phase II. Pour les traitements expérimentaux cytotoxiques, cette dose est définie grâce à la détermination de la MTD. Dans le cadre des thérapies non-cytotoxiques, cette dose est définie en prenant en compte non seulement la MTD mais également la BAD. La détermination de cette dernière nécessite la compréhension de l'impact d'un agent sur sa cible tumorale et par conséquent l'identification d'une population avec la probabilité de réponse la plus forte.

1.1.2. Patients

Ces essais, présentant des risques de toxicités, sont en général basés sur un petit nombre de participants (20-60 individus) [23]. Une revue de la littérature de l'ensemble des essais de phases I en monothérapie, entre 1991 et 2002, dénombre une moyenne de 30 patients par essais [37]. Parmi la grande hétérogénéité des patients inclus en phase I, les hommes sont légèrement plus nombreux, plutôt jeunes (médiane de 57 ans [38]) mais très majoritairement blancs [38,39].

1.1.2.1. Etudes de phase I des médicaments cytotoxiques

Du fait des toxicités observées lors des études pré-cliniques, l'absence d'information chez l'humain, et du profil de toxicité des chimiothérapies cytotoxiques, ces études doivent être menées chez des patients réfractaires à l'ensemble des thérapies standards [14]. Olmos *et*

al. ont montré que les patients inclus en phase I ont en moyenne reçus deux (min-max : 0-11) lignes de chimiothérapies préalablement à leur inclusion [40]. Ces patients sans alternatives thérapeutiques bénéficient ainsi d'un espoir thérapeutique [33]. Cependant, certaines caractéristiques inhérentes à ces essais réduisent leurs chances de bénéfices (dose de départ nécessairement faible, escalade de doses progressive, multi-résistance des patients du fait des nombreuses lignes de traitement préalables, etc...) [20]. Afin de ne pas biaiser la détermination du profil de sécurité/toxicité du produit à l'étude, ces patients devront avoir un indice de performance correct (*OMS Performance Status* de 0 à 2), sans maladie concomitante ni dysfonction organique (moelle osseuse, rein, foie) [12,23]. Aucune restriction n'est faite quant au profil histologique des patients inclus. Ces derniers peuvent en général être atteints de tous types de tumeurs (solides ou hématologiques).

1.1.2.2. Etudes de phase I des médicaments non-cytotoxiques (thérapies ciblées)

Avec l'émergence des thérapies ciblées, la prise en charge des patients atteints de cancer évolue de plus en plus vers une médecine personnalisée, nécessitant l'identification d'un profil histologique précis [33]. L'approche classique "*one size fits all*" des thérapies cytotoxiques, consistant à traiter l'ensemble des patients selon le même schéma, s'avère donc inappropriée pour les thérapies ciblées. Ainsi les patients éligibles devraient présenter un profil histologique moins hétérogène que dans les essais de cytotoxiques [33]. La sélection de patients basée sur des biomarqueurs prédictifs s'avère cruciale pour le développement des thérapies ciblées [41]. Aujourd'hui, la proportion de patients traités par thérapies ciblées spécifiquement pour leur altération moléculaire reste trop faible [42]. L'inclusion en phase I de tels patients fournirait précocement des preuves de principe utiles à l'amélioration des chances de succès du traitement expérimental [43]. Si d'autres patients répondent, le problème de la spécificité du traitement sur la cible moléculaire se poserait ; si ces patients échouent, la cible thérapeutique serait remise en cause, justifiant de ne pas s'engouffrer à tort plus en avant dans le développement clinique [44]. Trop de patients,

présentant des profils moléculaires d'intérêts pour certaines thérapies expérimentales, sont encore inclus dans des essais cliniques non sélectifs.

Une exception majeure peut être proposée quant aux participants à des essais de phase I évaluant un agent de thérapies ciblées. En effet, basés non seulement sur des les résultats d'études de tolérance, de toxicologie pré-clinique, et sous réserve d'une excellente connaissance de la pharmacologie d'un produit, ces essais peuvent être proposés à des volontaires sains [12,23].

La restriction de l'inclusion des patients à des sous-populations induit un recrutement plus difficile et plus long, justifiant la mise en place d'essais multicentriques [45]. Comis *et al.* exposent que même si environ 32% des adultes américains accepteraient de participer à un essai clinique [46], le recrutement des patients dans des essais s'avère difficile dû au nombre insuffisant d'essais, et l'exclusion d'un grand nombre de patients ne présentant pas le profil moléculaire adéquat. Finalement, l'inclusion de patients spécifiquement sélectionnés, car étant potentiellement répondeurs à une thérapie expérimentale, permet d'augmenter leurs chances de bénéfices dans ces essais précoces, où peu d'efficacité était jusque là attendu.

1.1.3. Considérations éthiques relatives aux essais de phase I en oncologie

Bien que la démonstration de l'activité anti-tumorale d'un candidat-médicament ne soit pas l'objectif principal d'une étude de phase I, tant les patients que les cliniciens aspirent à des bénéfices cliniques en participant à ces études. La majorité des médicaments approuvés par la *Food and Drug Administration* (FDA) a d'ores-et-déjà montré une activité anti-tumorale lors de leurs phases précoces d'évaluation clinique [17,47,48]. Cependant, une distinction majeure doit être faite entre la recherche clinique, qui aspire à développer des informations généralisables grâce à des moyens scientifiques impliquant des groupes de participants, et les soins médicaux qui, eux, tendent à offrir des bénéfices directs aux patients [49,50].

L'éthique de ces essais précoces est un sujet encore débattu, et ce sur deux points majeurs. Tout d'abord, ces études n'offrent que peu de bénéfices directs aux patients inclus et ce dans un contexte de risques inconnus et non maîtrisés [51]. Ainsi le rapport Bénéfices/Risques (B/R) est considéré comme trop faible, rendant vulnérables les patients inclus. De surcroît, la quantité et la qualité de l'information que le patient reçoit (au sein du consentement ou par le médecin investigateur) quant aux objectifs de l'essai et ses B/R potentiels sont sources de débats au sein des comités d'éthique. Les B/R seraient respectivement amplifiés/minimisés [52-54].

1.1.3.1. Information préalable à l'inclusion dans un essai

Seidenfeld *et al.* [38] rappellent qu'une personne est légalement déclarée comme vulnérable "si elle est relativement ou totalement incapable de protéger ses propres intérêts". En cela, dans un contexte de recherche clinique en oncologie, un patient sera considéré comme vulnérable s'il est dans l'incapacité de fournir son consentement volontaire et éclairé sur l'étude qui lui est proposée. Une revue de la littérature analysant les données d'environ 10 000 patients inclus entre 1991 et 2002 dans l'ensemble des études de phases I sponsorisées par le *Cancer Therapy Evaluation Program* du NCI, montre que ces patients ne peuvent être considérés comme vulnérables au sens réglementaire du terme [38]. En effet, la majorité des patients ont un statut socio-économique important, un indice d'activité globale correct (*OMS performance status* de 0 ou de 1) et sont couverts par un régime d'assurance maladie. Par conséquent, ils sont à même de décider du bien-fondé de leur participation ou non à des études de phase I.

Les patients éligibles sont en situation d'échecs thérapeutiques et pourraient en ce sens être considérés comme vulnérables ; étant incités à intégrer un essai afin de bénéficier d'un recours thérapeutique, tout en acceptant un risque plus important. Mais bénéficier de peu d'alternatives thérapeutiques n'exclue pas la capacité de faire des choix rationnels quant à

ses propres intérêts [55]. Toutefois, il reste primordial que les patients disposent d'informations exhaustives et précises tant sur les bénéfices/risques potentiels de l'étude, que sur ses alternatives thérapeutiques.

Trois types d'alternatives thérapeutiques s'offrent à un tel patient, avec tout d'abord l'administration de thérapies d'ores et déjà approuvées par les autorités de santé. Mais Agrawal *et al.* ont montré que le ratio B/R des traitements expérimentaux en phase I était similaire à celui utilisé par les autorités de santé pour autoriser la mise sur le marché d'un produit [56]. Deuxièmement, basés sur de petites séries de cas ou d'études non contrôlées, un usage hors AMM peut être proposé aux patients réfractaires aux thérapies standards [57,58]. Cependant, bien que les toxicités de ces traitements semblent être mieux appréhendées grâce à un certain recul sur leurs usages thérapeutiques, le taux de bénéfice de ces indications hors-AMM s'avère également discutable et non établi [59]. Les soins palliatifs représentent la dernière alternative thérapeutique du patient éligible. Il apparaît évident qu'une personne en situation de mauvais pronostic préfère bénéficier de soins palliatifs en ambulatoire plutôt que de subir une chimiothérapie agressive dans une structure hospitalière adaptée. Malgré tout, de nombreux patients acceptent d'intégrer un essai de phase I bien que leur chance de bénéfice soit faible, afin de ne pas écarter un potentiel recours thérapeutique [56].

L'information délivrée par le médecin investigateur ou au niveau de la fiche d'information au patient fait l'objet de nombreuses critiques, en particulier des services d'éthique. Elle est jugée comme encourageant les patients à participer aux essais en fournissant une information erronée quand au but de l'essai mais également en exagérant/sous-estimant les B/R potentiels des ces études [60]. Horng *et al.* ont évalué les informations fournies dans 272 consentements provenant de tous les essais cliniques de phase I, en 1999, de 80 instituts nationaux de lutte contre le cancer différents et de 6 compagnies pharmaceutiques majeures [61]. Sur ces 272 consentements, 268 explicitent clairement que l'étude est un protocole de recherche (*a contrario* de soins médicaux individualisés), 249 mentionnent que

le but de l'étude consiste en la recherche de sécurité du médicament, et seulement un promet un bénéfice direct aux patients [61]. Ces résultats témoignent par conséquent du bien-fondé et de la qualité de l'information transmise au sein des consentements.

D'importantes différences de perception entre le patient et le médecin lors de consultations d'essais cliniques ont été montrées par Meropol *et al.* [62]. Par exemple, moins d'un tiers des patients estime que l'impact du traitement sur leur qualité de vie a été abordé, à l'inverse de plus de deux tiers des médecins [62]. De plus, environ 70% des patients interrogés ont une idée fautive des objectifs du protocole de recherche clinique, jugeant la phase I comme un traitement médical individualisé plutôt qu'une production de connaissances généralisables sur un traitement expérimental [52,63]. La majorité de ces patients estime leurs chances de bénéfice supérieures à 70% [63]. Naturellement, même si l'objectif principal de l'essai a été clairement exposé au patient éligible, ce-dernier ne retiendra d'une discussion avec son médecin uniquement ce qui lui paraît essentiel : à savoir ses chances de bénéfice au dépend des risques potentiels, déviant ainsi des objectifs de l'étude [56]. Ceci explique en partie le fort optimisme et la mésestimation des B/R liés à l'étude cliniques, observés chez 94% des patients selon Pentz *et al.* [63].

En résumé, il a donc été démontré que l'information délivrée au patient quant à l'essai est correcte, mais perçue de manière différente selon le patient ou le médecin investigateur. Toutefois, se pose encore la question d'un rapport B/R acceptable pour le patient inclus.

1.1.3.2. Rapport Bénéfices/Risques

Le rapport B/R des études de phase I en oncologie semble relativement constant [37,64-66], avec un taux de bénéfice global (réponse complète + réponse partielle) d'environ 4% pour un taux de décès toxique d'environ 0.5% (Tableau 1). Il apparaît que ce ratio B/R correspond également aux chimiothérapies cytotoxiques [64-66].

Tableau 1 : Revue de la littérature du ratio bénéfice/risque des patients inclus dans des essais cliniques de phase I entre 1972 et 2007. Le bénéfice est évalué par le taux de réponse globale (réponse complète + réponse partielle). Le risque est évalué par le taux de décès toxique.

Auteurs	Etudes cliniques (n=)	Patients (n=)	Période	Thérapies investigués	Taux de réponse globale (%)	Taux de décès toxique (%)
Decoster <i>et al.</i> [64]	211	6 639	1972-1987	Chimiothérapies cytotoxiques	4,5	0,5
Roberts <i>et al.</i> [37]	213	6 474	1991-2002	Mono-chimiothérapie cytotoxique (EXP)	3,8	0,54
Horstmann <i>et al.</i> [65]	92	2 621 (TOX) 2 341 (REP)	1991-2002	Mono-chimiothérapie cytotoxique (EXP)	4,4	0,57
Horstmann <i>et al.</i> [65]	460	11 935 (TOX) 10 402 (REP)	1991-2002	Ensemble des études de phase I (EXP + AMM)	10,6	0,49
Koyfman <i>et al.</i> [66]	149	4 350 (TOX) 4 027 (REP)	2002-2004	Mono-chimiothérapie cytotoxique (EXP + AMM)	3	1,1
Olmos <i>et al.</i> [40]	Non renseigné (14 centres européens)	2 182	2005-2007	Ensemble des études phase I (EXP + AMM)	10	0,4

AMM : Traitement approuvé par les autorités de santé
EXP : Traitement expérimental (non approuvé par les autorités de santé)

REP : Nombre de patients évalués en terme de réponse au traitement
TOX : Nombre de patients évalués en terme de décès toxique

Cependant, ce rapport B/R tend à augmenter. En effet, de nouvelles revues plus récentes englobant la totalité des études de phase I (thérapies ciblées, associations médicamenteuses, nouveaux designs d'essais, etc...) sur une période donnée, montrent un taux de réponse globale d'environ 10% pour un taux de décès toxique de 0,5% [40,65].

L'évaluation du bénéfice global des patients lors de ces études de phase I reste cependant très difficile. De nombreuses disparités existent selon le design de l'essai, les classes de médicaments, les associations médicamenteuses (ou non), ou encore le fait que le produit à l'étude ait déjà obtenu (ou non) l'AMM. Dans leur revue, Horstmann *et al.* montrent que le taux de réponse globale est respectivement de 4,4% en ne considérant que les études de mono-chimiothérapies, 11,7% pour les études associant plusieurs agents expérimentaux, 16,4% pour les études associant traitements expérimentaux et enregistrés, et finalement 27,4% pour les études de médicaments déjà enregistrés [37,65].

De manière générale, les études évaluant des médicaments ayant d'ores et déjà obtenus l'AMM ont non seulement un taux de réponse globale plus élevé que les études évaluant des traitements expérimentaux (10% *versus* 2% [66], 17,8% *versus* 4,8% [65]), mais également un taux de décès toxique plus élevé (0,65% *versus* 0,35% [65]). *A contrario* des essais de *first-in-human*, les études de phase I évaluant des médicaments déjà approuvés bénéficient du recul d'études déjà réalisées et nécessitent par conséquent moins de patients, moins de paliers de doses, mais surtout débutent à des doses plus élevées (donc potentiellement plus efficaces et plus toxiques), plus proches de la RP2D [66].

La disparité des études de phase I rend donc difficile la généralisation du bénéfice d'un patient inclus par l'évaluation du taux de réponse globale (réponse complète + réponse partielle). Cet estimateur semble être incomplet dans l'aire actuelle des thérapies anti-cancéreuses, où, par exemple, de plus en plus d'agents inhibent la progression tumorale plutôt que d'induire une régression du volume tumoral [37]. En considérant par exemple la stabilisation de la maladie (*Stable Disease*) comme un bénéfice clinique pour le patient (arrêt de la progression tumorale), le taux de bénéfices en phase I augmente considérablement à environ 35% (respectivement 25% pour Koyfman *et al.* [66], 44,7% pour Horstmann *et al.*

[17,65]). Des critères de qualité de vie du patient pourraient également être pris en compte dans l'évaluation du ratio B/R des patients en phase I. Agrawal *et al.* ont montré que la participation à des études de phase I améliore la qualité de vie des patients par rapport à celle des patients en soins palliatifs [56] ; la participation à un essai n'excluant pas les soins symptomatiques du patient. L'amélioration de la qualité de vie peut passer par des bénéfices physiques pour le patient (réduction de la douleur, de la fatigue, augmentation de l'appétit, de l'énergie, des activités,...) [65], mais également des bénéfices psychologiques [52]. L'environnement ainsi que le contact régulier avec un médecin réduiraient le désarroi psychologique des patients [67,68]. Finalement, certains patients altruistes trouveraient un confort en pensant qu'ils aident la prise en charge de futurs patients [52,59,68].

En phase I, même si l'émergence des thérapies ciblées a permis une diminution du profil de toxicités (pourcentage de grade 4) des patients traités, le taux de décès toxique reste globalement constant et maîtrisé sur les 40 dernières années. Il est d'environ 0,5% quelque soit la thérapie évaluée. Toutefois, il semble impensable d'éliminer totalement les risques associés à l'administration d'un candidat-médicament pour la première fois à l'homme [47]. De surcroît, au regard du manque d'alternatives thérapeutiques des patients inclus (patients réfractaires aux thérapies standards et en situation de mauvais pronostic), l'"ampleur" de ce taux reste contestable [17].

La principale cause de sortie prématurée d'un essai de phase I, consiste en la progression de la maladie (environ 70% des cas) et non la toxicité due au traitement [40]. C'est pourquoi une plus grande marge de progression s'offre vis-à-vis de l'amélioration des bénéfices, que vis-à-vis de la diminution des risques. Dans leur revue, Roberts *et al.* montrent que la dose initiale médiane donnée aux patients en phase I était d'environ 20% de la MTD [37]. A *contrario* certains auteurs ont relevés que la majorité des réponses cliniques furent observées chez des patients traités par chimiothérapies conventionnelles avec des doses comprises entre 75 et 125% de la MTD [21,69]. C'est pourquoi, trop de patients sont encore traités à des doses infra-thérapeutiques lors de ces essais précoces.

1.1.4. Principaux effets indésirables

Ne disposant que de peu d'informations quant aux toxicités du PME chez l'être humain, une grande prudence doit être accordée dans la conduite de ces essais. Dans la revue d'Olmos *et al.*, 14% des patients furent sortis d'études prématurément (dans les 3 premières semaines de traitement) dont 26% d'entre eux dus à des toxicités induites par le traitement administré [40]. Koyfman *et al.* rapportent que 15% et 17% des patients ont subi respectivement une toxicité hématologique et non-hématologique [66]. Roberts *et al.* mentionnent un taux de 10,3% de toxicités sévères non létales (grade 3 et 4) [37], dont 85% furent partiellement ou complètement réversibles. Finalement, Horstmann *et al.* évoquent un taux de toxicités de grade 4 de 14,3%, avec en moyenne 1,9 évènements par patients [65].

Une diminution du taux de toxicités (non létales) est observée grâce aux recours des thérapies ciblées, de part une plus grande spécificité d'action au niveau des tissus malins. A titre d'exemple, ce taux était de 5,6% dans les études évaluant un traitement expérimental inhibiteur de l'angiogénèse [65]. Les thérapies ciblées sont le plus souvent administrées de façon chronique (jusqu'à progression de la maladie ou résistance), et à des doses possiblement plus faibles (cf. définition de la BAD). C'est pourquoi ils présentent un profil de toxicité différent des chimiothérapies conventionnelles [70]. Molife *et al.* rapportent que les toxicités de grade 3 et 4 les plus souvent rencontrées pour les thérapies ciblées évaluées en phase I sont des toxicités gastro-intestinales (25%), des fatigues (20%) et des toxicités cutanées (11%) [71]. Des toxicités retardées et/ou cumulatives, mais également des toxicités chroniques de grade 2 peuvent apparaître et détériorer la qualité de vie des patients [70]. C'est pourquoi elles devront être prises en compte dans la détermination de la RP2D.

Tel que nous l'évoquions ci-dessus, avec l'essor des thérapies ciblées, les designs de phase I doivent nécessairement être remaniés. La détermination de la RP2D devra par exemple non plus être établie sur l'observation des toxicités de grade 3 ou 4 lors du premier cycle de

traitement, tel que c'est le cas pour les cytotoxiques, mais sur l'évaluation de la toxicité et de l'efficacité sur l'ensemble des cycles de traitements [70].

1.2. Méthodologies d'escalade de dose

Cette revue de la littérature quant aux B/R des essais de phase I démontre que le taux de bénéfiques (*i.e.* réponse thérapeutique ou stabilisation de la maladie) des patients inclus tend à augmenter, mais reste très loin des espoirs de ces derniers lorsqu'ils acceptent de participer à ces essais. Cette augmentation s'explique en partie par l'amélioration des connaissances physio-pathologiques (meilleure identification de cibles thérapeutiques), l'émergence de nouvelles thérapies, mais également les nouveaux designs d'évaluation. La bonne conduite des études de phase précoce reste primordiale. En effet, ces essais influencent la poursuite du développement clinique, avec le risque d'abandonner à tort le développement d'un candidat-médicament présentant un bénéfice potentiel, et *vice-versa*.

Quelque soit le produit à l'étude, la finalité d'un essai de phase I reste la même, à savoir : la détermination de la RP2D. Cette dernière est obtenue suite à un schéma d'escalade de dose où des patients sont traités à des doses croissantes de PME jusqu'à l'obtention d'un critère d'arrêt pré-spécifié (MTD ou BAD). Cependant la méthodologie de ces essais tend à se modifier avec les produits de thérapies ciblées. Aujourd'hui une étroite collaboration est mise en place entre les promoteurs d'études, les médecins-investigateurs et les équipes de biostatisticiens afin d'établir un design d'essai optimal, "maximisant" les chances de poursuite (et de succès) du PME. La dose administrée au premier patient inclus (dose de départ), le schéma d'escalade de dose, les paliers de doses à évaluer, le nombre de patients inclus dans chaque palier, ou encore les critères d'arrêt de l'escalade de dose sont autant d'éléments à considérer lors de la planification d'un tel essai.

Un schéma d'escalade de dose optimal permettra de ne pas sous/sur-exposer les patients inclus. Cependant cet objectif s'avère difficile à concilier. En effet, ne disposant que de peu

d'informations sur le PME, la dose de départ administrée sera nécessairement faible, afin de ne pas exposer les patients à un risque trop important de toxicités. Or, plus la dose de départ est éloignée de la MTD et/ou de la BAD, plus l'escalade de dose sera longue [72], et coûteuse. L'escalade de dose devra être rapide, minimisant le nombre de paliers de dose évalués afin d'atteindre rapidement des doses thérapeutiques et ainsi de ne pas exposer trop de patients à des doses infra-thérapeutiques. Finalement des critères d'arrêts bien définis devront être mentionnés afin de ne pas exposer trop de patients à des doses potentiellement toxiques.

La MTD du PME est aujourd'hui majoritairement utilisée pour la détermination de la RP2D du PME, et permet de classer les designs de phase I en deux grandes parties. D'une part, les designs basés sur des algorithmes décisionnels, pour lesquels la MTD est observée à partir des données de patients ; d'autre part, les designs basés sur un modèle statistique où la MTD est estimée à partir d'un modèle mathématique.

Dans cette partie ne seront abordés que les designs majoritairement appliqués aux seules études de phase I en monothérapie en oncologie.

1.2.1. Schémas de phase I basés sur un algorithme décisionnel

Pendant très longtemps les modèles d'escalade de dose étaient basés sur des algorithmes décisionnels. Aucune hypothèse n'était faite quant à la relation dose/toxicité, mise à part le fait que pour les chimiothérapies conventionnelles, la risque de survenue de toxicité croît avec la dose administrée.

1.2.1.1. Schéma 3+3

De nos jours, le design le plus largement utilisé est une modification du schéma "*up-and-down*", établi par Dyxon *et al.* en 1948 [73], et adapté par la suite aux essais cliniques par Storer *et al.* en 1989 [74]. L'escalade de dose de ce design est basée sur l'observation ou non de DLTs à un palier de dose particulier (Figure 1). Le plus souvent, l'apparition de DLTs chez au moins deux patients inclus dans une cohorte de 3 ou 6 patients traités à la même dose constitue le critère d'arrêt de l'étude.

Trois patients sont inclus à un palier de dose (n). Si aucune DLT n'apparaît chez ces trois patients, trois nouveaux patients sont inclus à un palier de dose supérieur ($n+1$). Si un patient présente une DLT, trois nouveaux patients sont inclus au même palier de dose (n). Un seuil d'au moins 33% de DLTs définira le critère d'arrêt de l'escalade de dose, c'est-à-dire que si au moins deux patients présentent une DLT sur une cohorte de trois ou six patients, l'escalade de dose est arrêtée. La MTD et la RD2P sont alors déterminées (cf. définition paragraphe 1.1.1.1.). Afin d'accumuler un maximum d'informations sur la RD2P, trois nouveaux patients sont inclus à ce palier de dose.

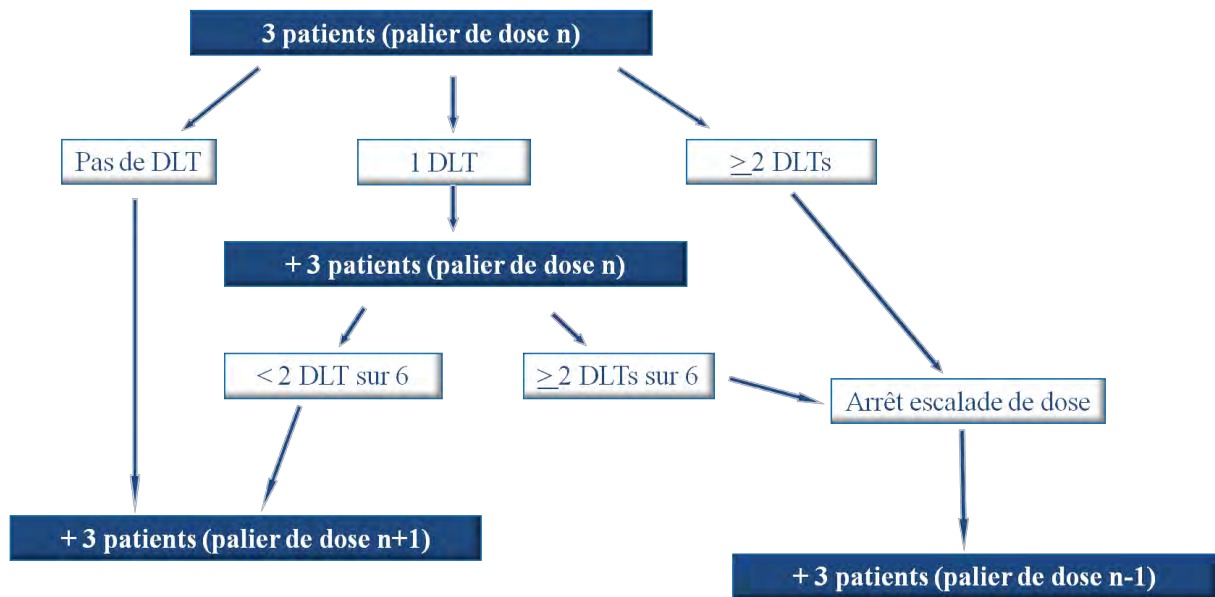


Figure 1 : Schéma d'escalade de dose 3+3. DLT signifie la survenue chez un patient d'une toxicité limitant l'escalade de dose.

Les paliers de doses auront été préalablement définis dans le protocole de l'essai. Historiquement, l'escalade de dose était menée selon une séquence, abusivement appelée suite modifiée de Fibonacci [75], où l'incrémentation de la dose est de plus en plus petite au fur et à mesure que la dose augmente [*i.e.* incrémentation de 100%, 67%, 50%, 40% et finalement 30-35% lors du passage d'un palier de dose (n) à (n+1)] [75]. En pratique, les paliers de doses sont le plus souvent prédéfinis dans le protocole d'essais cliniques, selon une suite laissée libre à l'investigateur.

Le plus grand avantage du schéma 3+3 est qu'il est simple à implémenter et ne nécessite aucune connaissance statistique. De plus, comme trois à six patients sont inclus à chaque palier de dose, une étude de la variabilité inter-individuelle est rendue possible. Toutefois, cette dernière reste limitée en raison du faible nombre de patients inclus.

Cependant, ce design a fait l'objet de nombreuses critiques. Avec une dose de départ trop éloignée de la MTD, un nombre important de paliers de dose est nécessaire avant d'atteindre des doses proches de la dose recommandée. Ceci implique également un nombre trop important de patients traités à des doses infra-thérapeutiques. L'escalade de dose, en incluant au minimum trois patients par palier, peut s'avérer très longue [76].

Finalement la détermination de la MTD s'avère imprécise, tel que le démontrent Faries *et al.* [77]. A la MTD déterminée, le pourcentage de DLTs réellement observé varie de 15 à 70%.

Afin de potentiellement accélérer ces essais, et donc permettre de traiter plus de patients à des doses thérapeutiques, d'autres schémas d'escalade de doses ont été proposés.

1.2.1.2. "Accelerated Titration Design" (ATD)

Simon *et al.* présentèrent trois designs d'escalade de doses différents (designs A, B et C), également basés sur l'apparition de toxicités, définies par les critères du *National Cancer Institute Common Toxicity Criteria* [78]. Ces trois designs se déroulent en deux phases successives : une phase d'escalade de dose accélérée (comprenant des cohortes d'un seul patient) suivie d'une phase d'escalade de dose classique selon un schéma 3+3 (cohortes de 3 patients).

Durant la phase d'escalade accélérée, un seul patient est inclus à un palier de dose (n). Si aucune DLT n'est observée, le suivant est inclus à un palier de dose supérieur ($n+1$), et ainsi de suite jusqu'à ce qu'un patient présente soit une DLT (premier cas de figure) soit une toxicité de grade 2 (second cas de figure).

Dans le premier cas de figure, la phase d'escalade de dose accélérée est arrêtée. Cinq patients supplémentaires seront inclus et traités au même palier de dose. S'en suit alors la seconde phase d'escalade de dose, basée sur un schéma classique 3+3, à partir de ce palier de dose.

Dans le second cas de figure, deux autres patients supplémentaires sont inclus et traités au même palier de dose. Si aucun des deux ne présente de toxicités, l'escalade de dose accélérée se poursuit. Si au moins l'un des deux présentent une toxicité de grade 2 (ou plus), trois patients supplémentaires seront inclus à ce même palier de dose. La phase accélérée

de l'escalade de dose est arrêtée. Dès lors, la seconde phase (schéma 3+3) est débutée à partir de ce palier de dose.

Six patients auront donc été inclus au palier de dose ayant induit l'arrêt de la phase accélérée de l'escalade de dose. Les patients inclus dans les cohortes suivantes seront traités selon un schéma d'escalade de dose classique 3+3.

Deux modifications majeures lors de la phase accélérée différencient les trois designs. Premièrement, l'incrémentation de la dose est de respectivement 40% pour le design A et de 100% pour les designs B et C. Une incrémentation de la dose de 40% est prévue, quelque soit le design, lors de l'escalade selon un schéma 3+3. Finalement, cette phase accélérée est arrêtée dès lors qu'un patient présente une DLT ou deux patients une toxicité de grade 2 respectivement lors du premier cycle (designs A et B) ou de l'ensemble des cycles de traitement (design C).

Quelque soit le design d'ATD utilisé (A, B ou C), une escalade de dose intra-patient est autorisée, mais que lors de la phase accélérée. Une augmentation de la dose, au prochain cycle de traitement, est autorisée en absence de toxicité ou observation d'une toxicité de grade 1 au cycle précédent. Une réduction de la dose sera appliquée suite à l'observation d'une toxicité de grade 3 ou plus lors du cycle de traitement précédent. En pratique, le design C s'avère être le design le plus largement utilisé [20]. A titre d'exemple, Plummer *et al.* l'ont appliqué pour un composé analogue du paclitaxel [79].

Théoriquement, ce design permet d'accélérer l'escalade de dose, et par conséquent diminuer le temps de l'essai, tout en traitant moins de patients à des doses plus faibles. De plus, en autorisant une escalade de dose intra-patient, les patients ont une probabilité plus importante de répondre au traitement à l'étude. De plus, ces designs permettent une évaluation de la toxicité cumulative des produits. La RP2D est déterminée en prenant en compte l'information contenue dans l'ensemble des cycles de traitement et non plus seulement le premier.

Cependant, ce schéma a été critiqué quant aux risques potentiels auxquels s'exposent les patients, avec une escalade de dose trop rapide en début d'essai. De plus, l'avantage théorique d'une évaluation des toxicités chroniques et/ou retardées est amoindri du fait de la complexité de leurs appréciations et/ou différenciations ; le patient pouvant recevoir des doses différentes selon les cycles de traitement [20,25,80]. Finalement, la variabilité inter-individuelle, en termes de tolérance et de pharmacocinétique, est encore plus difficile à appréhender du fait de l'inclusion d'un seul patient par cohorte.

1.2.1.3. Escalade de dose guidée pharmacologiquement (EDGP)

De façon similaire au schéma ATD, l'escalade de dose guidée pharmacologiquement (EDGP) se déroule en deux phases avec tout d'abord une escalade de dose accélérée, puis un schéma 3+3 classique [72,81]. Cette méthode se base sur l'hypothèse que des niveaux de concentrations plasmatiques similaires conduisent à des effets biologiques similaires. Par conséquent, Collins *et al.* suggèrent que les DLTs peuvent être prédites par l'exposition plasmatique du PME [72,81]. En effet, ces auteurs rapportent que l'aire sous la courbe des concentrations (ASC) à la DL_{10} est similaire à l'ASC observée à la MTD chez l'humain [72].

Dès lors, cette ASC cible, déterminée à la suite d'études pré-cliniques, définit l'exposition plasmatique cible à atteindre lors de l'escalade de dose. Une dose de départ calculée selon les critères conventionnels de toxicités pré-cliniques est classiquement utilisée. Lors de la phase accélérée, une incrémentation de 100% de la dose, dans des cohortes d'un seul patient, est prévue tant que l'ASC cible n'est pas atteinte ou qu'une DLT n'est observée. Le cas échéant, la phase accélérée est alors arrêtée et la suite de l'escalade de dose se déroule selon un schéma 3+3 standard avec une incrémentation de 40% de la dose.

Cette méthode présente l'avantage non seulement d'accélérer l'escalade de dose, en diminuant le nombre de paliers de dose étudiés, mais aussi d'obtenir une bonne connaissance de la pharmacocinétique du PME chez l'être humain (molécule mère et

métabolites). Cependant, elle nécessite des moyens logistiques adaptés afin de fournir en temps réel les résultats des prélèvements et analyses de PK afin de juger de la sécurité du prochain palier de dose. L'extrapolation des données des rongeurs à l'humain peut s'avérer complexe notamment lorsque des voies d'administrations différentes sont utilisées. Finalement, la variabilité inter-individuelle des patients peut conduire à des conclusions erronées. Par exemple, une faible ASC sera observée chez un premier patient présentant des capacités d'élimination supérieure à la moyenne. Dès lors, une dose deux fois plus importante sera administrée au patient suivant, cette dose étant potentiellement toxique.

En conclusion, même si ces schémas d'escalade de dose basés sur des règles strictes sont plus simples à mettre en place, ils présentent toutefois des faiblesses. Par exemple, le choix de l'escalade à un palier de dose supérieure n'est basée que sur l'évaluation des toxicités observées au sein du groupe de patients inclus au palier de dose précédent, ne prenant ainsi pas en compte l'ensemble de l'information contenue dans l'essai [75]. C'est pourquoi, des méthodes alternatives, adaptatives, basées sur des modèles statistiques ont été développées, afin de permettre, par exemple, une adaptation de l'incrémentation de la dose en fonction de l'ensemble des résultats observés depuis le début de l'essai.

1.2.2. Schémas de phase I adaptatifs, basés sur des modèles statistiques

Contrairement aux méthodes standards où la MTD, identifiée à partir des données, est une statistique dépendante du design et du nombre de patients inclus, les méthodes basées sur un modèle statistique estiment la MTD comme un paramètre de la courbe doses/toxicités, auquel est associée une probabilité de toxicité pré-définie.

1.2.2.1. "Continual Reassessment Method"

En 2007, Rogatko *et al.* dénombraient plus de 90 études, entre 1991 et 2006, proposant des designs statistiques différents [75]. Cependant, la méthode de réévaluation continue de la probabilité de toxicités (*Continual Reassessment Method* ou CRM), ou variante, s'avère la plus fréquemment utilisée. Elle a été développée et proposée en premier lieu par O'Quigley *et al.* en 1990 [82], mais aujourd'hui de très nombreuses alternatives ont été proposées.

Le principe de cette méthode est basé sur le théorème de Bayes [83], qui actualise l'information dont on dispose *a priori* grâce aux observations (Vraisemblance) afin d'obtenir une estimation, dite *a posteriori* :

$$\text{Distribution } a \text{ posteriori} \approx \text{Distribution } a \text{ priori} \times \text{Vraisemblance}$$

Elle est basée sur deux propriétés : tout d'abord le fait que la survenue d'une DLT soit binaire, mais également le fait que la probabilité d'observer une DLT augmente avec la dose.

Une définition préalable de la fonction décrivant la courbe doses/toxicités (CDT) du PME est nécessaire et constitue l'information dite *a priori*. Elle sera établie grâce aux informations pré-cliniques mais aussi grâce aux informations issues des molécules de la même classe thérapeutique, suite à une concertation entre statisticiens et médecins investigateur. De plus, un pourcentage cible de DLTs, correspondant au seuil nécessaire à la définition de la

MTD (*i.e.* classiquement 33% pour un design 3+3), sera également à pré-définir, en prenant en compte notamment l'importance des toxicités, leurs tolérances ou encore leurs possibilités de prise en charge [82].

Basé sur cette CDT, le premier patient inclus recevra la dose ayant la probabilité de DLTs la plus proche du seuil pré-défini. Dès lors, en prenant en compte les observations cliniques de ce patient (apparition ou non de DLT), les paramètres du modèle mathématique décrivant la CDT seront ré-estimés et la distribution *a posteriori* de la CDT affinée. Cette distribution *a posteriori* sera alors utilisée comme nouvelle distribution *a priori* pour déterminer la dose à administrer au prochain patient inclus (*i.e.* la dose ayant la probabilité de DLTs la plus proche du pourcentage cible pré-défini). Ainsi l'estimation de la probabilité de survenue de DLTs en fonction de la dose est actualisée et affinée pour chaque nouveau patient inclus dans l'essai [82]. L'escalade de dose se poursuit ainsi jusqu'à ce qu'un critère d'arrêt prédéfini soit atteint. Cette méthode permet par conséquent d'utiliser l'ensemble de l'information accumulée durant l'escalade de dose pour la détermination de la MTD (et par conséquent de la RP2D) ; et non pas seulement l'information issue des patients traités à la dose immédiatement inférieure, comme c'est le cas lors d'un schéma classique 3+3 [82]. Cependant la méthode CRM a été vivement critiquée quant à la sécurité des patients inclus et par conséquent de nombreuses alternatives ont été proposées.

1.2.2.2. "Continual Reassessment Method" modifiés

Selon les auteurs, chacun des composants de cette escalade de dose est susceptible de varier, comme par exemple l'allure de la CDT et le seuil de toxicités acceptables. La dose de départ, proposée par O'Quigley *et al.* [82], était jugée potentiellement trop toxique. En effet, O'Quigley proposait de traiter le premier patient inclus à la dose la plus vraisemblablement proche de la MTD ; dose donc potentiellement toxique. De plus une mauvaise estimation *a priori* de la CDT peut conduire à traiter les patients à des doses inadaptées. Certains auteurs

proposaient par conséquent de traiter les premiers patients selon les critères conventionnels de doses de départ, déterminées par les études pré-cliniques de toxicité [84]. Goodman *et al.* proposaient l'utilisation d'un schéma classique 3+3 préalablement à une escalade de dose CRM, le passage d'une méthode à une autre se produisant dès la survenue d'une DLT [85].

Le nombre de patients traités par palier de dose (ou total dans l'essai) varie selon les auteurs. O'Quigley *et al.* proposaient de ne traiter qu'un seul patient par palier de dose [82]. Cependant, le nombre de patient inclus dans l'essai influence la précision de l'estimation de la CDT *a posteriori*. D'autres auteurs suggèrent alors d'augmenter le nombre de patients traités à chaque palier de dose, en particulier pour les doses proches de la MTD [77,84-87].

Le choix des paliers de doses est également source de variations (séquence modifiée de Fibonacci, échelle logarithmique, incrémentation constante de la dose,...). Ce choix est à définir préalablement à la conduite de l'essai et est laissé libre à l'investigateur. Le plus souvent les informations extraites des études pré-cliniques sont utilisées afin de guider le choix de l'incrémentation entre chaque palier de dose. Certains auteurs suggèrent, après définition d'un nombre fixe de paliers de dose, de n'autoriser une augmentation de dose que d'un seul palier de dose à la fois [85,88,89], afin d'éviter une escalade trop importante entre deux cohortes successives de patients (source de critiques de la méthode originale de O'Quigley *et al.*) [82].

Afin de ne pas traiter les patients à des doses trop élevées et donc potentiellement toxiques, Babb *et al.* [90] et Rogatko *et al.* [91] ont proposé une méthode d'escalade de dose bayésienne avec contrôle du surdosage (*Escalation with Overdose Control* ou EWOC). Dans cette méthode, après chaque patient inclus, la probabilité que la future dose à administrer dépasse la MTD est également calculée. Si cette probabilité dépasse un seuil pré-défini par l'investigateur, l'escalade de dose est alors interrompue.

Finalement les critères d'arrêt de l'escalade de dose varient selon les auteurs. Pour certains l'escalade s'arrêtera lorsqu'un nombre défini (20 par exemple) de patients aura été inclus dans l'essai [82] ; pour d'autres lorsqu'un nombre défini de patients aura été traité à la même dose (6 patients traités à la dose de 100 mg par exemple) [84]. Finalement, l'escalade de dose pourra être stoppée si la dose devant être administrée à la future cohorte de

patients ne varie pas de plus d'un certain pourcentage de la dose administrée à la cohorte précédente [87].

Les schémas d'escalade de doses basés sur le principe de la méthode CRM permettent d'obtenir une estimation plus précise de la dose associée à une probabilité pré-définie de toxicités (*i.e.* MTD). Cependant leur inconvénient est de se focaliser sur cette probabilité, et par conséquent de n'apporter que peu d'informations sur l'ensemble de la relation dose/toxicités [92].

1.2.3. Schémas de phase I pour l'évaluation des thérapies ciblées

Tel que nous l'évoquions ci-dessus, l'essor des thérapies ciblées a bouleversé la conduite des essais de phase I, dont notamment l'utilisation de la toxicité comme critère de substitution à l'efficacité. Grâce aux méthodes adaptatives d'escalade de dose, l'efficacité du traitement à l'étude peut être pris en compte, en établissant une relation conjointe entre la dose et tant l'efficacité que la toxicité, tel que proposé par Thall *et al.* [93,94], ou en calculant de façon distincte la probabilité de DLTs et la probabilité de réponses [95].

Les produits de thérapies ciblées présentent souvent un profil de toxicité différent de celui des chimiothérapies cytotoxiques conventionnelles. Les patients sont le plus souvent traités de façon chronique. C'est pourquoi l'étude des toxicités tardives et/ou cumulatives s'avère d'une grande importance ; non plus au décours du seul premier cycle de traitement telle que classiquement accomplie pour les traitements cytotoxiques. Cheung et Chappell [96] puis Braun *et al.* [97] ont proposé une méthode, appelée *Time-to-Event Continual Reassessment Method* (TITE-CRM), permettant de prendre en compte ces toxicités cumulatives en considérant notamment le temps de suivi et l'apparition de toxicités de chacun des patients inclus, et ainsi de déterminer la dose maximale cumulée tolérée (*maximum tolerated cumulative dose* ou MTCD).

1.2.4. Implémentation des différents schémas d'escalade de dose en phase I

En pratique, le schéma d'escalade de dose guidée pharmacologiquement n'est que très peu utilisé [25,76], avec seulement 1% des essais revus par Le Tourneau *et al.* en 2012. Les obstacles logistiques de disponibilité en temps réel des analyses de pharmacocinétique en ont principalement limité son usage. Selon une revue de 270 essais cliniques de phase I publiés entre 1997 et 2008, Penel *et al.* [98] montrent que seulement 10% des essais étudiés furent menés selon un design ATD, mais ce taux semble en augmentation, en particulier avec l'essor des thérapies ciblées (42% des essais analysés) [76].

L'utilisation des designs adaptatifs, basés sur des modèles statistiques, présentent de grands avantages par rapport aux schémas traditionnels, type 3+3. Cependant, leurs utilisations en clinique s'avèrent encore trop faible. En 2007, basés sur l'étude de 1235 essais de phase I entre 1991 et 2006, Rogatko *et al.* ont dénombré une implémentation de ces designs dans seulement 1,6% des essais [75]. Un manque de communication entre biostatisticiens et cliniciens, ou encore des difficultés de compréhension expliqueraient en partie leurs faibles utilisations. L'usage du schéma 3+3 a été pendant de très nombreuses années systématique ; il reste encore aujourd'hui très employé [76]. Cependant, grâce notamment aux recommandations des autorités de santé, les autres types de designs sont de plus en plus implémentés, en particulier pour les essais de thérapies ciblées, avec respectivement 49% de "3+3", 42 % de "ATD", 7% de "CRM modifié" et 1% d'EDGP [76]. Il est intéressant de noter que le ratio MTD/doses de départ s'avère plus élevé pour les études planifiées selon un design plus innovant. Cette tendance serait le reflet de l'index thérapeutique des produits à l'étude : les investigateurs préférant un design plus agressif pour les produits à index thérapeutique plus grand [76].

En résumé, de nombreuses méthodes de planification de la conduite d'un essai de phase I ont ainsi été proposées afin d'optimiser les chances de réussite du PME en phases tardives de développement clinique. Un design d'escalade de dose doit être élaboré en maximisant non seulement la probabilité de traiter un patient inclus à une dose thérapeutique, mais également en fournissant une estimation fiable et précise de la dose recommandée pour les futures études de phase II. Tel que nous avons pu le voir, des méthodes innovantes visent ainsi à raccourcir la durée de l'essai, à ne pas traiter trop de patients à des doses infra-thérapeutiques ou au contraire trop toxiques. Pour cela, des variations des doses de départ, du nombre de patients traités par cohorte ou encore de l'incrémentation de la dose entre deux paliers successifs ont été proposées. De surcroît, ces designs permettent, en particulier pour l'évaluation de thérapies ciblées, l'inclusion de critères d'évaluation additionnels comme l'efficacité du produit [94,99-101], l'estimation de toxicités tardives, cumulatives et/ou retardées [96].

De nos jours, la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cancer évolue vers une médecine personnalisée avec l'utilisation des thérapies ciblées. De plus, devant le fort taux d'attrition des candidat-médicaments en développement, l'augmentation des coûts et de la durée du développement, tant les agences de régulation que les compagnies pharmaceutiques ont conclu à la nécessité de développer de nouvelles méthodologies afin d'améliorer le développement des médicaments [102,103]. Des projets ont alors été initiés pour développer de meilleurs outils, capables de détecter et de mesurer des changements individuels au niveau de la maladie (effet thérapeutique) et des effets indésirables (effets secondaires) [103]. C'est pourquoi, afin d'augmenter la quantité et la qualité des informations collectées lors des études de phases précoces, les guidelines de l'EMA préconisent en particulier l'utilisation d'approches de pharmacologie quantitative, dont la pharmacométrie avec des approches pharmacocinétique/pharmacodynamique (PKPD) afin d'établir des relations entre l'exposition d'un produit et son efficacité et/ou ses toxicités [12].

1.3. "Model-based Drug Development"

Le développement clinique d'un candidat-médicament est au cœur d'une transition. En effet, en théorie certaines compagnies pharmaceutiques associent le développement clinique d'un candidat-médicament (I, II et III) à des approches plus continues, dites de développement de médicament basé sur des modèles (*Model-Based Drug Development* ou *MBDD*) [104,105]. Ce dernier a été défini par la FDA comme "le développement et l'application de modèles d'efficacité ou de toxicités médicamenteuses aux données pré-cliniques et cliniques afin d'améliorer le développement médicamenteux et la prise de décisions" [1,106,107]. Initialement introduit par Sheiner *et al.* en 1997, ce paradigme redéfinit le développement médicamenteux comme une succession de deux cycles distincts (phases I/IIa et phases IIb/III), chacun comprenant une phase d'apprentissage (*learning*) et de confirmation (*confirming*) [108]. De nos jours, ce concept de MBDD est plutôt associé à un continuum de cycles de *learning/confirming* (Figure 2). Alors que les phases de *learning* traitent de nombreuses questions relatives au traitement et à ses réponses, les phases de *confirming* requièrent de ne répondre qu'à une seule question comme par exemple : l'hypothèse nulle d'absence d'effet additionnel peut-elle être rejetée ? Les deux phases (*learning vs confirming*) nécessitent donc des objectifs, designs et analyses différentes [109]. Les cycles de *learning/confirming* se poursuivent par la suite en pratique clinique (post-AMM) en se focalisant notamment sur la sécurité d'emploi du produit, l'actualisation du rapport B/R ou encore le développement de nouvelles indications [103]. Par conséquent, le cycle de vie d'un médicament, de son développement jusqu'à son utilisation clinique, peut être assimilé à un exercice continu de construction de modèles (d'efficacité et/ou toxicités), actualisant en permanence nos connaissances sur ce dernier [107].

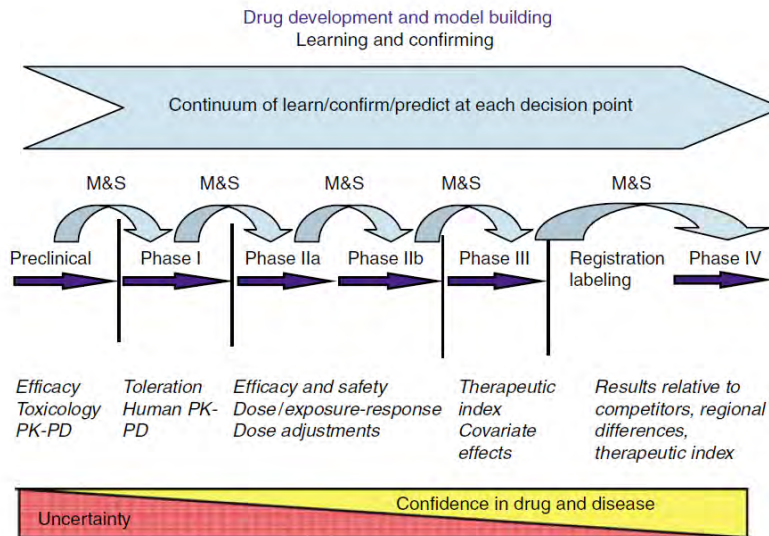


Figure 2 : Paradigme du développement de médicaments basé sur des modèles. Des approches de modeling & simulation sont réalisées avant chaque prise de décision, évaluant quantitativement le risque de poursuivre le développement. Des modèles d'efficacités et de toxicités sont constamment actualisés grâce aux données continuellement collectées lors du développement clinique. Figure extraite de Lalonde *et al.* [107]

L'essor des approches de pharmacométrie est notamment mis en évidence par l'augmentation des documents officiels recommandant son utilisation [110]. En oncologie particulièrement, le recours à de tels modèles a prouvé son utilité comme lors de prises de décisions relatives à la poursuite du développement ou l'optimisation de designs d'essais ultérieurs (*i.e.* designs plus significatifs, plus informatifs) [109,111]. Cependant leurs implémentations restent encore malgré tout limitées ; elles restent peu utilisées en routine [102,104,107] du fait, à la fois d'une mécompréhension de l'utilité du modeling et des difficultés de standardisation (langages, méthodologies, rapport d'études, méthodes d'évaluation) [102]. Les approches de Modeling & Simulation (M&S) sont aujourd'hui principalement utilisées lors de phases cliniques précoces [110], en particulier pour la caractérisation des toxicités hématologiques [112]. En effet, l'étroitesse de la fenêtre thérapeutique de nombreux médicaments anticancéreux associée aux nombreuses sources de variabilité inter-individuelle des réponses associées, nécessitent certains efforts afin d'optimiser les schémas d'administration.

2. Méthodes de Pharmacocinétique de Population

2.1. Modèles non linéaires à effets mixtes

Sheiner *et al.* [113], en 1972, introduisirent les méthodes de pharmacocinétique de population, appliquées en 1980 par Sheiner et Beal dans un contexte de suivi thérapeutique pharmacologique où peu de données par patient sont collectées [114]. Depuis, ces méthodes ont été étendues à de nombreux autres champs d'applications. Aujourd'hui, elles sont notamment utilisées afin de guider la prise de décisions, des phases pré-cliniques jusqu'à l'enregistrement d'un candidat-médicament, grâce à l'obtention précoce d'informations précises, fiables et à moindres coûts [115,116].

Les méthodes de pharmacocinétique de population appartiennent au domaine de la pharmacométrie, définie par Aarons *et al.* [110] comme "la science de développer et d'appliquer des modèles mathématiques et méthodes statistiques pour caractériser, comprendre et prédire le comportement PK et/ou PD d'une molécule dans le temps, tout en quantifiant l'incertitude associée". La construction de ces modèles pharmaco-statistiques, reliant par exemple l'exposition du produit à ses effets (modèles PKPD) [117], est guidée par les données observées. Les modèles représentent des simplifications du système à l'étude, à savoir ici le corps humain et sa physiologie. En ce sens, ils ne sont en aucun cas une représentation fidèle de la réalité, mais un outil facilitant la compréhension de l'influence d'un produit expérimental sur le système ou *vice-versa*. Mécanistiques ou empiriques (de par l'utilisation ou non de paramètres physiologiques), ils ont une valeur descriptive ou prédictive selon qu'ils sont construits respectivement pour la description d'un certain type de données ou la prédiction de données autres que celles utilisées pour établir le modèle [118]. Au fur et à mesure de l'avancement du développement clinique, de plus en plus de données sont disponibles, c'est pourquoi ces modèles sont constamment mis à jour et améliorés. Contrairement aux approches de pharmacocinétique classique, l'ensemble des données de tous les patients est analysé simultanément lors d'une approche de

pharmacocinétique de population [119,120], d'où le terme de population. Toutefois, les données sont analysées en tenant compte du fait que les données d'un même sujet sont liées entre elles et indépendantes des autres. L'exploitation d'un faible nombre de prélèvements par patient est possible dès lors que l'ensemble de la cinétique est couverte par l'ensemble des prélèvements de tous les patients. La pharmacocinétique de population permet donc possiblement une diminution du nombre de prélèvements par patient.

Les paramètres du modèle sont considérés, à l'inverse des méthodes de pharmacocinétique classique, comme des variables aléatoires, la valeur du paramètre pour un individu donné étant une réalisation de cette variable aléatoire. Un modèle de population est décrit par l'association de modèles dits de structure et statistique, décrivant respectivement des effets fixes (paramètres typiques de la population) et aléatoires (variabilité inter-individuelle des paramètres au sein de la population et variabilité résiduelle). Ces modèles sont donc non linéaires à effets mixtes ; le terme non linéaire faisant référence aux équations mathématiques utilisées pour la description des données. Des paramètres moyens ou de populations, communs à l'ensemble des patients, ainsi que des paramètres quantifiant la variabilité au sein de cette population sont estimés. Chaque paramètre pourra ainsi être décrit par sa distribution dans la population (*i.e.* par sa moyenne et sa variance).

2.1.1. Modèles de structure

Un modèle pharmacologique est à la base du modèle de pharmacocinétique de population. Il est écrit sous forme d'équations mathématiques décrivant l'allure générale de la réponse, qu'elle soit PK ou PD. Le modèle de structure prédit, par exemple, la cinétique des concentrations du médicament chez un sujet, faisant abstraction des erreurs de mesures, en fonction des variables indépendantes x_{ij} (temps t_{ij} , doses D_{ij}) et du vecteur de P paramètres à effets fixes (ou de population) $\theta = (\theta_p)_{1 \leq p \leq P}$. Les paramètres du modèle ont donc une

interprétation pharmacocinétique et/ou pharmacodynamique. En considérant une population de N individus i ($i = 1, \dots, N$) et j le nombre d'observations pour chaque individu ($j = 1, \dots, n_i$), nous pouvons définir y_{ij} comme étant la $j^{\text{ème}}$ observation du $i^{\text{ème}}$ individu. Le nombre total d'observations est alors $n_{tot} = \sum_{i=1}^N n_i$, où n_i est le nombre d'observations de l'individu i . L'expression du modèle de pharmacocinétique de population peut s'écrire ainsi :

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

avec z_i le vecteur de covariables pour l'individu i , η_i les effets aléatoires individuels, et ε_{ij} l'erreur résiduelle qui affecte la $j^{\text{ème}}$ observation de l'individu i .

2.1.2. Modèles statistiques

Le modèle statistique quant à lui décrit les effets aléatoires, tels que la variabilité inter-individuelle η , la variabilité inter-occasion (ou intra-individuelle) κ , ou encore la variabilité résiduelle ε .

La variabilité inter-individuelle η_i traduit l'écart entre la valeur du paramètre pour un individu i donné (θ_i) et la valeur moyenne de population de ce paramètre (θ_p). La variabilité entre les individus de la population à l'étude est ainsi décrite par la variabilité entre les paramètres du modèle. Des modèles d'erreur additive, proportionnelle ou combinée peuvent être utilisés pour modéliser cette variabilité inter-individuelle. Cependant, le plus souvent, dans les études pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques, la distribution des paramètres individuels est supposée suivre une loi log-normale ($\theta_i = \theta_p \cdot e^{\eta_i}$), contraignant les paramètres individuels à des valeurs positives. Pour un vecteur de P paramètres, nous pouvons dès lors écrire

$$\eta \sim N(0, \Omega^2)$$

$$\ln(\theta) \sim N(\ln(\theta_p), \Omega^2)$$

où $\Omega^2 = (\omega_{ij}^2)$ est la matrice de variance-covariance des effets aléatoires inter-individuels. Cette variance permettra de juger de la dispersion des valeurs des paramètres pour l'ensemble des individus.

Une deuxième source de variabilité peut être prise en compte dans la modélisation statistique des données : la variabilité inter-occasion κ . Cette dernière permet d'expliquer la variabilité des paramètres d'un individu donné selon différentes occasions (par exemple différents cycles de traitement), tel que pour l'occasion k , $\theta_{ik} = \theta_p \cdot e^{\eta_i + \kappa_k}$. Cette variabilité est supposée suivre une loi normale, centrée sur zéro et de variance Π^2 : $\kappa \sim N(0, \Pi^2)$ pour un vecteur de P paramètres. Karlsson *et al.* indiquent que la prise en compte de cette variabilité est importante afin de ne pas biaiser l'estimation des paramètres de population [121].

Finalement l'écart entre les réponses observées (*e.g.* concentrations plasmatiques observées) et prédites par le modèle pour un individu est traduit par la variabilité résiduelle ε . ε_{ij} correspond à la variabilité résiduelle qui affecte la $j^{\text{ème}}$ observation du $i^{\text{ème}}$ individu. Ces écarts sont notamment dus aux erreurs analytiques mais traduisent de façon plus générale l'inadéquation du modèle aux données. La variabilité résiduelle est supposée suivre une loi normale centrée et de variance Σ^2 : $\varepsilon \sim N(0, \Sigma^2)$ pour un vecteur de P paramètres. De façon identique à la variabilité inter-individuelle, différents modèles d'erreurs résiduelles peuvent être implémentés tels que des modèles d'erreurs additives, proportionnelles ou combinées, avec par exemple pour un modèle d'erreur combinée $var(\varepsilon) = \sigma_{inter}^2 + (\sigma_{slope} f(\theta, t_j))^2$ où σ_{inter}^2 et σ_{slope}^2 correspondent respectivement à la part additive et proportionnelle de l'erreur résiduelle.

2.1.3. Etudes de covariables

Les méthodes de pharmacocinétique de population permettent donc l'estimation de paramètres moyens dans une population, mais également de la variabilité inter-individuelle. L'inclusion dans le modèle de caractéristiques propres aux individus, appelées covariables, permet d'expliquer en partie cette variabilité. Ces covariables peuvent être des caractéristiques démographiques (*e.g.* âge, sexe), morphologiques (*e.g.* poids), génétiques (*e.g.* polymorphismes), environnementales (*e.g.* tabagisme, régime alimentaire), physiopathologiques (*e.g.* insuffisance hépatique, fonction rénale, pathologie donnée), ou encore la co-administration de médicaments. Leur inclusion permet l'identification de facteurs influençant la réponse du modèle et, par conséquent, l'identification de sous-groupes de populations, comme par exemple des populations à risques de sur/sous-dosage médicamenteux. Les covariables confèrent un aspect physiopathologique au modèle, facilitant son interprétation (*e.g.* variation de la clairance individuelle en fonction du degré d'insuffisance rénale). Elles permettent une prédiction individuelle plus fiable des données.

Une distribution suffisamment étendue des covariables dans la population est nécessaire afin de voir son effet sur un paramètre du modèle. Les covariables fortement corrélées (*e.g.* poids et surface corporelle) doivent être identifiées afin de ne choisir que la plus pertinente.

Avant toute investigation, un plan d'analyse devra préalablement être établi, dans lequel seront mentionnés :

- les covariables testées, en justifiant le rationnel de leurs inclusion, basé par exemple sur la pharmacologie du produit [122],
- les procédures de pré-sélection des covariables (le plus souvent basées sur des méthodes graphiques et/ou statistiques [123]),
- les procédures de construction de modèles (méthodes ascendantes et/ou descendantes [124],

- les critères d'acceptation de ces covariables (niveau de significativité statistique et niveau de pertinence clinique).

Une fois le modèle de population établi, les prédictions des paramètres de chaque individu, dit *Empirical Bayesian Estimates* (EBE), seront déterminées par méthode bayésienne. Les réponses individuelles (*e.g.* concentrations plasmatiques), dénommées IPRED, seront dès lors calculées. Cette estimation bayésienne est conditionnée par la connaissance, *a priori*, de la distribution estimée des paramètres lors de l'analyse de population, mais également par les données observées. Les paramètres individuels sont déterminés en pondérant les informations provenant de la population (paramètres de population), les données observées de l'individu, et la variabilité résiduelle. Le poids associé aux données individuelles est dépendant de la quantité d'information produite par l'individu. Par exemple, les paramètres individuels d'un individu chez qui peu de prélèvements ont été effectués, tendront abusivement vers des valeurs proches des paramètres de population. Cet aspect est apprécié par un paramètre dit de *shrinkage* [125,126]. L' ε -*shrinkage* et le η -*shrinkage* permettent de juger de la confiance à attribuer respectivement aux prédictions individuelles du modèle (*i.e.* IPRED) et aux prédictions individuelles des paramètres du modèle (*i.e.* EBE). Un phénomène dit d'adéquation parfaite (*perfect fit phenomom*) peut se produire si peu d'information est contenue dans les observations d'un individu donné. Dès lors, les valeurs d'IPRED tendront abusivement vers les vraies valeurs observées, et des conclusions erronées quant au modèle pourront ainsi en découler. L' ε -*shrinkage* est calculé de la manière suivante

$$\varepsilon_{shrinkage} = 1 - sd(IWRES)$$

où $IWRES = \frac{(Observation - IPRED)}{\sigma}$ avec σ l'écart-type de l'erreur résiduelle. L' ε -*shrinkage*

est donc compris entre 0 et 1. Plus ce *shrinkage* est proche de 1, moins il faudra accorder de confiance dans la valeur des prédictions individuelles.

Il en va de même pour les EBEs. L' η -shrinkage est calculé ainsi : $\eta_{shrinkage} = 1 - \frac{sd(EBE)}{\omega}$ où ω est l'écart-type de la variabilité inter-individuelle du paramètre considéré. Ce shrinkage est particulièrement important à prendre en compte lors de la recherche de covariables. Une présélection des covariables à tester ne pourra être effectuée que sur les paramètres présentant un faible η -shrinkage (*i.e.* < 30%) [126].

2.1.4. Simulations

Une fois le modèle établi de nombreuses simulations peuvent être effectuées. Tout d'abord dans le cadre d'évaluation de modèles, des simulations du jeu de données ayant permis la construction du modèle (évaluation dite interne) sont effectuées afin de juger des bonnes capacités descriptives du modèle. Des simulations sur un jeu de données différent (évaluation externe) permettront de juger des capacités prédictives du modèle. Dans le cadre d'inférences statistiques, le modèle peut être utilisé afin de prédire d'autres données que celles observées. Selon si les données d'intérêt sont incluses ou non dans l'étendue des observations ayant servi à construire le modèle, nous parlerons respectivement d'interpolations ou d'extrapolations. Par exemple, grâce à un modèle construit avec des doses administrées comprises entre 10 à 50 mg, des simulations de concentrations pour des doses de 25 mg et 75 mg correspondront respectivement à des inter- et extrapolations [127]. Une évaluation fiable et robuste du modèle est toutefois primordiale avant toute inférence [128].

Ces simulations constituent par conséquent une aide précieuse dans le développement clinique d'un candidat-médicament. En effet, l'identification précoce d'une dose optimale et/ou d'un schéma d'administration adéquate augmente les chances de réussite du produit en phases tardives de développement clinique [129]. La simulation d'essais cliniques fait

aujourd'hui partie intégrante du concept de "*Learning/Confirming*" (cf. paragraphe 1.3.), proposé par Sheiner *et al.* en 1997 [108] ; concept aujourd'hui appliqué, tel que nous l'avons vu, par certaines compagnies pharmaceutiques lors du développement clinique de candidat-médicament [130]. L'ensemble des informations collectées lors d'études préalables est employé afin de simuler les réponses attendues d'essais à venir. Dès lors, les informations issues de ces dernières études permettront non seulement d'évaluer le modèle, les hypothèses préalablement faites, mais permettront également peut-être l'amélioration du modèle. Les analyses de pharmacocinétique de population sont de plus en plus intégrées dans les dossiers d'AMM, mais également en post-AMM comme par exemple pour étendre les indications d'un médicament (variations de type II du dossier d'AMM) [122]. Par exemple, la FDA a autorisé l'utilisation de ces méthodes pour transposer les informations (efficacité/toxicités) d'un produit prescrit chez l'adulte, aux populations pédiatriques [103]. Lee *et al.* ont montré que le nombre de dossiers de soumission d'AMM incluant des analyses de pharmacocinétique de population a été multiplié par 6 entre 2000 et 2008 [131]. Actuellement les résultats de ces analyses sont le plus souvent utilisés pour caractériser la PK d'un produit dans une population cible ou particulière (*e.g.* personnes âgées, enfants, insuffisants rénaux,...) [122]. Elles permettent ainsi l'identification de sources de variabilité ayant un impact sur la sécurité et l'efficacité d'un produit expérimental ou enregistré. Dans un contexte de médecine personnalisée, des recommandations de schémas d'administration et/ou de posologies pourront ainsi être proposées [132].

2.2. Modèles pharmacocinétiques (PK)

Les concentrations d'un médicament sont majoritairement mesurées au niveau plasmatique, bien que d'autres matrices biologiques puissent également être utilisées (*e.g.* urine, liquide péritonéal,...). L'interprétation des données pharmacocinétiques se fait grâce à des modèles mathématiques faisant appel à la notion de compartiments. Les méthodes compartimentales résument le plus souvent le corps humain à quelques compartiments, reliés entre eux, dans lesquels le composé à l'étude se distribue de façon uniforme. Un compartiment peut-être considéré comme "un volume dans lequel toutes les molécules de médicament réagissent de la même manière, c'est-à-dire avec la même probabilité d'entrer ou de sortir, selon la même vitesse de transfert" [133]. Ces compartiments peuvent avoir une réalité biologique mais la plupart du temps il s'agit d'espaces virtuels. Les concentrations plasmatiques (variables dépendantes) seront alors décrites par des équations différentielles prenant en compte les paramètres du système (constantes de transfert, volumes de distribution et clairances) et les variables indépendantes (dose et temps). Les modèles pharmacocinétiques se différencieront le plus souvent les uns des autres par la manière dont les compartiments sont connectés, avec principalement des modèles dits caténaux et mamillaires. Un modèle est caténaire s'il comporte un compartiment d'entrée, un compartiment de sortie et un ou plusieurs compartiments intermédiaires, tel que chacun d'eux est simultanément le successeur unique du précédent et le précurseur du suivant (Figure 3).



Figure 3 : Exemple de modèle compartimental caténaire.

Un modèle est dit mamillaire s'il est composé d'un compartiment central précurseur de tous les compartiments périphériques, eux-mêmes indépendants entre eux (Figure 4). Ces derniers sont les modèles les plus fréquemment utilisés en pharmacocinétique.

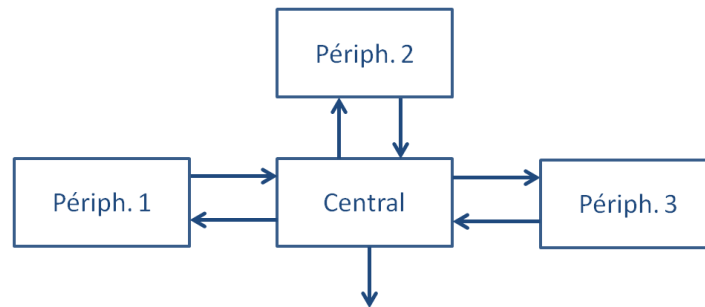


Figure 4 : Exemple de modèle compartimental mamillaire

Les compartiments sont reliés entre eux par des constantes de transfert, traduisant les vitesses d'échanges entre les compartiments. Chaque compartiment est donc décrit par une équation différentielle associant les entrées et les sorties du médicament [134]. En pharmacocinétique, les systèmes sont le plus souvent linéaires, avec des vitesses d'entrée et de sortie d'un compartiment proportionnelles à la quantité de médicament (constantes de transfert d'ordre 1). Or dans certaines situations, une pharmacocinétique non-linéaire est observée (*e.g.* mécanismes de transport ou d'élimination saturables), et habituellement décrite par l'équation de Michaëlis-Menten. Un cas particulier de cette situation est observé dans le cadre de constantes de transfert constantes et indépendantes de la concentration en médicament (ordre 0). Les modèles sont codés à l'aide de microconstantes (*e.g.* K_{10} , la constante de vitesse d'élimination du compartiment central dans le cadre d'une administration intraveineuse [IV] *bolus*) ou de macroconstantes (*e.g.* CL, la clairance d'élimination plasmatique). Le passage des unes aux autres est possible par le biais de calculs mathématiques (*e.g.* K_{10} dépend des macro-constantes CL et V_d [le volume de distribution], tel que $K_{10}=CL/V_d$). Les macro-constantes présentent toutefois l'avantage d'être plus facilement interprétables biologiquement. Le nombre de compartiments est souvent dicté par l'évaluation des données. Par exemple dans le cadre d'un modèle tri-compartimental, le compartiment central sera assimilé au compartiment vasculaire, duquel le médicament sera éliminé. L'addition de compartiments périphériques permettra de

décrire les différentes phases de décroissance des concentrations plasmatiques, traduisant des différences d'équilibration dans les différents organes (groupe d'organes plus ou moins perfusé).

Afin d'illustrer nos propos, nous pouvons décrire les travaux de Delord *et al.* basés sur l'évaluation des données de concentrations d'oxaliplatine, administré chez 40 patients atteints de cancers colorectaux [135]. L'oxaliplatine a été administré sous forme de perfusion IV pendant 3 heures, associé à du 5-fluorouracile (5-FU) et de l'acide lévofolinique, à des doses et périodes inter-cycles variables sur 3 cycles de traitement. Huit prélèvements pharmacocinétiques (à 1.5, 3, 3.25, 3.5, 4, 5, 8 et 24h) ont été réalisés afin de mesurer les concentrations plasmatiques d'oxaliplatine libres (ultra-filtrables). La collecte des urines, entre 0 et 5 heures après le début de perfusion, a également été réalisée et les concentrations d'oxaliplatine déterminées. L'influence de plusieurs covariables a été testée sur le paramètre de clairance des patients : âge, sexe, poids, taille, surface corporelle (BSA), créatininémie (Scr), protéinémie, et l'hémoglobulinémie.

L'oxaliplatine ultrafiltrable a été modélisé par un modèle bi-compartimental (Figure 5) reliant un compartiment central (1) à un compartiment périphérique (2).

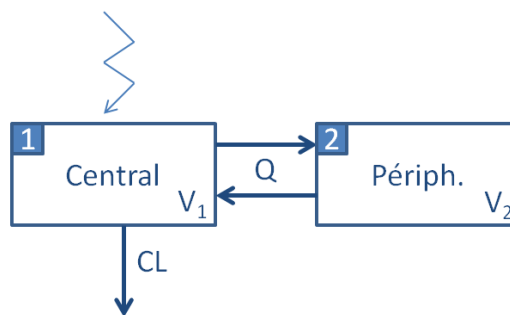



Figure 5 : Modèle pharmacocinétique d'oxaliplatine libre, adapté de Delord *et al.* [135].  représente la perfusion ; V_1 et V_2 respectivement les volumes de distribution du compartiment central (1) et périphérique (2) ; Q la clairance inter-compartimentale, et CL la clairance d'élimination totale.

Ce modèle a permis la détermination de la clairance d'élimination plasmatique du médicament (CL), des volumes de distribution des compartiments 1 et 2 (respectivement V_1 et V_2), et de la clairance inter-compartimentale (Q). La fraction de médicament éliminée par voie rénale (*i.e.* 34.3% dans notre exemple) a pu également être déterminée grâce au recueil puis au dosage de l'oxaliplatine dans les urines. La variabilité de la clairance d'élimination de l'oxaliplatine entre les différents cycles de traitement (-15% entre le premier et le troisième cycle de traitement) a été prise en compte par l'ajout d'une variabilité inter-occasion. Finalement, plusieurs covariables (âge, sexe, créatininémie) ont statistiquement été retenues, expliquant 10% de la variabilité inter-individuelle de la CL. Grâce à ces analyses, une réduction de la dose administrée d'oxaliplatine a pu être proposée aux patients âgés et/ou ayant une créatininémie élevée (reflet d'une fonction rénale altérée). Ainsi, même en ne disposant que de peu de prélèvements pharmacocinétiques chez un patient, un suivi thérapeutique pharmacologique pourra être proposé, conduisant à de potentielles adaptations de posologies.

2.3. Modèles pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PKPD) : exemple des thrombopénies

Un pourcentage de la molécule administrée est généralement absorbé au niveau de la circulation sanguine. Selon les molécules, leurs voies d'administrations, cette proportion sera considérée comme négligeable à totale (*e.g.* administration IV). Dès lors des effets, recherchés ou indésirables, pourront être observés au sein des différentes lignées hématopoïétiques. De très nombreux médicaments induisent une diminution du nombre de cellules sanguines circulantes (cytopénie) [136]. Par exemple, une diminution du taux de plaquettes en dessous des valeurs de référence dans la population, appelée thrombopénie, est très fréquemment observée suite à l'administration de médicaments cytotoxiques. Des hémorragies, potentiellement fatales pour le patient traité, peuvent être consécutivement observées. C'est pourquoi la compréhension du mécanisme d'action, mais également la description et l'anticipation de ces thrombopénies s'avèrent importantes en thérapeutique mais également lors du développement clinique. Tout d'abord, la compréhension de la relation entre l'exposition au médicament et le degré de thrombopénie permet d'anticiper ces effets, afin de proposer une prise en charge adéquate. Finalement, dans le cadre des essais cliniques de phase I, ces thrombopénies sont fréquemment rapportées comme étant les principales DLTs des produits à l'étude. La description de cette relation exposition/toxicité permettrait ainsi de guider le développement clinique, améliorant le taux de bénéfices des patients inclus mais également les chances de réussites du candidat-médicament lors des phases tardives de développement.

2.3.1. Les plaquettes sanguines

2.3.1.1. Structure et fonction

Les plaquettes, appelées "poussière du sang" en 1841 par Addison, ont été dénommées "plaquettes" en 1882 par Bizzozero [137]. Les plaquettes ou thrombocytes sont les plus petits éléments figurés du sang. Ce sont des cellules sans noyaux ayant l'aspect de petits disques de 2 à 4 μm de diamètre et un volume de 6 à 12 μm^3 . Elles ont une durée de vie d'environ 8 à 10 jours [138,139]. Elles sont principalement composées d'une membrane cytoplasmique et d'un cytoplasme. La membrane cytoplasmique est une bicouche phospholipidique ayant pour fonctions principales le transport trans-membranaire, la réponse aux agonistes plaquettaires (*e.g.* thrombine, thromboxane), l'adhérence aux matrices extra-cellulaires ou à d'autres cellules. Le cytoplasme quant à lui est composé de microfilaments et microtubules (responsables par exemple de changements de conformation) mais aussi de granules de stockage de nucléotides, de protéines adhésives (*e.g.* facteur de Von Willebrand) ou encore de facteurs de croissance [140,141].

L'hémostase primaire vise à arrêter un saignement en cas de blessure vasculaire, et réparer le tissu lésé, tout en maintenant fluide la circulation du sang dans les vaisseaux [142,143]. Elle fait intervenir en premier lieu les plaquettes sanguines, spécialisées dans la fonction d'hémostase. Une lésion de la paroi vasculaire met à nu le sous-endothélium, riche en microfibrille et collagène. Les plaquettes vont adhérer en monocouche au sous-endothélium [144-146]. Dès lors leur activation va induire un changement de conformation et la libération de nombreux médiateurs induisant le recrutement et l'activation d'autres plaquettes circulantes [145,147]. Ces plaquettes s'agrègent alors les unes aux autres pour former une masse plaquettaire obstruant la brèche vasculaire, favorisant la coagulation. L'agrégat plaquettaire est consolidé par un réseau de fibrine, contribuant à la réparation du vaisseau.

2.3.1.2. Thrombopoïèse

La thrombopoïèse rassemble l'ensemble des évènements assurant la synthèse plaquettaire. Elle se déroule principalement dans la moelle osseuse des os plats et des extrémités proximales des os longs. Successivement, de nombreuses étapes de différenciation et maturation vont transformer les cellules souches hématopoïétiques en des progéniteurs puis précurseurs mégacaryocytaires à l'origine des plaquettes circulantes. Les cellules souches hématopoïétiques (*Human Stem Cells* ou HSC), grâce à leurs capacités d'auto-renouvellement et de totipotence, assurent la formation de l'ensemble des différentes lignées hématopoïétiques [148]. En fonction des besoins et sous l'effet de certains signaux, ces dernières sortent de leur état de quiescence et s'engagent irréversiblement dans une voie de différenciation particulière, comme la thrombopoïèse (Figure 6).

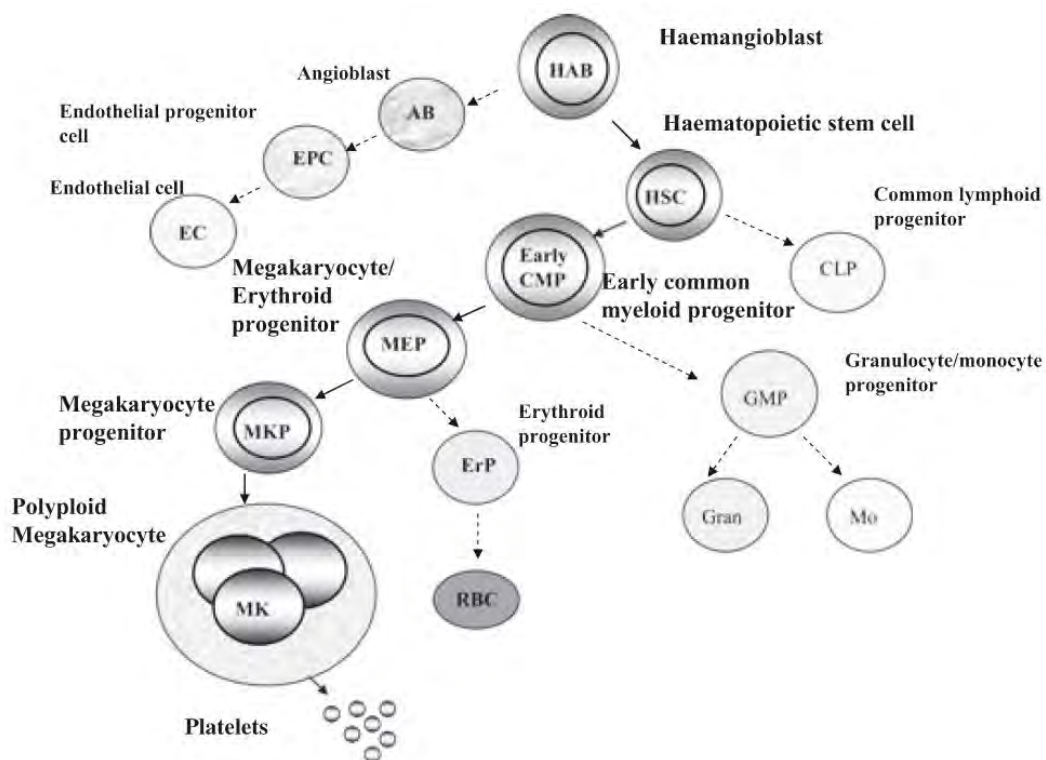


Figure 6 : Chaîne de maturation thrombopoïétique. Figure extraite de Deutsch *et al.* [138]. RBC : Red blood Cell ; Gran : Granulocyte ; Mo : Monocyte.

Seront alors successivement produits les progéniteurs communs myéloïdes (CMP), les progéniteurs communs mégakaryocytaires/érythrocytaires (MEP), les progéniteurs mégakaryocytaires (MKP) précoces (BFU-MK) et finalement tardifs (CFU-MK). Ces progéniteurs perdent progressivement leurs capacités de prolifération [138]. Ce n'est qu'à ce stade de différenciation que commence réellement la lignée mégakaryocytaire à l'origine des plaquettes avec l'apparition des précurseurs mégakaryocytaires, premières cellules morphologiquement identifiables. Commence alors la mégakaryocytopoïèse, avec polypléidisation et maturation cytoplasmique des mégakaryocytes (MK). Par un processus dit d'endomitose, les MKs vont maturer en multipliant leur contenu en ADN. A chaque cycle de réplication de l'ADN, le MK double son stock chromosomique sans subir de division cytoplasmique et nucléaire. La lignée mégakaryocytaire est donc faite de cellules de ploïdies variables, de 2N jusqu'à 64N et plus [149,150]. Parallèlement, la maturation du cytoplasme se poursuit, avec augmentation de son volume et accumulation de granulations plaquettaires [138]. Un réseau de démarcation interne par des membranes, continues avec la membrane plasmique, est alors formé au sein du MK mature de haute ploïdie, encore appelé thrombocytogène. Dès lors, une multitude d'extensions cytoplasmiques, dites proplaquettes (ou pseudopodes), est produite à partir de ce MK [151]. Les plaquettes seront finalement libérées à l'extrémité de ces pseudopodes, par fragmentation du cytoplasme jusqu'à sa consommation totale, à travers les capillaires sinusoides de la moelle où circule le sang [152]. Une fois le sang atteint, environ un tiers des plaquettes produites sera séquestré dans la rate, d'où elles pourront être libérées en cas de besoins.

La thrombopoïèse est dépendante du micro-environnement médullaire, composé de protéines de la matrice extra-cellulaire, mais également de facteurs de croissances hématopoïétiques solubles [150]. En effet, il été montré que l'ensemble de la chaîne de prolifération, différenciation et maturation thrombopoïétique était dépendante d'une hormone : la thrombopoïétine (TPO) [138,139,153,154]. La TPO est une glycoprotéine acide produite majoritairement par le foie, les reins et la moelle osseuse. Sa liaison sur son récepteur *c-Mpl*, exprimé de façon pré-dominante au niveau des tissus hématopoïétiques

(MK à tous stades de différenciation, plaquettes [138,155]) permet notamment la maturation des MKs et la formation de proplaquettes [139]. Il a été démontré que la suppression de TPO conduisait à d'importantes thrombopénies (TCP), imputables à une diminution du nombre de progéniteurs mégacaryocytaires, de MKs matures, ainsi que de leurs ploïdies [137]. Le niveau de TPO est donc inversement corrélé au taux de plaquettes dans le sang et au taux de MKs dans la moelle [139,154]. Cependant sa régulation s'avère complexe et serait guidée par sa consommation lors de sa fixation sur son récepteur. Une production accrue peut être observée par augmentation d'expression d'acide ribonucléique messager (ARNm) dans la moelle ou par stimulation d'Interleukine-6 (IL) lors de phénomènes inflammatoires [137,154]. D'autres facteurs de croissances comme l'IL-3, IL-6, IL-11, *leukemia inhibitory factor* (LIF), *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating factor* (GM-CSF), *Stem Cell Factor* (SCF), *chemokine stromal cell-derived factor* (SDF-1), NF-E2, GATA-1,... sont également médiateurs de la thrombopoïèse [150,155]. Malgré tout, seuls la TPO et le SCF s'avèrent indispensables à cette dernière.

Au final, après environ 7 jours de différenciation, un MK produira en moyenne 10^4 plaquettes. Etant donné le nombre total de MK, environ 10^{11} plaquettes sont formées chaque jour. Chez un adulte, la numération plaquettaire dite normale se situe entre 150 et 400 Giga plaquettes par litre de sang (G/L), valeurs correspondant à un intervalle de confiance à 95% d'une population de sujets sains. Le taux de production peut cependant être démultiplié dans certaines conditions, telles que lors de thrombopénies [139]. Une réaction médullaire est alors observée dans les 24-48 heures (augmentation de la prolifération et accélération de la maturation des MKs) conduisant à une libération accrue de plaquettes dans le sang [138].

2.3.2 Thrombopénies médicamenteuses

Actuellement, de nombreux médicaments ont été décrits comme induisant une TCP dite médicamenteuse ou iatrogène. Les premières d'entre elles ont été constatées il y a plus de 140 ans suite à l'apparition de purpura chez des patients traités par quinine [156].

2.3.2.1. Définition d'une thrombopénie

Les thrombopénies ou thrombocytopénies sont définies comme une diminution du nombre de plaquettes circulantes en dessous des valeurs de référence, à savoir 150 G/L [139].

Tel que nous le mentionnions plus tôt, l'Institut National du Cancer (*National Cancer Institute ou NCI*) a établi des critères de définitions des effets indésirables médicamenteux, notamment des thrombopénies, dans le *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE version 4.0) [157]. Nous avons vu que ces critères sont régulièrement utilisés lors d'essais cliniques afin de préciser les définitions des DLTs. Le NCI a ainsi classé les effets indésirables ("tous signes défavorables ou inattendus, incluant des résultats de laboratoire anormaux, symptômes, ou maladies temporairement associés à un traitement médical [...]") selon leur degré de sévérité, du grade 1 au grade 5, chacun avec une description médicale unique, tel que traduit ci-après (les points-virgules signifiant "ou") :

- **Grade 1** : Léger ; asymptomatiques ou symptômes légers ; diagnostic à l'examen clinique uniquement ; ne nécessitant pas de traitement
- **Grade 2** : Modéré ; nécessitant un traitement minimal, local ou non-invasif ; interférant avec les activités instrumentales de la vie quotidienne

- **Grade 3** : Sévère ou médicalement significatif mais sans mise en jeu immédiate du pronostic vital ; indication d'hospitalisation ou de prolongation d'hospitalisation ; invalidant ; interférant avec les activités élémentaires de la vie quotidienne
- **Grade 4** : Mise en jeu du pronostic vital ; nécessitant une prise en charge en urgence
- **Grade 5** : Décès lié à l'effet indésirable.

Il convient de noter que le grade 5 n'est pas approprié pour tous les effets indésirables iatrogènes. Dans le cadre des TCPs, à ces grades sont associés des taux de plaquettes circulantes, permettant de mesurer la sévérité de l'effet indésirable rencontré (Tableau 2).

Tableau 2 : Définition de la sévérité des thrombopénies selon le taux de plaquettes sanguines circulantes, basé sur la définition de l'Institut National du Cancer (NCI), à partir des *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE) version 4 [157].

Grade	Taux de plaquettes sanguines (en G/L)
Normale	[150-400]
Grade 1	[75-150[
Grade 2	[50-75[
Grade 3	[25-50[
Grade 4	< 25

Différents mécanismes d'action sont à l'origine de ces TCPs, c'est pourquoi il convient de reconnaître leur origine afin de proposer une prise en charge optimale. Leurs cinétiques de survenue et de disparitions permettent tout d'abord de les différencier.

2.3.2.2. Profil des thrombopénies en fonction du temps

Afin d'illustrer notre exposé, nous nous baserons sur les TCPs induites par oxaliplatine, dues à trois principaux mécanismes d'action [158]. Tout d'abord, l'oxaliplatine administré au long cours provoque des dommages hépatiques, conduisant à une hypertension portale puis à une séquestration des plaquettes au niveau splénique. L'augmentation de la taille de la rate est directement corrélée à la quantité cumulée d'oxaliplatine administrée et au degré de TCPs. Généralement, ces TCPs apparaissent tardivement, après une médiane de 18 semaines de traitement. Elles sont le plus souvent modérées (taux plaquettaire moyen de 81 G/L), mais prolongées dans le temps. Un examen de la moelle osseuse révèle une thrombopoïèse normale. L'arrêt du traitement induit un retour très lent à des valeurs normales, observé en moyenne dans les 2 à 3 ans. Ces TCPs sont observées chez environ 80% des patients traités par oxaliplatine sur une période prolongée.

Chez environ 1% des patients traités par oxaliplatine, des réactions immunes peuvent être à l'origine de ces TCPs. En présence d'oxaliplatine, des auto-anticorps se lient à certaines glycoprotéines de surface des plaquettes, et induisent une accélération de leurs destructions. Une diminution précoce (dans les quelques heures à 48h) et importante du taux de plaquettes (< 10 G/L) est observée. Le taux de plaquettes diminue alors en environ 1 à 2 semaines après une primo-exposition au médicament ; ce délai étant raccourci lors d'une ré-exposition [159]. Cependant, après arrêt du traitement, un retour à des valeurs normales est observé dans les quelques jours suivants. Toute ré-administration du médicament incriminé est dès lors à éviter.

Finalement, le principal mécanisme d'action responsable des TCPs induites par oxaliplatine consiste en une myélosuppression modérée, pouvant toucher jusqu'à 80% des patients traités. L'oxaliplatine affecte la thrombopoïèse et exercerait plus particulièrement une activité cytotoxique au niveau des MKs. Ces TCPs, souvent modérées (<75 G/L), surviennent en moyenne dans les 10 jours qui suivent l'administration du traitement. En effet, dans le cadre de ces TCPs chimio-induites par myélosuppression, la cinétique de diminution du taux

de plaquettes est plus longue (environ deux semaines), reflétant le temps nécessaire pour dépléter la population de cellules progénitrices [156]. Il convient de noter que dans la majorité des cas, cette cytopénie est dose-dépendante [156,160], et concomitante à une diminution de cellules au sein des autres lignées hématopoïétiques (*i.e.* neutropénie, anémie,...). Une tel mécanisme est en général confirmé par un retour à la normale du taux de plaquettes circulantes dans les 7 jours environ après arrêt du traitement impliqué [161] ; temps correspondant au temps moyen de thrombopoïèse.

2.3.2.3. Mécanismes d'actions des thrombopénies médicamenteuses

Tel que nous venons de le voir, divers mécanismes d'action sont responsables de TCPs médicamenteuses. Toutefois deux grandes catégories se distinguent : les TCPs dues à une destruction accrue des plaquettes circulantes (phénomènes immuns principalement), et celles dues à une diminution ou suppression de l'hématopoïèse (myélosuppression chimio-induite principalement) [162].

➤ Thrombopénies médicamenteuses dues à un phénomène immun

Une réaction immunitaire est à l'origine des TCPs avec formation d'auto-anticorps se liant spécifiquement à des épitopes particuliers (glycoprotéines de surface des plaquettes) en présence du médicament incriminé [162]. S'ensuit alors une destruction de plaquettes circulantes, puis son élimination par le système réticulo-endothélial [136]. Le groupe de James George est particulièrement impliqué dans la reconnaissance des molécules responsables de ces thrombopénies. Un site internet a été créé (<http://www.ouhsc.edu/platelets/ditp.html> [163]) ainsi qu'un score d'imputabilité, permettant de référencer les principales molécules impliquées [159]. Cette base de données exclut les médicaments de chimiothérapies, ayant en général un mécanisme d'action différent, mais comporte malgré tout quelques exceptions, tel que nous avons pu le voir avec l'oxaliplatine au paragraphe précédent [164].

➤ Thrombopénies médicamenteuses dues à une myélosuppression

Aujourd'hui la myélosuppression représente le principal mécanisme d'action des TCPs induites après administration d'agents anticancéreux [165], en particulier des chimiothérapies cytotoxiques. Cette myélosuppression peut affecter l'ensemble des lignées hématopoïétiques, avec une cinétique et un nadir (taux de cellules sanguines mesuré le plus bas) dépendant des capacités de renouvellement de la moelle osseuse (granulopoïèse : 3 jours ; thrombopoïèse : 7 jours) mais également de la chimiothérapie impliquée et de son protocole d'administration. Néanmoins, nous nous intéresserons plus, dans ce manuscrit, aux thrombopénies chimio-induites. Selon les médicaments administrés, les mécanismes d'actions s'avèrent variables et pour la majorité d'entre eux ils ne sont que partiellement compris. Par exemple, le cisplatine administré au long cours induit un stress oxydatif *via* la production d'espèces réactives oxydatives (ROS) et/ou l'activation de certaines voies de signalisation pro-apoptotiques, conduisant à une apoptose plaquettaire accrue [136]. L'abexinostat, pan-inhibiteur des Histones Déacétylases (pan-HDACi), induit l'apoptose de nombreux progéniteurs et précurseurs mégacaryocytaires [166]. *A contrario*, le panobinostat (pan-HDACi) ne présente pas de caractère myéloablatif et altère le stade terminal de la thrombopoïèse, par inhibition de la maturation des MKs et de la libération des plaquettes [167].

2.3.2.4. Fréquence des thrombopénies médicamenteuses

Globalement, la fréquence des thrombopénies médicamenteuses s'avère être de 19 à 25% [162]. Les données épidémiologiques révèlent une incidence globale d'environ 10 cas par million et par an de patients traités [156].

Wu *et al.* ont fait une importante revue rétrospective de la littérature incluant 47 159 patients traités pour leur cancer entre 2000 et 2007 aux Etats-Unis. A l'inclusion, 11,1% des patients présentaient une thrombopénie, avec une proportion plus faible chez les patients

atteints de tumeurs solides (6,7%) que de tumeurs hématologiques (25,6%). En effet, la fréquence de survenue des TCPs chimio-induites semble varier selon le type de cancer : 10 à 36% des patients atteints de solides tumeurs *versus* 75% des patients atteints de cancers hématologiques [168,169]. La prévalence des TCPs chimio-induites varient également selon le type de traitement : 64,2%, 55,4%, 37,8% ou 21,9% des patients traités respectivement à base de gemcitabine, dérivés du platine, anthracyclines ou taxanes [170]. Kenney *et al.* mentionnent les agents alkylants ainsi que les agents anti-métabolites comme les chimiothérapies les plus thrombopéniantes [156]. Les TCPs sont fréquemment rencontrées avec certaines classes d'agents de thérapies ciblées, comme par exemple les HDACi. Younes *et al.* ont relevé une prévalence de 79% de TCPs de grade 3 et 4 dans un essai de phase II de monothérapie du panobinostat chez des patients atteints de lymphomes hodgkiniens [171]. Finalement, d'autres facteurs de risques tels que les doses, le taux de plaquettes circulantes à l'instauration du traitement, l'âge, l'état général, le type de tumeurs, etc... influenceraient également la prévalence des TCPs chimio-induites [170].

2.3.2.5. Conséquences des thrombopénies médicamenteuses

Les TCPs chimio-induites peuvent avoir de nombreuses conséquences individuelles, telles que des complications (par exemple des hémorragies), une réduction de la dose administrée ou un retard d'administration du traitement, impactant par conséquent la morbi-mortalité et/ou l'efficacité associées au traitement. Mais des conséquences plus générales sont imputables à ces effets indésirables, comme par exemple une augmentation des dépenses de santé du patient traité [170,172].

➤ Complications :

Les complications *post-TCPs* sont essentiellement liées aux risques hémorragiques. Une corrélation entre le degré de TCP et la fréquence de survenue d'hémorragies, mais également du degré de sévérité de ces dernières, a été démontrée [172] ; tant chez les

patients atteints de leucémies [173] que chez les patients atteints de tumeurs solides [174]. Elting *et al.* mentionnent un taux important (21%) d'hémorragies chez les patients ayant un taux de plaquettes inférieur à 10 G/L [175]. De façon générale, des complications hémorragiques ont été observées dans environ 9% des cycles de chimiothérapies compliqués de TCPs [175]. Ces-dernières sont alors mineures (pétéchies, contusions, épistaxis, gingivorragie par exemple) ou majeures (hémorragies cérébro-méningées, gastro-intestinales par exemple), et peuvent potentiellement mener jusqu'au décès [162]. Malgré tout l'incidence des accidents graves reste faible. Près de 2% des patients ayant une numération plaquettaire inférieure à 30G/L ont eu une hémorragie majeure [175]. Les patients présentant des hémorragies modérées à sévères ont, dans la majorité des cas, des nadirs plaquettaires inférieurs à 20 G/L [156,159], allant jusqu'à des valeurs inférieures à 1 G/L, conduisant à un risque d'hémorragies spontanées élevé [156].

D'autres types de complications peuvent également être observés, suite notamment à la libération de microparticules après apoptose ou activation plaquettaire. L'état du patient peut ainsi être impacté (fonctions vasculaires, phénomènes inflammatoires, thromboses veineuses, progression tumorale,...) par un stress oxydatif systémique [136].

Le pronostic des patients présentant une hémorragie majeure est altéré. La médiane de survie est respectivement de 5,9 *versus* 15 mois pour les patients ayant une TCP chimio-induite compliquée ou non d'une hémorragie majeure [175]. De plus, Elting *et al.* précisent que 21% des patients ayant eu une hémorragie sévère sont décédés dans les 30 jours. Il est toutefois à noter que d'autres facteurs de risques sont imputables à ces valeurs (présence de métastases, l'âge [>65 ans], ou antécédents d'hémorragies par exemple) [175].

Les hémorragies s'avèrent plus fréquentes chez les patients atteints de leucémies que chez les patients atteints de tumeurs solides [175]. En effet, chez ces derniers, l'impact clinique et la prise en charge des TCPs sont discutés, dû au faible taux de survenue de complications.

➤ Retard de traitement et/ou réduction de doses :

Un retard d'administration du traitement prévu et/ou une diminution des doses font souvent suite à l'apparition de TCPs chimio-induites. Wu *et al.* mentionnent un retard de traitement de plus de 7 jours chez 22,7% des patients traités, dans 8,2% des cycles de traitement, pour un retard moyen de 17 jours (min-max : 12-21) [170]. Bien que ce retard puisse être multi-causal, les TCPs semblent jouer un rôle important. Les réductions de doses sont plus fréquemment appliquées que ces retards de traitement (17% des cycles de traitement compliqués de TCPs) [175].

➤ Coût :

Les TCPs sont le plus souvent accompagnées d'une augmentation des coûts liés à la prise en charge des patients traités : durée d'hospitalisation plus longue, transfusions plaquettaires, médicaments de support,... [175,176]. Elting *et al.* rapportent par exemple que le coût moyen de traitement d'un patient ayant une TCP peut être multiplié jusqu'à neuf fois, avec une augmentation moyenne des coûts d'environ 1000 dollars américains par cycle de chimiothérapie compliqué d'une TCP [176]. Logiquement, les cycles de chimiothérapies les plus coûteux s'avèrent être ceux avec des nadirs les plus profonds et une durée de TCP la plus longue [176]. Les dépenses les plus importantes proviennent des transfusions plaquettaires réalisées. C'est pourquoi, une diminution substantielle de ces dernières permettrait de générer des économies [176].

2.3.2.6. Prises en charges cliniques

Chez un patient présentant une TCP chimio-induite, une surveillance accrue de la numération plaquettaire est conseillée. Le patient doit également être informé des risques encourus et de tous symptômes hémorragiques suspects.

La prise en charge des patients ayant une TCP médicamenteuse consiste généralement en l'arrêt du traitement incriminé. En effet, pour les TCPs chimio-induites, un décalage de traitement ou une réduction de la dose (surtout lors de TCP de grade 1 ou 2) permet en général à la moelle osseuse de se régénérer. Par conséquent, lors d'associations médicamenteuses, il est important de déterminer l'imputabilité des médicaments administrés [156]. Un retour à des valeurs normales, après arrêt du traitement, est en général attendu après environ 2 à 3 semaines pour les TCP induites par phénomènes immuns [159], ou une dizaine de jour (médiane de 7 jours) pour les TCPs chimio-induites [156]. Cependant la PK du produit (notamment sa CL) ou des altérations de certains organes (foie, rein) peuvent faire varier sensiblement cette durée. Il convient toutefois de noter qu'une réduction de la dose peut induire selon les cas une diminution des effets anti-tumoraux, et donc du bénéfice clinique [177].

Dans certaines conditions, une prise en charge des patients par transfusion de concentrés plaquettaires d'aphérèse s'avère plus appropriée, notamment lors d'hémorragies sévères. Wu *et al.* ont observé qu'environ 2,5% des patients traités, quels que soient leur cancer et leur traitement, ont bénéficié d'un tel traitement, avec une prédominance chez les patients atteints de tumeurs hématologiques [170]. Des transfusions prophylactiques sont également proposées afin de réduire les risques d'hémorragies spontanées associés aux TCPs profondes [156,178]. Cependant le seuil à partir duquel ces transfusions sont proposées de façon systématique est encore débattu, en particulier en termes de bénéfices/risques pour le patient mais également de coût de prise en charge. Gaydos *et al.* propose un seuil de 20 G/L [173] ; seuil confirmé par d'autres auteurs montrant que les hémorragies les plus sévères survenaient chez des patients atteints de leucémies ayant une numération plaquettaire inférieure à ce taux [179]. Goldberg *et al.* proposent une réduction de ce seuil à 10G/L pour les patients atteints de tumeurs solides, en considérant le peu de complications majeures en résultant [168]. La diminution de ce seuil induirait également une diminution du nombre de transfusions réalisées, et par conséquent une diminution du coût de prise en charge des patients [176]. Elting *et al.* rappellent toutefois que même si les patients atteints de tumeurs solides s'avèrent être moins à risques que ceux atteints de leucémies ou lymphomes, la détermination de caractéristiques permettant l'identification de patients potentiellement à

risque reste primordiale [175]. La survenue de complications majeures pourra dès lors être anticipée et la prise en charge individuelle optimisée. Actuellement, l'ASCO recommande une transfusion plaquettaire pour une TCP inférieure à 20G/L avec signes hémorragiques, et une transfusion systématique pour une TCP inférieure à 10G/L notamment en cas d'infection ou de geste chirurgical programmé [178].

Cependant, ces transfusions ne sont pas dénuées d'inconvénients [137]. Dans le cadre de TCPs induites par réactions immunes, les patients peuvent être réfractaires à ces transfusions par la présence concomitante d'anticorps anti-plaquettaires et du médicament incriminé [156] (allo-immunisation anti-HLA chez 10 à 30% des patients [172]). Des complications sont également observées chez 30% des patients ayant bénéficié d'une transfusion plaquettaire [137], tels que des réactions fébriles ou purpura post-transfusions [156].

Finalement, une prise en charge médicamenteuse peut faire suite à l'apparition de TCPs chimio-induites. Le développement d'agents thrombopoïétiques de première génération (rhTPO, PEG-rHuMGDF) a été abandonné en raison d'immunisations avec apparition d'auto-anticorps dirigés contre la TPO endogène et l'apparition de TCPs réfractaires. *A contrario*, le romiplostin et l'eltrombopag, agonistes de deuxième génération, ont prouvé leur efficacité [172], notamment sur les TCPs induites par HDACi [180]. Cependant, aujourd'hui seul l'oprelvekin (Neumega®), un analogue recombinant du facteur de croissance des lignées mégacaryocytaires IL-11 [181], a été approuvé (en 1997) par la FDA dans le traitement des TCPs chimio-induites. En effet, son administration prophylactique a permis une diminution de l'incidence des TCPs sévères et du recours à des transfusions plaquettaires [182,183]. Malgré tout, son utilisation s'avère limitée du à son faible index thérapeutique [158].

En conclusion, la myélosuppression, dont les TCPs, est un effet indésirable fréquent des traitements anti-cancéreux ; que ce soit des chimiothérapies conventionnelles (jusqu'à 80% des patients traités par oxaliplatine [158]) ou des thérapies ciblées (prévalence d'environ 80% de grade 3 et 4 dans un essai évaluant le panobinostat [171]). Dans le cadre des essais de phases I, elles sont fréquemment considérées comme DLTs limitant l'escalade

de dose des patients inclus ; et conduisent, dans la plupart des situations, à une réduction de doses, un arrêt du traitement ou un report de son administration. Des complications majeures de types hémorragiques, allant jusqu'au décès, peuvent survenir. Ces complications pourraient être anticipées par l'identification de groupes de patients à risques (patients atteints de lymphomes ou de tumeurs solides par exemple), notamment grâce à la compréhension de l'évolution du taux de plaquettes circulantes après administration du médicament. De surcroît, la connaissance de la relation exposition/toxicités aiderait au développement clinique d'un candidat-médicament en affinant notamment la détermination de la MTD et donc celle de la RP2D. Différents modèles mathématiques ont été développés afin de décrire et prédire ces TCPs chez les patients traités. Ces modèles furent tout d'abord empiriques, mais sont aujourd'hui de plus en plus mécanistiques, car basés sur des connaissances physiologiques [184]

2.3.3 Modèles PKPD de thrombopénies

Idéalement, une multitude de prélèvements sanguins chez le patient est nécessaire afin de décrire correctement l'évolution complète du taux de plaquettes sanguines. Ceci n'étant ni éthique, ni réalisable, des variables de substitution ont été proposées afin de caractériser la toxicité hématologique, comme par exemple le nadir observé. Mais la valeur du nadir observé est fortement dépendante de la fréquence des prélèvements et des jours auxquels ils ont été réalisés ; le nadir observé ne correspondant généralement pas au vrai nadir de la cinétique plaquettaire. D'autres variables ont par conséquent été proposées telles que le grade de la TCP ou encore le pourcentage de diminution relatif du taux de plaquettes (par rapport à la valeur à l'inclusion du patient). En effet, avant toute inclusion dans un essai ou de façon plus générale, avant toute administration de chimiothérapies, un bilan sanguin avec une numération de la formule plaquettaire est réalisé chez le patient. Dès lors le taux de plaquettes à l'inclusion dans l'essai (ou pré-traitement) est mesuré. Une fois le nadir observé

déterminé, le pourcentage de diminution du taux de plaquettes, entre la valeur à l'inclusion et le nadir, peut ainsi être calculé.

2.3.3.1. Modèles empiriques

Des modèles dit empiriques ont été construits dans le but d'établir une fonction mathématique décrivant la relation PKPD entre l'exposition du médicament (ASC par exemple) et l'hématotoxicité (pourcentage de diminution du taux de plaquettes, par exemple) [184]. Cette relation pourra ainsi être décrite par des fonctions linéaires (relation directement proportionnelle entre la PK et la PD), mais également par des fonctions plus complexes, telles que Emax ou Emax sigmoïde [184]. Malheureusement, ces modèles restent purement descriptifs : aucune covariable ne pourra être prise en compte, aucune prédiction réalisée. Le recours à de telles variables descriptives induit une perte d'une partie de l'information contenue dans la cinétique plaquettaire (durée de TCPs, dates de début et de fin,...). Deux patients présentant les mêmes nadirs ne possèdent pas le même risque de complications : les cytopénies prolongées étant plus à risques. Le temps écoulé jusqu'au nadir ou encore le temps passé sous un niveau seuil de cellules ont alors été proposés. Des modèles plus complexes ont été développés afin de prendre en compte cette notion de temps dans la description des données. Ces modèles sont dits combinés (combinant plusieurs fonctions) ou *splines* [184].

Malgré tout, le manque d'interprétation physiologique des paramètres du modèle a conduit au développement de modèles mécanistiques. Afin de décrire le délai entre l'administration du produit et son effet dans la moelle osseuse, mais également entre l'effet sur celle-ci et son observation clinique dans le sang, des modèles dits de retard ou à compartiments de transits ont été créés [184]. Ces modèles miment, par exemple, la chaîne de maturation hématopoïétique, à travers différents compartiments de transits. Ces modèles physiologiques, plus prédictifs, sont aujourd'hui largement préférés aux modèles empiriques.

2.3.3.2. Modèles semi-mécanistiques

Le rétrocontrôle négatif des facteurs de croissance (TPO par exemple) sur la production de cellules sanguines (plaquettes par exemple) a été ajouté dans un modèle plus complexe, proposés par l'équipe de Friberg *et al.* [185]. Ce modèle semi-physiologique, comme les modèles de retard ou à compartiments de transits, mime la chaîne de maturation hématopoïétique (Figure 7).

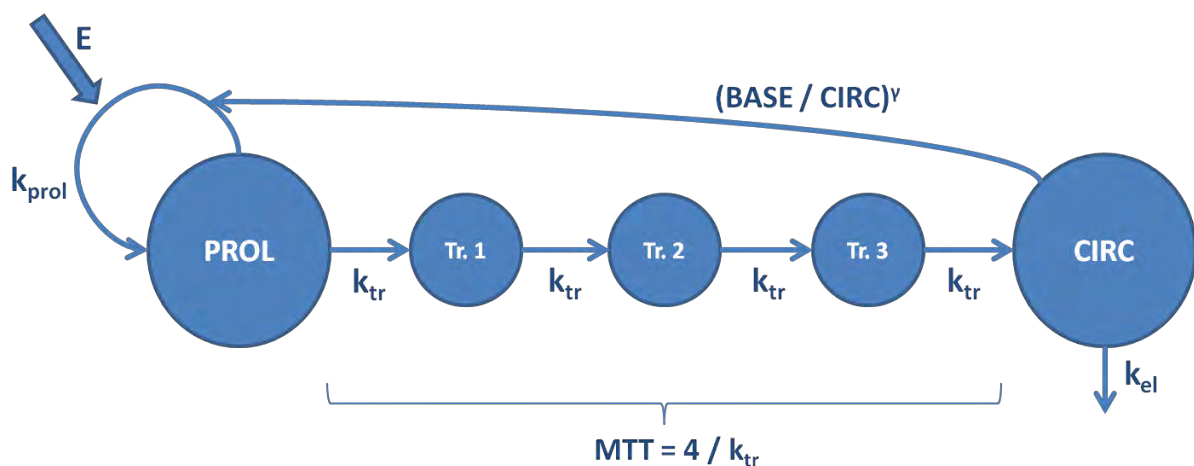


Figure 7 : Structure du modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique semi-mécanistique de myélosuppression chimio-induite : figure adaptée de Friberg *et al.* [185]. PROL, Tr. et CIRC correspondent respectivement aux compartiments de prolifération, de transits, et de cellules circulantes. k_{prol} , k_{tr} et k_{el} correspondent respectivement aux constantes de prolifération, de transits et d'élimination. BASE représente le taux de cellules circulantes à l'inclusion ; γ le coefficient de rétrocontrôle négatif ; MTT le temps moyen de transit ; E l'effet médicament.

Depuis un compartiment de prolifération où les cellules, assimilables aux HSCs, s'auto-renouvellent selon une constante de prolifération du premier ordre (k_{prol}), les cellules vont mûrir à travers différents compartiments de transits (selon une constante de transfert du premier ordre k_{tr}). Les cellules atteignent alors un compartiment, assimilable au compartiment sanguin, de cellules dites circulantes (plaquettes par exemple), où elles seront éliminées selon une constante d'élimination du premier ordre (k_{el}). Pour des questions

d'identifiabilité, en absence de traitement, le nombre de cellules au sein de chaque compartiment est supposé constant et égal au taux de plaquettes à l'inclusion (*BASE*), conduisant à l'hypothèse $k_{prol} = k_{tr} = k_{el}$. Un mécanisme de rétrocontrôle négatif, mimant l'effet de facteurs de croissance hématopoïétique sur la production de cellules circulantes, a été ajouté au modèle. Ce dernier permet une augmentation du taux de prolifération k_{prol} lorsque le taux de cellules circulantes (*CIRC*) est inférieur au taux de cellules mesuré à l'inclusion (*BASE*), et *vice-versa*. Trois paramètres de ce modèle sont dits physiologiques. Le temps moyen de maturation (*Mean Maturation Time* ou *MTT*) est défini comme le temps moyen que met une cellule pour maturer et passer du compartiment de prolifération au compartiment de circulation. Le paramètre γ du rétrocontrôle est relié à l'intensité de la réponse de la moelle en situation de thrombocytose/thrombocytopénie. Finalement, le paramètre *BASE* correspond à la valeur à l'inclusion du taux de plaquettes circulantes.

Ce modèle semi-physiologique est décrit par cinq équations différentielles, chacune d'elles étant associée à un compartiment différent:

$$\begin{aligned}\frac{dPROL}{dt} &= k_{prol} \cdot (1 - E) \cdot FBP \cdot PROL - k_{tr} \cdot PROL \\ \frac{dTr.1}{dt} &= k_{tr} \cdot PROL - k_{tr} \cdot Tr.1 \\ \frac{dTr.2}{dt} &= k_{tr} \cdot Tr.1 - k_{tr} \cdot Tr.2 \\ \frac{dTr.3}{dt} &= k_{tr} \cdot Tr.2 - k_{tr} \cdot Tr.3 \\ \frac{dCIRC}{dt} &= k_{tr} \cdot Tr.3 - k_{el} \cdot CIRC \\ E &= Slope \cdot Conc \\ FBP &= \left(\frac{BASE}{CIRC} \right)^\gamma\end{aligned}$$

Dans le modèle original de Friberg *et al.*, l'effet du médicament (E) est décrit comme un effet linéaire (proportionnel aux concentrations plasmatiques [*Conc*]), inhibant la constante de prolifération k_{prol} . Le paramètre *Slope* représente la sensibilité du patient à l'effet hématotoxique du médicament administré [185]. La chaîne de compartiment de transits

permet la description d'un décalage entre l'administration du médicament, son effet sur la prolifération des cellules et son observation au niveau de la circulation sanguine.

Le modèle de Friberg *et al.* est actuellement le modèle le plus fréquemment employé pour la description des myélosuppressions médicamenteuses, tant en oncologie [185] que dans d'autres aires thérapeutiques, comme par exemple en infectiologie [186]. La robustesse de ce modèle s'avère remarquable de part la diversité des molécules étudiées, mais également des différentes lignées hématopoïétiques concernées. En effet, ce modèle initialement développé dans le cadre des neutropénies [185,187-196] a été appliqué à la description d'autres cytopénies, tels que des leucopénies [191,197,198] ou encore des thrombopénies [186,190,193-196,199,200]. De nombreux auteurs ont dès lors adapté le modèle de structure, basé sur des hypothèses physiologiques, afin d'améliorer la description de leurs données [191,193,199]. Ce modèle permet donc de décrire, d'expliquer et de prédire tant le degré que la durée des toxicités hématologiques, après administration d'une ou plusieurs molécules associées, à des doses et des schémas d'administration différents.

De nombreuses applications ont été proposées, principalement afin d'aider à la sélection de doses ou de schémas d'administration [186-190,192,193,196,199,200]. En effet, la connaissance de la relation exposition-toxicité d'un produit (prise en compte de facteurs de risques, d'un effet cumulatif, de l'effet d'une association médicamenteuse,..) est cruciale dans la prise en charge thérapeutique des patients. Des adaptations de conditions de traitement sont susceptibles d'induire un traitement plus sûr pour les patients les plus à risques de complications, mais également plus efficace pour les patients les moins sensibles. Pour des populations à risques, des modifications de posologies, l'administration de facteurs de croissance ou des perfusions de concentrés plaquettaires peuvent ainsi être proposées. A *contrario*, pour des populations peu sensibles, le maintien ou l'augmentation de la dose conduirait potentiellement à une amélioration du bénéfice clinique.

Par ailleurs, la connaissance de ce lien (exposition/toxicité) s'avère également précieux dans le cadre des essais cliniques de phase I, en oncologie. En effet, tel que nous l'avons vu, peu de patients sont inclus par palier de doses, peu de paliers de dose et peu de schémas d'administration sont testés dans ces essais. C'est pourquoi les méthodes de pharmacocinétique de population sont un outil intéressant pour la simulation de nombreuses conditions de traitement au sein de larges populations cibles.

C'est donc dans ce contexte d'amélioration des connaissances pharmacocinétiques et/ou pharmacodynamiques que s'inscrivent mes travaux de thèse. En effet, nous verrons au travers de différents exemples comment les approches de M&S peuvent servir de support au développement clinique d'un candidat-médicament, mais également à améliorer la prise en charge thérapeutique de patients à l'aide de médicaments d'ores-et-déjà commercialisés.

Dans un premier temps, nous aborderons la construction d'un modèle PKPD reliant les concentrations plasmatiques d'abexinostat (HDACi) à ses effets thrombopéniants. Ce modèle nous a permis de décrire des cinétiques plaquettaires dans une population de patients hétérogènes composée de patients atteints de tumeurs solides et de lymphomes. Dès lors, grâce à des méthodes de simulations, un schéma d'administration optimal mais également une RP2D appropriée ont pu être proposés pour chaque population de patients à l'étude.

Par ailleurs nous verrons la construction d'un modèle PK d'oxaliplatine prenant en compte l'évolution des concentrations péritonéales, plasmatiques libres et liées aux protéines plasmatiques issues de patients traités dans le cadre d'un protocole de chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéale (CHIP). Les données d'exposition (péritonéales et plasmatiques) ont été confrontées aux toxicités observées. Une contribution de la pharmacocinétique, relative au phénomène d'absorption, vis-à-vis de l'intensité des thrombopénies a été mise en évidence.

RÉSULTATS

1. Les thrombopénies au sein du développement clinique : exemple des inhibiteurs des histones déacétylases

L'information génétique est contenue au sein de la chromatine ; elle-même composée de l'ensemble de la séquence nucléotidique mais également de protéines associées. Séparés les uns des autres par des régions internucléosomales, les nucléosomes en sont les constituants centraux. Un nucléosome est constitué de 146 paires de bases d'ADN s'enroulant autour d'un octamère d'histones (*i.e.* deux exemplaires d'H2A, H2B, H3 et H4) grâce aux histones de type H1, dites de liaisons [201,202]. Les histones sont des petites protéines basiques chargées positivement, qui vont interagir avec l'ADN grâce à leur domaine central globulaire et permettre ainsi la compaction de la chromatine. Leurs extrémités C- et N-terminales sont situées à l'extérieur du nucléosome et sont le siège de nombreuses modifications post-traductionnelles. Ces modifications, dites épigénétiques, induisent des changements de conformation de la chromatine, régulant son accessibilité à la machinerie transcriptionnelle [203]. Le profil d'expression d'un gène est corrélé au degré de compaction de la chromatine. Des méthylations, acétylations, ubiquitylations, phosphorylations,... peuvent ainsi intervenir, générant un code, appelé "code histone", élargissant l'information contenue dans le code génétique [204]. Une modification aujourd'hui bien connue consiste en l'acétylation/déacétylation des histones par les enzymes Histones acétylases (HAT)/Histones déacétylases (HDAC) respectivement. L'acétylation des résidus de lysine à l'extrémité N-terminale des histones masque une charge positive, induisant un relâchement de la chromatine, favorisant ainsi le recrutement de la machinerie transcriptionnelle (Figure 8).

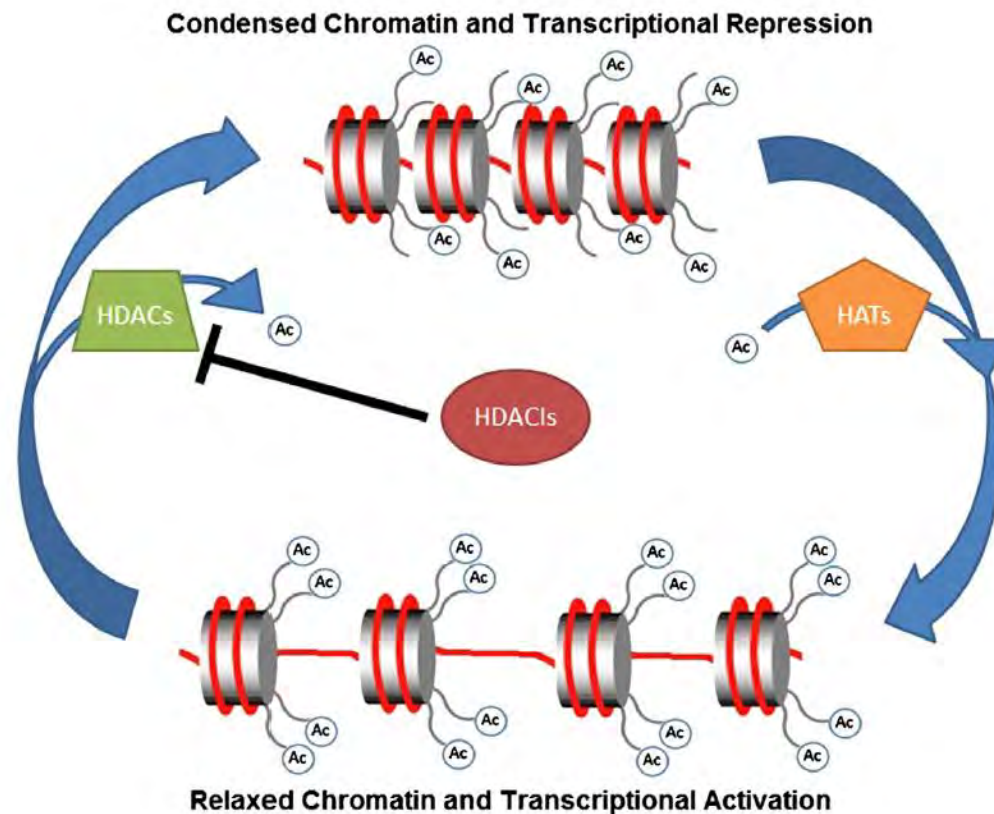


Figure 8 : Mécanismes d'action des Histones acétylases (HAT) et histones déacétylases (HDAC) au niveau de la chromatine. L'inhibition des HDACs conduit à une augmentation de l'acétylation des histones, une relaxation de la chromatine, et l'activation de la transcription. Figure extraite de Harrison *et al.* [205]

A l'inverse, une répression de la transcription, due à une chromatine plus dense, est observée lors de la déacétylation des histones [203,206]. Cependant l'activité des HDACs n'est pas restreinte aux histones, mais s'applique également à de nombreuses autres protéines (p53, GATA-1, NF- κ B,...). C'est pourquoi certains auteurs privilégient le terme de lysine déacétylases pour qualifier cette classe d'enzymes [204]. Actuellement 18 HDACs différentes ont pu être référencées, groupées en quatre classes selon leurs homologies avec les protéines de levures [203]. Onze d'entre elles (classe I, II et IV) contiennent du zinc dans leur site catalytique et sont dites classiques [203]. Les 7 dernières (classe III) sont nicotinamide-adénine dinucléotide (NAD⁺)-dépendantes [203]. Les HDACs interviennent dans de nombreux processus cellulaires, tels que la progression du cycle cellulaire, l'apoptose, la dégradation des protéines, l'angiogénèse, l'invasion et la motilité cellulaire [204].

Dans de nombreux cancers, en plus des mutations génétiques, les changements épigénétiques jouent un rôle primordial dans l'initiation et la progression des processus d'oncogénèse (Figure 9) [203,206]. Il a été notamment démontré des altérations de la fonction des HDACs ou un recrutement anormal de ces dernières au niveau tumoral aboutissant à une modulation anormale de l'activité transcriptionnelle des gènes cibles [202,204,207].

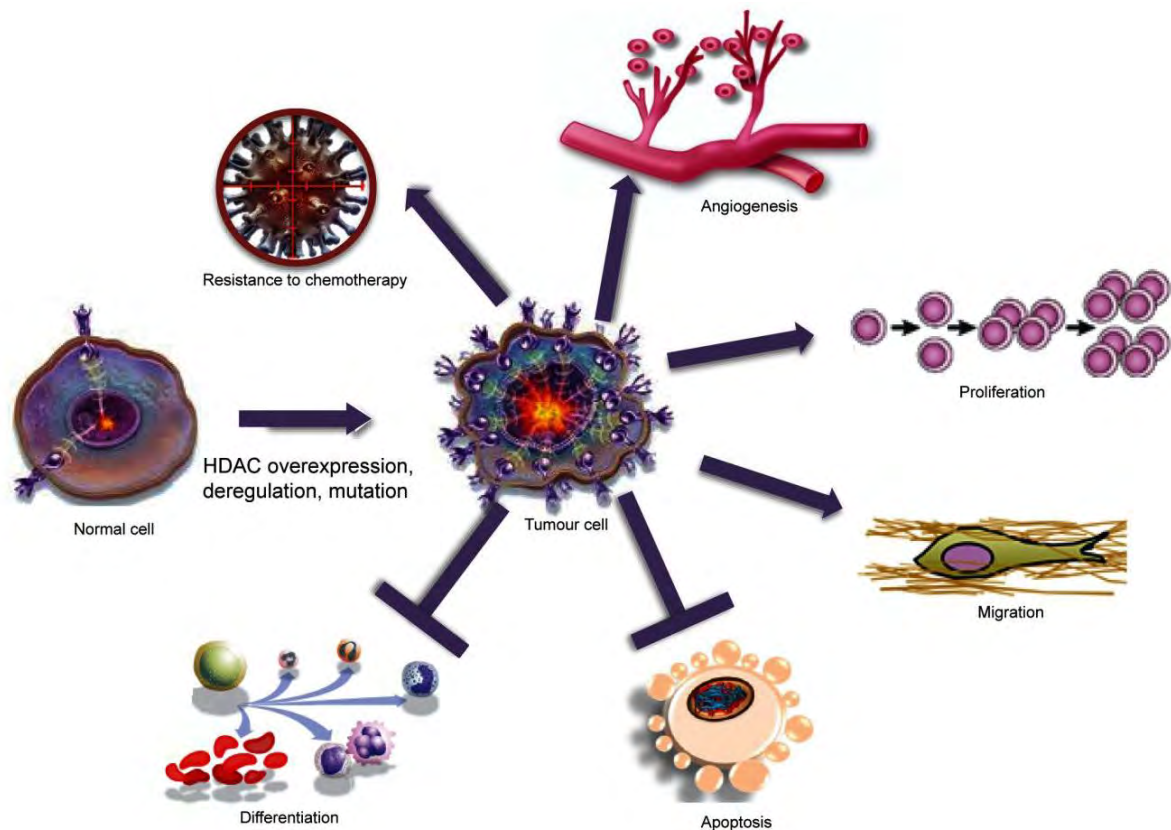


Figure 9 : Implications des histones déacétylases (HDACs) dans les processus d'oncogénèse. Figure extraite de Benedetti *et al.* [207]

C'est pourquoi de nombreux inhibiteurs d'HDACs sont aujourd'hui en cours de d'évaluation comme agents thérapeutiques potentiels [208]. Le mécanisme d'action de ces candidats-médicaments varie selon leurs cibles, mais nous retiendrons que de façon générale les HDACi régulent positivement l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs ou protéines pro-apoptotiques (p21, p53 ou Bas, Bak par exemple) et négativement l'expression d'oncogènes ou protéines anti-apoptotiques (HER2 ou Bcl-2 par exemple) [204,209]. En résulte un arrêt du cycle cellulaire et l'entrée en apoptose des cellules tumorales [202,210].

Les HDACi ont d'ores et déjà démontré leur efficacité dans d'autres aires thérapeutiques [203,206]. Par exemple, l'acide valproïque est prescrit comme anti-convulsivant ou anti-dépresseur [207]. D'autres HDACi sont actuellement en cours d'évaluation dans diverses pathologies (cardiaques, neurodégénératives, inflammatoires, immunes, ou métaboliques) [207], mais c'est principalement en oncologie que se concentre la majorité des études cliniques [211]. En 2014, Benedetti *et al.* dénombrent une vingtaine d'HDACi différents, d'origines naturelles ou synthétiques, en cours d'évaluation clinique en monothérapie ou en association chez des patients atteints de tumeurs solides ou hématologiques [207]. Le premier d'entre eux fut la trichostatine A (TSA), un composé hydroxamate organique dont les activités inhibitrices d'HDACs ont été découvertes en 1990 [203]. Selon leurs structures chimiques, ces HDACi sont classés en 5 groupes : les hydroxamates (vorinostat, abexinostat par exemples), les acides aliphatiques (acide valproïque par exemple), les benzamides (entinostat par exemple), les peptides cycliques types tetrapeptides/depsipeptides (romidepsin par exemple), et les inhibiteurs de sirtuin (SIRTi) (cambinol par exemple) [207]. Ils se différencient par leur sélectivité, leur capacité de déacétylation des histones cibles (et/ou des protéines non-histones), mais également par leur pharmacocinétique [204]. Les pan-HDACi (vorinostat et abexinostat par exemples), non sélectifs, se distinguent par exemple du romidepsin, sélectif d'un isotype particulier. La majorité des HDACi en cours de développement s'avèrent non sélectifs.

Le nombre important d'essais cliniques menés en monothérapie démontre une efficacité plus importante des HDACi vis-à-vis des tumeurs hématologiques que vis-à-vis des tumeurs solides. Actuellement, seul le vorinostat (Zolinza®) [212] et le romidepsin (Istodax®) [180] ont été enregistrés respectivement en 2006 et 2009 pour le traitement des lymphomes cutané à cellules T (*Cutaneous T-cell Lymphoma* ou CTCL). L'utilisation du romidepsin a été élargie en 2011 dans le traitement des lymphomes périphériques à cellules T (PTCL) [206,207]. Chez les patients atteints de tumeurs solides, les résultats de l'administration d'HDACi en monothérapie sont décevants. C'est pourquoi de nombreux essais d'associations médicamenteuses ont été initiés [204,207] ; certains démontrent une synergie d'action des HDACi avec des composés de chimiothérapies conventionnelles. Les HDACi, administrés

préalablement à une chimiothérapie conventionnelle, faciliteraient l'accessibilité à l'ADN des composés cytotoxiques [204].

Les HDACi sont assimilés aux thérapies ciblées, de part une sensibilité plus importante des cellules tumorales à ces traitements par rapport aux cellules saines [202,204,213]. Une explication possible de cet effet sélectif serait la perte d'un *checkpoint* en phase G2 du cycle cellulaire des cellules tumorales, les rendant davantage sujettes à une apoptose induite par HDACi [214]. L'inhibition sélective de certaines HDACs, *a contrario* du mécanisme d'action des pan-HDACi, permettrait une amélioration du bénéfice clinique, notamment chez les patients atteints de tumeurs solides, ainsi qu'une diminution des effets indésirables rencontrés [207]. Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont des toxicités cardiaques (prolongation de l'intervalle QT,...), des nausées, fatigues, diarrhées, vomissements, anorexies ou encore thrombopénies [206]. Une incidence d'environ 50% de TCPs de grade 3 a été rapportée chez les patients traités par vorinostat [206].

Dans le cadre des essais cliniques de phase I, les thrombopénies représentent les DLTs de nombreux HDACi [206]. Le mécanisme d'action de TCPs des HDACi n'est cependant pas encore totalement élucidé. Etant donné la capacité pro-apoptotique de ces médicaments, un effet myélosuppressif par apoptose directe des plaquettes et/ou précurseurs a longtemps été supposé [180]. Or Bishton *et al.* ont démontré que les HDACi réduisent de façon dose-dépendante le taux de plaquettes sanguines, mais que cette diminution ne serait pas due à une myéloablation, ni à une apoptose directe des plaquettes mais plutôt à un défaut de leur formation/libération par les MKs [180]. Une hyperplasie des MKs corrélée à l'augmentation de TPO endogène est alors observée [180,215] ; TPO responsable d'une thrombocytose transitoire à l'arrêt du traitement. Une hyperphosphorylation des chaînes de myosine *post*-traitement, inhibant ainsi la dynamique du cytosquelette nécessaire à la formation de proplaquettes, expliquerait cette inhibition de la maturation des MKs [167,180]. Mais d'autres altérations seraient également responsables de ces TCPs, telles que des modifications post-traductionnelles du facteur de transcription GATA-1 [216] ou NF- κ B [215] induisant un retard de maturation des MKs. Ce mécanisme d'action semble toutefois varier

selon les molécules incriminées. Dans la plupart des cas, les TCPs induites par HDACi s'avèrent transitoires et réversibles à l'arrêt du traitement. Les souris traitées par panobinostat présentent une TCP environ 5 jours après l'instauration du traitement. L'arrêt du traitement entraîne une thrombocytose réactionnelle puis un retour à des valeurs normales dans les 7 jours [180]. Cependant un traitement continu à base de panobinostat ou de romidepsin engendre une TCP maintenue avec atteinte d'un plateau, allant jusqu'à 25% du taux normal de plaquettes circulantes [180]. Une connaissance étroite des mécanismes d'action des HDACi, ainsi que de la capacité de la moelle à restaurer un taux de plaquettes normal après exposition aux HDACi, aiderait au développement de molécules plus sûres, mais également à une meilleure détermination du régime de traitement optimal des patients.

Travaux personnels 1

Nos travaux sont basés sur les données d'un HDACi en particulier, développé en collaboration par les laboratoires Pharmacyclics et Servier : l'abexinostat (S-78454 ou PCI-24781) (Figure 10).

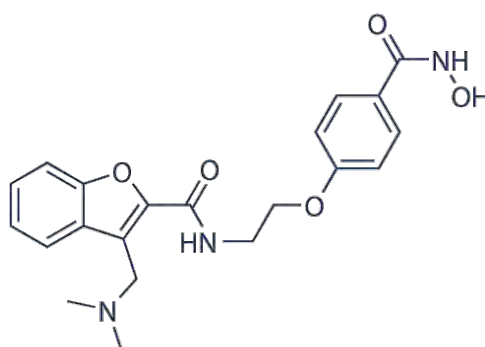


Figure 10 : Structure chimique de l'abexinostat (PCI-24781 ou S-78454). Figure extraite du site Selleckchem.com [217]

L'abexinostat est un phényl-hydroxamate à large spectre, se liant avec une forte affinité au site catalytique des HDACs [218]. Ce candidat-médicament est actuellement en cours de développement clinique en monothérapie, en association avec de la radiothérapie ou encore associé à d'autres médicaments cytotoxiques [203]. En association, un effet synergique avec d'autres agents cytotoxiques, tels que la doxorubicine est observé [218]. Les premiers résultats publiés d'une étude de phase I montrent une stabilisation de la maladie sur plus de 8 cycles de traitement chez 8 des 13 patients inclus [203]. Les principaux effets indésirables référencés consistent en des anémies, diarrhées, nausées, fatigues, vomissements. Chez certains patients, un décalage du segment ST-T a été observé, mais ne s'avérait pas être relié à la dose d'abexinostat administrée [203]. Cependant, comme pour d'autres molécules de la même classe thérapeutique, les thrombopénies représentent les principales DLTs observées en phase I. Ces TCPs seraient dues à une inhibition de la formation de pro-plaquettes (modifications du cytosquelette cellulaire) mais également à l'abolition de la croissance des colonies mégacaryocytaires (apoptose de progéniteurs mégacaryocytaires) [166]. Même si cet effet n'est pas spécifique des progéniteurs mégacaryocytaires (BFU-E et CFU-GM), les CFU-MK s'avèrent cependant les plus sensibles. En effet, l'abexinostat induit le silence de

certaines gènes de réparation de l'ADN, tel que RAD51, impliquant une accumulation de cassures double-brins et la transcription de gènes pro-apoptotiques (p53 par exemple), induisant une apoptose des MKs [166]. Wilting *et al.* ont démontré que l'inactivation concomitante des HDAC de types 1 et 2 induisait une apoptose des MKs [219].

La maîtrise de la relation exposition/toxicité (*i.e.* concentrations plasmatiques/thrombopénies) s'avère donc d'une grande importance afin d'aider le développement clinique de l'abexinostat. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux données issues de trois études de phase I (PCYC-401, PYCY-402 et CL1-78454-002) incluant des patients atteints de tumeurs solides. Au total, 84 patients ont été inclus au sein de ces trois essais menés selon un schéma d'escalade de dose classique 3+3. Un modèle pharmacocinétique a été établi afin de décrire et prédire l'évolution des concentrations plasmatique d'abexinostat chez les patients traités à différentes doses et selon différents schémas de traitement. Ces données ont dès lors été confrontées aux données de plaquettes circulantes. Un modèle PKPD a par la suite été construit, permettant de prédire l'évolution du taux de plaquettes chez les patients traités. Grâce à des méthodes de simulations, différents schémas d'administration, se différenciant en termes de rythme d'administration (nombre de prises par jour, nombre de jours de traitement par cycle) ont pu être simulés. Dès lors, un schéma d'administration optimal, en termes de toxicité, pour le traitement des patients atteints de tumeurs solides fut déterminé.

Ce travail a été publié dans le journal *Pharmaceutical Research* :

Chalret du Rieu *et al.* (2013), *Pharm Res* 30(10):2640-53

Parallèlement à ce travail et afin de prendre en compte le mécanisme d'action pharmacologique de l'abexinostat, et en particulier son effet apoptotique au niveau des mégacaryocytes, différents modèles de structures ont été testés. Ces résultats, non publiés, ont été présenté lors du congrès international PAGE Meeting, à Venise, en 2012 (Annexes 5 et 6) :

PAGE 21 (2012) Abstr 2503 [www.page-meeting.org/?abstract=2503]

Article 1 : Application of Hematological Toxicity Modeling in Clinical Development of Abexinostat (S-78454, PCI-24781), A New Histone Deacetylase Inhibitor

Application of Hematological Toxicity Modeling in Clinical Development of Abexinostat (S-78454, PCI-24781), A New Histone Deacetylase Inhibitor

Quentin Chalret du Rieu · Sylvain Fouliard · Anne Jacquet-Bescond · Renata Robert · Ioana Kloos · Stéphane Depil · Etienne Chatelut · Marylore Chenel

Received: 28 February 2013 / Accepted: 19 May 2013
© Springer Science+Business Media New York 2013

ABSTRACT

Purpose A population pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) model was developed to describe the thrombocytopenia (dose-limiting toxicity) of abexinostat, a new histone deacetylase inhibitor. An optimal administration schedule of the drug was determined using a simulation-based approach.

Methods Early PK and PK/PD data were analysed using a sequential population modeling approach (NONMEM 7), allowing for the description of a PK profile and platelet-count decrease after abexinostat administration with various administration schedules. Simulations of platelet count with several administration schedules over 3-week treatment cycles (ASC) and over a day (ASD) were computed to define the optimal schedule that limits the depth of thrombocytopenia.

Results An intermediate PK/PD model accurately described the data. The administration of abexinostat during the first 4 days of each week in a 3-week cycle resulted in fewer adverse events (with no influence of ASD on platelet count profiles), and corresponded to the optimal treatment schedule. This administration schedule was clinically evaluated in a phase I clinical trial and allowed for the definition of a new maximum tolerated dose (MTD), leading to a nearly 30% higher dose-intensity than that of another previously tested schedule. Lastly, a final model was built using all of the available data.

Conclusions The final model, characterizing the dose-effect and the dose-toxicity relationships, provides a useful modeling tool for clinical drug development.

KEY WORDS abexinostat · NONMEM · population PK/PD · simulations · thrombocytopenia

ABBREVIATIONS

ASC	Administration schedule over a cycle (3-week treatment)
ASD	Administration schedule over a day (e.g. once a day dosing, <i>bid</i> dosing, <i>et cetera</i>)
BASE	Baseline platelet count ($\times 10^9/L$)
CIRC	Compartment of circulating cells
EBE	Empirical Bayesian Estimates
HDACi	Histone deacetylase inhibitor
k_{el}	Constant rate of elimination
k_{prot}	Constant rate of proliferation
k_{tr}	Constant rate between transit compartments
MTT	Maturation time from PROL to CIRC (h)
NPDE	Normalized prediction distribution errors
PK/PD	Pharmacokinetic/Pharmacodynamic
PROL	Compartment of proliferative cells
SLOPE	Coefficient of drug decrease ($\mu g/mL$) ⁻¹
TRAN	Transit compartment
VPC	Visual predictive check
γ	Power factor for the feedback mechanism

Q. Chalret du Rieu · S. Fouliard · M. Chenel (✉)
Clinical Pharmacokinetics Department
Institut de Recherches Internationales Servier, 50 rue Camot
92284 Suresnes Cedex, France
e-mail: marylore.chenel@ifr.netgrs.com

M. Chenel
e-mail: marylore.chenel@hotmail.com

Q. Chalret du Rieu · E. Chatelut
EA4553, Université Paul-Sabatier and Institut Claudius-Regaud
Toulouse, France

A. Jacquet-Bescond · R. Robert · I. Kloos · S. Depil
Oncology Business Unit, Institut de Recherches Internationales Servier
Suresnes, France

INTRODUCTION

Abexinostat (S 78454, PCI-24781) is a new orally administered Histone Deacetylase inhibitor (HDACi), currently in Phase I and II clinical trials for the treatment of solid tumors and lymphoma, respectively. Drugs of the HDACi class (1–4) increase gene expression through DNA acetylation, leading to a more open chromatin and the activation of genes involved in tumor suppression, cell cycle, cell division and apoptosis. The exact mechanism of action of the HDACi-induced anti-tumor activity is not yet fully characterized, but HDACi lead to an up-regulation of pro-apoptotic genes and a down-regulation of anti-apoptotic genes on tumor cells (5–7). The first phase I clinical studies (PCYC-401 [intra-venous administration] and PCYC-402 [oral administration]) in the USA showed that thrombocytopenia was the most frequent Dose-Limiting Toxicity (DLT) associated with abexinostat, consistent with other HDACi (8–11). It was suggested that HDACi decrease the transactivation function of GATA-1, leading to a delay in the maturation of megakaryocytes, resulting in thrombocytopenia (12). The administration schedules in PCYC-402 were: 5 days a week, 3/4 weeks and 5 or 7 days a week, every other week. Furthermore, a new phase I clinical trial (CL1-78454-002) was planned to be conducted in Europe in patients with solid tumors. For this new study, the clinical team decided to define a new cycle duration (3 weeks). Therefore, in parallel of the present work, a new administration schedule (14 consecutive days in a 3-week cycle) was implemented for the dose-escalation phase I study in Europe.

The development of an anticancer drug frequently begins with dose-escalation studies in order to determine the Maximal Tolerated Dose (MTD), which equates to the dose above which the occurrence of adverse events (AEs) is too high (13). This MTD is most often based on a “3+3” dose-escalation study design. That is, 3 patients are included per dose level. If one DLT is observed in 1 out of the 3 patients of the dose-level cohort, 3 more patients are included at the same dose level. If 2 DLTs appear, the dose-escalation study is stopped and the corresponding dose level is used to define the MTD. In such dose-escalation designs, the MTD is determined with a limited number of patients per dose (maximum 6 patients) and is strongly dependent on the administration schedule of the drug. These schedules are defined empirically using *a priori* knowledge (i.e. *in vitro* and/or *in vivo* preclinical studies and, from time to time, the outcome of previous clinical studies, when available). As the clinical evaluation of a sub-optimal administration schedule leads to the unethical (i.e. less effective) treatment of patients and a loss of time in drug development, the early determination of an optimal administration schedule is of major importance. Thus, the characterization of the toxicity profile of the drug is of compelling interest (14) as the determination of the MTD is the first endpoint in most phase I studies.

Hematological toxicity (e.g. thrombocytopenia, neutropenia) is frequently associated with chemotherapy and results in dose limitation in clinical trials. This toxicity could lead to bleeding or infections.

Semi-physiological pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) models have been developed to analyze the hematological effect of cytotoxic drugs. In particular, Friberg *et al.* (15,16) purposed a model to describe the drug-related toxicity on neutrophils. This structural model was then applied to thrombocytopenia, as it had been previously shown capable of describing different drug induced hematology toxicities (15,17–21). With this model, for example, it was possible to determine the optimal area-under-the-curve of plasma concentration (AUC) *versus* time of carboplatin, depending on concomitant administered chemotherapy (18).

Due to the fact that the dose-limiting toxicity of abexinostat is thrombocytopenia, in this present study we described the development of a simulation tool using PK and PK/PD data from patients with advanced solid tumors from the first two phase I clinical studies performed in the USA (PCYC-401 and PCYC-402). This tool, based on a population PK/PD modeling and simulation approach, aimed at characterizing platelet-count time-course after the administration of abexinostat (22,23). This PK/PD model was built in order to eventually influence, through numerous simulations, the administration schedule of abexinostat in patients with solid tumors in an ongoing phase I clinical study in Europe (CL1-78454-002). Second, upon completion of the European study, the final PK/PD model parameters were estimated using all the available data.

MATERIALS AND METHODS

Clinical Studies and Patients

Clinical studies were performed in accordance with the ethical principles stated in the Declaration of Helsinki 1964, as revised in Seoul 2008. All participants provided written informed consent. The studies were started after obtaining written approval from the corresponding Ethics Committee, complying with local regulatory requirements, and obtaining the signature of the clinical study protocol of each contractual party involved. All study designs are summarized in Table I.

The PCYC-401 study was carried out in the USA and was a mono-centric, 2-phase (accelerated and standard phase), open-label, sequential, dose-escalation phase I study investigating the tolerability, safety, and pharmacokinetics of abexinostat in patients with refractory solid or hematologic malignancies. In the accelerated phase, abexinostat was administered to patients (1 per dose level) as a 2-hour intravenous (IV) infusion on Day 1 - Day 3 (D1-D3) of a 21-day cycle. The administered dose ranged from 0.25 mg/kg to 3.0 mg/kg

Table 1 Clinical Study Designs and Different Datasets

Clinical study		PCYC-401		PCYC-402		CLI-78454-002
		Accelerated phase	Standard phase			
Clinical study	Treatment cycle duration	3-week-cycle	Single oral dose	3-week cycle	4-week cycle	3-week cycle
	Administration days (number of patients)	• D1-D3 (5)	7 days before the first IV dosing (9*)	• D1-D3, D8-D10, D15-D17 (9*)	• D1-D5, D8-D12, D15-D19 (21) • D1-D7, D15-D21 (6) • D1-D5, D15-D19 (8)	• D1-D14 (15) • D1-D4, D8-D11, D15-D18 (20)
	Route of administration	2-hour IV infusion	Orally (solution or capsule)	2-hour IV infusion	Orally (bid or tid)	Orally (bid)
	Dose treatment	0.25 to 3.0 mg/kg	2.0 mg/kg (solution) 200 mg (capsule)	2.0 to 2.4 mg/kg	30 to 75 mg/m ²	30 to 90 mg/m ² 60 to 105 mg/m²
Datasets	Intermediate PK dataset	X	X	X	X	X
	Final PK dataset	X	X	X	X	X
	Intermediate PK/PD dataset				X (cycle 1 only)	
	Intermediate evaluation PK/PD dataset				X	
	Final PK/PD dataset				X	X

Italic and bold inscriptions correspond to the information related to the CLI-78454-002 protocol amendment

9*: same 9 patients

D days, IV intra-venous infusion, bid twice a day, tid three times a day

over 2-hour infusion. In the standard phase, abexinostat was administered to patients (3 per dose level+3 further patients in the occurrence of toxicity) as a 2-hour IV infusion on D1-D3, D8-D10 and D15-D17 of a 21-day cycle. The same patients were also given abexinostat as a single oral dose (solution or capsule) 7 days before the first IV administration. In the standard phase, the IV dose ranged from 2.0 mg/kg to 2.4 mg/kg over a 2-hour infusion and the oral dose ranged from 2.0 mg/kg to 200 mg.

The PCYC-402 study was carried out in the USA and was a multi-centric, open-label, dose-escalation phase I study in advanced solid tumors, non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's disease, chronic lymphoid leukemia, or multiple myeloma. Abexinostat was administered to patients (3 per dose level+3 further patients in the occurrence of toxicity) orally (capsule) *bid* (twice a day) or *tid* (three times a day) 4-hours apart, according to three different administration schedules in 4-week cycles (administration on D1-D5, D8-D12, D15-D19 [ASCP1]; administration on D1-D7, D15-D21 [ASCP2]; administration on D1-D5, D15-D19 [ASCP3]). The oral dose ranged from 30 mg/m² to 75 mg/m².

The CL1-78454-002 study was carried out in France and was a mono-centric (Institut de Cancérologie Gustave-Roussy), open-label, dose-escalation phase I study in advanced solid tumors which had relapsed or were refractory to conventional, standard forms of therapy. Abexinostat was administered to patients (3 per dose level+3 further patients in the occurrence of toxicity) orally, twice daily 4-hours apart in 3-week cycles (administration on D1-D14). The oral dose ranged from 30 mg/m² *bid* to 90 mg/m² *bid*.

Pharmacokinetic Data

Specific blood samples were obtained for either PK (plasma abexinostat concentration) or PD (platelet count).

Blood samples for PK were planned during the PCYC-401 clinical study accelerated phase at D1 pre-infusion and at 0.5, 1, 2, 2.5, 3, 4, 6, and 8 h after the start of infusion, and at D2 and D3 pre-infusion and 2 h after the start of infusion.

Blood samples for PK were planned during the PCYC-401 clinical study standard phase after oral dose pre-dose and at 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 and 24 h after dose and after IV dose at D1 pre-infusion and at 0.5, 1.5, 2.5, 3, 4, 6, and 8 h after the start of infusion, and at D2, D3, D8, D9, D10 pre-infusion and 1.5 h after the start of infusion.

Blood samples for PK were planned during the PCYC-402 clinical study at D1 pre-dose and 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 h after first dose, D2 pre-dose, D3, D4, or D5 pre-dose, D8 pre-dose and 2 h after first dose (ASCP1) and D15 pre-dose and 2 h after first dose (ASCP2 and ASCP3).

Blood samples for PK were planned during the CL1-78454-002 clinical study at D1 pre-dose and 0.5, 1, 2, 3,

and 4 h after the first dose and 0.5, 1, 2, and 4 h after the second dose, D2 pre-dose, D4 pre-dose, 0.5, 1, 2, 3, 4 h after the first dose, D14 pre-dose.

The plasma samples were analysed using a validated method of liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection (LC-MS/MS) in multiple analytical centers. The response of the detector to abexinostat was linear over the calibration range in human plasma, from 1.00 (lower limit of quantification: LLOQ) to 250 ng/mL (upper limit of quantification: ULOQ), with a R² of 0.9986. The analyte response (peak height) at LLOQ was greater than five times the blank response. Over the six replicates of each quality controls (low, medium and high), precision (percentage of standard deviation) did not exceed 7.6% and accuracy was not less than 91%.

The PK data of the two previous clinical trials (PCYC-401 and PCYC-402) were included in an intermediate PK dataset (Table I). At the completion of the CL1-78454-002 clinical study, PK data from the study was added to the intermediate PK dataset to form the final PK dataset (Table I).

Pharmacodynamic Data

Blood samples for platelet counts in the PCYC-402 clinical study were planned 14 days before treatment start, within 3 days before treatment commenced, and once per week during cycle 1, every other week in cycle 2, and on the first week of subsequent cycles.

Blood samples for platelet counts in the CL1-78454-002 clinical study were planned before treatment commenced, during cycle 1 on D1, D8, D12, D15 and D18 and subsequent cycles on D1, D8 and D15.

The platelet count data from cycle 1 of the PCYC-402 study were included in the intermediate model-building PK/PD dataset (Table I). Data from the later cycles of the PCYC-402 clinical study formed the intermediate evaluation PK/PD dataset (Table I). Thereafter, a final PK/PD dataset was built, that contained all platelet-count data from both the PCYC-402 and CL1-78454-002 clinical studies (Table I).

Modeling Strategy

A sequential PK/PD modeling approach was performed, in compliance with the Individual PK Parameters (IPP) approach described by Zhang *et al.* (23). A population PK model of abexinostat plasma concentration after oral or IV administration was built using PK data obtained in the PCYC-401 and PCYC-402 clinical studies (intermediate PK dataset). No covariate analysis was planned for the present work, as the aim of this PK analysis was to obtain individual PK predictions in order to estimate PK/PD

parameters. Individual Empirical Bayesian Estimates (EBE) of PK parameters from a modal posterior Bayesian estimate with prior derived only from the PK data and obtained using the POSTHOC method in NONMEM, were then input into the intermediate model-building and intermediate evaluation PK/PD datasets. They were used as an input into a PKPD model of platelet dynamics in order to fit platelet counts and to perform external evaluation respectively.

Data obtained from the first treatment cycle (cycle 1 only; about 21 first days of treatment) of the PCYC-402 clinical study (intermediate model-building PK/PD dataset) were used to build the intermediate PK/PD model, as data from later cycles (intermediate evaluation PK/PD dataset) were added to an external simulation-based evaluation (Table 1). Using this intermediate PK/PD model, simulations of numerous administration schedules were carried out in order to ascertain the safest schedule for abexinostat. Finally, the PK data from patients included in both the PCYC-402 and GLI-78454-002 clinical studies were pooled together (final PK dataset) in order to estimate the individual EBE of PK parameters for all patients. These parameters were input, together with all platelet-count data from all cycles of all studies, into the final PK/PD model dataset. The final PK/PD model was built using this final pooled dataset.

For graphical evaluation, all pre-dose samples (complete blood counts realized before inclusion) were set at $t=0$, as platelet count was assumed to remain constant in the absence of treatment.

Model Building

Model parameters were estimated with the first order conditional estimation method with interaction (FOCEI) as implemented in the NONMEM 7 software. Discrimination between hierarchical models was based on the objective function value (OFV) of NONMEM using the Likelihood-Ratio-Test (LRT). A difference greater than 3.84 for one additional parameter, corresponding to a significance level of 5%, was used for discrimination between two nested models. Non-nested models were discriminated by computing the Bayesian Information Criterion ($BIC = OFV - k \times \ln(n)$), with n , the number of observations, and k , the number of estimated parameters). The model with the lowest BIC value was selected.

The structural PK model was selected between 1, 2, or 3 distribution compartments, zero-order or first-order oral absorption, with or without a lag-time.

The structural PK/PD model (Fig. 1), for both the intermediate and final PK/PD models, was based on the original semi-mechanistic PK/PD myelosuppression model of Friberg *et al.* (15,16). In this PK/PD model, the drug effect (E), depending on drug concentrations, affects the progenitor cell proliferation rate constant. Different drug effects (linear, imax

or sigmoid) were tested. MTT represents the mean maturation time, expressed in hours, for a cell to mature between the proliferation compartment (PROL) to the circulating compartment (CIRC) and is defined as $MTT = 4/k_{tr}$, where k_{tr} is the transit constant rate.

Inter-individual variability on each parameter was investigated, assuming it to be exponential (log-normal distribution of parameters): the individual value θ_i of a parameter is $\theta_i = \theta \times \exp(\eta_i)$ where θ is the typical (population) value and η_i is the inter-individual variability, corresponding to the discrepancy between θ_i and θ . η_i is normally distributed with a mean 0 and a variance ω^2 .

The residual error model that accounts for the difference between model prediction F and observed data Y was selected between additive ($Y = F + a \times \varepsilon$), proportional ($Y = F \times (1 + b \times \varepsilon)$) and combined $Y = F + (a^2 + b^2 F^2)^{1/2} \times \varepsilon$ where a and b are respectively the additive and proportional components of the error and ε is assumed to be normally distributed with a mean 0 and a variance 1. (a_{PK} , b_{PK}) are used for PK model and (a_{PD} , b_{PD}) are used for PD models.

Model Evaluation

PK Model

The intermediate PK model was evaluated using standard goodness-of-fit plots, evaluation of parameter precisions of estimation in order to assess the ability of the model to describe the intermediate PK data. When performing Bayesian estimation of the individual parameters using the final PK dataset, the intermediate PK model's ability to describe the new data was assessed through goodness-of-fit plots and external Visual Predictive Checks (VPCs) (24).

Intermediate and Final PK/PD Model Evaluation

Large inter-individual and intra-individual (due to missed doses or dose adaptation) heterogeneity in administered doses and administration schedules rendered VPCs inappropriate, therefore an internal model evaluation was carried out using normalized prediction distribution errors (NPDE) generated by NONMEM, which are assumed to be normally distributed. Five hundred simulations based on the dose regimen and sampling time-points of each patient were performed using the PD parameter estimates. NPDE were computed and plotted *vs.* time in order to identify possible bias in the structural model (25,26). By construction, the NPDE followed a standard normal distribution (25,26). Therefore, a Kolmogorov-Smirnov test was performed in order to test this assumption.

An initial external evaluation of the intermediate PK/PD model was carried out using each individual's EBE parameters, obtained using the POSTHOC option in NONMEM,

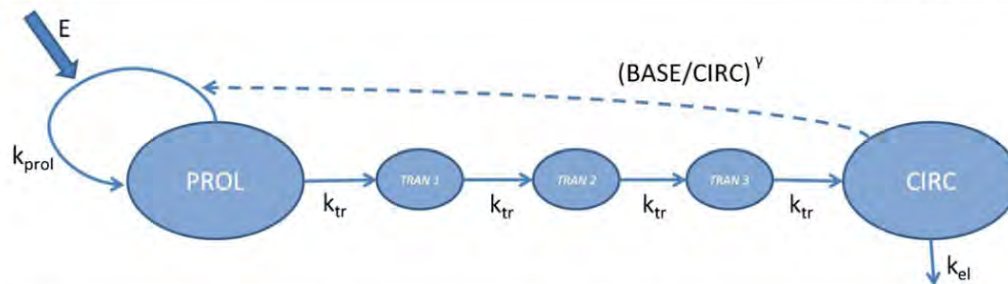


Fig. 1 Representation of the PK/PD model structure as published by Friberg [15;16]. PROL stands for proliferation compartments, TRAN stands for transit (maturation) compartments, and CIRC stands for circulating (blood) compartment. Initially, amounts in each compartment are all set to BASE. Rate constants for proliferation of progenitor cells k_{prol} and platelet elimination k_{el} are set to k_{tr} for identifiability. Drug effect E as well as feedback term $(\text{BASE}/\text{CIRC})^v$ are multiplicative on progenitor cells proliferation rate constant.

to simulate each patient's predicted platelet-count time profiles during the entire treatment period, and then comparing observations to simulation during the later cycles (intermediate evaluation PK/PD dataset). External individual VPCs were then carried out with data from the first fourteen patients included in the CL1-78454-002 clinical study. Five hundred simulations based on the dose regimen and sampling time-points of these patients were performed using the PK and PD parameter estimates. Then, the 10th, 50th, and 90th percentiles of simulated data were calculated for each sampling time-point and were plotted together with the observed data in order to evaluate the model. The model was considered correct if less than 20% of the observed data were located outside the 80% prediction interval. The baseline parameter was fixed to the last individual observed value before treatment. This external evaluation was carried out in order to assess the intermediate PK/PD model's ability to describe new data.

PK/PD Simulation Plan

The PK model and the intermediate PK/PD model were used to simulate platelet-count time profiles after

the administration of abexinostat with the 60 mg/m² dose *bid*, corresponding to the recommended dose in PCYC-402.

Four administration schedules over a 3-week treatment cycle (ASC) were evaluated: 14 days (d) on treatment/7 days off treatment (ASC1); 10d on/11d off (ASC2); 5d on/2d off during the first 2 weeks, then 7d off (ASC3); 4d on/3d off during 3 weeks (ASC4). In addition, four administration schedules over a day (ASD) detailing the administration of abexinostat on each treatment day were evaluated: *bid* 4 h apart (ASD1); *bid* 12 h apart (ASD2); *qd* (once a day) (ASD3); *tid* 4 h apart (ASD4). As no interaction was expected between ASD and ASC, and as ASD1 and ASC1 correspond to the original schedules used in the CL1-78454-002 clinical study, each ASD was evaluated using ASC1 and each ASC was evaluated using ASD1 (Table II).

For each condition, 500 replication simulations were performed and the median, 10th percentile, and 90th percentile of the predicted platelet-count time profiles were computed. The evaluation criterion was the median nadir (lowest value of platelet count) during the first cycle of treatment, leading to the selection of the optimal administration schedule with the less pronounced nadir. The selected ASD and ASC

Table II Description of the Administration Schedules Clinically Evaluated in PCYC-402 (*) or Simulated. Seven Different Administration Schedules of Abexinostat with the 60 mg/m² Dose *Bid* over a 3-week Treatment Cycle (ASC) and over a Day (ASD) were Simulated using the Intermediate PK/PD Model

Administration schedule over a treatment cycle (ASC)		Administration schedule over a day on treatment (ASD)	
ASCP1*	D1-D5, D8-D12, D15-D19, 4 week-cycles	ASD1*	<i>bid</i> 4 h apart
ASCP2*	D1-D7, D15-D21, 4 week-cycles	ASD2	<i>bid</i> 12 h apart
ASCP3*	D1-D5, D15-D19, 4 week-cycles	ASD3	<i>qd</i>
ASC1	D1-D14, 3 week-cycles	ASD4*	<i>tid</i> 4 h apart
ASC2	D1-D10, 3 week-cycles		
ASC3	D1-D5, D8-D12, 3 week-cycles		
ASC4	D1-D4, D8-D11, D15-D18, 3 week-cycles		

D day, *qd* once a day, *bid* twice a day, *tid* three times a day

Table III PK and PK/PD Model Parameters and their Respective Inter-individual Variability, Quantified as Coefficient of Variation (CV) Expressed as a Percentage (for example, $CV_{CL} = 100 \times \omega_{CL}/\theta_{CL}$). Combined Residual Error Model for PK and PK/PD Models are Composed of a (Additive Part) and b (Proportional Part)

Models	Parameters	Population mean estimates (RSE)	BSV (RSE)	Sh. Std.
PK model	ka (h^{-1})	0.763 (13.1%)	72% (30.1%)	13%
	F (%)	31.7 (22.1%)	34% (42%)	5.8%
	V1 (L)	36.2 (29.3%)	58% (175.1%)	22%
	V2 (L)	561 (41.9%)	–	–
	V3 (L)	54.4 (13.8%)	42% (37.7%)	12%
	Q2 (L/h)	11.5 (18.3%)	–	–
	Q3 (L/h)	39 (14.3%)	–	–
	CL (L/h)	57.4 (8.1%)	35% (51.4%)	3.2%
	a _{PK} (ng/mL)	3.8 (29.2%)	–	–
	b _{PK} (%)	30.8 (6.5%)	–	–
	ε-shrinkage (%)	13.7	–	–
Intermediate PK/PD model	MTT (h)	97 (3%)	–	–
	γ (–)	0.288 (10.3%)	41.2% (64.1%)	18.5%
	BASE ($\times 10^9/L$)	267 (8.7%)	39.6% (41.4%)	2.1%
	SLOPE ($(\mu g/mL)^{-1}$)	3.98 (14.5%)	60.2% (26.7%)	16.7%
	a _{PD} ($\times 10^9/L$)	23.7 (14.6%)	–	–
	b _{PD} (%)	13.8 (20.9%)	–	–
	ε-shrinkage (%)	25	–	–
Final PK/PD model	MTT (h)	94.1 (3%)	9.8% (52.1%)	22.8%
	γ (–)	0.278 (7.5%)	27.6% (43.9%)	21.8%
	BASE ($\times 10^9/L$)	260 (5.7%)	37.3% (27.8%)	4.2%
	SLOPE ($(\mu g/mL)^{-1}$)	4.28 (9.2%)	58.6% (31.5%)	12%
	Cov. SLOPE-MTT	0.0401 (56.6%)	–	–
	Cov. SLOPE-γ	0.0172 (334.3%)	–	–
	Cov. SLOPE-BASE	–0.0492 (91.9%)	–	–
	Cov. MTT-γ	0.0006 (204%)	–	–
	Cov. MTT-BASE	0.0109 (114.7%)	–	–
	Cov. γ-BASE	0.0108 (314.8%)	–	–
	a _{PD} ($\times 10^9/L$)	14.3 (15.1%)	–	–
b _{PD} (%)	27.7 (2.8%)	–	–	
ε-shrinkage (%)	10.9	–	–	

MTT (h) Mean maturation time, calculated as $MTT = 4/k_{tr}$, where k_{tr} is the transit constant rate
RSE (%) Relative Standard Error, calculated as $RSE = (\text{Standard Error}/\text{Final parameter estimate}) \times 100$
BSV (%) Between Subject Variability, calculated as $BSV = \omega \times 100$
Sh. Std. (%) Shrinkage calculated on standard deviation as
Sh. Std. = $(1 - \text{Standard deviation}(\eta))/\omega \times 100$
Cov covariance estimates

allowed the highest daily dose of abexinostat to be defined as MTD, based on the model.

Throughout this present work, the simulations were based on 500 replicates, allowing for proper estimation of inter-subject variability.

RESULTS

PK Model

The intermediate PK dataset contained 724 concentration measurements from 49 patients, the age ranged from 23 to 81 years (mean: 58 years) and the weight ranged from 40 to 149 kg (mean: 82 kg). As less than 10% of non-predose samples were below the LLOQ, those were ignored in the

PK analysis. The PK of abexinostat after oral and IV administration were best described by a mammillary 3-compartment model (Table III) parameterized with central volume V1, peripheral volumes V2 and V3, inter-compartment constants Q2 and Q3, with a first order elimination from central compartment (plasma clearance CL), a first order absorption (rate constant ka) and absolute bioavailability (F) for oral administration, and a direct input into central compartment for IV infusion. Inter-individual variability was estimated on clearance, central volume, absorption rate constant, bioavailability and V3. A combined residual error model best fit the data.

Goodness-of-fit plots (Fig. 2), individual fit, and parameters precision of estimation were satisfactory (lower than 42% for fixed effects parameters and lower than 52% for random effects except for ω_{V1}).

Intermediate PK/PD Model

The intermediate model-building PK/PD dataset (i.e. PCYC-402, first treatment cycle) contained 181 platelet counts from 35 patients, and the intermediate evaluation PK/PD dataset (i.e. PCYC-402, later treatment cycles) contained 86 platelet counts from 21 patients. The structural PK/PD model (Fig. 1) was not modified from Friberg's original publication (16). A linear drug effect on proliferation rate, $E = \text{SLOPE} \times C(t)$ where SLOPE is the coefficient of drug decrease, expressed in $(\mu\text{g/mL})^{-1}$, was selected. The estimated parameters of this intermediate PK/PD model are presented in Table III. Inter-individual variability was estimated on BASE, γ , and SLOPE. A combined residual error model best fit the data. Parameter precisions of estimation were satisfactory (lower than 15% for fixed effect parameters and lower than 65% for random effects). Goodness-of-fit plots (Fig. 3), NPDE (Fig. 4a), and individual fits (Fig. 5a and b, solid line) were computed and displayed in a graph. The power of the model to fully predict thrombocytopenia data, as the data were centered and randomly distributed around the x -axis, is shown in the Fig. 4a. The majority of the data were included in the 80% prediction interval. The p -value of the Kolmogorov-Smirnov test was approximately 0.66, indicating that the null hypothesis of a standard normal distribution for NPDE could not be rejected.

The external evaluation showed that the intermediate PK/PD model was able to predict the individual platelet time-course for the subsequent cycles (Fig. 5a and b, dashed line). All individual external VPCs were satisfactory (Fig. 5c and d), as less than 20% of observed data were outside the 80% prediction interval.

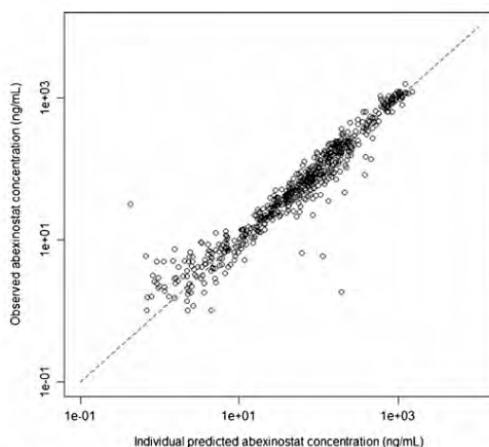


Fig. 2 Goodness-of-fit plot of the PK model: PCYC-401 and PCYC-402 observed vs. individual predicted concentrations of abexinostat. The dashed line represents the identity line.

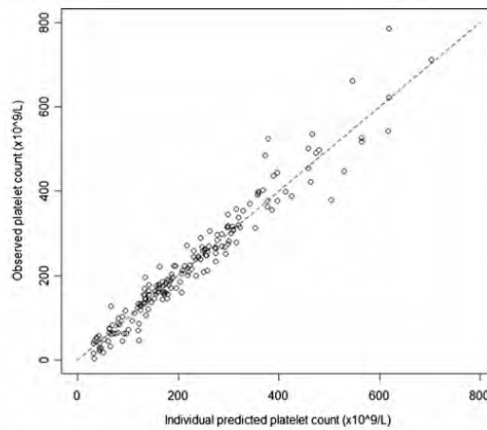


Fig. 3 Goodness-of-fit plot of the intermediate PK/PD model: PCYC-402 observed vs. individual predicted platelet count after the administration of abexinostat. The dashed line represents the identity line.

Simulations

Simulations performed with the PK and intermediate PK/PD models are presented in Fig. 6 and Table IV.

Evaluation of ASC (Fig. 6a) showed that the decrease in platelet count was more pronounced using ASC1 and ASC2, and that ASC3 and ASC4 showed the best safety profile. Evaluation of ASD (Fig. 6b) showed a very minor influence of daily administration on platelet count.

CL1-78454-002 Protocol Amendment

These results led to a protocol amendment of the CL1-78454-002 study allowing patients to be treated in accordance with the optimal administration schedule: administration of abexinostat during the first 4 days of each week in a 3-week cycle (ASC4). Twenty more patients were evaluated clinically and treated according to this optimal administration schedule. The capacity of the intermediate PK/PD model to predict and describe the platelet profiles of these patients was verified by computing external individual VPCs (Fig. 7). Five hundred simulations were carried out based on the dose regimen and sampling time-points of each patient using individual observed baselines, individual PK parameters and final PD parameter estimates. The 10th, 50th and 90th percentiles of simulated data were then calculated for each sampling time-point and plotted together with the observed data. As the observed data were located inside the 80% prediction interval the intermediate PK/PD model was deemed adequate for predicting the platelet time course of these patients (Fig. 7). Finally, Bayesian predictions of data from the CL1-

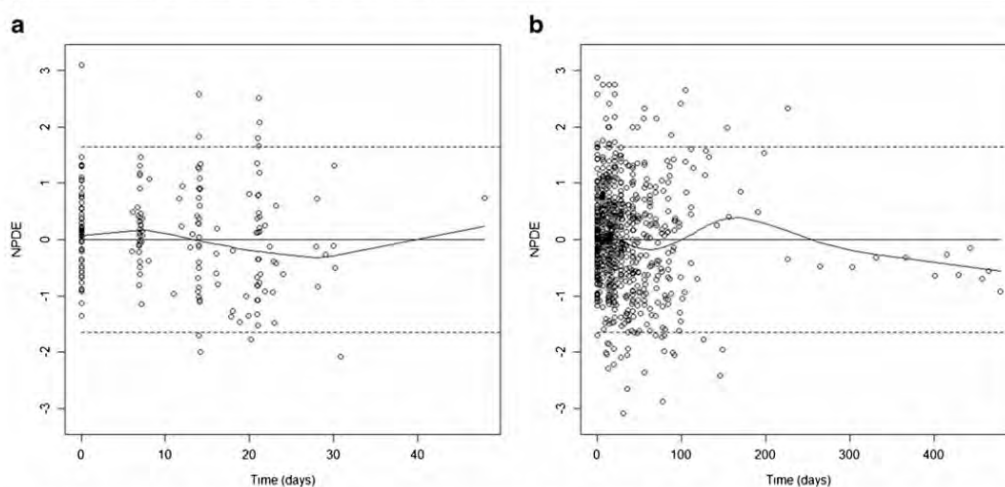


Fig. 4 Predictive evaluation of the intermediate PK/PD model (a) and the final PK/PD model (b): NPDE versus TIME (days). Five hundred simulations based on the dose regimen and sampling time-points of each patient were performed using the PD parameters estimates. The *dashed lines* represent the 80% Prediction Interval (PI). The *solid line* represents the trend curve.

78454-002 clinical study were performed in NONMEM using the POSTHOC option, with the intermediate PK/PD model parameters, in order to confirm, by an external posthoc evaluation, that such model could predict platelet profiles of these new patients (Fig. 8).

Final PK and PK/PD Models

The final PK and PK/PD datasets were thereafter built using the data from the 35 supplementary patients from the CL1-78454-002 study. Respectively, 15/20 patients were treated according to the CL1-78454-002 pre/post-amendment administration schedules. Overall the final PK dataset contained 1061 concentration measurements from 70 patients. Lastly, the final PK/PD model of abexinostat in patients with advanced solid tumors was built based on the 743 platelet samples (all cycles) from the 70 patients available in the final PK/PD dataset. A full variance-covariance matrix was estimated. The parameter precision of estimation was very satisfactory (less than 10% for fixed effect parameters and less than 53% for random effects). A slight ϵ -shrinkage value (10.9%) was noticed. Goodness-of-fit plots, individual fit and NPDE were computed and displayed in Fig. 4b. NPDE *versus* TIME plot (Fig. 4b) showed the strength of the model in fully predicting thrombocytopenia data as the data were centered and randomly distributed around the x -axis. The majority of the data were included in the 80% prediction interval. The p -value of the Kolmogorov-Smirnov test was approximately 0.17, implying non-rejection of the NPDE normality.

DISCUSSION

A PK model was built and described the data adequately according to goodness-of-fit plots (Fig. 2). All parameters were estimated accurately (Table III) except for the inter-subject variability of VI, but this was considered acceptable due to the fall in OFV and improvement in individual fit. At this stage of work, no covariate analysis was carried out as the aim of this PK model building step was to obtain reasonable individual PK parameters in order to estimate PK/PD parameters. As this PK model was challenged by external evaluation (results not shown), the PK parameters were not re-estimated when new PK data (from the CL1-78454-002) were available and EBEs of PK parameters were also obtained by a Bayesian method using the POSTHOC option in NONMEM. An intermediate PK/PD model of thrombocytopenia after the administration of abexinostat was developed using the first available PK and PK/PD clinical data. This model (Table III) adequately described the data according to goodness-of-fit plots (Fig. 3), and individual fits (Fig. 5a and 5b, solid line), and could fully predict thrombocytopenia data (Fig. 4a). External validation showed that the model was able to properly match platelet count time profile during further treatment cycles (Fig. 5a and b [dashed line] and Fig. 5c and d).

In parallel to the modeling and simulation work, the CL1-78454-002 study was initiated using a different administration schedule over a treatment cycle (ASC1) than that in the PCYC-402 clinical study.

An early decrease in platelet count was observed quickly after starting treatment and was maintained monotonously

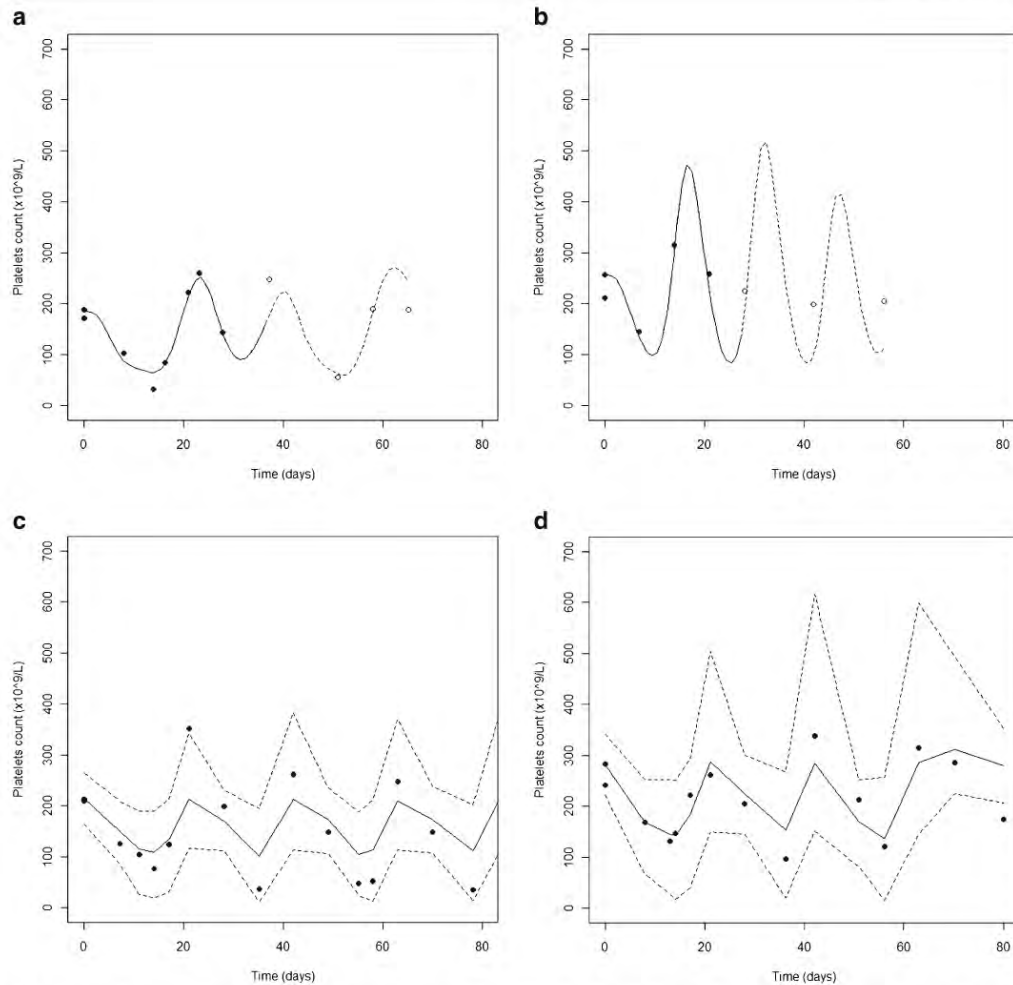


Fig. 5 Individual observed platelet count (circles), individual predicted platelet count (solid line) and external evaluation (dashed line) for 2 randomly selected patients from the PCYC-402 clinical study, using individual PK and PK/PD parameters combined with individual dosing information to predict each individual's platelet time-course during the whole treatment duration for different administration schedules and dose of PCYC-402 (**a and b**). External evaluation by individual VPCs of 2 randomly selected patients from the CLI-78454-002 study (pre-amendment). Points represent the observed data. Solid and dotted lines represent respectively the median and the 80% prediction interval of simulated data for the intermediate PK/PD model (**c and d**).

until a treatment break of several days occurred. Consistently, the nadir was lower when the administration schedule started with more consecutive days on treatment. Due to feedback mechanism, recovery was quite fast upon cessation of treatment. Although restarting the treatment again decreased platelet count, the stimulation of progenitor cells in PROL after the first consecutive days of treatment induced a less stringent decrease in platelet count. The model-building step

of this work showed that Friberg's model adapted to abexinostat data was able to describe platelet decrease after the administration of abexinostat under various administration schedules. Consistent with previous uses of this model, this provides evidence of the robustness of this method in describing hematological toxicity. Nevertheless, refining the model based on pharmacological or physiological knowledge could improve its descriptive and predictive abilities (12,27,28).

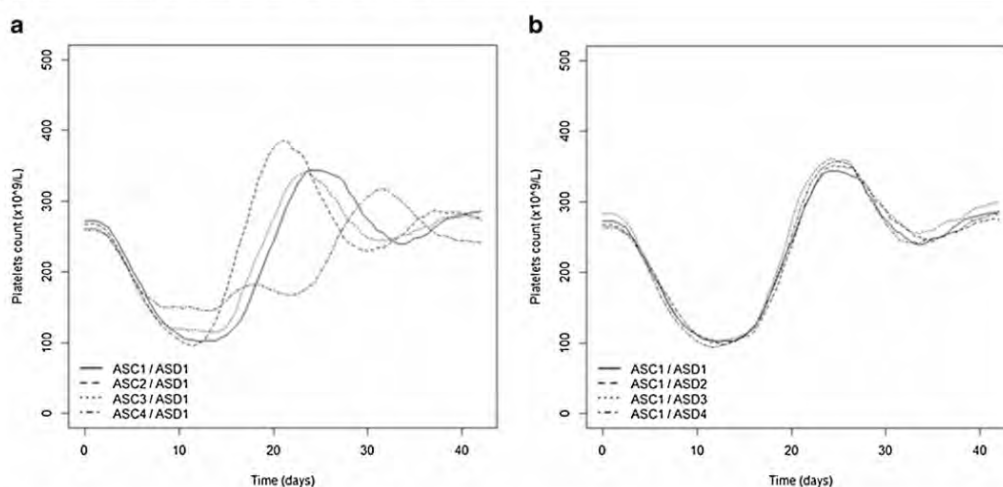


Fig. 6 Simulation of different administration schedules over a cycle (**a**, variation of ASCs) and over a day (**b**, variation of ASDs). Simulated platelet counts under different conditions are plotted during the first treatment cycle (median profiles only for readability reasons). ASC1: 14d (days) on treatment/7d off treatment; ASC2: 10d on/11d off; ASC3: 5d on/2d off during the first 2 weeks, then 7d off; ASC4: 4d on/3d off during 3 weeks; ASD1: *bid* 4 h apart; ASD2: *bid* 12 h apart; ASD3: *qd* (once a day); ASD4: *tid* 4 h apart.

Recent results on HDACi toxicity mechanisms suggest a non-central toxicity, in contrast to usual cytotoxic compounds, therefore, the implementation of such a known pharmacological drug effect to a physiological system may assist in the description of platelet counts when several drugs are co-administered.

ASC evaluation showed that the number of consecutive days of treatment at the start of the schedule had a significant impact on nadir values. ASD were shown to have a minor influence on thrombocytopenia mainly because the dynamic mechanisms of hematopoiesis (platelet production, maturation and elimination) could be characterized by MTT, around 100 h. Therefore, a daily modification of PK profile through a change in daily drug administration is less influential than a modification in the number of consecutive days of treatment, due to the short half-life (approximately 4 h) of abexinostat.

Table IV Median Simulated Nadir Values and 80% Prediction Interval over the First Treatment Cycle for each ASC (Combined with ASD1) and each ASD (Combined with ASC1)

ASC (+ ASD1)	Median nadir [80% PI]	ASD (+ASC1)	Median nadir [80% PI]
ASC1	88 [63–109]	ASD1	88 [63–109]
ASC2	103 [75–117]	ASD2	88 [79–102]
ASC3	125 [113–153]	ASD3	88 [72–106]
ASC4	132 [123–152]	ASD4	90 [79–103]

ASC administration schedule over a 3-week treatment, ASD administration schedule over a day, PI prediction interval

This work emphasizes the importance of administration schedule choice over a treatment cycle for this drug. *In silico* simulations are also a fast and ethical way to perform such comparisons, and permit a standardized and objective evaluation of different administration schedules using early collected data (29). One of the simulated administration schedules (combining ASD1 and ASC1) was being clinically evaluated in the CL1-78454-002 phase I study when this work was performed. After evaluation of ASC and ASD, the best administration schedule selected was the treatment of patients during the first 4 days of each week in a 3-week cycle (ASC4 combined with any ASD). Even though the platelet count was constantly inhibited with this administration schedule compared to the others during the continuous 3-week treatment, a rapid recovery, of about 1 week, was observed after treatment stops to return to baseline platelet count (Fig. 6). Moreover, during the treatment period, smaller variations in platelet count were observed with this administration schedule, which is clinically easier to manage. As a result of this work the CL1-78454-002 study was amended, and abexinostat was administered to 20 further patients employing the optimal administration schedule.

This new administration schedule made it possible for dose-escalation to increase two dose stages and, consequently, to define a new, higher MTD of abexinostat. Therefore MTDs were 60 mg/m² *bid* and 90 mg/m² *bid*, pre and post-amendment, respectively. This modeling and simulation work led to a gain of about 30% in terms of dose-intensity.

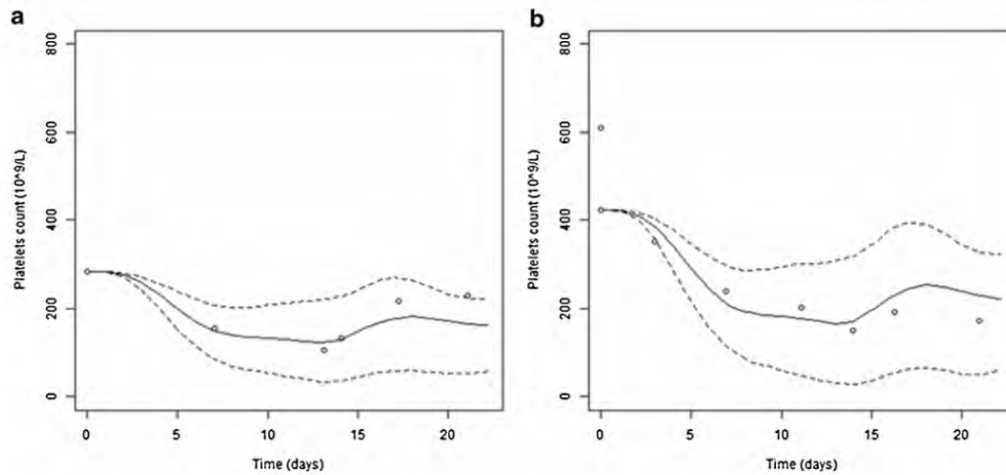


Fig. 7 External individual visual predictive checks of platelet count time profile of two randomly selected patients from CLI-78454-002 clinical study treated according to the optimal administration schedule of abexinostat determined using the intermediate PK/PD model. Individual observed baseline values and PK parameters are used as an input for the PK/PD model. Dashed lines (10th and 90th percentiles) represents the 80% predictions interval and solid line the median of simulated platelet counts at each time point. Open circles represent the observed platelet count.

At the end of this clinical study, all available pharmacodynamic data were used to estimate the final PK/PD model parameters, which could represent a very useful tool for designing future clinical studies (e.g. according to an optimal administration schedule) in patients with advanced solid tumors. Final PK/PD model parameters were consistent with

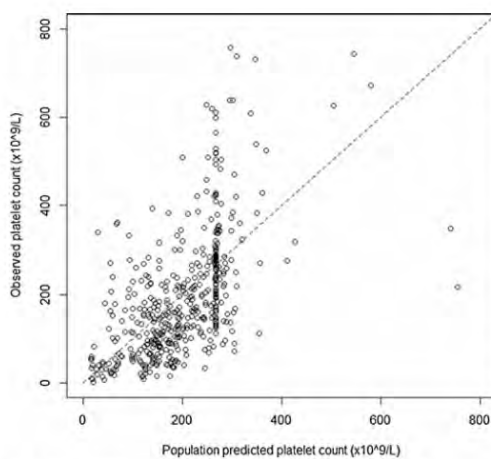


Fig. 8 Posthoc external evaluation of intermediate PK/PD model predictive ability based on Bayesian predictions of the CLI-78454-002 data using the POSTHOC option in NONMEM. CLI-78454-002 observed vs. population predicted platelet count. The dashed line represents the identity line.

those previously estimated with the intermediate PK/PD model (Table III), revealing the sufficient quantity of information contained in the intermediate PK/PD model, to accurately estimate parameters. Although RSE covariance values were not satisfying (greater than 300%), their inclusions in the final structural model were associated with an important drop in the objective function value and were therefore retained in the final PK/PD model. NPDE versus TIME plot (Fig. 4b) showed the power of the model to fully predict thrombocytopenia data over time in patients with solid tumors. The smallest parameter precisions of estimation and a considerable decrease in ϵ -shrinkage (-14.1%) in the final PK/PD model, compared with the intermediate PK/PD model, convey greater confidence in individual platelet-count predictions.

These results highlight the impact that a modeling and simulation approach may have in clinical development (30). The integration of early PK and PD data trials facilitates the development of powerful tools that can be used to quantify dose-toxicity relationship and select the best dosing regimen of a given drug. In the context of oncology, where phase I studies usually aim at finding the MTD, the choice of an administration schedule is determinant as it has a major impact on the MTD. In the more general context of the search for an optimal treatment, the use of quantitative models may help in designing model-based dose escalation algorithms, such as continuous reassessment methods (31). Such algorithms require the definition of the dose-toxicity relationship, which can be determined using such a PK/PD model.

The determination of an optimal administration schedule of abexinostat in patients with advanced solid tumors, was facilitated by the availability of PK and PK/PD data from previous clinical studies, allowing for rapid Modeling and Simulation work. In order for model-based approaches to benefit drug development, early trial data is necessary, as well as a collaborative interaction between pharmacometricians and clinicians to facilitate for rapid data analysis and decision-making.

CONCLUSION

This work shows a clinical application of early PK and PKPD modeling of a new HDACi as an influential development tool for the selection of an optimized administration schedule. A wide range of simulation conditions were evaluated, in terms of platelet-count decrease, and an optimized administration schedule was determined. This treatment schedule was clinically evaluated after a CL1-78454-002 protocol amendment and a new MTD was defined.

ACKNOWLEDGMENTS AND DISCLOSURES

Quentin Chalret du Rieu and Sylvain Fouliard contributed equally to this work.

The authors would like to thank Pharmacyclics for providing data from the PCYC-401 and PCYC-402 clinical studies.

This work was incorporated into a Ph. D. project (Quentin Chalret du Rieu), granted by Institut de Recherches Internationales Servier.

Quentin Chalret du Rieu, Sylvain Fouliard, Anne Jacquet-Bescond, Renata Robert, Ioana Kloos, Stéphane Depil and Marylore Chenel are employed by Institut de Recherches Internationales Servier. The other authors indicated no potential conflicts of interest.

REFERENCES

- Batty N, Malouf GG, Issa JP. Histone deacetylase inhibitors as anti-neoplastic agents. *Cancer Lett.* 2009;280(2):192–200.
- Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat Rev Cancer.* 2001;1(3):194–202.
- Marks PA, Richon VM, Breslow R, Rifkind RA. Histone deacetylase inhibitors as new cancer drugs. *Curr Opin Oncol.* 2001;13(6):477–83.
- Marks PA, Xu WS. Histone deacetylase inhibitors: potential in cancer therapy. *J Cell Biochem.* 2009;107(4):600–8.
- Finnin MS, Donigan JR, Cohen A, Richon VM, Rifkind RA, Marks PA, *et al.* Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature.* 1999;401(6749):188–93.
- Gui CY, Ngo L, Xu WS, Richon VM, Marks PA. Histone deacetylase (HDAC) inhibitor activation of p21WAF1 involves changes in promoter-associated proteins, including HDAC1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(5):1241–6.
- Stimson L, Wood V, Khan O, Fotheringham S, La Thangue NB. HDAC inhibitor-based therapies and haematological malignancy. *Ann Oncol.* 2009;20(8):1293–302.
- Bishton MJ, Harrison SJ, Martin BP, McLaughlin N, James C, Josefsson EC, *et al.* Deciphering the molecular and biologic processes that mediate histone deacetylase inhibitor-induced thrombocytopenia. *Blood.* 2011;117(13):3658–68.
- Giver CR, Jaye DL, Waller EK, Kaufman JL, Lonial S. Rapid recovery from panobinostat (LBH589)-induced thrombocytopenia in mice involves a rebound effect of bone marrow megakaryocytes. *Leukemia.* 2011;25(2):362–5.
- Prince HM, Bishton MJ, Harrison SJ. Clinical studies of histone deacetylase inhibitors. *Clin Cancer Res.* 2009;15(12):3958–69.
- Rubin EH, Agrawal NG, Friedman EJ, Scott P, Mazina KE, Sun L, *et al.* A study to determine the effects of food and multiple dosing on the pharmacokinetics of vorinostat given orally to patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res.* 2006;12(23):7039–45.
- Matsuoka H, Unami A, Fujimura T, Noto T, Takata Y, Yoshizawa K, *et al.* Mechanisms of HDAC inhibitor-induced thrombocytopenia. *Eur J Pharmacol.* 2007;571(2–3):88–96.
- Horstmann E, McCabe MS, Grochow L, Yamamoto S, Rubinstein L, Budd T, *et al.* Risks and benefits of phase I oncology trials, 1991 through 2002. *N Engl J Med.* 2005;352(9):895–904.
- Simon R, Freidlin B, Rubinstein L, Arbuck SG, Collins J, Christian MC. Accelerated titration designs for phase I clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(15):1138–47.
- Friberg LE, Freijs A, Sandstrom M, Karlsson MO. Semiphysiological model for the time course of leukocytes after varying schedules of 5-fluorouracil in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000;295(2):734–40.
- Friberg LE, Henningson A, Maas H, Nguyen L, Karlsson MO. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol.* 2002;20(24):4713–21.
- Panetta JC, Schaiquevich P, Santana VM, Stewart CF. Using pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling and simulation to evaluate importance of schedule in topotecan therapy for pediatric neuroblastoma. *Clin Cancer Res.* 2008;14(1):318–25.
- Schmitt A, Gladiell L, Laffont CM, Evrard A, Boyer JC, Lansiaux A, *et al.* Factors for hematopoietic toxicity of carboplatin: refining the targeting of carboplatin systemic exposure. *J Clin Oncol.* 2010;28(30):4568–74.
- Soto E, Staab A, Tillmann C, Trommehauser D, Fritsch H, Munzert G, *et al.* Semi-mechanistic population pharmacokinetic/pharmacodynamic model for neutropenia following therapy with the Plk-1 inhibitor BI 2536 and its application in clinical development. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010;66(4):785–95.
- Zandvliet AS, Schellens JH, Dittich C, Wanders J, Beijnen JH, Huijtema AD. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis to support treatment optimization of combination chemotherapy with indisulam and carboplatin. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;66(4):485–97.
- Bender BC, Schaedeli-Stark F, Koch R, Joshi A, Chu YW, Rugo H, *et al.* A population pharmacokinetic/pharmacodynamic model of thrombocytopenia characterizing the effect of trastuzumab emtansine (T-DM1) on platelet counts in patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012;70(4):591–601.
- Testart-Paillet D, Girard P, You B, Freyer G, Pobel C, Tranchand B. Contribution of modelling chemotherapy-induced hematological toxicity for clinical practice. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007;63(1):1–11.

23. Zhang I, Beal SL, Sheiner LB. Simultaneous vs. sequential analysis for population PK/PD data I: best-case performance. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2003;30(6):387–404.
24. Lavielle M, Bleakley K. Automatic data binning for improved visual diagnosis of pharmacometric models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2011;38(6):861–71.
25. Brendel K, Comets E, Laffont C, Laveille C, Mentre F. Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide. *Pharm Res.* 2006;23(9):2036–49.
26. Brendel K, Comets E, Laffont C, Mentre F. Evaluation of different tests based on observations for external model evaluation of population analyses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2010;37(1):49–65.
27. Quartino AL, Friberg LE, Karlsson MO. A simultaneous analysis of the time-course of leukocytes and neutrophils following docetaxel administration using a semi-mechanistic myelosuppression model. *Invest New Drugs.* 2012;30(2):333–45.
28. Sundman-Engberg B, Tidelfelt U, Paul C. Toxicity of cytostatic drugs to normal bone marrow cells in vitro. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1998;42(1):17–23.
29. Zandvliet AS, Karlsson MO, Schellens JH, Copalu W, Beijnen JH, Huitema AD. Two-stage model-based clinical trial design to optimize phase I development of novel anticancer agents. *Invest New Drugs.* 2010;28(1):61–75.
30. Calvert AH, Plummer R. The development of phase I cancer trial methodologies: the use of pharmacokinetic and pharmacodynamic end points sets the scene for phase 0 cancer clinical trials. *Clin Cancer Res.* 2008;14(12):3664–9.
31. Zohar S, Chevret S. The continual reassessment method: comparison of Bayesian stopping rules for dose-ranging studies. *Stat Med.* 2001;20(19):2827–43.

Résultats complémentaires : Semi-mechanistic thrombocytopenia model of a new histone deacetylase inhibitor (HDACi) in development, with a drug-induced apoptosis of megakaryocytes.

Différents modèles mathématiques ont été développés dans la littérature afin de décrire les myélosuppressions chimio-induites, dont les TCPs. Initialement empiriques et descriptifs, ces modèles sont de plus en plus physiologiques [184,220]. En effet, les modèles empiriques impliquent une perte d'informations en n'utilisant qu'une partie de celles-ci ou des variables les résumant (par exemple nadirs observés ou pourcentage de diminution du taux de plaquettes) [184]. Dès lors des modèles mimant des processus physiologiques (par exemple maturation des précurseurs thrombopoïétiques) ont été développés [184]. Le modèle de Friberg *et al.* [185] (développé initialement à partir de données de polynucléaires neutrophiles) qui a été appliqué à nos données (cf. Article 1) permet non seulement de décrire mais aussi de prédire à la fois la sévérité et la durée des TCPs, ce qui n'est pas le cas d'un modèle empirique tout aussi complexe qu'il puisse être d'un point de vue mathématique (par exemple, le modèle *spline* [184]). Il est à noter que plus un modèle reflète le mécanisme d'action du médicament administré, plus la confiance à attribuer aux prédictions du modèle selon différentes conditions de traitement (inter- et extrapolations) peut être importante [107]. C'est pourquoi, afin d'améliorer le caractère prédictif du modèle, nous avons tenté de mieux prendre en compte le mécanisme d'action des TCPs relatives à l'administration d'abexinostat.

Bien que le mécanisme d'action de TCPs relatives à l'administration d'abexinostat ne soit pas encore totalement élucidé, Ali *et al.* ont mis en évidence une inhibition concentration-dépendante de la croissance des CFU-MKs, de la prolifération et de la différenciation des MKs. L'inhibition de la prolifération des MKs serait notamment due à l'induction d'une apoptose consécutive à des cassures double-brins de l'ADN, activant la protéine p53 [166]. C'est pourquoi, en plus du seul effet d'inhibition du taux de prolifération des progéniteurs thrombopoïétiques tel que correspondant au modèle proposé par Friberg *et al.* [185], différents effets ont été testés afin de mimer l'apoptose induite par l'abexinostat au niveau

des MKs. Cet effet a été évalué comme portant sur le dernier compartiment de transit du fait que les MKs sont des précurseurs tardifs lors de la thrombopoïèse (cf. équations différentielles ci-dessous).

$$\frac{dSC}{dt} = k_{prot} \cdot (1 - E_{drug1}) \cdot \left(\frac{Base}{Plat} \right)^\gamma \cdot SC - k_{tr} \cdot SC$$

$$\frac{dTr\ 1}{dt} = k_{tr} \cdot SC - k_{tr} \cdot Tr\ 1$$

$$\frac{dTr\ 2}{dt} = k_{tr} \cdot Tr\ 1 - k_{tr} \cdot Tr\ 2$$

$$\frac{dTr\ 3}{dt} = k_{tr} \cdot Tr\ 2 - k_{tr} \cdot Tr\ 3 - k_{tr} \cdot E_{drug2} \cdot Tr\ 3$$

$$\frac{dPlat}{dt} = k_{tr} \cdot Tr\ 3 - k_{El.} \cdot Plat$$

$$E_{drug1} = \frac{I_{max} \cdot Conc^{Hill}}{IC_{50}^{Hill} + Conc^{Hill}}$$

$$E_{drug2} = Slo\ 2 \cdot Conc$$

Les capacités descriptives et prédictives de ce modèle (présenté comme "EXTENDED" sur le poster) furent comparées à celles d'un modèle plus classique (présenté comme "BASIC" sur le poster) tel qu'établi par Friberg *et al.* [185]. Les paramètres des différents modèles furent relativement bien estimés avec des précisions d'estimations inférieures respectivement à 35% et 42% pour les paramètres à effets fixes et aléatoires (Tableau 3).

Tableau 3 : Paramètres finaux des modèles BASIC et EXTENDED

Models	Parameters	Estimates	RSE (%)	BSV (%)	RSE (%)	Sh. Std. (%)
BASIC OFV : 1715.205 BIC : 1767.135	IC ₅₀ (ng/mL)	0.278	34	/	/	/
	I _{max}	1 FIX	/	/	/	/
	MTT (h)	97.1	3.5	/	/	/
	Gamma	0.344	13.7	40.7	28	15.7
	Base (x10 ⁹ /L)	268	8.1	39.1	21.1	3.5
	Hill	0.667	29.1	41.8	33.1	36.5
	Add (x10 ⁹ /L)	26.6	15.8	/	/	/
	Prop (%)	14.8	24.1	/	/	/
	Eps. shrinkage (%)	21.6				
EXTENDED OFV : 1701.141 BIC : 1758.264	IC ₅₀ (ng/mL)	0.119	25.7	/	/	/
	I _{max}	1 FIX	/	/	/	/
	MTT (h)	134	5.2	/	/	/
	Gamma	0.494	11.4	45.3	35.4	10.5
	Base (x10 ⁹ /L)	268	9.6	40.1	27.2	2
	Hill	0.678	16.4	51.8	41.4	35.2
	Slope (mL/ng)	7.33	27.6	/	/	/
	Add (x10 ⁹ /L)	27.9	7.4	/	/	/
	Prop (%)	8.48	33.7	/	/	/
	Eps. shrinkage (%)	22.7				
RSE (%)	Relative Standard Error					
BSV (%)	Between Subject Variability					
Sh. Std. (%)	Shrinkage calculated on standard deviation					

L'évaluation interne par *Goodness of fits plots*, prédictions individuelles en fonction du temps (Figure 11) ou par simulations de la distribution des erreurs de prédiction normalisées des données en fonction du temps (*Normalized Prediction Distribution Errors* ou NPDE, Figure 12) a démontré de bonnes capacités descriptives des données tant du modèle BASIC qu'EXTENDED.

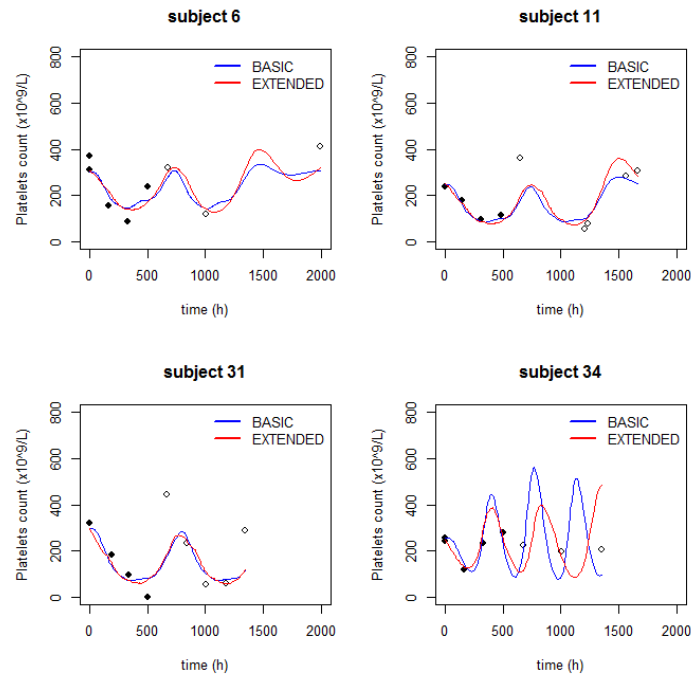


Figure 11 : Prédictions individuelles des modèles BASIC et EXTENDED. Pour les cycles supérieur à 1 (◊), les prédictions individuelles furent établies par simulations. Les ronds pleins (●) et creux (◊) correspondent respectivement aux données observées des cycles 1 ou supérieurs à 1.

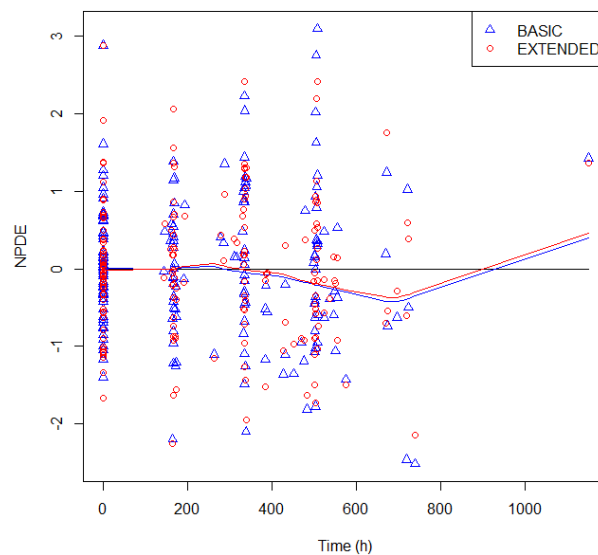


Figure 12 : Evaluation interne basée sur des simulations de la distribution des erreurs de prédiction normalisées des données (NPDE) en fonction du temps.

Cependant, ce modèle EXTENDED, améliorant le caractère pharmacologique du modèle PKPD préalablement établi, n'a pas été retenu après évaluation externe (données de patients issues de l'étude CL1-002). Cinq cents simulations basées sur les schémas de doses et de temps de prélèvements des patients inclus dans l'étude CL1-002 ont été réalisées. Dès lors des *External Individual Visual Predictive Checks* (VPCs) ont été établis, grâce aux calculs des 10^{ème}, 50^{ème} et 90^{ème} percentiles des données simulées, eux-mêmes confrontés aux données de patients observées (Figure 13). Des prédictions inattendues du modèle EXTENDED, s'amplifiant en particulier au cours du temps, ont été constatées et seraient sans doute attribuables à un manque de robustesse du modèle EXTENDED (Figure 13).

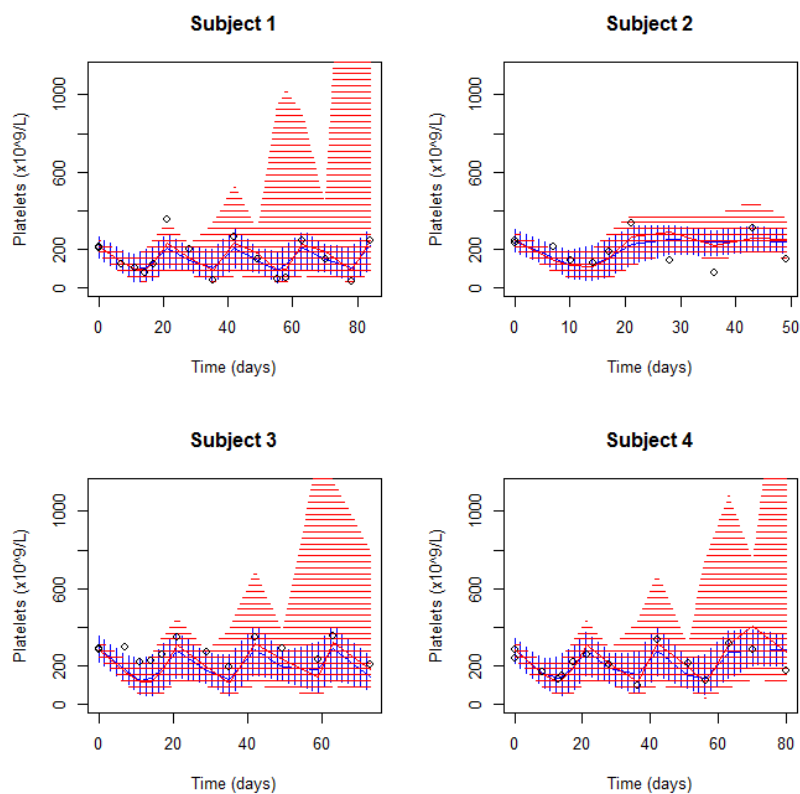


Figure 13 : Evaluations externes par *Individual Visual Predictive Check* des modèles BASIC (en bleu) et EXTENDED (en rouge). Les zones hachurées correspondent aux intervalles de prédictions à 80% ; les traits plein aux médianes de simulations. Les ronds (◊) représentent les données observées des patients.

Ces résultats nous ont, par conséquent, conduit à l'issue de notre premier travail à conserver le modèle de structure tel que proposé par Friberg *et al.* [185] ; modèle certes moins

pharmacologique, mais modèle robuste ayant de bonnes capacités descriptives et prédictives des données (cf. Article 1). Une connaissance plus fine du mécanisme d'action de la molécule nous aurait peut être permis de nous orienter vers d'autres modifications qui n'ont pu être imaginées.

Travaux personnels 2

Deux autres études de phase I (PCYC-403 et CL1-78454-001) ont ensuite été réalisées chez des patients porteurs de lymphomes : 56 patients au total ont été inclus dans ces essais, menés également selon un schéma d'escalade de dose classique 3+3. Le modèle PKPD de thrombopénies préalablement établi chez les patients atteints de tumeurs solides a dès lors été modifié pour prendre en compte les caractéristiques propres aux deux populations de patients : patients porteurs d'une tumeur solide ou d'un lymphome. Grâce à ce modèle, des simulations ont pu alors être réalisées afin de proposer à chaque population de patients traitée une RP2D optimale pour chaque schéma de traitement. Ces dernières ont donc été établies en prenant en compte l'ensemble de l'information contenue au sein de tous les patients inclus dans l'ensemble des essais menés. Finalement, les faiblesses de l'utilisation d'un schéma d'escalade de dose 3+3 pour la détermination de la MTD, et donc de la RP2D, ont été démontrées par simulations.

Ce travail a été publié dans le journal *Investigational New Drugs* :

Chalret du Rieu *et al.* (2014), *Invest New Drugs*

Article 2 : Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of abexinostat-induced thrombocytopenia across different patient populations: application for the determination of the maximum tolerated doses in both lymphoma and solid tumour patients

Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of abexinostat-induced thrombocytopenia across different patient populations: application for the determination of the maximum tolerated doses in both lymphoma and solid tumour patients

Quentin Chalret du Rieu · Sylvain Fouliard ·
Mélanie White-Koning · Ioana Kloos · Etienne Chatelut ·
Marylore Chenel

Received: 27 February 2014 / Accepted: 20 May 2014
© Springer Science+Business Media New York 2014

Summary *Background* In the clinical development of oncology drugs, the recommended dose is usually determined using a 3+3 dose-escalation study design. However, this phase I design does not always adequately describe dose-toxicity relationships. *Methods* 125 patients, with either solid tumours or lymphoma, were included in the study and 1217 platelet counts were available over three treatment cycles. The data was used to build a population pharmacokinetic/pharmacodynamic (PKPD) model using a sequential modeling approach. Model-derived Recommended Doses (MDRD) of abexinostat (a Histone Deacetylase Inhibitor) were determined from simulations of different administration schedules, and the higher bound for the probability of reaching these MDRD with a 3+3 design were obtained. *Results* The PKPD model developed adequately described platelet kinetics in both patient populations with the inclusion of two platelet baseline counts and a disease progression component for patients with lymphoma. Simulation results demonstrated that abexinostat administration during the first 4 days of each week in a 3-week cycle led to a higher MDRD compared to the

other administration schedules tested, with a maximum probability of 40 % of reaching these MDRDs using a 3+3 design. *Conclusions* The PKPD model was able to predict thrombocytopenia following abexinostat administration in both patient populations. A model-based approach to determine the recommended dose in phase I trials is preferable due to the imprecision of the 3+3 design.

Keywords Abexinostat · Thrombocytopenia · PKPD model · Recommended Dose · Simulation · Disease progression

Introduction

The principal aim of a phase I clinical trial in oncology is to determine the recommended dose (RD) and/or the administration schedule of the investigated drug in order to continue drug development in phase II [1]. Therefore, phase I clinical trial protocols must be planned rigorously as this initial stage will have considerable influence throughout drug development [2, 3]. Phase I trial designs in current use can be divided into three types: rule-based designs (e.g. the classical 3+3 design), model-based designs (e.g. continuous reassessment method) and designs for trials of combined agents [1, 4–8]. Of these, the classical 3+3 design is the most widely used [1, 4–6, 8, 9].

For cytotoxic agents, dose escalation is driven by toxicity, as the highest safe dose is assumed to be the most efficacious. This assumption is supported by pre-clinical models and clinical experiments [10] that have demonstrated that toxicity is a surrogate endpoint for efficacy [1]. Chemotherapy-induced myelosuppression, and subsequent thrombocytopenia (TCP), has become

Q. Chalret du Rieu · S. Fouliard · M. Chenel
Clinical Pharmacokinetics Department, Institut de Recherches
Internationales Servier, Suresnes, France

Q. Chalret du Rieu · M. White-Koning · E. Chatelut
EA4553, Université Paul Sabatier and Institut Universitaire du
Cancer Toulouse - Oncopole, Toulouse, France

I. Kloos
Oncology Business Unit, Institut de Recherches Internationales
Servier, Suresnes, France

E. Chatelut (✉)
Institut Universitaire du Cancer Toulouse - Oncopole, 1 avenue Irène
Joliot-Curie, 31059 Toulouse Cedex 9, France
e-mail: chatelut.etienne@iuct-oncopole.fr

Published online: 31 May 2014

 Springer

an increasingly major dose-limiting toxicity (DLT) [11]. TCP may lead to dose reduction or dose delay and can also cause major complications (including bleeding and death) [12]. The relationship between haemorrhage and the extent and/or duration of TCP is well known [13], but its significance can differ between solid tumour patients and patients with acute leukemia or lymphoma [14–16]. TCP is a frequent DLT of Histone Deacetylase Inhibitors (HDACi) [17–20], such as abexinostat (S-78454), a new HDACi currently at the phase II stage for the treatment of lymphoma [21]. Our previous research demonstrated that TCP was frequently observed and limited dose-escalation in two different phase I clinical studies including solid tumour patients treated by abexinostat [22]. In this previous study a semi-mechanistic pharmacokinetic/pharmacodynamic (PKPD) model of TCP [22] was built and simulations were performed using this model to define the optimal administration schedule for solid tumour patients. The amended protocol favoured a new administration schedule (4 days ON, 3 days OFF every week of a three week-cycle [4ON3OFF]), which was predicted to decrease the depth of TCP. As a result, the dose-escalation process led to the definition of a higher MTD for this new administration schedule [22]. A clinical study including lymphoma patients was also amended, but the change in administration schedule (in favour of 4ON3OFF) did not lead to a higher MTD in this population. This showed that the previous PKPD model predictions were not reliable in lymphoma patients. One explanation for this difference in the PKPD relationship could be due to pathophysiological differences in lymphoma patients compared to solid tumour patients and/or differences in sensitivity to the design or administration schedules (disease-related explanation). Another explanation could be due to the weakness of the 3+3 design to determine the real MTD [23–25], leading to an erroneous observed MTD in the amended study. Investigation into the platelet time-course in patients in both clinical trials (including solid tumour and lymphoma patients) showed differences between the two groups. These included smaller platelet counts at inclusion for lymphoma patients and/or a decrease in the platelet count over time compared to solid tumour patients. The first aim of our study was to refine the previously developed PKPD model describing abexinostat-induced TCP in patients with solid tumours by including lymphoma patients in the analysis, in order to accurately predict their platelet kinetics and determine the safest dosing regimen. The second aim was to simulate from the PKPD model to determine the model-derived recommended doses (MDRD) for both populations under different administration schedules.

The third aim was to assess the ability of a 3+3 design to accurately determine the MDRD.

Materials and methods

Clinical studies

The results presented here include data from four studies (Table 1) performed in accordance with the ethical principles stated in the Declaration of Helsinki 1964, as revised in Seoul, 2008. Protocols were approved by independent ethic committees. All patients provided written informed consent before inclusion in the study.

Patients with solid tumours were included in the PCYC-402 and CL1-78454-002 phase I clinical studies [26]. Patients with lymphoma were included in the PCYC-403 and CL1-78454-001 phase I/II clinical studies.

Platelets samples and modeling datasets

Blood samples were obtained to assess haematological toxicity and in particular platelet profiles over time (Table 1). Three different datasets were selected from the present study using only data from the first three cycles of treatment (approximately 60 days), as the samples from later cycles were few and provided limited additional information. Of the 125 patients available from the four clinical studies, 95 and 30 patients were randomly selected for inclusion in the “*Building dataset*” and “*Advanced internal evaluation dataset*”, respectively; data from all patients constituted the “*Final dataset*” (Table 1).

Modeling strategy

Platelet-time profiles were analyzed using nonlinear mixed effect modeling (population approach) [27], with a sequential PKPD approach [28], in NONMEM 7.2 (GNU fortran 95 compiler). Empirical Bayesian Estimates (EBE) of individual PK parameters (obtained from the POSTHOC analysis in NONMEM) derived from the previously evaluated PK model [22] of abexinostat were used as the fixed PK parameters during subsequent PD modeling. PD parameters were estimated in NONMEM 7.2 using the ADVAN 6 subroutine and the FOCE-I estimation method.

Several drug effects were tested in this model (Fig. 1) such as a linear ($E_{Drug1} = Slope \cdot Conc$), Imax ($E_{Drug2} = \frac{IMAX \cdot Conc}{IC_{50} + Conc}$) or full sigmoid Imax model ($E_{Drug3} = \frac{IMAX \cdot Conc^{Hill}}{IC_{50}^{Hill} + Conc^{Hill}}$), where *Slope* is the patients' sensitivity to abexinostat hematotoxicity ($\mu\text{g/mL}^{-1}$), *IMAX* the intrinsic activity, *IC₅₀* the potency, *Hill* the sigmoidicity coefficient, and *Conc* the concentration in abexinostat ($\mu\text{g/mL}$). Improvements on the previous PKPD structural model (Fig. 1) were investigated using the *Building*

Table 1 Summary of the four clinical trials in solid tumour and lymphoma patients; description of the data included in the *Building dataset* and *Advanced internal evaluation dataset*. The *Final dataset* includes both the *Building* and *Advanced Internal evaluation* datasets

Clinical Study	PCYC-402	PCYC-403	CL1-78454-001	CL1-78454-002
Phase	I	I/II	I/II	I
Indication	Solid tumours	Lymphoma	Lymphoma	Solid tumours
Administration schedules	• Days 1–7, 15–21 • Days 1–5, 15–19 • Days 1–5, 8–12, 15–19	• Days 1–7, 15–21 • Days 1–5, 15–19 • Days 1–5, 8–12, 15–19	• Days 1–14 • Days 1–5, 8–12 • Days 1–4, 8–11, 15–18	• Days 1–14 • Days 1–4, 8–11, 15–18
Dose escalation	30–75 mg/m ² BID or TID 4–6 h apart	30–60 mg/m ² BID 4–6 h apart	30–60 mg/m ² BID 4–6 h apart	30–105 mg/m ² BID 4–6 h apart
Cycle	4 weeks	4 weeks	3 weeks	3 weeks
Sampling times	• Pre-dose, days 1, 8, 15, 22 during cycle 1 • Days 1, 15 for cycle 2 • Day 1 for later cycles	• Pre-dose, days 1, 8, 15, 22 during cycle 1 • Days 1, 15 for cycle 2 • Day 1 for later cycles	• Pre-dose, days 1, 4, 5, 8, 12, 15, 18 for cycle 1 • Days 1, 8, 15 for later cycles	• Pre-dose, days 1, 4, 8, 12, 15, 18 for cycle 1 • Days 1, 8, 15 for later cycles
Building dataset				
• Patients (n=)	• 23	• 22	• 24	• 26
• Platelets samples (n=)	• 158	• 138	• 322	• 307
• Follow-up period (med [min-max]) in days	• 42.95 [0–88.02]	55.89 [0–84.03]	62.97 [0–70.17]	57.02 [0–92.04]
Advanced internal evaluation dataset				
• Patients (n=)	• 11	• 3	• 7	• 9
• Platelets samples (n=)	• 83	• 23	• 82	• 104
• Follow-up period (med [min-max]) in days	42.17 [0–88.05]	57.90 [0–60.02]	35.98 [0–63.36]	56 [0–70.13]

dataset [22]. A second feedback mechanism affecting the mean transit time (MTT) parameter was also tested in order to quicken/slow down the bone marrow in case of thrombocytopenia/thrombocytosis: the delta feedback parameter (δ): $MTT = \frac{(n+1)}{k_p} \cdot \left(\frac{BASE}{CIRC}\right)^\delta$ [29, 30]. To account for the observed differences in platelet count at inclusion (BASE) between both populations, two different baseline parameters ($BASE_{0\ ST}$ for solid tumour patients, and $BASE_{0\ LY}$ for lymphoma patients) were tested. Furthermore, the slight decrease in platelets over treatment cycles observed in some patients was taken into account by the addition of disease progression (impaired bone marrow) on the baseline parameter. Several disease progression models leading to a decrease of the baseline parameter with time were tested: either a linear $BASE = BASE_0 - Slope_{DP} \cdot t$ or an Imax disease progression model $BASE = BASE_0 \cdot \frac{IMAT_t}{IT_{50} + t}$, where $BASE_0$ is the baseline value at inclusion (i.e. $BASE_{0\ LY}$ or $BASE_{0\ ST}$) and t the time (in days) since the first abexinostat administration.

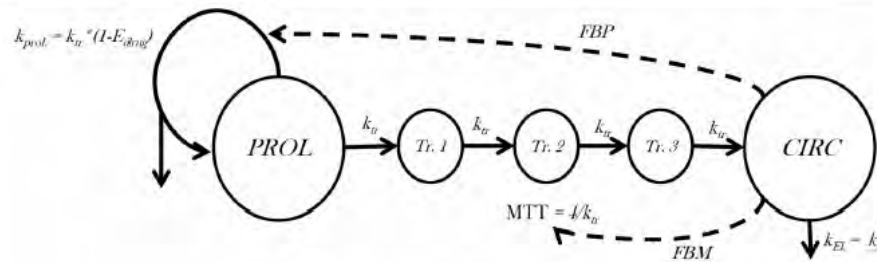
Inter-individual variability (IIV) was considered to have a log-normal distribution for all parameters except the *IMAT* parameter, for which a normal distribution was assumed. Finally, as patients were treated over several treatment cycles, inter-occasion variability (IOV) was tested on each of the PD parameters to improve the quality of the statistical model. The residual variability was modelled using a combined additive and proportional model, as this was the best description of the residual error in the original PKPD model [22].

Model selection

Discrimination between hierarchical models was based on the objective function value (OFV) of NONMEM using the Likelihood-Ratio-Test (LRT). An OFV difference greater than 3.84 corresponding to a significance level of 5 % was used to discriminate between two nested models with one parameter difference. Model development was guided by precision in parameter estimates, visual inspection of the classic goodness-of-fit plots (GOFs), and normalized prediction discrepancy errors (NPDE) [31, 32]. Five hundred simulations of the *Building dataset*, based on the dose regimen and sampling time points of each patient were performed using the PD parameter estimates in order to compute NPDE. These were plotted *versus* time and *versus* population prediction (PRED) in order to identify a possible bias in the model. The best model according to the LRT, acceptable parameter precision supported by the GOFs and NPDE was finally selected and named “*Intermediate PKPD model*” in the present work.

Advanced internal model evaluation

Individual Visual Predictive Checks (VPC) [33, 34] and NPDE [31, 32] were used to evaluate the ability of the *Intermediate PKPD model* to describe and predict external data. Five hundred simulations, based on the dosing regimen and sampling time points of the 30 patients included in the *Advanced internal*



$$\frac{dPROL}{dt} = k_{prol} \cdot (1 - E_{drug}) \cdot FBP \cdot PROL - k_n \cdot FBM \cdot PROL$$

$$\frac{dTr\ 1}{dt} = k_n \cdot FBM \cdot PROL - k_n \cdot FBM \cdot Tr\ 1$$

$$\frac{dTr\ 2}{dt} = k_n \cdot FBM \cdot Tr\ 1 - k_n \cdot FBM \cdot Tr\ 2$$

$$\frac{dTr\ 3}{dt} = k_n \cdot FBM \cdot Tr\ 2 - k_n \cdot FBM \cdot Tr\ 3$$

$$\frac{dCIRC}{dt} = k_n \cdot FBM \cdot Tr\ 3 - k_{EI} \cdot CIRC$$

$$E_{drug} = \frac{IMAX \cdot Conc}{IC_{50} + Conc}$$

$$FBP = \left(\frac{BASE}{CIRC} \right)^r \quad FBM = \left(\frac{BASE}{CIRC} \right)^q$$

$$\text{If solid tumour patients : } BASE = BASE_{0,ST}$$

$$\text{If lymphoma patients : } BASE = BASE_{0,LX} - \frac{IMAT \cdot t}{IT_{50} + t}$$

Fig. 1 Semi-mechanistic PKPD model of thrombocytopenia, based on Friberg *et al.* [40]. PROL, Tr and CIRC represent the proliferation, transit and circulation compartment. BASE is the platelet value at inclusion. FBP and FBM represent the feedback on proliferation and maturation

respectively. MTT is the mean transit time, the drug effect (E_{drug}) affects the constant rate on proliferation (k_{prol}). k_{tr} and k_{EI} are the rate constants of transit and elimination respectively. to avoid identifiability issues, k_{prol} was set to be equal to k_n and k_{EI} , t denotes the time, in days

evaluation dataset, were performed using both the PK and PD parameter estimates of the *Intermediate PKPD model*. By definition, NPDEs follow a standard normal distribution, consequently a Kolmogorov-Smirnov test was performed [31, 32].

Final PKPD model

The *Final dataset*, including all patients, was analysed to re-estimate the PD parameters without modifying the structural or statistical models. NPDE *versus* time and *versus* PRED plots for each patient population and a Kolmogorov-Smirnov test were performed to evaluate the *Final PKPD model*.

Model-derived recommended doses (MDRD) determination for lymphoma and solid tumour patients

In a standard 3+3 design, if two or more patients in a cohort of maximum six patients exhibit a DLT at the dose level studied, the dose-escalation is stopped. This dose level corresponds to the maximum tolerated dose (MTD) and the dose just below is defined as being the RD for subsequent phases [1, 5, 7]. Consequently, this threshold of 33.33 % (2/6 patients) of

DLT was used to determine the MDRD for different administration schedules and for each type of patient (lymphoma and solid tumours) during the simulations.

Simulations were performed using the *Final PKPD model*. The platelet-time course from 3000 patients with solid tumours and 3000 patients with lymphoma, treated with abexinostat over three cycles, were simulated (*i.e.* 500 cohorts of six patients for each population) every 20 mg starting from 20 mg up to 500 mg per day (once daily). The following administration schedules were tested:

- 14 days ON (treatment), 7 days OFF in a three-week cycle (14ON7OFF),
- 4 days ON, 3 days OFF every week of a three-week cycle (4ON3OFF),
- 5 days ON, 2 days OFF the first 2 weeks of a three-week cycle (5ON2OFF).

The sampling schedule for the platelet count was identical to that of the CL1-78454-001 clinical study (Table 1).

From the simulations the percentage of grade 4 of TCP (*i.e.* platelet count less than 25×10^9 platelets per litre) was

computed. The MDRD was defined as the dose just below the one exceeding the 33.33 % threshold of toxicity.

DLT percentages at the MDRD in a 3+3 dose escalation design

Asymptotically (*i.e.* with an infinite number of patients) at the RD dose level, the probability of escalating to a higher dose (PRD) level is 100 %. For each administration schedule tested (*i.e.* 14ON7OFF, 4ON3OFF and 5ON2OFF), 500 cohorts of 6 patients with either solid tumours or lymphoma were simulated at the MDRD using the *Final PKPD model*. The PRD was calculated as the percentage of the 6-patient cohorts in which only zero or one patient underwent a DLT (*i.e.* thus leading to dose escalation).

Again, the sampling schedule for the platelet count was identical to that of the CL1-78454-001 clinical study (Table 1).

Results

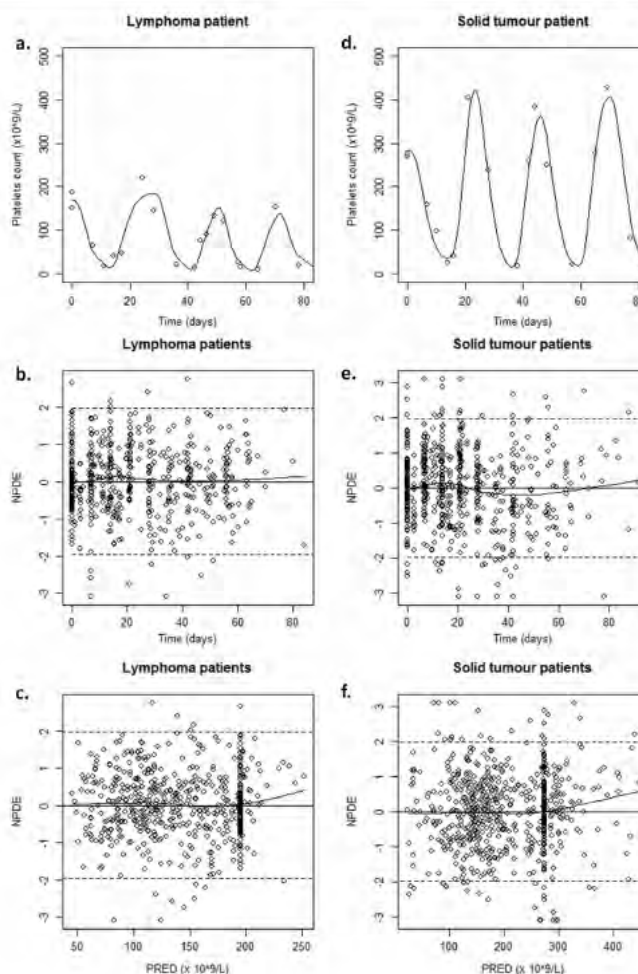
Intermediate PKPD model

The *Building dataset* contained 925 platelet counts over the first 3 cycles of treatment in 95 patients (49 and 46 solid tumour and lymphoma patients, respectively) (Table 1). Several improvements were made to the previous PKPD model [22]. First, a feedback mechanism affecting the MTT was added to quicken/slow down the bone marrow maturation in case of thrombocytopenia/thrombocytosis (Fig. 1) [29, 30, 35, 36]. Secondly, the drug effect on the proliferation rate was best described using an I_{max} model, as previously described by Quartino *et al.* [29]. Two different baseline parameters of 203×10^9 and 274×10^9 platelets per litre for lymphoma ($BASE_{0\ LY}$) and solid tumour ($BASE_{0\ ST}$) patients were estimated, respectively. Finally, the addition of a disease progression model on the baseline parameter improved the description of

Table 2 PKPD parameter estimates of the *Intermediate* and *Final PKPD models*, with Inter-Individual (IIV) and Inter-Occasion (IOV) Variabilities. Combined residual error model was comprised of an additive (a) and a proportional residual error model (b)

Models	Parameters	Population mean estimates (RSE)	IIV (RSE)	IOV (RSE)
Intermediate PKPD model ($n=95$)	IC_{50} (($\mu\text{g/mL}$) ⁻¹)	0.0787 (42.7 %)	67.5 % (15.8 %)	17.5 % (19.8 %)
	I_{max}	0.92 (21.1 %)	-	-
	MTT (h)	95.3 (2.1 %)	9.1 % (14.8 %)	-
	γ (-)	0.515 (7.1 %)	8.4 % (57.2 %)	-
	δ (-)	0.188 (16.2 %)	27.4 % (30.9 %)	19.9 % (45.8 %)
	$BASE_{0\ LY}$ ($\times 10^9/\text{L}$)	203 (6.2 %)	37.9 % (10.1 %)	-
	$BASE_{0\ ST}$ ($\times 10^9/\text{L}$)	274 (6.5 %)	-	-
	IT_{50} (days)	64.2 (63.4 %)	-	-
	IMAT	108 (38.8 %)	71.4 % (37 %)	-
	a ($\times 10^9/\text{L}$)	14.3 (9.7 %)	-	-
	b (%)	19.2 (3 %)	-	-
	ε -shrinkage (%)	17.6 %	-	-
	Final PKPD model ($n=125$)	IC_{50} (($\mu\text{g/mL}$) ⁻¹)	0.0743 (30.4 %)	66.3 % (13.7 %)
I_{max}		0.881 (15.1 %)	-	-
MTT (h)		95 (1.7 %)	8.7 % (13.6 %)	-
γ (-)		0.498 (5.4 %)	9.7 % (39.4 %)	-
δ (-)		0.177 (12.1 %)	22.8 % (33.4 %)	22.4 % (16.1 %)
$BASE_{0\ LY}$ ($\times 10^9/\text{L}$)		195 (5.8 %)	39 % (8.5 %)	-
$BASE_{0\ ST}$ ($\times 10^9/\text{L}$)		273 (5.4 %)	-	-
IT_{50} (days)		68.2 (43.5 %)	-	-
IMAT		101 (34.7 %)	84.2 % (35 %)	-
a ($\times 10^9/\text{L}$)		13.5 (8.1 %)	-	-
b (%)		19 (2.7 %)	-	-
ε -shrinkage (%)		18.5 %	-	-
RSE (%)		Relative Standard Error, calculated as $RSE = (\text{Standard Error}/\text{Final parameter estimate}) * 100$		
IIV (%)	Inter-individual Variability, calculated as $IIV = (\omega_{IIV}) * 100$			
IOV (%)	Inter-occasion variability, calculated as $IOV = (\omega_{IOV}) * 100$			
n	Number of patients included in the dataset			

Fig. 2 Internal evaluation of the *Final PKPD model*. individual platelet count predictions are shown over time for two representative lymphoma **a** and solid tumour **d** patients. *open circles* represent the observations and the *solid lines* the individual predictions. NPDE *versus* time and *versus* PRED are shown for lymphoma **b, c** and solid tumour **e, f** patients respectively, the *dashed lines* represent the 95% prediction interval, the *solid curve* shows the trend curve



the platelet-time profiles in lymphoma patients. Disease progression was best described by an I_{max} model; characterised by IT_{50} , the time necessary to obtain half the maximum decrease ($IMAT$). IIV was estimated on all parameters except on I_{max} and IT_{50} . $BASE_{0_{ST}}$ and $BASE_{0_{LY}}$ shared the same IIV. IOV significantly improved the model only when estimated on δ and IC_{50} . The *Intermediate PKPD model* parameter estimates are presented in Table 2. GOFs and NPDE were satisfactory (figures not shown). The p -value of the Kolmogorov-Smirnov test was approximately 0.13 indicating that the null hypothesis of a standard normal distribution for NPDE could not be rejected.

The *Intermediate PKPD model* was evaluated using data from 30 additional patients (Table 1). Individual VPC were satisfactory and NPDE showed the absence of any bias in the structural model (results not shown) indicating the ability of the *Intermediate PKPD model* to predict the individual platelet time-course of patients treated by abexinostat. However, the p -value of the Kolmogorov-Smirnov test was 3.8×10^{-5} , rejecting the null-hypothesis of normality.

Final PKPD model

Finally, the PD parameter estimates were re-estimated with the *Final dataset* (Table 1) containing 1217 platelet samples from

125 patients (56 and 69 lymphoma and solid tumour patients respectively) over three treatment cycles (Table 2). The *Final PKPD model* described the data well as shown in Fig. 2a and d NPDE versus TIME or versus PRED showed that the *Final PKPD model* had a good ability to describe and predict platelet time-course of both lymphoma (Fig. 2b and c) and solid tumour (Fig. 2e and f) patients treated with abexinostat. The p -value of the Kolmogorov-Smirnov test was 0.12, indicating that the null hypothesis of a standard normal distribution for the NPDE could not be rejected.

Model-derived recommended doses (MDRD) determination for both lymphoma and solid tumour patients

For the lymphoma patients, the MDRD were 80, 200 and 140 mg/day for the 14ON7OFF, 4ON3OFF and 5ON2OFF administration schedules, respectively (Fig. 3a). These MDRDs led to a cumulated dose of 1,120, 2,400 and 1,400 mg per cycle for the 14ON7OFF, 4ON3OFF and 5ON2OFF administration schedules, respectively. For the solid tumour patients the MDRD were 180, 440 and 280 mg/day for the 14ON7OFF, 4ON3OFF and 5ON2OFF administration schedules respectively (Fig. 3b). These MDRDs led to a cumulated dose of 2,520, 5,280 and 2,800 mg per cycle for the 14ON7OFF, 4ON3OFF and 5ON2OFF administration schedules, respectively.

DLT percentages at the MDRD in a 3+3 dose escalation design

Asymptotically (*i.e.* with an infinite number of patients) at the RD dose level, the probability of escalating to a higher dose level is 100 %. However, simulations of a 3+3 design in lymphoma patients (*i.e.* 500 cohorts of six patients) showed that these probabilities were only 45.6, 36.6 and 36.2 % for the 14ON7OFF, 4ON3OFF and 5ON2OFF administration schedules, respectively (Fig. 4a–c). For solid tumour patients these probabilities were only 40, 39.8 and 39.6 % for the 14ON7OFF, 4ON3OFF and 5ON2OFF administration schedules, respectively (Fig. 4d–f).

Discussion

TCP is the major DLT of HDACi such as abexinostat [17, 19, 22]. To determine the dose/toxicity relationship it is vital to both describe and predict the time-course of platelet counts in the entire study population. This study has refined the previously developed PKPD model [22] to adequately describe platelet profiles after administration of abexinostat in both patients with solid tumours and lymphoma (Fig. 1). The extended semi-mechanistic PKPD model was used to

determine the MDRD for different administration schedules and patient populations using a simulation study. Finally, the ability of the 3+3 escalation design to properly determine the MDRD was evaluated using a simulation study.

Although the Kolmogorov-Smirnov test rejected the null-hypothesis of NPDE normality (p -value of 3.8×10^{-5}) in the advanced internal evaluation step, the *Intermediate PKPD model* showed good predictability features after examining NPDE versus Time, PRED and QQ plots. As suggested by Comets *et al.* [37], the normality assumption test of the NPDE distribution is very powerful in case of a rich dataset and may be considered conservative. Indeed, the visual inspection of the NPDE graphs showed the descriptive and predictive ability of the model. In this study the *Advanced internal evaluation dataset* was probably too small (292 platelet counts from 30 patients) to enable a powerful Kolmogorov-Smirnov test

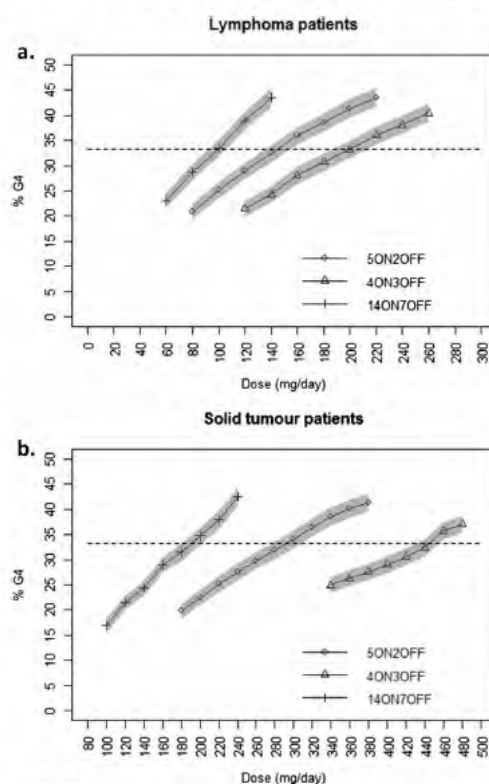
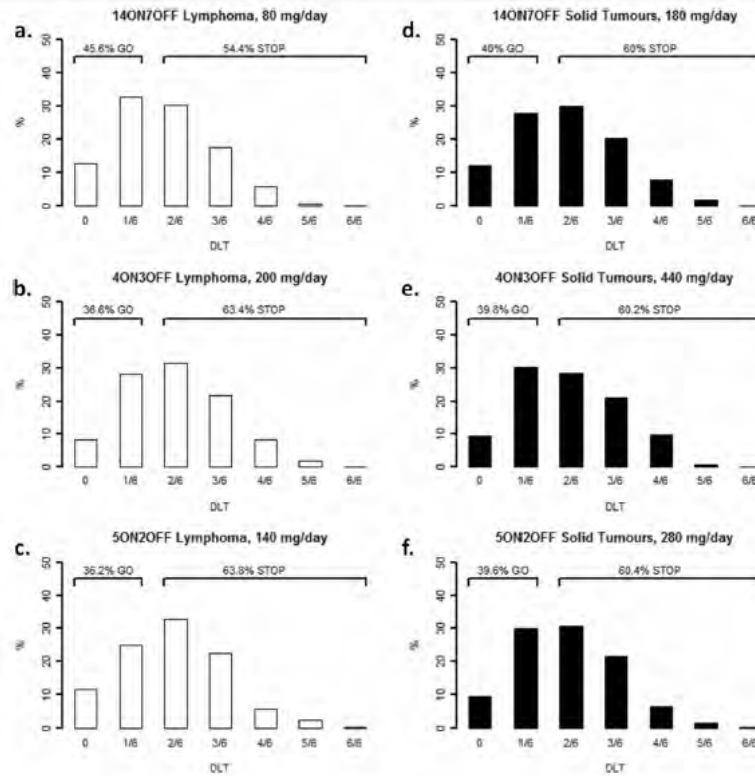


Fig. 3 Determination of the model-derived recommended doses (MRD) for both lymphoma a and solid tumour b patients. the dashed lines represent the threshold of 33.33 % (2/6 patients) of dose-limiting toxicity (DLT), which is a grade 4 thrombocytopenia. open circle, triangle and dash stand for the 5ON2OFF, 4ON3OFF and 14ON7OFF administration schedules respectively. shaded areas represent the 95 % prediction intervals

Fig. 4 DLT percentages at the MDRD for both population (lymphoma and solid tumour patients in the white and black panels respectively), for each administration schedule (14ON7OFF a. and d./4ON3OFF b. and e./5ON2OFF c. and f.) in a 3+3 dose-escalation. GO is for the probability to escalate the dose and STOP is the probability to stop the dose escalation



Finally, the PD parameters were re-estimated using the whole dataset (1217 platelet counts from 125 patients treated according to six different administration schedules), leading to the *Final PKPD model*. GOFs, individual plots and NPDE versus Time or PRED (Fig. 2) showed that the model described the data well. Consequently, this *Final PKPD model* was able to describe and predict a larger and more heterogeneous population of patients, taking into account meaningful differences between solid tumours and lymphoma patients. Lymphoma patients had a lower baseline platelet count than solid tumour patients (195 versus $273 \times 10^9/L$), possibly due to a weakening of their bone marrow. The slight decrease in platelet counts over time observed in some patients was also accounted for by adding the effect of disease progression on this baseline parameter ($BASE_{0LY}$). Disease progression was only observed and statistically significant in lymphoma patients. IOV from one treatment cycle to the other was added on IC_{50} and δ , with population estimates of approximately 10 and 5 % respectively (Table 2).

Simulations were performed using the *Final PKPD model*. The MDRD were determined using a simulation approach for

each population and considered different administration schedules (Fig. 3). In comparison with the other administration schedules tested, the 4ON3OFF schedule was considered safer, as a higher dose could be administered to both populations of patients with an acceptable toxicity level. The duration (in days) of the first sequence of dose administration could partly explain these differences, as longer initial exposure to the treatment may lead to a stronger platelet decrease. The MDRD was approximately twice as high for the solid tumour patients compared to the lymphoma patients, despite administration schedule, reflecting the impact of the pathophysiology of lymphoma patients (lower platelet count at inclusion and decrease of platelet count over time).

The Observed Recommended Dose (ORD) associated with the 14ON7OFF administration schedule in CL1-78454-002 for patients with solid tumours was lower than the ORD associated with 4ON3OFF [22], which is consistent with Modeling & Simulations (M & S) predictions regarding their respective MDRDs (Fig. 3). In CL1-78454-001, involving lymphoma patients, the ORD were the same despite administration schedule, whereas M & S demonstrated that the

MDRD associated with the 14ON7OFF administration schedule was lower than that of the 4ON3OFF (Fig. 3). The fact that this difference was not observed in a clinical setting could partly be explained by the weakness and lack of sensitivity of the 3+3 design to discriminate across administration schedules. Changing dose schedule from 14ON7OFF to 4ON3OFF led to an increase of the MDRD of 260 mg/day in solid tumours *versus* 120 mg/day lymphoma, making it easier to detect.

Although the 3+3 design is predominantly used in phase I clinical trials, the determination of the MTD and also the RD tends to be erroneous as a result of using this design [23–25]. Our simulation study showed that for each administration schedule and for each population (Fig. 4), the maximum probability of reaching the MDRD, assuming that the actual RD was known, was approximately 40 % (only a single step of the 3+3 dose-escalation design was simulated). This leads to a 60 % minimum risk of stopping the dose-escalation process just before the actual RD is reached. Consequently, with the 3+3 design the probability of stopping the dose-escalation at each step is high, and therefore the probability of reaching the real RD is poor. Conversely, the small number of patients included at each step can lead to an erroneously high RD if these patients happen to have a high tolerance profile. In a 3+3 rule-based design, the decision to go up or to stop the dose escalation is only based on the information extracted from 3 to 6 patients at a particular dose level [1, 5, 38, 39]. Therefore, M & S is a useful tool to support the classical 3+3 design to determine the dose-toxicity relationship and guide the clinical development of a drug by taking into account all the information obtained throughout the dose-escalation process. The determination of the MDRD through simulations can be performed only after having built a PKPD model, and thus relies on the availability of PK and PD data. Nevertheless, such a model-based approach could be used at the end of a classical 3+3 dose escalation in order to determine the MDRD.

Conclusion

TCP is the major dose-limiting toxicity of abexinostat in phase I clinical trials. The previous semi-mechanistic PKPD model of TCP in solid tumour patients treated by abexinostat [22] has been refined to predict the dose-toxicity relationship in a larger and more heterogeneous population including lymphoma patients. This PKPD model resulted in the development of an optimal administration schedule (4 days ON, 3 days OFF every week of a three week-cycle) associated with a model-based recommended dose of abexinostat of 200 and 440 mg per day for lymphoma and solid tumour patients, respectively. The weakness of the 3+3 design to properly determine the MTD, and therefore the RD, was demonstrated. The results

from this study have demonstrated the value of a model-based approach in the dose-escalation process to investigate the RD for future phase II trials.

Acknowledgments and disclosures Authors would like to thank Pharmacyclis for providing data from the PCYC-402 and the PCYC-403 clinical studies.

Author's disclosures of potential conflicts of interest: Quentin Chalret du Rieu, Sylvain Fouliard, Ioana Kloos and Marylore Chenel are employed by Institut de Recherches Internationales Servier. The other author (s) indicated no potential conflicts of interest.

This work was integrated in a Ph. D. project (Quentin Chalret du Rieu), granted by Institut de Recherches Internationales Servier.

We thank Ms Katie Owens for her editorial assistance.

References

- Eisenhauer EA, O'Dwyer PJ, Christian M, Humphrey JS (2000) Phase I clinical trial design in cancer drug development. *J Clin Oncol* 18:684–692
- Le Tourneau C, Faivre S, Raymond E, Dieras V (2007) Phase I cancer trials methodology. *Bull Cancer* 94:943–951
- Ratain MJ, Mick R, Schilsky RL, Siegler M (1993) Statistical and ethical issues in the design and conduct of phase I and II clinical trials of new anticancer agents. *J Natl Cancer Inst* 85:1637–1643
- Cannistra SA (2008) Challenges and pitfalls of combining targeted agents in phase I studies. *J Clin Oncol* 26:3665–3667
- Le Tourneau C, Lee JJ, Siu LL (2009) Dose escalation methods in phase I cancer clinical trials. *J Natl Cancer Inst* 101:708–720
- Simon R, Freidlin B, Rubinstein L, Arbuck SG, Collins J, Christian MC (1997) Accelerated titration designs for phase I clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst* 89:1138–1147
- Storer BE (1989) Design and analysis of phase I clinical trials. *Biometrics* 45:925–937
- Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van GM, van Oosterom AT, Christian MC, Gwyther SG (2000) New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 92:205–216
- Storer BE (2001) An evaluation of phase I clinical trial designs in the continuous dose-response setting. *Stat Med* 20:2399–2408
- Von Hoff DD, Turner J (1991) Response rates, duration of response, and dose response effects in phase I studies of antineoplastics. *Invest New Drugs* 9:115–122
- Bhatia M, Davenport V, Cairo MS (2007) The role of interleukin-11 to prevent chemotherapy-induced thrombocytopenia in patients with solid tumors, lymphoma, acute myeloid leukemia and bone marrow failure syndromes. *Leuk Lymphoma* 48:9–15
- Elting LS, Rubenstein EB, Martin CG, Kurtin D, Rodriguez S, Laiho E, Kanesan K, Cantor SB, Benjamin RS (2001) Incidence, cost, and outcomes of bleeding and chemotherapy dose modification among solid tumor patients with chemotherapy-induced thrombocytopenia. *J Clin Oncol* 19:1137–1146
- Elting LS, Martin CG, Kurtin DJ, Cantor SB, Rubenstein EB, Rodriguez S, Kanesan K, Vadhan-Raj S, Benjamin RS (2002) The bleeding risk index: a clinical prediction rule to guide the prophylactic use of platelet transfusions in patients with lymphoma or solid tumors. *Cancer* 94:3252–3262
- Belt RJ, Leite C, Haas CD, Stephens RL (1978) Incidence of hemorrhagic complications in patients with cancer. *JAMA* 239:2571–2574

15. Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, O'Connell BA, Levy C, Kendall JA, Wiernik PH (1984) Incidence of thrombocytopenia and serious hemorrhage among patients with solid tumors. *Cancer* 53:557–562
16. Gaydos, L. A., Freireich, E. J., Mantel, N. (3-5-1962) The quantitative relation between platelet count and hemorrhage in patients with acute leukemia. *N Engl J Med* 266:905–909
17. Bishton MJ, Harrison SJ, Martin BP, McLaughlin N, James C, Josefsson EC, Henley KJ, Kile BT, Prince HM, Johnstone RW (2011) Deciphering the molecular and biologic processes that mediate histone deacetylase inhibitor-induced thrombocytopenia. *Blood* 117:3658–3668
18. Marks PA, Xu WS (2009) Histone deacetylase inhibitors: potential in cancer therapy. *J Cell Biochem* 107:600–608
19. Matsuoka H, Unami A, Fujimura T, Noto T, Takata Y, Yoshizawa K, Mori H, Aramori I, Mutoh S (2007) Mechanisms of HDAC inhibitor-induced thrombocytopenia. *Eur J Pharmacol* 571:88–96
20. Prince HM, Bishton MJ, Harrison SJ (2009) Clinical studies of histone deacetylase inhibitors. *Clin Cancer Res* 15:3958–3969
21. Ali A, Bluteau O, Messaoudi K, Palazzo A, Boukour S, Lordier L, Lecluse Y, Rameau P, Kraus-Berthier L, Jacquet-Bescond A, Lelievre H, Depil S, Dessen P, Solary E, Raslova H, Vainchenker W, Plo I, Debili N (2013) Thrombocytopenia induced by the histone deacetylase inhibitor abexinostat involves p53-dependent and -independent mechanisms. *Cell Death Dis* 4:e738
22. Chalret du Rieu Q, Fouliard S, Jacquet-Bescond A, Robert R, Kloos I, Depil S, Chatelut E, Chenel M (2013) Application of hematological toxicity modeling in clinical development of abexinostat (S-78454, PCI-24781), a new histone deacetylase inhibitor. *Pharm Res* 30:2640–2653
23. Faries D (1994) Practical modifications of the continual reassessment method for phase I cancer clinical trials. *J Biopharm Stat* 4:147–164
24. He W, Liu J, Binkowitz B, Quan H (2006) A model-based approach in the estimation of the maximum tolerated dose in phase I cancer clinical trials. *Stat Med* 25:2027–2042
25. Smith TL, Lee JJ, Kantarjian HM, Legha SS, Raber MN (1996) Design and results of phase I cancer clinical trials: three year experience at M.D. anderson cancer center. *J Clin Oncol* 14:287–295
26. Fouliard S, Robert R, Jacquet-Bescond A, du Rieu QC, Balasubramanian S, Loury D, Loriot Y, Hollebecque A, Kloos I, Soria JC, Chenel M, Depil S (2013) Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling-based optimisation of administration schedule for the histone deacetylase inhibitor abexinostat (S78454/PCI-24781) in phase I. *Eur J Cancer* 49:2791–2797
27. Sheiner LB, Beal SL (1980) Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetics parameters. I. michaelis-menten model: routine clinical pharmacokinetic data. *J Pharmacokin Biopharm* 8:553–571
28. Zhang L, Beal SL, Sheiner LB (2003) Simultaneous vs. sequential analysis for population PK/PD data I: best-case performance. *J Pharmacokin Pharmacodyn* 30:387–404
29. Quartino AL, Friberg LE, Karlsson MO (2012) A simultaneous analysis of the time-course of leukocytes and neutrophils following docetaxel administration using a semi-mechanistic myelosuppression model. *Invest New Drugs* 30:833–845
30. Van Kesteren C, Zandvliet AS, Karlsson MO, Mathot RA, Punt CJ, Armand JP, Raymond E, Huitema AD, Dittrich C, Dumez H, Roche HH, Droz JP, Ravic M, Yule SM, Wanders J, Beijnen JH, Fumoleau P, Schellens JH (2005) Semi-physiological model describing the hematological toxicity of the anti-cancer agent indisulam. *Invest New Drugs* 23:225–234
31. Brendel K, Comets E, Laffont C, Laveille C, Mentre F (2006) Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide. *Pharm Res* 23:2036–2049
32. Brendel K, Comets E, Laffont C, Mentre F (2010) Evaluation of different tests based on observations for external model evaluation of population analyses. *J Pharmacokin Pharmacodyn* 37:49–65
33. Lavielle M, Bleakley K (2011) Automatic data binning for improved visual diagnosis of pharmacometric models. *J Pharmacokin Pharmacodyn* 38:861–871
34. Post TM, Freijer JJ, Ploeger BA, Danhof M (2008) Extensions to the visual predictive check to facilitate model performance evaluation. *J Pharmacokin Pharmacodyn* 35:185–202
35. Hitchcock, I. S., Kaushansky, K. (2014) Thrombopoietin from beginning to end. *Br J Haematol*.
36. Kaushansky K (2003) Thrombopoietin: a tool for understanding thrombopoiesis. *J Thromb Haemost* 1:1587–1592
37. Comets E, Brendel K, Mentre 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
38. Ji Y, Li Y, Nebiyou BB (2007) Dose-finding in phase I clinical trials based on toxicity probability intervals. *Clin Trials* 4:235–244
39. Ji Y, Wang SJ (2013) Modified toxicity probability interval design: a safer and more reliable method than the 3+3 design for practical phase I trials. *J Clin Oncol* 31:1785–1791
40. Friberg LE, Henningsson A, Maas H, Nguyen L, Karlsson MO (2002) Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol* 20:4713–4721

2. Les thrombopénies en pratique clinique : exemple des chimiothérapies hyperthermiques intra-péritonéales à base d'oxaliplatine

Parmi les chimiothérapies cytotoxiques, les dérivés du platine sont très utilisés en clinique et ce dans de nombreuses indications. Actuellement cinq dérivés sont utilisés : le cisplatine, le carboplatine, l'oxaliplatine et, beaucoup plus rarement, le nédaplatine et le lobaplatine [221]. Nous nous focaliserons sur l'un d'entre eux en particulier : l'oxaliplatine ou *cis*-[(1*R*,2*R*)-1,2-cyclohexanediamine-*N,N'*]oxalato(2-)-*O,O'*] platinum (Figure 14). Ce dernier, analogue de troisième génération des dérivés du platine découvert en 1976 [222], est composé d'un ligand transporteur (diaminocyclohexane [DACH]) et d'un ligand hydrolysable (acide oxalique).

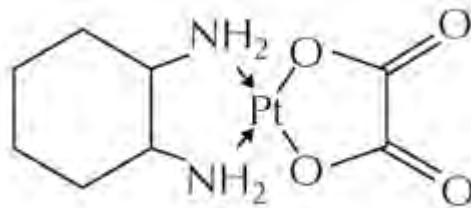


Figure 14 : Structure chimique de l'oxaliplatine. Figure extraite de Chatelut *et al.* [223]

Dans le plasma, l'oxaliplatine subit une hydrolyse spontanée durant laquelle le groupement oxalate est remplacé par deux ions Chlore, conduisant au métabolite actif : DACH-dichloroplatine [221]. Ce dernier forme des adduits à l'ADN : adduits intra-brins majoritairement mais également adduits inter-brins et des adduits entre ADN et protéines cellulaires [222]. L'apoptose des cellules tumorales est alors déclenchée par formation de ces lésions à l'ADN, arrêt de synthèse d'ADN (inhibition de la thymidilate synthase) et d'ARNm (inhibition de facteurs de transcriptions ou de l'ARN polymérase) ou encore par réactions immunologiques [224].

La PK de l'oxaliplatine libre est complexe [225]. Elle est notamment caractérisée par une élimination tri-phasique, avec une phase d'élimination terminale longue (temps de demi-vie

d'élimination [$t_{1/2}$] \approx 252-273h). Sa variabilité inter- et intra-individuelle est modérée. Dans le sang, l'oxaliplatine se lie de façon irréversible aux protéines plasmatiques (*i.e.* albumine) et aux érythrocytes. L'oxaliplatine est rapidement éliminé du plasma, majoritairement par liaison au niveau de tissus cellulaires mais également par élimination rénale (filtration glomérulaire principalement). Son élimination dans les fèces est très faible.

Les principales toxicités constatées chez les patients après administration IV se situent au niveau des nerfs périphériques, du tractus gastro-intestinal mais également du système hématopoïétique [224]. Les neuropathies périphériques représentent les principales toxicités limitant l'augmentation des doses. Aigues (par exemple paresthésies, dysesthésies ou allodynies), elles affectent principalement les extrémités, les lèvres ou encore l'aire oropharyngolaryngée. Elles sont alors souvent exacerbées par le froid. Une altération du fonctionnement des canaux sodiques voltage dépendants par chélation du Calcium sur le groupement oxalate en serait majoritairement responsable. Mais ces neuropathies périphériques peuvent également être chroniques ; une exposition prolongée provoquant un processus dégénératif des axones [224].

Au niveau du tractus gastro-intestinal, une toxicité non spécifique au niveau des cellules présentant un taux de division élevé peut conduire à des nausées, vomissements et diarrhées, en général d'intensités modérées [224].

Mais nous nous intéresserons particulièrement dans ce manuscrit aux toxicités hématologiques induites par oxaliplatine. Une myélotoxicité (neutropénie, anémie, TCP) modérée, dose-dépendante, est observée chez les patients traités par oxaliplatine. En effet, Jardim *et al.* mentionnent un taux de plus de 70% de TCPs (tout grade confondus) consécutifs à un traitement par oxaliplatine. Les TCPs de grade 3 ou 4 concerneraient que 3 à 4% des patients traités, mais conduisent dans la majorité des cas à un report ou arrêt du traitement ou une réduction de dose, impactant la prise en charge thérapeutique du patient [158]. Comme nous avons pu le voir au paragraphe 2.3.2.2., les TCPs induites par oxaliplatine sont principalement dues à trois principaux mécanismes d'action : un effet myélosuppressif de la molécule, une séquestration splénique des plaquettes suite à des dommages hépatiques ou encore des mécanismes immunitaires [158].

L'oxaliplatine est aujourd'hui principalement indiqué dans le traitement des cancers colorectaux de stade III (stade C selon la classification de Duke) et/ou métastatiques après résection complète de la tumeur primitive. Le plus souvent, il est prescrit en association avec d'autres médicaments de chimiothérapies [FOLFOX (5-FU, leucovorin, oxaliplatine) ou XELOX (capécitabine, oxaliplatine)] ou de thérapies ciblées (bevacizumab, cetuximab,...) [222,224]. Les protocoles standards d'administration consistent en des perfusions IV toutes les trois semaines, de 2 à 6 heures, pour une dose comprise entre 85 et 130 mg/m² [223].

Mais ce médicament est actuellement en cours d'évaluation dans de nombreuses autres indications, notamment pour le traitement des carcinoses péritonéales. Ces dernières sont des manifestations métastatiques abdominales faisant suite à une progression tumorale et nécessitent un traitement chirurgical standard et/ou une chimiothérapie palliative. Afin d'améliorer la survie globale mais surtout la survie sans récurrence des patients, une prise en charge thérapeutique est actuellement en cours d'évaluation. Elle consiste à associer une cytoréduction chirurgicale complète à un bain de chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéal. La CHIP associe alors les effets d'une chimiothérapie locale administrée à forte dose (concentrations locales très supérieures à celles atteintes par voie systémique) à ceux de l'hyperthermie (potentialisation de l'effet cytotoxique). Les cellules tumorales sont plus thermosensibles que les tissus sains ; ces derniers pouvant se protéger par vasodilatation, assurant ainsi une thermorégulation [226]. La chimiothérapie intra-péritonéale ne peut se faire qu'après cytoréduction chirurgicale complète (score de cytoréduction CC0 ou CC1) [226]. En effet, certains auteurs ont démontré que la pénétration des molécules de chimiothérapie était limitée aux couches cellulaires supérieures, conduisant à une efficacité de la chimiothérapie qu'envers une maladie résiduelle infra- ou millimétrique [227]. Afin d'éviter que les cellules tumorales ne soient piégées dans les adhérences postopératoires, la CHIP doit être réalisée immédiatement après la chirurgie. Cette procédure a d'ores-et-déjà montré son efficacité, en phase II et/ou III, chez des patients atteints de carcinoses péritonéales d'origines colorectales [228,229], ovariennes [230], mésothéliales [231], et

semble par conséquent encourageante chez des patients dont la survie à long terme reste très faible.

Différentes techniques sont actuellement en cours d'évaluation (ventres fermés, ventres ouverts). Nous ne décrivons brièvement dans ce manuscrit que celle utilisée au sein de l'Institut Claudius-Regaud (ICR), où furent traités nos patients à l'étude. Les chirurgiens de l'ICR, après cytoréduction chirurgicale complète, procèdent à une technique de CHIP à ventre ouvert, peau en traction vers le haut, dite *coliseum technique*. Ainsi la totalité des surfaces et des parois de l'abdomen sont en contact avec le bain de chimiothérapie. En effet, le chirurgien assure manuellement une diffusion uniforme de la chimiothérapie dans la cavité péritonéale (Figure 15). Une température de 43°C est maintenue homogène, grâce au recours de quatre drains possédant des capteurs thermiques ; des températures inférieures à 43°C diminueraient l'efficacité de la chimiothérapie hyperthermique, supérieures elles induiraient des risques de brûlures viscérales [226]. Afin de chauffer rapidement et de façon homogène, le débit de perfusion doit être élevé (2L/min). Une concentration de chimiothérapie homogène entre les patients sera obtenue en adaptant le volume de perfusat (à l'ICR, une solution de dextrose à 5%) en fonction de la surface corporelle du patient, à raison de 2L/m² ; la dose de chimiothérapie quant à elle étant fixe (360 ou 460 mg/m²). La durée de la CHIP varie selon les équipes (entre 30 et 90 min) mais à l'ICR est de 30 minutes après atteinte de la température optimale. A la fin de la CHIP, la cavité péritonéale est entièrement vidée de son bain d'oxaliplatine.

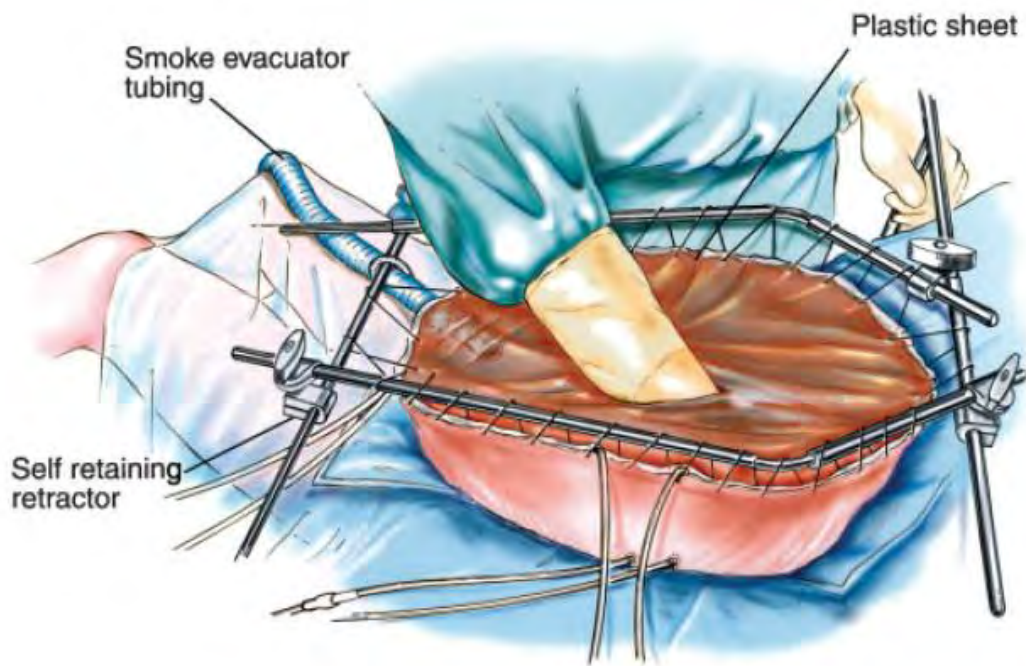


Figure 15 : Chimiothérapie périopérative intra-péritonéale hyperthermique à ventre ouvert (*Coliseum technique*). Une manipulation continue des viscères permet une distribution uniforme de la chaleur et de la chimiothérapie dans l'ensemble du péritoine. Figure extraite de Sugarbaker *et al.* [232].

L'efficacité de plusieurs médicaments (mitomycine C, cisplatine, irinotécan, docétaxel, paclitaxel, oxaliplatine,...) a été évaluée, administrés seul ou en association [226,233-237]. Un traitement à base d'oxaliplatine s'avère prometteur, de part l'augmentation de son activité cytotoxique par l'hyperthermie [238] et une pénétration intra-tumorale optimale (environ 18 fois supérieure dans les tissus tumoraux baignés que dans les tissus non baignés [239,240]). Elias *et al.* ont démontré une augmentation de la médiane de survie de 23,9 à 62,7 mois avec un taux de survie à 5 ans augmentant de 13 à 51% par comparaison au traitement standard de chirurgie et chimiothérapie palliative [228]. De nombreuses études ont été menées afin d'une part de déterminer la dose maximale tolérée d'oxaliplatine lors de CHIP, pour des doses allant de 200 à 460 mg/m² perfusées pendant 0,5 à 2 heures, et d'autre part de caractériser sa pharmacocinétique [241-244]. Cependant, à ce jour, aucun consensus ne semble avoir été admis quant à la dose optimale à administrer aux patients. Une étude évaluant des cohortes de trois patients traités à des doses croissantes d'oxaliplatine a permis

la proposition d'une administration intrapéritonéale de 460 mg/m² d'oxaliplatine dans 2L/m² d'une solution de dextrose à 5%, par perfusion de 30 minutes dans un bain péritonéal chauffé à 42-43°C [239]. Lors de l'administration d'une telle dose, une concentration maximale [C_{max}] péritonéale environ 25 fois supérieure à celle plasmatique est observée [239]. La durée de la chimiothérapie est restreinte à 30 minutes afin de limiter le passage systémique de la molécule, et ainsi diminuer le risque de survenue d'effets indésirables [226].

Cependant les CHIPs ne sont pas dénuées de risques et sont associées à un taux important de morbi/mortalité. Votanopoulos *et al.* mentionnent dans une revue de la littérature englobant les données de patients traités par CHIP oxaliplatine entre 2006 et 2009, un taux de morbidité variant de 30 et 74% et un taux de mortalité variant de 0 et 19% [237]. Selon les auteurs le taux de complications varie entre 50-60% ; ce taux augmentant avec la durée opératoire et l'extension de la carcinose [245,246]. Les toxicités hématologiques s'avèrent les plus fréquentes : 58 % de toxicités hématologiques de grade 3/4 dans l'étude d'Elias *et al.* [240]. Votanopoulos *et al.* rapportent un taux global de thrombopénies de grade 3/4 de 10,9% pour un taux de neutropénies de grade 3/4 de 14,5% [237]. Ces TCPs sont le plus souvent réversibles mais peuvent quelques fois conduire à de graves complications. Dans l'étude de Stewart *et al.*, sur une cohorte de trois patients traités à la dose de 250 mg/m² (perfusion intra-péritonéale pendant 2h à 40°C), deux d'entre eux ont présenté une TCP sévère ; l'un des deux décédant quatre jours plus tard des suites de sa myélosuppression [244].

Même si le bénéfice clinique est imputable à la chirurgie cytoréductrice, le recours aux CHIPs à base d'oxaliplatine dans le traitement des carcinoses péritonéales a permis une nette amélioration du taux de survie globale des patients [226]. Cependant, il convient de maîtriser l'exposition systémique en oxaliplatine afin de limiter le risque de survenue de ces toxicités. Un juste équilibre doit être défini permettant une exposition péritonéale maximale (effet cytotoxique) tout en diminuant son exposition systémique (effet toxique).

Travaux personnels 3

La compréhension de l'implication de l'exposition en oxaliplatine à ces taux de toxicités hématologiques est essentielle afin d'augmenter le B/R de cette procédure thérapeutique encore en cours d'évaluation. C'est pourquoi, les données (tant pharmacocinétiques que pharmacodynamiques) de 75 patients traités à l'Institut Claudius-Regaud pour leurs carcinomes péritonéaux ont été analysées. L'ensemble de ces patients subissent une cytoréduction chirurgicale préalablement à une procédure de CHIP à base d'oxaliplatine à une dose de 360 ou 460 mg/m². Nos travaux ont permis la description simultanée des concentrations d'oxaliplatine péritonéales, plasmatiques libres (ultra-filtrables) et liées aux protéines plasmatiques. Les données d'exposition plasmatique ont dès lors été confrontées aux données de toxicités observées (neuropathies, thrombopénies, hémopéritoines, sepsis, ascites). Une contribution de la pharmacocinétique, relative au phénomène d'absorption, vis-à-vis de l'intensité des thrombopénies a pu être mise en évidence.

Ce travail a été publié dans le journal *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* :

Chalret du Rieu *et al.* (2014), *Cancer Chemother Pharmacol*

Article 3 : Population pharmacokinetics of peritoneal, plasma ultrafiltrated and protein-bound oxaliplatin concentrations in patients with disseminated peritoneal cancer after intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion of oxaliplatin following cytoreductive surgery: correlation between oxaliplatin exposure and thrombocytopenia

Population pharmacokinetics of peritoneal, plasma ultrafiltrated and protein-bound oxaliplatin concentrations in patients with disseminated peritoneal cancer after intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion of oxaliplatin following cytoreductive surgery: correlation between oxaliplatin exposure and thrombocytopenia

Quentin Chalret du Rieu · Mélanie White-Koning · Laetitia Picaud · Isabelle Lochon · Sabrina Marsili · Laurence Gladieff · Etienne Chatelut · Gwenaël Ferron

Received: 9 April 2014 / Accepted: 6 July 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract

Purpose First, to evaluate the peritoneal (IP), plasma ultrafiltrated (UF) and protein-bound (B) pharmacokinetics (PK) of oxaliplatin after intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion (HIPEC) following cytoreductive surgery. Second, to evaluate the relationship between oxaliplatin exposure and observed toxicity.

Methods IP, UF, and B concentrations from 75 patients treated by 30-min oxaliplatin-based HIPEC procedures were analysed according to a pharmacokinetic modelling approach using NONMEM. Oxaliplatin was administered in a 5 % dextrose solution (2 L/m²) at 360 (n = 58) or 460 mg/m² (n = 17). The most frequently observed toxicities were related to the peritoneal, systemic exposures and to the parameters corresponding to the oxaliplatin absorption from peritoneal cavity into plasma.

Results IP (n = 536), UF (n = 669) and B (n = 661) concentrations were simultaneously described according to a

five-compartment PK model with irreversible nonlinear binding from UF to B according to a Michaelis–Menten equation. The mean (±SD) maximum fraction of dose absorbed and elimination half-life from the peritoneum was 53.7 % (±8.5) and 0.49 h (±0.1), respectively. The mean (±SD) ratio AUC_{IP}/AUC_{UF} was 5.3 (±2) confirming the pharmacokinetic advantage of the procedure. Haemoperitoneum (22.7 %), neuropathy (18.7 %), grade 3/4 thrombocytopenia (13.3 %) were the most frequently reported toxicities. AUC_{UF} accounts for approximately 12 % of the variation in the maximum percentage of platelet decrease (r = 0.35, p = 0.002). Thrombocytopenia was correlated with higher AUC_{UF}, partly dependent on the extent and rate of oxaliplatin absorption.

Conclusions Despite a common dose administered, variability in peritoneal and systemic oxaliplatin exposures are observed, leading to differences in haematological toxicity between patients.

Keywords Oxaliplatin · HIPEC · Population pharmacokinetic · Thrombocytopenia · NONMEM

Q. Chalret du Rieu · M. White-Koning · I. Lochon · S. Marsili · E. Chatelut · G. Ferron
EA4553, Univ. Toulouse III Paul Sabatier, 31000 Toulouse, France

Q. Chalret du Rieu · M. White-Koning · I. Lochon · S. Marsili · E. Chatelut (✉) · G. Ferron
Institut Claudius Regaud, IUCT-O, Laboratoire de Pharmacologie, 1 avenue Irène Joliot-Curie, 31059 Toulouse, France
e-mail: chatelut.etienne@iuct-oncopole.fr

L. Picaud · G. Ferron
Institut Claudius Regaud, IUCT-O, Département de Chirurgie Oncologique, 31059 Toulouse, France

L. Gladieff
Institut Claudius Regaud, IUCT-O, Département d'Oncologie Médicale, 31059 Toulouse, France

Introduction

Peritoneal carcinomatosis is caused by widespread metastases in the peritoneal cavity. Until recently, the treatment of this terminal condition was limited to standard palliative surgery and chemotherapy with mediocre results in terms of survival. However, a recent meta-analysis has shown that the use of cytoreductive surgery (CRS) followed by hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) significantly increases survival in patients with colorectal cancer [1]. Experimental studies have shown that drug penetration is limited to a few cell layers beneath the tumour surface

[2] and consequently HIPEC must be administered immediately after the CRS in order to achieve maximal cytotoxic activity on residual tumour cells before they are trapped in the post-operative fibrin adhesions [3]. This combination is the standard treatment for both pseudomyxoma peritonei and peritoneal mesothelioma [4]. There are ongoing clinical trials in colorectal cancer [5] and advanced ovarian cancer [6, 7] as well as several phase I/II trials in gastric cancer [8].

Although other drugs such as cisplatin [9], carboplatin [10], paclitaxel [11], mitomycin C [12] or doxorubicin [13] have been used, the antineoplastic platinum-compound oxaliplatin is currently frequently employed because its cytotoxic activity is substantially improved by hyperthermia [14] and its intratumoural penetration is optimal [15]. However, these therapeutic advantages have to be put into balance with the associated risk of peripheral sensory neuropathy and haematological toxicity which are the dose-limiting toxicities of oxaliplatin administered intravenously [16]. Votanopoulos et al. [12] reported a 14.5 % incidence of grade 3–4 neutrophil toxicity and a 10.9 % incidence of grade 3–4 platelet toxicity among patients treated with oxaliplatin-based HIPEC. On the other hand, Elias et al. [17] found a grade 3–4 haematological toxicity rate of 58, 41 % of grade 4 neutropenia and 26 % of grade 3 thrombocytopenia, in 39 patients with peritoneal carcinomatosis of either gastro-intestinal or peritoneal origin who underwent CRS followed by HIPEC with oxaliplatin and irinotecan.

Several authors have examined the pharmacokinetics (PK) of oxaliplatin during HIPEC [18–21] and found that oxaliplatin was linearly absorbed from peritoneum to plasma and linearly eliminated from a central compartment. On the other hand, Elias et al. [15] showed that intratumoural oxaliplatin penetration was high, similar to absorption at the peritoneal surface and 18 times higher than that in non-bathed tissues. In a previous study, we showed that inter-individual variability was larger for plasma PK parameters than for peritoneal parameters [18].

Two recent studies [20, 22] used semi-mechanistic population pharmacokinetic and pharmacodynamic (PK/PD) Friberg-type models to characterize the oxaliplatin PK in peritoneum and plasma (only total equal to ultrafiltrable plus protein-bound concentrations were determined) in relation to absolute neutrophil counts over time on, respectively, 30 and 66 patients treated with CRS and oxaliplatin-based HIPEC. Valenzuela et al. [20] found that a peritoneum oxaliplatin exposure was associated with the incidence of severe neutropenia, which suggested that the use of primary prophylaxis with G-CSF to counterbalance the neutropenia should be considered when peritoneal concentrations of oxaliplatin administered in dextrose 5 % during 30–60 min are expected to be higher than 900 and 660 mg/L [22].

In the present study, we simultaneously evaluated the pharmacokinetics of peritoneal (IP), plasma ultrafiltrated (UF) and protein-bound (B) oxaliplatin concentrations in 75 patients treated by HIPEC following CRS. We also related the most frequently observed toxicities to the peritoneal and systemic oxaliplatin exposures and to the parameters reflecting absorption into plasma.

Patients and methods

Patients and oxaliplatin administration

Seventy-five patients were treated by 30-min oxaliplatin-based HIPEC procedures conducted as previously described by Elias et al. [23] with the “coliseum” technique (open abdomen, closed circuit). Primary tumour type was colorectal carcinomatosis ($n = 25$), advanced ovarian cancer ($n = 18$), peritoneal mesothelioma ($n = 9$), pseudomyxoma peritonei ($n = 20$), and other (CUP, cervical cancer, $n = 3$). Oxaliplatin was administered in a 5 % dextrose solution (2 L/m^2) at a dose of 460 mg/m^2 ($n = 17$) or 360 mg/m^2 ($n = 58$): the initial dose of 460 mg/m^2 was reduced to 360 mg/m^2 due to toxicity. The first twelve patients were treated according to the first HIPEC procedures (group 1) and the following ($n = 63$) to the second procedure (group 2) [18]. For the first procedure, the solution was instilled within the peritoneal cavity contained oxaliplatin and a delay of 8–10 min was necessary to reach a temperature of 42–43 °C. For the second procedure, the cavity was initially filled only with the dextrose solution and oxaliplatin was added to the peritoneal instillate when the temperature reached 42–43 °C. We previously showed from the data of the 24 first included patients that the procedure did not impact on oxaliplatin pharmacokinetics [18]. The extracorporeal circulation of the fluid was realized using the Performer LRT[®] system (Rand, Medolla, MO, Italy). Perfusion duration was exactly 30 min from the time when optimum temperature (42–43 °C) was reached. The study was approved by the institutional review board from our institution and performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. All patients provided written informed consent before study enrolment. Their main characteristics are shown in Table 1.

Pharmacokinetic data

Seven peritoneal fluid samples were collected (every 5 min during the 30-min HIPEC) per patient. One additional peritoneal sample was obtained just before the warm-up period for the first 12 patients who had undergone a different warm-up procedure [18]. Oxaliplatin was added to the

Table 1 Characteristics of the 75 patients studied

Characteristics	Mean	SD	Median (min–max)
Weight (kg)	67.5	14.4	65 (37–106)
Height (m)	1.647	5.18	1.65 (1.5–1.85)
Age (years)	55.83	9.65	57.02 (32.6–73.27)
BSA (m ²)	1.72	0.18	1.69 (1.32–2.09)
ALB (g/L)	20.67	5.48	21 (10–34)
PROT (g/L)	40.87	8.62	42 (19–58)
SCr (μmol/L)	79.79	28.61	75 (35–155)
CLCr (mL/min)	85.1	31.84	82.3 (23.3–199.6)
BMI (kg/m ²)	24.90	5.18	23.88 (14.45–42.46)
PLAT _{INCL} (× 10 ⁹ /L)	293.21	90.62	289 (94–635)
PCI (<i>n</i>)	11.49	8.71	9 (0–39)
REG (<i>n</i>)	6.6	4.3	6 (0–13)

BSA body surface area, *BMI* body mass index, *ALB* serum albumin concentration, *PLAT_{INCL}* platelet count before surgery, *PROT* serum total protein concentration, *PCI* Sugarbaker's peritoneal index, *SCr* serum creatinine concentration, *REG* number of impacted regions, *CLCr* Cockcroft–Gault creatinine clearance

peritoneal instillate before (first twelve patients) or when the temperature reached 42–43 °C (all the other patients). Ten blood samples (5 mL) were collected before HIPEC, 0.167, 0.333, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, and 8 h after HIPEC. Blood samples were immediately transferred from the surgical unit to the laboratory and then immediately centrifuged at 2,000×*g* for 10 min at 4 °C. One mL of plasma was immediately ultrafiltered using Amicon MPS1 micro-partition system with YMT membranes (30,000 MW cut-off) at 4 °C for 20 min at 2,000×*g*.

Samples were kept at –20 °C until analysis. Total platinum in peritoneum, plasma and ultrafiltered plasma was measured immediately after thawing of samples by flameless atomic absorption spectrophotometry according to a previously described method [24]. Specific matrix and calibration were used for standard and quality control (QCs) samples: water for peritoneal or ultrafiltered plasma, and plasma for total plasma analysis, respectively. The limit of quantification was 5.25 ng/mL for both peritoneal fluid and plasma ultrafiltered platinum concentrations, and 10.5 ng/mL for plasma platinum concentrations. Accuracy ranged between 95.2 and 109.9 % for water QCs, and 87.1 and 109.5 % for plasma QCs. Precision within and between runs was lower than 10 % for the 6 QCs (low, medium and high QCs in each matrix). Before conducting the pharmacokinetic analysis, platinum concentrations measured were converted into oxaliplatin concentrations according to their molecular weights. Consequently, all the results were expressed as oxaliplatin concentrations in nanograms per millilitre (ng/mL), corresponding to the sum of unchanged oxaliplatin and all its platinum metabolites.

Pharmacodynamic data

The onset of toxicity (haemoperitoneum, ascites, neuropathy and haematotoxicity) was monitored by the clinical team until the patients were discharged from hospital. Haematotoxicity was evaluated by the neutrophil or platelet counts obtained once a day until the patients were discharged.

Pharmacokinetic analysis

A population pharmacokinetic approach was applied to simultaneously link up intra-peritoneal (IP) to plasma ultrafiltrate (UF) and to protein-bound (B) oxaliplatin concentrations. The protein-bound concentrations (Pt_B) were obtained by subtracting the ultrafiltered plasma oxaliplatin concentrations (Pt_{UF}) to the total plasma (Pt_T) ones [25], at the same sampling time, as follows:

$$Pt_B = Pt_T - Pt_{UF}$$

For each type of data, the structural PK model was selected between 1-, 2- or 3-compartment models. The intra-peritoneal oxaliplatin was assumed to be absorbed into the plasma through a first-order process. To model the irreversible binding of ultrafiltered plasma oxaliplatin to plasmatic proteins, a first-order process [26] or a nonlinear binding through a Michaelis–Menten equation [25] model were tested. A first-order elimination was assumed for both ultrafiltered and protein-bound oxaliplatin concentrations. Inter-individual variability (IIV) in the pharmacokinetic parameters was assumed to follow a log-normal distribution, and consequently, an exponential error model was used. Different error models (i.e. additive, proportional and combined) were tested to describe the three IP, UF and B residuals errors.

Model selection

The likelihood ratio test was used to discriminate two nested models. A difference greater than 3.84 for one additional parameter, corresponding to a significance level of 5 %, was used. Non-nested models were discriminated by computing the Bayesian Information Criterion ($BIC = OFV + k \times \ln(n)$), with *n*, the number of observations; *k*, the number of estimated parameters; and OFV, the objective function value). The model with the lowest BIC value was selected. Model development was guided by precision in parameter estimates [i.e. relative standard error (RSE)], visual inspection of the classic goodness-of-fit plots (GOFs) and normalized prediction discrepancy errors (NPDE) [27, 28]. One thousand simulations of the building dataset based on the dose regimen and sampling time-points of each patient were performed using the parameter

estimates in order to compute NPDE. These were plotted versus time and versus population prediction concentrations (PRED) for each type of data (UF, IP and B) in order to identify a possible bias in the structural model. The best model according to the LRT, acceptable parameter precision supported by the goodness-of-fit plot and NPDE, was finally selected.

Covariate analysis

In order to explain part of the IIV, a covariate analysis was performed. Only covariates with a biologically plausible effect were tested. The empirical Bayesian estimates (EBE) obtained using the POSTHOC option in NONMEM were used to screen the influence of covariates on PK parameter estimates. Nonparametric statistical tests were first applied to discriminate the covariate statistically correlated (i.e. Wilcoxon, Spearman or Kruskal–Wallis tests for, respectively, binary, continuous or categorical covariates) only on PK parameters with an η -shrinkage lower than 30 % [29]. Only covariates with a statistically significant association ($p < 0.05$) with a model parameter were further tested in NONMEM in order to be incorporated into the population model. For parameters with an η -shrinkage higher than 30 %, all the covariates were tested in NONMEM. A stepwise analysis was performed with sequentially a forward inclusion ($p < 0.05$, leading to a drop of 3.84 in OFV after addition of one covariate parameter) and backward elimination ($p < 0.01$, leading to an increase of 6.63 in OFV after removal of one parameter covariate). Continuous covariates were evaluated using power equations after centring on the median of the covariate; categorical covariates were incorporated into the model as indicator variables. The covariates tested included body surface area, age, sex, serum total protein concentration, creatinine clearance (calculated according to Cockcroft and Gault equation), first treatment or relapse and the primary tumour site. The latter was divided into four categories according to the global therapeutic management strategy: (1) colorectal cancer; (2) advanced ovarian cancer; (3) peritoneal mesothelioma; and (4) pseudomyxoma peritonei or other. The extent of peritoneal carcinomatosis was assessed by intraoperative exploration, using Sugarbaker's peritoneal cancer index [30], and the distribution of implant throughout the abdomen regions. The surgical procedure was evaluated with the number of peritonectomy procedures required to achieve a complete cytoreductive surgery and the duration of the surgery.

Model evaluation

NPDE versus time and NPDE versus PRED were computed, according to the same procedure as described above, to evaluate the final model including covariates.

By construction, the NPDE should follow a standard normal distribution, and consequently, a Kolmogorov–Smirnov test was performed to check normality [27, 28]. Visual predictive checks (VPC) were also used to evaluate the final model. For each type of data (IP, UF and B), one thousand simulations, based on the dose regimen and sampling timepoints of each patient, were performed with the final parameter estimates. The 5th, 50th and 95th percentiles of the observed concentrations were calculated at each theoretical sampling time and plotted versus theoretical sampling time. The 5th, 50th and 95th percentiles of the predicted concentrations were calculated at each theoretical sampling time and for each of the 1,000 simulations. Therefore, the 5th, 50th and 95th percentiles for the 1,000 model-based predicted percentiles were calculated at each theoretical sampling time and plotted versus theoretical sampling time. The observed concentrations were added on the respective plots to evaluate the ability of the model to describe peritoneal, plasma ultrafiltrate and plasma protein-bound oxaliplatin concentrations.

Secondary pharmacokinetic parameters

The peritoneal half-life was calculated as $t_{1/2(IP)} = \ln 2/ka$. The oxaliplatin maximum bioavailability (MB), corresponding to the maximum fraction of absorbed dose, was calculated for each patient as $MB = \frac{(\text{Conc}_{t=0} - \text{Conc}_{t=\text{last}})}{\text{Conc}_{t=0}} \times 100$, with $\text{Conc}_{t=0}$ and $\text{Conc}_{t=\text{last}}$ the individual prediction of peritoneal concentrations (IPRED in NONMEM), respectively, at the beginning and at the end of the CHIP.

The areas under the curve (AUC) for concentration versus time values were computed with the trapezoidal rule for both the intra-peritoneal (AUC_{IP}) and plasma ultrafiltrated compartments (AUC_{UF}) considering the individual Bayesian predictions concentrations (Conc) over time. Indeed, thanks to the final model, Conc were computed after adding numerous lines into the dataset (EVID = 2 in NONMEM dataset) with time from $t = 0$ to $t = \text{last}$, respectively, every 0.1 h for the IP compartment, and every 0.5 h until 48 h for the UF compartment.

Pharmacokinetic–pharmacodynamic (PKPD) analysis

The pharmacodynamics of oxaliplatin were evaluated by the toxicity. Different variables reflecting the most frequently observed toxicities in treated patients (onset of haemoperitoneum, ascites, sepsis, neuropathy and depth of thrombocytopenia) were related to the peritoneal (i.e. AUC_{IP} and individual prediction of initial peritoneal concentrations $\text{Conc}_{t=0}$) exposures, systemic (i.e. AUC_{UF}) exposures and to the parameters reflecting the absorption into the plasma (i.e. ka , MB). Thrombocytopenia was described by the maximum percentage of platelet decrease

(relative percentage between the value determined before the surgery and the observed nadir). Statistical tests were applied to identify relationships between PK and toxicity. For the qualitative binary toxicity variables, Student's *t* tests or Wilcoxon comparison of mean tests were performed, whereas for the quantitative toxicity variables, Pearson's or Spearman's correlation coefficients and corresponding significance tests were used. Logistic and linear regressions were then performed to aid the clinical interpretation of the observed associations.

Software

Concentration–time profiles of these three types of concentration were analysed using nonlinear mixed effects models with NONMEM version 7.2. The subroutine ADVAN13 and the first-order conditional estimation method with interaction (FOCE-I) was used. Pirana 2.7.1 was used as an interface for NONMEM procedure. Graphical evaluation was performed using plots produced by R 2.14.0.

Results

The data from 75 patients are integrated in the present dataset. Overall, 1,866 data were simultaneously analysed with, respectively, 536 intraperitoneal, 669 plasma ultrafiltrated and 661 plasma protein-bound oxaliplatin concentrations.

Clinical results

Patients had a mean Sugarbaker's peritoneal cancer index of 11.5 [median (min–max): 9 (0–39)] for an average of 6.6 affected regions [median (min–max): 6 (0–13)].

Twenty-one per cent of patients were previously treated by a protocol of chemotherapy containing oxaliplatin (e.g. FOLFOX). A complete cytoreductive surgery was reached in all patients: 70 patients exhibited no residual disease (cytoreductive score of CC0), and 5 had a remaining disease <1 mm (cytoreductive score of CC1), respectively. The mean duration of surgery and number of procedures of peritonectomy were, respectively, 4.71 h [median (min–max): 4.25 (2.32–9)], and 3.4 [median (min–max): 4 (0–10)]. Mean perioperative total insensitive losses (including blood loss) was 1,057 mL [median (min–max): 732.5 (87–5, 131)] based on 52 patients. The mean hospital stay was 21.7 days [median (min–max): 17 (6–90)] based on 73 patients. Haemoperitoneum (22.7 % of patients), neuropathy (18.7 %), thrombocytopenia [13.3 % of grade 3 (*n* = 5) and 4 (*n* = 5)] and ascites (4 %) were the most frequently reported toxicities. Patients who exhibited grade 3–4 thrombocytopenia had a mean nadir of 27.2×10^9 platelets per litre [median (min–max): 26 (7–47)] and a mean maximum percentage of platelet decrease of 89.4 % [median (min–max): 91.8 (76.5–98.2)]. The observed nadir appeared on average 7 days after the end of the treatment [median (min–max): 7 (3–10)]. Interestingly, neutropenia were rarely observed (only two patients exhibited grade 3 neutropenia) which is why we decided not to include them in the current PKPD analysis.

Pharmacokinetic model

The structural pharmacokinetic model included five different compartments (Fig. 1): the three compartments corresponding to the available concentrations (i.e. V_{IP} , V_{UF} and V_B), and two additional compartments corresponding to peripheral compartments of distribution of either UF or B

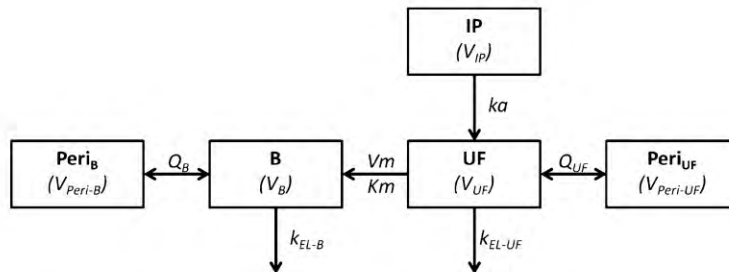


Fig. 1 Pharmacokinetic compartment model linking intra-peritoneal (IP) oxaliplatin concentrations to plasma ultrafiltrated (UF) and protein-bound (B) oxaliplatin concentrations. Oxaliplatin was administered in the peritoneal compartment. UF oxaliplatin was transferred to the central compartment according to the absorption constant rate ka . UF oxaliplatin can bind irreversibly to plasma proteins according

to a nonlinear Michaelis–Menten equation (K_m , V_m). Both UF and B oxaliplatin can change between the central and peripheral compartments (Q_{UF} and Q_B , respectively) or be eliminated according to a first-order process from the central compartment (k_{EL-UF} and k_{EL-B} , respectively)

Table 2 Population pharmacokinetic parameter estimates with their inter-individual variability (IIV) and associated relative standard error (RSE)

Parameters	Population median estimates (RSE %)	IIV (%) [RSE (%)]
ka (h^{-1})	1.42 (4.3)	24.1 (12.7)
V_{IP} (L)	$3.73 (3.7) \times (BSA/1.69)^{1.24(21)}$	16.6 (11)
V_{UF} (L)	22.1 (7.6)	26.9 (17.1)
k_{EL-UF} (h^{-1})	0.191 (28)	70.4 (34.8)
Q_{UF} (h^{-1})	44.4 (7.2)	36.1 (14.2)
$V_{Peri-UF}$ (L)	163 (9)	26 (19.5)
V_m (ng/h)	124 (12.3)	27.9 (13.7)
K_m (ng/mL)	5,980 (14.1)	–
k_{EL-B} (h^{-1})	$4.58 (8.3) \times (PROT/42)^{-0.75(34.1)}$	17.3 (53.7)
Q_B (h^{-1})	19.4 (14.3)	62.1 (14.8)
V_{Peri-B} (L)	17.5 (9.9)	25.4 (49.5)
ERR _{IP} (%)	10.9 (5.8)	
ERR _{UF} (%)	19 (4.8)	
ERR _B (%)	22.8 (4.1)	
ϵ -Shrinkage IP (%)	10.1	
ϵ -Shrinkage UF (%)	15.1	
ϵ -Shrinkage B (%)	10.9	

ERR refers to the respective residual errors for the intra-peritoneal (IP) oxaliplatin concentrations, plasma ultrafiltrated (UF) and protein-bound (B) oxaliplatin concentrations

RSE (%) = (standard error/final parameter estimate) \times 100

IIV (%) = (ω_{IIV}) \times 100

BSA (m^2) body surface area, PROT (g/L) serum total protein concentration

oxaliplatin ($V_{Peri-UF}$ and V_{Peri-B}). Absorption from peritoneum to UF compartment as well as elimination from UF and B compartments were better described by first-order processes according to ka , k_{EL-UF} and k_{EL-B} , respectively. Binding of oxaliplatin to plasma proteins was described according to a nonlinear Michaelis–Menten equation parameterized in V_m (the maximum rate of drug transport), and K_m (the ultrafiltrated oxaliplatin concentration at which the rate is half maximum). Proportional residual error models best fitted each of the three types of data with 10.9, 19 and 22.8 % for the IP, UF and B oxaliplatin concentrations, respectively. As V_B is not identifiable, we decided to fix it to 1. IIV were estimated on all parameters except on K_m . The median population pharmacokinetic parameter estimates and their inter-individual variability were reported in the Table 2. Goodness-of-fit plots, VPCs and NPDEs for the each type of data were depicted on the Figs. 2 and 3. The mean [95 % confidence interval (95 % CI)] and standard deviation (95 % CI) of the NPDE for peritoneal concentrations were -0.004 (-0.082 ; 0.075) and 0.931 (0.874 ; 0.985), respectively; 0.088 (0.017 ; 0.158) and 0.924 (0.873 ; 0.973) for the plasma ultrafiltrated concentrations,

respectively; and 0.089 (0.021 ; 0.158) and 0.889 (0.84 ; 0.936) for the plasma protein-bound concentrations, respectively.

Forward inclusion followed by backward elimination of covariates within the population pharmacokinetic model identified two significant covariates: body surface area (BSA) on both V_{IP} (IIV decreases from 20.9 to 16.6 %) and serum total protein concentration (PROT) on k_{EL-B} (IIV decreases from 24.2 to 17.3 %). The covariate parameters and their precision of estimation were reported on Table 2.

Secondary pharmacokinetic parameters

The mean maximum bioavailability (MB) was 53.7 % [median (min–max): 53.6 (30.7–73.4)], and the mean elimination half-life from the peritoneum was 0.49 h [median (min–max): 0.5 (0.3–0.9)]. The mean AUC_{IP} and AUC_{UF} was 84.8 $\mu g \cdot h/mL$ [median (min–max): 81.6 (51.9–136.7)] and 17.7 $\mu g \cdot h/mL$ [median (min–max): 16.4 (6.5–30.1)], respectively. The mean pharmacokinetic advantage (i.e. ratio AUC_{IP}/AUC_{UF}) was 5.3 [median (min–max): 4.9 (2.6–12.7)].

Pharmacokinetic–pharmacodynamic analysis

The results of the statistical tests examining the association between the peritoneal or systemic exposure of oxaliplatin and the various toxicity variables are reported in Table 3. AUC_{UF} accounts for approximately 12 % of the variation in the maximum percentage of platelet decrease [$p = 0.002$ with a Pearson's coefficient of correlation (r) of 0.35]. Furthermore, statistically significant correlations were found between MB and AUC_{UF} ($p = 1 \times 10^{-7}$, $r = 0.57$), ka ($p = 2.2 \times 10^{-16}$, $r = 0.83$) and $Conc_{t=0}$ ($p = 0.004$, $r = 0.32$). Furthermore, $Conc_{t=0}$ was statistically correlated with AUC_{IP} ($p < 2 \times 10^{-16}$, $r = 0.82$) and AUC_{UF} ($p = 0.016$, $r = 0.28$). No statistically significant associations were found between the onset of ascites or neuropathy and oxaliplatin exposures (neither IP nor UF, results not shown). No statistically significant associations were found between a previous treatment with oxaliplatin and any toxicity (results not shown). No statistically significant associations were found between the surgery (duration of surgery or number of peritonectomy procedures) and oxaliplatin exposure (neither IP nor UF, results not shown).

Discussion

In the literature, publications reporting population PK models of oxaliplatin after HIPEC procedure in patients who underwent cytoreductive surgery are few. Here, we present the first population PK model able to

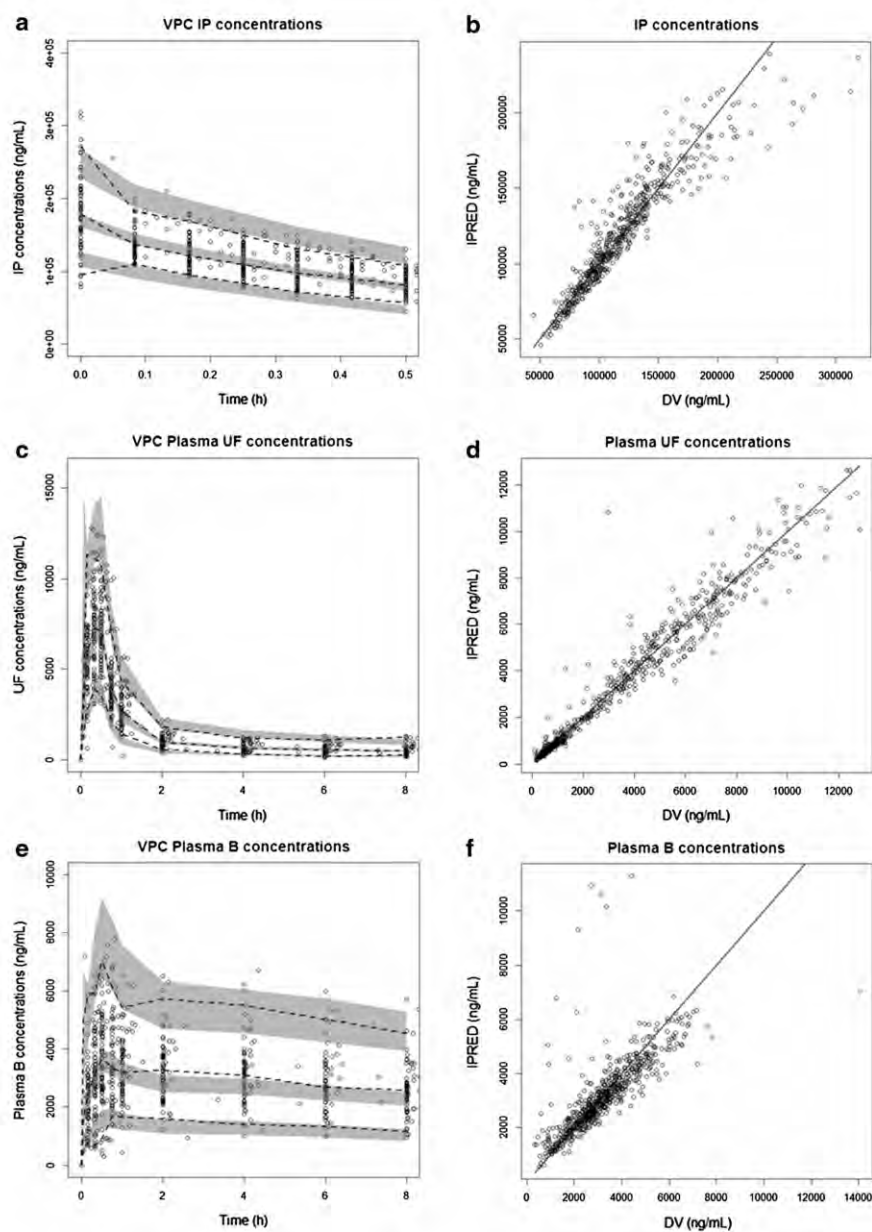


Fig. 2 Evaluation of the pharmacokinetic model by visual predictive check (VPC) and goodness-of-fit plots [observations (DV) versus individual predictions concentrations (IPRED)] for intra-peritoneal (IP) oxaliplatin concentrations (a, b), plasma ultrafiltrated (UF) oxaliplatin concentrations (c, d) and plasma protein-bound (B) oxalipl-

atin concentrations (e, f). In the VPC plots, *open circles* represent the observed data, the *dotted lines* the 5th, 50th and 95th percentiles of the observed data associated with their 90 % prediction intervals (*shaded areas*). In DV versus IPRED plots, the *solid lines* represent the identity line ($y = x$)

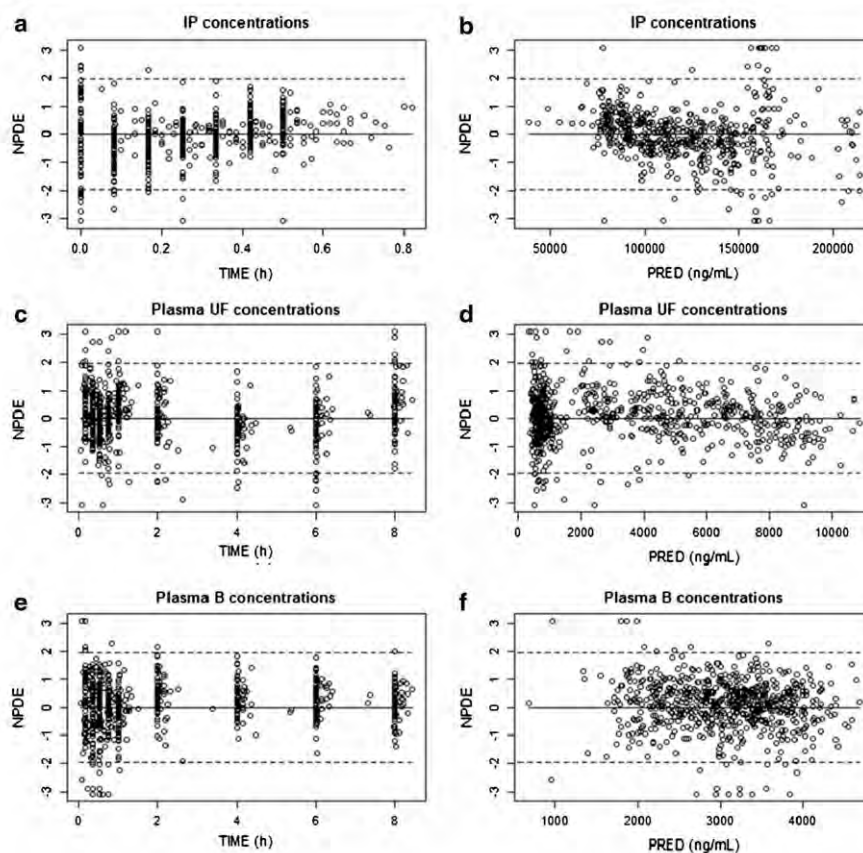


Fig. 3 Evaluation of the PK model by normalized prediction discrepancy errors (NPDE) versus time and versus population predictions concentrations (PRED), for intra-peritoneal (IP) oxaliplatin concentrations (a, b), plasma ultrafiltrated (UF) oxaliplatin concentrations

(c, d) and plasma protein-bound (B) oxaliplatin concentrations (e, f). The dashed lines represent the 95 % prediction interval of the 1,000 simulations

simultaneously describe peritoneal, plasma ultrafiltrated and protein-bound oxaliplatin concentrations after administration of oxaliplatin in the peritoneum. Moreover, this is, to our knowledge, the first population PK analysis of plasma ultrafiltrated oxaliplatin concentrations after HIPEC procedure, which is considered to be the pharmacologically active compound [31]. This PK model was built based on data from 75 patients (with a total of 1,866 oxaliplatin concentrations), which is, to our knowledge, the largest HIPEC-treated patient population database to have been analysed using a pharmacokinetic modelling approach. Although the recent study by Pérez-Ruixo et al. [21] included 107 patients treated by oxaliplatin, only 57 of these underwent oxaliplatin-based HIPEC after

CRS, while the remaining 50 patients received oxaliplatin intravenously.

The whole PK model comprised five different compartments (Fig. 1). The ultrafiltrated oxaliplatin was eliminated from the systemic compartment by both a linear process and a nonlinear process corresponding to irreversible protein binding; the latter mimicking the binding of the free oxaliplatin to plasmatic proteins described by a nonlinear Michaelis–Menten equation [25]. As in Royer et al., the protein binding was only applied to the plasma UF concentration as IP oxaliplatin binding was shown to be very low [25, 32, 33]. Moreover, as the lost fraction corresponding to this phenomenon is not identifiable, this could lead to an overestimation of the central volume (V_{UF}) of plasma

Table 3 Pharmacokinetic–pharmacodynamic analysis. Pharmacokinetics was evaluated by the peritoneal exposure ($\text{Conc}_{t=0}$ and AUC_{IP}), systemic exposure (AUC_{UF}) and the rate (ka) and extent [maximum bioavailability (MB)] of the systemic absorption of oxaliplatin from peritoneum. Pharmacodynamics was evaluated by the toxicity (onset of haemoperitoneum and sepsis and depth of thrombocytopenia).

Variables	Haemoperitoneum			Sepsis			Maximum % of platelet decrease	
	No	Yes	<i>p</i> value	No	Yes	<i>p</i> value	<i>r</i>	<i>p</i> value
AUC_{UF} (ng.h/mL)	16,729 (5,526)	20,917 (4,506)	0.003	16,860 (5,394)	19,221 (5,673)	0.06	0.35	0.002
AUC_{IP} (ng.h/mL)	83,488 (17,124)	89,303 (24,727)	0.50	84,291 (18,637)	85,776 (20,231)	0.76	0.36	0.001
MB (%)	52.3 (8.3)	58.3 (7.8)	0.01	52.3 (8.5)	56.3 (8.2)	0.05	0.41	0.0003
ka (h^{-1})	1.44 (0.3)	1.58 (0.3)	0.09	1.42 (0.3)	1.57 (0.3)	0.04	0.14	0.22
$\text{Conc}_{t=0}$ (ng/mL)	171,558 (26,470)	175,747 (31,478)	0.47	171,729 (29,047)	173,974 (24,850)	0.53	0.26	0.02

Bold refers to the associations statistically significant

$\text{Conc}_{t=0}$: individual peritoneal concentration predictions at $t = 0$

ultrafiltrated oxaliplatin. A covariate analysis was performed leading to the addition of two covariates in the population model (BSA on V_{IP} and PROT on $K_{\text{EL-B}}$). The ratio between extreme predicted V_{IP} corresponding to extreme BSA observed values was 1.8 which may have a clinical impact regarding the AUC_{IP} –thrombocytopenia relationship discussed below. For $K_{\text{EL-B}}$, the ratio corresponding to extreme PROT values was even larger (i.e. 2.3), but no major clinical impact is expected as it refers to the elimination of biologically inactive compounds. All the PK parameters were correctly estimated with a maximum RSE of 34.1 and 53.7 % for the fixed and random effects, respectively (Table 2). Although, IIVs on IP were lower than IIVs on UF parameters, IIVs on IP were not negligible with 24.1 % on ka and 16.6 % on V_{IP} . According to the respective residual errors (10.9, 19 and 22.8 % for the IP, UF and B oxaliplatin concentrations, respectively), GOFs and VPCs (Fig. 2), the model adequately described each type of concentration and their associated variability in treated patients. NPDE (Fig. 3) versus time and versus PRED did not show any trend that evidences model inadequacy [27, 28]. Although the Kolmogorov–Smirnov test was statistically significant ($p < 0.05$), implying the rejection of the normality of the NPDEs, the whole PK model showed good descriptive features. Furthermore, Comets et al. [34] suggested that a visual inspection of the aforementioned NPDE graphs was appropriate to evaluate the ability of the model to describe data.

The absorption parameters were close to the previously published parameters. The mean value of apparent oxaliplatin elimination half-life from the peritoneum to plasma was 29.6 min in the current study compared to 29.5 min [35], 30 min [15], 40 min [17] or 29 min in our previous analysis [18]. The mean maximum bioavailability was

Mean values (standard deviation) for each group as well Student's or Wilcoxon's test *p* values are given for haemoperitoneum and sepsis. Pearson's or Spearman's correlation coefficient and corresponding *p* value are given for depth of thrombocytopenia (maximum percentage of platelet decrease)

53.7 %. However, this value corresponds to the maximum fraction of absorbed dose from peritoneum to plasma, since a fraction of the oxaliplatin may irreversibly bind to proteins in the peritoneal walls [15]. Pérez-Ruixo et al. [21] estimated an absolute bioavailability of oxaliplatin administered in peritoneum of 38 % using data from patients treated with oxaliplatin administered intravenously. Consequently, the difference could be partly explained by a high uptake of oxaliplatin in local tissues [15].

Blood sampling was only conducted over an 8-h period, which results in an imprecise estimate of the terminal elimination phase (i.e. overestimation of the constant rate of elimination leading to an underestimation of the mean elimination half-life). However, even if a longer terminal half-life was expected, this terminal elimination phase consists almost entirely of pharmacologically inactive platinum conjugates (e.g. albumin-bound platinum) [31]. Cotte et al. [36] studying HIPEC with cisplatin thought that the aggressiveness of the surgical procedure could influence the systemic transfer of the cytotoxic drug administered in the peritoneum during HIPEC. However, in the present study, no correlations were found between either AUC_{IP} , AUC_{UF} , ka , MB and the surgery (duration, number of peritonectomy) or the PCI.

By comparing the median population K_m estimated of 5,980 ng/mL (Table 2) with the distribution of the observed ultrafiltrated oxaliplatin concentrations (mean \pm SD: 3,480 \pm 3,084 ng/mL), there is no evidence of a complete saturable binding of oxaliplatin proteins, as previously mentioned by Graham et al. [31]. The protein binding process seems to be principally located in the linear range of the Michaelis–Menten curve.

Peripheral sensory neuropathy and haematological toxicity are known to be the dose-limiting toxicities of

oxaliplatin after intravenous treatment [16]. In the present study, neuropathy and grade 3–4 thrombocytopenia were observed in approximately 19 and 14 % of treated patients, respectively. The systemic exposure of oxaliplatin (AUC_{UF}) was found to be linked with the severity of the observed thrombocytopenia, and more precisely with the maximum percentage of platelet decrease since inclusion ($p = 0.002$, $r = 0.35$). Linear regressions with observed platelet nadir as dependent variable and AUC_{UF} (respectively AUC_{IP}) as independent variable demonstrated a decrease of approximately 16×10^9 (respectively 19×10^9) platelets per litre for an increase of approximately 20 % of the mean AUC_{UF} (i.e. 3,500 ng.h/mL) (respectively AUC_{IP} , i.e. 17,000 ng.h/mL). Moreover, a significant association was found between AUC_{UF} and the occurrence of haemoperitoneum: logistic regression showed that for an increase of 20 % of the mean AUC_{UF} (i.e. 3,500 ng.h/mL), we expect to see an increase of approximately 66 % in the odds of having haemoperitoneum. Three different mechanisms of action leading to oxaliplatin-related thrombocytopenia were reported [37]: a splenic sequestration of platelets related to oxaliplatin-induced liver damage, an immune thrombocytopenia, and a myelosuppression probably due to its direct toxicity on megakaryocytic progenitors leading to their apoptosis. Considering the kinetics of thrombocytopenia (mean time to nadir of 7 days), as well as the absence of statistical association between the depth of thrombocytopenia and a previous administration of oxaliplatin, chemotherapy-induced myelosuppression seems to be the main cause of observed thrombocytopenia in these patients.

In our study, 17 and 58 patients received a dose of 460 and 360 mg/m², respectively. As the volume of solution (2 L/m²) and these doses were based on the body surface area, the drug concentrations observed in the peritoneum at $t = 0$ should be the same in all patients treated in each group of doses. However, surprisingly, an important inter-individual variability was observed [mean \pm SD: 189.6 \pm 34.6 and 176.1 \pm 53.4 μ g/mL for the 460 mg/m² doses ($n = 16$) and 360 ($n = 56$), respectively]. A possible explanation for this variability is that two patients with an identical body surface area might have very different intraperitoneal volumes. The advantage of the Performer[®] LRT system is that it adapts the infused intraperitoneal volume according to the patient's anatomy. However, this means that the oxaliplatin dose to which the patient is exposed will vary depending on the volume remaining in the device. This initial variability in concentration coupled to that of ka and MB parameters lead to an important variability not only on AUC_{IP} [mean \pm SD: 108.6 \pm 17.1 and 77.8 \pm 13.1 μ g.h/mL ($p = 9.6 \times 10^{-8}$) for 460 and 360 mg/m², respectively] but also contribute to variability on AUC_{UF} [mean \pm SD: 22.9 \pm 4.7 and 16.1 \pm 4.9 μ g.h/mL ($p = 3.4 \times 10^{-5}$) for 460 and 360 mg/m², respectively];

AUC_{UF} is itself associated with haematological toxicity. Despite the lack of significant association between the depth of thrombocytopenia and the surgery (duration, number of peritonectomies), we cannot exclude perioperative haemorrhage as a factor of haematological toxicity. Indeed, a statistically significant correlation was found between the total perioperative insensitive losses and the maximum percentage of platelet decrease ($p = 0.01$, $r = 0.35$, $n = 52$).

Conclusions

In summary, the current work presents the first PK model of oxaliplatin after HIPEC procedure in patients who underwent cytoreductive surgery, which simultaneously describes the kinetics of peritoneal, plasma ultrafiltrated and protein-bound oxaliplatin concentrations. Thrombocytopenia was observed in approximately 14 % of patients. On the one hand, they seem to be related to the PK variability observed both in the peritoneum and in the systemic compartment, depending on both the pharmacokinetic parameters of absorption from the peritoneum and the initial concentrations in the peritoneum. The higher the absorbed dose from the peritoneum, which is very dependent on the initial concentration in the peritoneum and ka , the deeper the resultant thrombocytopenia. On the other hand, we cannot exclude perioperative haemorrhage as a factor of thrombocytopenia. A simple measure of the initial concentration in the peritoneum could dictate the prophylactic administration of platelet concentrates, after the definition of a threshold. However, further prospective studies are necessary to confirm and better understand this observed variability in oxaliplatin exposure. In the future, the PKPD relationship between oxaliplatin exposure and the total platelet count over time could be investigated, as already done by others for neutrophils [20] in order to optimize the peritoneal administration of oxaliplatin in such HIPEC procedures.

Acknowledgments This work was integrated in a Ph.D. project (Quentin Chalret du Rieu), granted by Institut de Recherches Internationales Servier.

Conflict of interest None.

References

1. Cao C, Yan TD, Black D, Morris DL (2009) A systematic review and meta-analysis of cytoreductive surgery with perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Ann Surg Oncol* 16:2152–2165
2. Los G, Mutsaers PH, van der Vijgh WJ, Baldew GS, de Graaf PW, McVie JG (1989) Direct diffusion of cis-diamminedichloroplatinum(II) in intraperitoneal rat tumors after intraperitoneal

- chemotherapy: a comparison with systemic chemotherapy. *Cancer Res* 49:3380–3384
3. Elias DM, Ouellet JF (2001) Intraperitoneal chemohyperthermia: rationale, technique, indications, and results. *Surg Oncol Clin N Am* 10:915–33, xi
 4. Glehen O, Gilly FN, Boutitie F, Bereder JM, Quenet F, Sideris L, Mansvelt B, Lorimier G, Msika S, Elias D (2010) Toward curative treatment of peritoneal carcinomatosis from nonovarian origin by cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy: a multi-institutional study of 1,290 patients. *Cancer* 116:5608–5618
 5. Elias D, Quenet F, Goere D (2012) Current status and future directions in the treatment of peritoneal dissemination from colorectal carcinoma. *Surg Oncol Clin N Am* 21:611–623
 6. Bakrin N, Bereder JM, Decullier E, Classe JM, Msika S, Lorimier G, Abboud K, Meeus P, Ferron G, Quenet F, Marchal F, Gouy S, Morice P, Pomel C, Pocard M, Guyon F, Porcheron J, Glehen O (2013) Peritoneal carcinomatosis treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) for advanced ovarian carcinoma: a French multicentre retrospective cohort study of 566 patients. *Eur J Surg Oncol* 39:1435–1443
 7. Fagotti A, Costantini B, Petrillo M, Vizzielli G, Fanfani F, Margariti PA, Turco LC, Piovano E, Scambia G (2012) Cytoreductive surgery plus HIPEC in platinum-sensitive recurrent ovarian cancer patients: a case-control study on survival in patients with 2 year follow-up. *Gynecol Oncol* 127:502–505
 8. Yang XJ, Huang CQ, Suo T, Mei LJ, Yang GL, Cheng FL, Zhou YF, Xiong B, Yonemura Y, Li Y (2011) Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy improves survival of patients with peritoneal carcinomatosis from gastric cancer: final results of a phase III randomized clinical trial. *Ann Surg Oncol* 18:1575–1581
 9. Cho HK, Lush RM, Bartlett DL, Alexander HR, Wu PC, Libutti SK, Lee KB, Venzon DJ, Bauer KS, Reed E, Figg WD (1999) Pharmacokinetics of cisplatin administered by continuous hyperthermic peritoneal perfusion (CHPP) to patients with peritoneal carcinomatosis. *J Clin Pharmacol* 39:394–401
 10. Steller MA, Egorin MJ, Trimble EL, Bartlett DL, Zuhowski EG, Alexander HR, Dedrick RL (1999) A pilot phase I trial of continuous hyperthermic peritoneal perfusion with high-dose carboplatin as primary treatment of patients with small-volume residual ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 43:106–114
 11. de Bree E, Rosing H, Filis D, Romanos J, Melissourgaki M, Daskalakis M, Pilatou M, Sanidas E, Taflampas P, Kalbakis K, Beijnen JH, Tsiftsis DD (2008) Cytoreductive surgery and intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with paclitaxel: a clinical and pharmacokinetic study. *Ann Surg Oncol* 15:1183–1192
 12. Votanopoulos K, Ihemelandu C, Shen P, Stewart J, Russell G, Levine EA (2013) A comparison of hematologic toxicity profiles after heated intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin and mitomycin C. *J Surg Res* 179:e133–e139
 13. Jacquet P, Stuart OA, Chang D, Sugarbaker PH (1996) Effects of intra-abdominal pressure on pharmacokinetics and tissue distribution of doxorubicin after intraperitoneal administration. *Anticancer Drugs* 7:596–603
 14. Atallah D, Marsaud V, Radanyi C, Kornprobst M, Rouzier R, Elias D, Renoir JM (2004) Thermal enhancement of oxaliplatin-induced inhibition of cell proliferation and cell cycle progression in human carcinoma cell lines. *Int J Hyperth* 20:405–419
 15. Elias D, Bonnay M, Puizillou JM, Antoun S, Demirdjian S, El OA, Pignon JP, Drouard-Troalen L, Ouellet JF, Ducreux M (2002) Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics and tissue distribution. *Ann Oncol* 13:267–272
 16. Culy CR, Clemett D, Wiseman LR (2000) Oxaliplatin: a review of its pharmacological properties and clinical efficacy in metastatic colorectal cancer and its potential in other malignancies. *Drugs* 60:895–924
 17. Elias D, Matsuhisa T, Sideris L, Liberale G, Drouard-Troalen L, Raynard B, Pocard M, Puizillou JM, Billard V, Bourget P, Ducreux M (2004) Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin plus irinotecan after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics, tissue distribution and tolerance. *Ann Oncol* 15:1558–1565
 18. Ferron G, Datté S, Gladieff L, Delord JP, Pierre S, Lafont T, Lochon I, Chatelut E (2008) Pharmacokinetics of heated intraperitoneal oxaliplatin. *Cancer Chemother Pharmacol* 62:679–683
 19. Perez-Ruixo C, Valenzuela B, Peris JE, Bretcha-Boix P, Escudero-Ortiz V, Farre-Alegre J, Perez-Ruixo JJ (2013) Population pharmacokinetics of hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin in patients with peritoneal carcinomatosis after cytoreductive surgery. *Cancer Chemother Pharmacol* 71:693–704
 20. Valenzuela B, Nalda-Molina R, Bretcha-Boix P, Escudero-Ortiz V, Duart MJ, Carbonell V, Sureda M, Rebollo JP, Farre J, Brugarolas A, Perez-Ruixo JJ (2011) Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin-induced neutropenia in subjects with peritoneal carcinomatosis. *AAPS J* 13:72–82
 21. Perez-Ruixo C, Peris JE, Escudero-Ortiz V, Bretcha-Boix P, Farre-Alegre J, Perez-Ruixo JJ, Valenzuela B (2014) Rate and extent of oxaliplatin absorption after hyperthermic intraperitoneal administration in peritoneal carcinomatosis patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 73(5):1009–1020
 22. Perez-Ruixo C, Valenzuela B, Peris JE, Bretcha-Boix P, Escudero-Ortiz V, Farre-Alegre J, Perez-Ruixo JJ (2013) Neutrophil dynamics in peritoneal carcinomatosis patients treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin. *Clin Pharmacokinet* 52:1111–1125
 23. Elias D, Raynard B, Bonnay M, Pocard M (2006) Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin alone and in combination with intraperitoneal irinotecan: pharmacologic studies. *Eur J Surg Oncol* 32:607–613
 24. LeRoy AF, Wehling ML, Sponseller HL, Friauf WS, Solomon RE, Dedrick RL, Litterst CL, Gram TE, Guarino AM, Becker DA (1977) Analysis of platinum in biological materials by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Biochem Med* 18:184–191
 25. Royer B, Kalbacher E, Onteniente S, Jullien V, Montange D, Piedoux S, Thiery-Vuillemin A, Delroeux D, Pili-Floury S, Guardiola E, Combe M, Muret P, Nerich V, Heyd B, Chaffert B, Kantelip JP, Pivot X (2012) Intraperitoneal clearance as a potential biomarker of cisplatin after intraperitoneal perioperative chemotherapy: a population pharmacokinetic study. *Br J Cancer* 106:460–467
 26. Urien S, Lokiec F (2004) Population pharmacokinetics of total and unbound plasma cisplatin in adult patients. *Br J Clin Pharmacol* 57:756–763
 27. Brendel K, Comets E, Laffont C, Laveille C, Mentre F (2006) Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide. *Pharm Res* 23:2036–2049
 28. Brendel K, Comets E, Laffont C, Mentre F (2010) Evaluation of different tests based on observations for external model evaluation of population analyses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 37:49–65
 29. Savic RM, Karlsson MO (2009) Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: problems and solutions. *AAPS J* 11:558–569
 30. Jacquet P, Sugarbaker PH (1996) Clinical research methodologies in diagnosis and staging of patients with peritoneal carcinomatosis. *Cancer Treat Res* 82:359–374
 31. Graham MA, Lockwood GF, Greenslade D, Brienza S, Bayssas M, Gamelin E (2000) Clinical pharmacokinetics of oxaliplatin: a critical review. *Clin Cancer Res* 6:1205–1218

32. Royer B, Guardiola E, Polycarpe E, Hoizey G, Delroeux D, Combe M, Chaigneau L, Samain E, Chauffert B, Heyd B, Kantelip JP, Pivot X (2005) Serum and intraperitoneal pharmacokinetics of cisplatin within intraoperative intraperitoneal chemotherapy: influence of protein binding. *Anticancer Drugs* 16:1009–1016
33. Royer B, Delroeux D, Guardiola E, Combe M, Hoizey G, Montange D, Kantelip JP, Chauffert B, Heyd B, Pivot X (2008) Improvement in intraperitoneal intraoperative cisplatin exposure based on pharmacokinetic analysis in patients with ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 61:415–421
34. Comets E, Brendel K, Mentre 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
35. Mahteme H, Wallin I, Glimelius B, Pahlman L, Ehrsson H (2008) Systemic exposure of the parent drug oxaliplatin during hyperthermic intraperitoneal perfusion. *Eur J Clin Pharmacol* 64:907–911
36. Cotte E, Colombaro O, Guitton J, Tranchand B, Bakrin N, Gilly FN, Glehen O, Tod M (2011) Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of cisplatin during hyperthermic intraperitoneal chemotherapy using a closed abdominal procedure. *J Clin Pharmacol* 51:9–18
37. Jardim DL, Rodrigues CA, Novis YA, Rocha VG, Hoff PM (2012) Oxaliplatin-related thrombocytopenia. *Ann Oncol* 23:1937–1942

DISCUSSION

"Tout est poison, et rien n'est sans poison ; ce qui fait le poison c'est la dose", Paracelse (1493-1541). Depuis toujours, afin de traiter une pathologie définie, la quête d'un traitement adéquat, administré à une dose et selon un schéma d'administration approprié, est au centre des attentions des cliniciens. C'est pourquoi, la pharmacocinétique s'est développée, basée tout d'abord sur des approches non-compartmentales, puis compartmentales. En parallèle, des modèles pharmacodynamiques, mais également des modèles reliant la pharmacocinétique à la pharmacodynamie (permettant de mieux comprendre et prédire l'évolution des effets pharmacologiques au cours du temps) furent développés [247]. En 1972, Sheiner *et al.* introduisirent les méthodes non-linéaires à effets mixtes, dites de population [113]. Ces dernières sont de nos jours largement appliquées à toutes les étapes de la vie d'un médicament, des phases de recherches précoces jusqu'en pratique clinique.

Tel que nous l'avons vu dans notre introduction, le but ultime des études de phases I consiste en la définition d'une dose et d'un schéma de traitement optimaux pour la poursuite du développement clinique en phase II. Ils sont encore principalement déterminés grâce à des schémas d'escalades de doses basés sur l'évaluation de toxicités doses-limitantes, dont les myélosuppressions chimio-induites. Ces dernières conduisent, dans la plupart des cas, à un arrêt précoce du traitement (*de facto* de l'étude clinique), des retards ou réductions de doses. C'est pourquoi, divers modèles PKPD ont été développés afin de décrire, comprendre et prédire ces myélosuppressions médicamenteuses [112]. C'est dans ce contexte de maîtrise de la relation doses-concentrations-toxicités que s'inscrivent nos travaux de thèse. Ceux-ci illustrent notamment le support des approches quantitatives de M&S (afin de mieux comprendre et appréhender les TCPs chimio-induites) tout au long du cycle de vie d'un médicament, des phases précoces jusqu'en pratique clinique.

Les thrombopénies au sein du développement clinique : exemple des inhibiteurs des histones déacétylases

Nous nous sommes tout d'abord intéressés aux données d'un candidat-médicament en co-développement entre les Laboratoires Servier et Pharmacyclics : l'abexinostat (S-78454, PCI-24781). Les principales DLTs relatives à l'administration d'abexinostat sont, comme pour la plupart des HDACi, des TCPs. Basés sur une étude de phase I (PCYC-402), en escalade de dose selon un schéma 3+3 incluant 35 patients atteints de tumeurs solides, une MTD de 60 mg/m² *bid* fut déterminée consécutivement à l'observation de TCPs. Sachant que le profil de toxicités d'un médicament peut varier selon son schéma d'administration, nous avons souhaité étudier la sensibilité du rythme d'administration sur les effets thrombopéniants de l'abexinostat. Un modèle PKPD semi-mécanistique [185] reliant les concentrations plasmatiques aux taux de plaquettes circulantes a été développé ; modèle capable de décrire l'évolution du taux de plaquettes circulantes chez les patients atteints de tumeurs solides (PCYC-402) traités selon trois schémas d'administration différents (Figure 16 : 7ON7OFF x2, 7ON9FF x2, 5ON2OFF x3). Différents schémas d'administration ont été simulés sur une grande population de patients afin de déterminer un schéma optimal, en termes de minimisation des effets thrombopéniants (*i.e.* impliquant les nadirs plaquettaires les plus élevés). La fiabilité des simulations réalisées grâce à un tel modèle est discutable. En effet des extrapolations, réalisées en dehors du domaine sur lequel le modèle a été construit, peuvent être contestées dans la mesure où le modèle établi peut n'être valable que dans l'intervalle pour lequel nous disposons de données expérimentales. Toutefois, la capacité du modèle à prédire de nouveaux rythmes d'administration a été démontrée, par évaluation externe, grâce aux données extraites d'une seconde étude de phase I (CL1-78454-002) ; les patients inclus étaient traités selon un schéma différent (*i.e.* 14ON7OFF sur des cycles de 3 semaines de traitement). L'examen des différences entre les schémas d'administration testés cliniquement (PCYC-402) ayant servi de base à la construction du modèle PKPD et ceux évalués par simulations (Figure 16) montrent des similitudes.

Observés	Schéma	Cycle	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4
	7ON7OFF x2	4 sem.	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■			■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
7ON9OFF x2	4 sem.	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■			■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	
5ON2OFF x3	4 sem.	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	
Simulés	14ON7OFF	3 sem.	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
	10ON11OFF	3 sem.	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
	5ON2OFF x2	3 sem.	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■		
	4ON3OFF x3	3 sem.	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	

Figure 16 : Schéma récapitulatif des différents schémas de traitement observés et simulés. En couleur, les jours de traitement ; en blanc, les jours sans traitement. Les couleurs rouge ou bleue font respectivement référence aux schémas d'administration testés cliniquement ou simulés.

Les schémas de traitement simulés évaluent des administrations d'abexinostat de façon plus ou moins continue sur des cycles de trois semaines de traitement avec un total de 10 à 14 jours de traitement par cycle *versus* 10 à 15 jours de traitement pour les schémas testés cliniquement. En termes de séquence d'administration les schémas simulés 5ON2OFF x2 et 4ON3OFF x3 s'avèrent très semblables au 5ON2OFF x3 testé cliniquement. Ces simulations semblent donc être réalisées à l'intérieur de la zone expérimentale, zone dans laquelle on peut supposer que le phénomène étudié ne présente pas de variations qualitatives inattendues. Toutefois, la fiabilité des simulations relatives aux schémas 14ON7OFF et 10ON11OFF peut être remise en question puisqu'aucun schéma testé cliniquement ne prévoyait l'administration d'abexinostat de façon continue sur un tel laps de temps. Cependant, tel que mentionné ci-dessus, le caractère prédictif du modèle vis-à-vis de ces schémas d'administration (14ON7OFF) a pu être évalué et vérifié grâce aux méthodes d'évaluations externes réalisées lors de la construction du modèle.

Le schéma 4ON3OFF x3 présentant un meilleur profil de toxicité (nadirs plaquettaires plus élevés) que les autres schémas évalués, il a été proposé comme théoriquement optimal pour le traitement de patients atteints de tumeurs solides. Un amendement au protocole d'une étude clinique en cours de réalisation (CL1-78454-002) a dès lors été effectué. Des patients supplémentaires ont été inclus et traités selon ce rythme d'administration. Conformément aux attentes, deux paliers de doses supérieurs ont été franchis lors de l'escalade de doses,

définissant une nouvelle MTD (*i.e.* 90 mg/m², *bid*). Un gain d'environ 30% en termes de dose-intensité a ainsi pu être obtenu. La bonne adéquation des prédictions du modèle aux observations, pour ces patients inclus et traités selon le schéma 4ON3OFF x3, a de nouveau pu être confirmée.

Ces travaux sont une parfaite illustration de l'intégration et du support des approches de M&S dans le processus de MBDD développé ci-dessus, alternant les cycles *learning/confirming* [104,108]. En effet, à partir de données expérimentales extraites d'études de phases I, les méthodes de pharmacométrie ont permis de guider le développement clinique de ce candidat-médicament. Lors des étapes de *learning*, différents scénarii ont été testés, conduisant à la proposition d'un schéma d'administration optimal en termes de profil de sécurité. Testée cliniquement après amendement à un protocole d'essai clinique, cette hypothèse de *modeling* fut confirmée : des nadirs moins profonds sont attendus chez des patients atteints de tumeurs solides traités selon un schéma d'administration 4ON3OFF x3 (étape de *confirming*), par rapport aux autres schémas d'administration évalués. Pour des raisons éthiques et/ou économiques, il est impensable de multiplier le nombre d'études cliniques à réaliser. C'est pourquoi le développement de ce modèle PKPD permettant de prédire les issues de schémas d'administration non testés a été d'une grande valeur pour le développement clinique du candidat-médicament.

Aux termes de deux études de phase I supplémentaires (CL1-78454-001 et PCYC-403), des données supplémentaires de patients atteints de lymphomes furent disponibles. Les prédictions de l'évolution du taux de plaquettes chez ces derniers, grâce au modèle préalablement établi sur les données de patients atteints de tumeurs solides (modèle de Friberg), révélèrent quelques biais. Dès lors, afin d'améliorer les capacités descriptives et prédictives du modèle pour l'ensemble de la population traitée, des modifications du modèle de structure relatif à la physio-pathologie ont de nouveau été étudiées. L'amélioration d'un modèle, autorisée par l'incorporation de nouvelles données, fait partie intégrante du processus de MBDD [107]. En effet, le développement clinique d'un médicament peut être imaginé comme un continuum de cycles de *learning/confirming*, où

les modèles établis sont constamment mis à jour au fur et à mesure de la disponibilité de nouvelles informations [107]. Tout d'abord, deux paramètres *baseline* différents, permettant de distinguer les deux populations de patients traitées, ont été estimés (les patients atteints de lymphomes présentant un taux de plaquettes circulantes à l'inclusion plus faible). Ensuite, un paramètre de rétrocontrôle sur le temps de maturation des précurseurs hématopoïétiques fut ajouté comme cela a été proposé précédemment par d'autres auteurs dans le cadre de neutropénies chimio-induites [191,248]. La libération de facteurs de croissance endogènes (TPO par exemple) consécutif à une TCP permet une accélération de la maturation des précurseurs plaquettaires. Finalement l'observation, chez certains patients, d'une diminution du taux de plaquettes circulantes au cours du temps, telle qu'observée par d'autres auteurs [199,249], a été prise en compte par l'ajout d'un effet-temps sur le paramètre *baseline* des patients atteints de lymphomes ; l'ajout de cet effet chez les seuls patients atteints de tumeurs solides ne s'était accompagné d'aucune amélioration significative de l'ajustement des données.

Après détermination d'un schéma d'administration optimal pour le traitement des patients atteints de tumeurs solides, nous nous sommes intéressés aux doses à recommander pour la poursuite du développement clinique. Chaque dose est associée à une probabilité de toxicité, l'augmentation des doses faisant augmenter la probabilité de survenue d'une toxicité ; une courbe doses-toxicités pouvant ainsi être établie. Classiquement en oncologie, et particulièrement dans le cadre des médicaments cytotoxiques, les doses efficaces d'un traitement sont supposées proches des doses toxiques [21]. La MTD (ou la RP2D) est alors classiquement présentée comme la dose associée à une probabilité de toxicité la plus proche d'un seuil prédéfini considéré comme "acceptable". Classiquement lors d'un schéma classique 3+3, la RP2D est supposée tendre vers une probabilité de DLTs de 33% [25]. Cependant, comme indiqué en Introduction, considérant le faible nombre de patients inclus à chaque palier de dose lors d'un schéma 3+3, la détermination de la MTD s'avère imprécise. Certains auteurs rapportent qu'à la MTD déterminée, le pourcentage de DLTs réellement observées varie entre 15 et 70% [77,250]. Par définition, lors d'un schéma 3+3, la RP2D est la

dose pour laquelle aucun patient parmi trois ou 1/6 n'a présenté de DLT, sachant qu'à la dose supérieure au moins 2/3 (ou 2/6) patients en ont présenté une. Le niveau de toxicité attendu à la RP2D n'est donc pas de 33%, tel que le pensent de nombreux investigateurs, mais plutôt compris entre 0 et 16.67%. Le schéma classique 3+3 tend par conséquent à sous-estimer la RP2D avec un taux de toxicités attendu à la MTD d'environ 19-24% selon certains auteurs [251-253]. He *et al.* ont montré que plus le nombre de paliers de dose à tester et plus le nombre de patients inclus étaient importants, plus le niveau de toxicité observé à la MTD tendait vers ces valeurs limites de 0 à 16.67% [251]. Le choix d'une RP2D inappropriée, sous-estimée (*i.e.* associée à une probabilité de toxicités inférieure au seuil pré-spécifié de 33%) peut donc potentiellement mener à traiter des patients à des doses infra-thérapeutiques. De surcroît, un défaut de démonstration d'efficacité en phase II peut ainsi conduire à un arrêt du développement clinique [254]. C'est pourquoi afin d'améliorer la méthodologie des études de phase I, de nombreux designs d'escalades de doses ont été proposés (cf Introduction), dont des schémas adaptatifs tels que le design CRM modifié. Cependant, en complément aux études menées selon un schéma 3+3, la construction d'un modèle PKPD capable de décrire et prédire la relation dose-toxicité est utile pour la détermination d'une RP2D optimale. Le profil typique de l'évolution du taux de plaquettes au cours du temps chez des patients traités par abexinostat selon un schéma 4ON3OFF x3 (cf. travaux personnels n°1) ne montre pas de toxicité majeure. En effet, seuls certains patients, plus sensibles au traitement, sont à risque de développer une thrombopénie sévère. La prise en compte de la variabilité inter-individuelle des patients est donc primordiale afin d'évaluer le profil de sécurité d'un nouveau régime de dose. Plus le risque d'effets indésirables est faible, plus un grand nombre d'essais devra être mené. Ainsi, un grand nombre de patients traités à des doses croissantes d'abexinostat a été simulé. Le calcul du pourcentage de thrombopénies de grade 4 à chaque palier de dose a ainsi conduit à la détermination de la dose associée à une probabilité de DLTs d'environ 33% (contrairement à celle observée lors des études cliniques). Une RP2D a donc été déterminée, par simulations, pour chaque schéma de traitement et pour chaque population de patients. Par ailleurs, ces simulations ont démontré que le schéma 4ON3OFF x3 était optimal

également pour les patients atteints de lymphomes vis-à-vis des autres schémas évalués, des doses plus importantes pouvant être administrées pour un pourcentage de DLTs similaire.

Même si l'essor des thérapies ciblées est actuellement en train de bouleverser les méthodologies des études de phase I [70], la majorité des RP2D sont encore déterminées grâce à un schéma d'escalade de dose classique 3+3 [75,76]. La survenue de toxicités au cours du premier cycle de traitement est, comme pour les médicaments cytotoxiques, utilisée comme critère de détermination de la MTD et donc de la RP2D. Les cycles de chimiothérapies cytotoxiques sont généralement alternés avec des intervalles de temps (environ 3 semaines) libres de tout traitement, afin de permettre un retour à la normale des éléments figurés du sang. Cependant, les thérapies ciblées, de part leur meilleure tolérance, sont le plus souvent administrées de façon continue jusqu'à progression de la maladie ou apparition de résistances. Des toxicités retardées et/ou cumulées peuvent par conséquent apparaître après le premier cycle de traitement [70] ; toxicités à prendre en compte dans la détermination de la RP2D. C'est pourquoi, afin de guider de façon rationnelle le développement clinique de l'abexinostat, le modèle PKPD de thrombopénies chimio-induites a été établi grâce aux données extraites des trois premiers cycles de traitement. Les RP2D théoriques, à administrer à des patients traités de façon continue et prolongée, ont donc été simulées grâce à un modèle intégrant le comportement hématotoxique de la molécule sur une plus longue période de temps.

De surcroît, lors d'un schéma classique 3+3, le choix d'inclure et de traiter des patients supplémentaires à un palier de dose supérieur n'est entrepris qu'après évaluation de la survenue de toxicité à un palier de dose particulier. L'information contenue dans l'ensemble de l'escalade de dose est dès lors omise. De façon plus générale, la principale limite du développement clinique actuel consiste à omettre partiellement ou totalement les informations extraites des études précédentes en analysant et interprétant les résultats des études les plus récentes [107]. La construction d'un modèle PKPD, tel que nous l'avons réalisé pour l'abexinostat, à partir de l'ensemble des données contenues dans l'ensemble des 5 études de phase I disponibles, nous a permis d'affiner nos connaissances sur la relation

concentrations-thrombopénies de cette molécule. La compilation de l'ensemble des informations disponibles a conduit à une détermination rationnelle tant d'un schéma d'administration optimal que d'une dose recommandée pour chaque population de patients. Les RP2D ont été caractérisées à partir d'un seuil de toxicités acceptable de 33%, tel que classiquement fait lors d'un schéma 3+3. Cependant, selon la maladie, son stade, le bénéfice potentiel du médicament à l'étude, la population étudiée, ce taux est susceptible de varier. De telles simulations pourront alors être reconduites afin d'apprécier de nouvelles RP2D.

Des études *in vitro* et pré-cliniques sur des modèles animaux ont permis de démontrer un effet dose-dépendant des traitements à base d'abexinostat : l'augmentation de la dose-intensité du traitement étant corrélée à l'augmentation de l'efficacité du traitement. C'est pourquoi, comme pour la plupart des médicaments actuellement en développement, le choix d'un schéma de traitement optimal (ou d'une RP2D) d'abexinostat a été réalisé basé sur l'étude de la relation exposition-toxicités (*i.e.* détermination de la MTD). Nous avons vu précédemment qu'une variation du schéma d'administration chez les patients permettait une augmentation de la dose-intensité du traitement tout en maintenant un niveau de toxicité donné. Dès lors, le recours à de tels schémas d'administration (4ON3OFF x3 dans notre cas) présuppose un gain en termes d'efficacité du traitement chez les patients traités.

Pour de nombreux médicaments, en particulier de thérapies ciblées, la toxicité ne peut être utilisée comme critère de substitution à l'efficacité : la détermination d'une dose biologiquement active (*a contrario* d'une dose maximale tolérée) semble dans ces cas là plus adaptée. Cependant la connaissance de la relation exposition-toxicité, en particulier lors des phases de recherches exploratoires (*learning*) reste malgré tout primordiale [109,255]. Au cours de nos travaux, aucune investigation n'a été entreprise quant à la sensibilité de différents schémas de traitement sur l'efficacité de la molécule. C'est pourquoi de nombreux prolongements à ce travail seraient intéressants. Tout d'abord, la modélisation de la relation exposition-efficacité, par exemple par des modèles d'inhibition de croissance tumorale pour les patients atteints de tumeurs solides, peut être envisagée [256]. A terme, l'étude conjointe des relations exposition-toxicité et exposition-efficacité serait par conséquent

d'une aide majeure au développement clinique, en particulier dans le design d'études confirmatoires à grandes échelles.

D'autres travaux additionnels sont également envisagés. En effet, les protocoles de chimiothérapies actuels prévoient, dans la majorité des cas, l'association de plusieurs médicaments anticancéreux. Une association abexinostat-doxorubicine a d'ores-et-déjà été évaluée cliniquement [218]. Chaque médicament possédant un effet myélosuppressif, il conviendrait d'établir un modèle prenant en compte ces associations médicamenteuses [194,195] incluant les nouvelles données disponibles. Des analyses de covariables permettraient peut-être l'identification de groupes de patients à hauts risques de développer des TCPs sévères [196], et ainsi de proposer des adaptations de posologies. Actuellement, ces dernières sont le plus souvent empiriques, basées sur l'expérience clinique des médecins, et conduisent dans la plupart des cas à une réduction de dose consécutive à l'observation de toxicités. Cependant aujourd'hui les approches de pharmacocinétique de population sont de plus en plus utilisées en pratique clinique afin d'optimiser les traitements administrés par individualisation des doses. L'identification de covariables reliées aux patients [196] ou liées à des médicaments co-administrés [200] permettent des adaptations de posologies réduisant les différences inter-individuelles par exemple en termes de risques de myélosuppressions sévères. Des doses respectivement plus faibles/importantes seront administrées aux patients les plus/moins à risques.

En résumé, tel que nous venons de le voir les approches de M&S sont d'une aide majeure en support au développement clinique.

Les thrombopénies en pratique clinique : exemple des chimiothérapies hyperthermiques intra-péritonéales à base d'oxaliplatine

Nous nous sommes dans un second temps intéressés aux données (PK et PD) de patients atteints de carcinomes péritonéaux pris en charge au sein de l'Institut Claudius-Regaud. De nombreuses études, associant chirurgie cytoréductive et chimiothérapie intra-péritonéale hyperthermique, ont démontré des résultats prometteurs pour le traitement de ces patients [257]. Après résection des nodules tumoraux macroscopiques par chirurgie cytoréductive, les résidus microscopiques sont traités par bain de chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéale [226]. *De facto*, une exposition locale, intra-péritonéale, maximale en chimiothérapie est attendue, tout en limitant son exposition systémique et par conséquent ses toxicités. Comme précédemment vu en Introduction, l'oxaliplatine s'avère être une molécule de choix pour le traitement des carcinomes péritonéaux [228,238-240]. L'administration intrapéritonéale d'une dose de 460 mg/m² d'oxaliplatine dans 2L/m² d'une solution de dextrose à 5%, par perfusion de 30 minutes dans un bain péritonéal chauffé à 42-43°C a été proposée par Elias *et al.* [239]. Cependant, à ce jour, aucun consensus ne semble avoir été admis quant à la dose optimale à administrer aux patients. En effet, une première étude au sein de l'Institut Claudius-Regaud [258] a conduit à une réduction de la dose de 460 à 360 mg/m² après observation de toxicités majeures chez les patients traités par 460 mg/m²: 6/17 avaient présenté une thrombopénie de grade 3-4. Les effets indésirables les plus sévères les plus fréquemment rapportés lors de ces études furent principalement des neuropathies périphériques sensorielles ou des toxicités hématologiques (neutropénies et thrombopénies) [241,242,244,258]. Ces toxicités ont été rapportées comme étant les principales DLTs de l'oxaliplatine après traitement par voie intra-veineuse [259]. C'est pourquoi, même si un net bénéfice clinique est observé chez les patients traités par CHIP à base d'oxaliplatine [228], des efforts doivent être menés afin d'optimiser les doses de chimiothérapies à administrer. Basé sur les données pharmacocinétiques de 75 patients traités au sein de l'Institut Claudius-Regaud, un modèle de pharmacocinétique de population

a été construit ; modèle capable de décrire l'évolution des concentrations d'oxaliplatine péritonéales, ultrafiltrables plasmatiques (considérées comme la forme active [225]) et liées aux protéines plasmatiques en fonction du temps. Des paramètres "secondaires", tels que l'aire sous la courbe des concentrations d'oxaliplatine en fonction du temps, reflétant les expositions intra-péritonéales et plasmatiques, ont pu être calculés. Ces paramètres ont été confrontés aux toxicités les plus fréquemment observées, notamment les thrombopénies de grade 3-4 rencontrées chez environ 14% des patients traités.

Une relation statistiquement significative a pu être mise en évidence entre la sévérité des thrombopénies (*i.e.* pourcentage de diminution du taux de plaquettes entre les valeurs à l'inclusion et nadirs) et l'exposition en oxaliplatine tant systémique que péritonéale. En effet, malgré une dose et un volume de soluté de dextrose adaptés individuellement à la surface corporelle, une importante variabilité inter-individuelle des concentrations péritonéales initiales ($t=0$) a été constatée. Cette dernière pourrait en partie être expliquée par le système Performer[®] LRT assurant la circulation extracorporelle du perfusé qui adapte le volume intra-péritonéal injecté à l'anatomie du patient. Or deux personnes ayant une même surface corporelle ne possèdent pas forcément le même volume intra-péritonéal. La variabilité inter-individuelle au niveau des concentrations péritonéales initiales, associée à celles des paramètres pharmacocinétiques d'absorption (constante d'absorption et pourcentage maximal de la dose absorbée) puis d'élimination à partir du compartiment central, a conduit à d'importantes différences d'expositions péritonéales et systémiques ; exposition systémique elle-même corrélée aux thrombopénies. Des résultats similaires, rapportés par d'autres auteurs, démontrent une corrélation entre la fréquence (et la sévérité) des neutropénies et les concentrations péritonéales initiales d'oxaliplatine [187,260]. En effet, Perez-Ruixo *et al.* ont notamment démontré qu'augmenter les doses administrées (donc les concentrations intra-péritonéales initiales) et/ou la durée des CHIP augmentait le risque de neutropénies sévères [260].

Bien qu'une part non négligeable de la profondeur des thrombopénies puisse être attribuable à l'acte chirurgical proprement dit du fait notamment d'hémorragies péri-opératoires, l'exposition systémique en oxaliplatine contribue nettement aux toxicités

hématologiques observées. En effet, en comparant les doses moyennes administrées (400,8 mg/m² versus 377,8 mg/m², *p*-value=0,08) ou encore les ASC_{IP} moyennes (96 237 versus 83 047 ng.h/mL, *p*-value=0,12) entre les patients ayant présenté une thrombopénie de grade 3-4 et ceux qui n'en ont pas présenté, aucune différence statistiquement significative n'a pu être démontrée. *A contrario* une différence d'exposition systémique statistiquement significative d'environ 20% a été observée (21 207 versus 17 135 ng.h/mL, *p*-value=0,02). Un test de corrélation de Pearson démontre que la variabilité sur l'ASC_{UF} expliquerait environ 12% de la variabilité observée sur le pourcentage de diminution du taux de plaquettes (*p*-value=0.002, *r*=0.35). Une régression linéaire faite entre les valeurs de nadirs observés et l'ASC_{UF} montre une diminution d'environ 16 G/L plaquettes pour une augmentation d'environ 20% de l'ASC_{UF} moyenne (*i.e.* 3 500 ng.h/mL). L'administration d'une dose de 460 mg/m² diluée dans un volume de 2L/m² de dextrose à 5% pendant 30 min à 42-43°C fut associée à un taux trop important de thrombopénies sévères (~35%), conduisant dès lors à une réduction de la dose à 360 mg/m². Cette dernière, mieux tolérée, fut associée à un taux d'environ 7% de thrombopénies de grade 3-4. Ces résultats laissent penser qu'une dose recommandée supérieure à celle de 360 mg/m² pourrait être bien tolérée chez les patients. Cependant aucune recommandation clinique ne peut être effectuée à la suite de ce travail. Sans que l'exploration PK puisse réellement permettre de proposer une dose optimale précise, elle nous permet d'affirmer que la thrombopénie, l'une des toxicités majeures observées après les CHIPs à l'oxaliplatine, est un effet lié aux concentrations systémiques en médicament et donc doses-dépendant.

Préalablement à de telles études, des travaux supplémentaires sont envisagés afin de proposer, tel que cela a été fait pour l'abexinostat, une dose (ou exposition) recommandée théorique à évaluer cliniquement chez les patients traités afin d'optimiser leur prise en charge thérapeutique. Tout d'abord l'analyse longitudinale des effets de la pharmacocinétique de l'oxaliplatine, après administration intra-péritonéale, sur l'évolution du taux de plaquettes est envisagée. En effet, la construction d'un modèle semi-mécanistique PKPD permettant d'expliquer et de prédire tant le degré que la durée des TCPs serait d'une grande aide pour la prise en charge des patients atteints de carcinomes péritonéaux. De tels modèles ont d'ores et déjà été construits afin de décrire les

neutropénies consécutives aux CHIPs à base d'oxaliplatine [187,260] mais, à ce jour, aucun d'entre eux n'inclut la description de l'évolution du taux de plaquettes. De plus, à notre connaissance, l'ensemble des modèles établis à ce jour ont été établis à partir des concentrations d'oxaliplatine mesurées sur plasma total, et non à partir de concentrations ultra-filtrables, considérées comme actives [225]. L'identification de patients à risque de développer une toxicité hématologique sévère, suite par exemple à une simple mesure des concentrations péritonéales initiales, permettrait d'anticiper ces toxicités notamment par la perfusion de concentrés plaquettaires ou l'administration d'agonistes du récepteur à la TPO (eltrombopag par exemple). Une transfusion de concentrés plaquettaires restaurerait rapidement un taux de plaquettes sanguines à des valeurs normales. L'administration prophylactique ou thérapeutique d'eltrombopag permettrait respectivement de disposer d'un pool plus important de mégacaryocytes mûres (afin de prévenir un faible nadir) ou d'accélérer le recouvrement à des valeurs de référence. De telles prises en charges peuvent donc être envisagées et devront par conséquent être prises en compte dans le modèle, ainsi que réalisé par certains auteurs [261,262].

CONCLUSION

Tout au long du cycle de vie d'un médicament, la connaissance et la maîtrise de la relation exposition-réponse d'un traitement est d'une importance majeure.

L'établissement de modèles reliant les concentrations du produit à ses principales toxicités permet, tout d'abord, de guider son développement clinique. Ces modèles, au travers des différents cycles de *learning/confirming*, fournissent une base quantitative guidant la prise de décisions sur la poursuite du développement. Des décisions rationnelles, fondées sur l'ensemble des données disponibles à un moment précis du processus de développement, sont alors prises [110,247]. De nombreux scénarii peuvent ainsi être simulés avant la mise en place et la conduite de véritables essais. Les approches de modeling & simulation permettent notamment par la définition d'une dose appropriée et d'un schéma d'administration optimal de traiter moins de patients à des doses inefficaces ou toxiques. Toutefois, des études expérimentales en situation de "vraie vie" ne pourront jamais être remplacées par ces études *in silico* pour la conduite d'études confirmatoires (dépôts d'AMM par exemple). Même si le but des différentes phases de développement clinique reste toujours le même, les moyens pour atteindre ces objectifs sont en train d'évoluer [109].

Enfin, l'intégration et l'analyse de l'ensemble des données disponibles dans de tels modèles deviennent de plus en plus capitales en pratique clinique [111]. La survenue de thrombopénies chimio-induites augmente le risque de saignements, limite ou retarde l'administration d'un traitement, impactant par conséquent les bénéfices thérapeutiques potentiels du patient. L'utilisation de tels modèles permet, par exemple, d'identifier des sous-groupes de patients à risques ou d'anticiper la survenue de complications majeures. Une adaptation individuelle de posologie peut ainsi être proposée aux patients, dans un contexte où les soins évoluent vers une médecine personnalisée.

ANNEXES

ANNEXE 1

Article 4 : Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling-based optimisation of administration schedule for the histone deacetylase inhibitor abexinostat (S78454/PCI-24781) in phase I



Available at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

journal homepage: www.ejcancer.com



Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling-based optimisation of administration schedule for the histone deacetylase inhibitor abexinostat (S78454/PCI-24781) in phase I

Sylvain Fouliard^{a,e}, Renata Robert^{b,e}, Anne Jacquet-Bescond^b,
Quentin Chalret du Rieu^a, Sriram Balasubramanian^c, David Loury^c, Yohann Lorient^d,
Antoine Hollebecque^d, Ioana Kloos^b, Jean-Charles Soria^d, Marylore Chenel^{a,*},
Stéphane Depil^{b,*}

^a Institut de Recherches Internationales Servier, Clinical Pharmacokinetics, Suresnes, France

^b Institut de Recherches Internationales Servier, Oncology R&D Unit, Suresnes, France

^c Pharmacyclics, Sunnyvale, CA, USA

^d Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

Available online 18 June 2013

KEYWORDS

Decision support techniques
Drug administration schedule
Drug toxicity
Pharmacokinetics
Pharmacodynamics
Mechanism of action

Abstract Abexinostat, an oral pan-histone deacetylase inhibitor (HDACi), was evaluated in patients with advanced solid tumours in two single agent phase I studies (PCYC-402 and CL1-78454-002). In PCYC-402 study testing four different administration schedules, the maximum tolerated dose (MTD) was established at 75 mg/m² BID (twice daily) and the recommended dose at 60 mg/m² BID regardless of the schedule tested. The dose limiting toxicity (DLT), consistently observed across all these schedules, was reversible thrombocytopenia. The CL1-78454-002 study was initially investigating an additional schedule of 14 days on/7 days off. While testing two first cohorts, thrombocytopenia was observed without reaching DLT. To address this issue, a pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) model was used to predict the optimal schedule allowing higher doses with minimal thrombocytopenia. Several administration schedules were simulated using this model. A 4 days on/3 days off schedule was associated with the smallest platelet decrease. Accordingly, the CL1-78454-002 study was amended. After reaching MTD1 (75 mg/m² BID) with the initial schedule, subsequent cohorts received abexinostat on a revised schedule of 4 days on/3 days off, starting at one dose

* Corresponding authors: Addresses: Clinical Pharmacokinetics, Institut de Recherches Internationales Servier, 50 rue Carnot, 92284 Suresnes Cedex, France (M. Chenel), Oncology R&D Unit, Institut de Recherches Internationales Servier, 50 rue Carnot, 92284 Suresnes Cedex, France (S. Depil).

E-mail addresses: marylore.chenel@fr.netgrs.com (M. Chenel), stephane.depil@fr.netgrs.com (S. Depil).

^e These authors contributed equally to this work.

0959-8049/\$ - see front matter © 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2013.05.009>



level below MTD1 (60 mg/m² BID). As expected, the dose-escalation continued for two more dose levels beyond MTD1. The MTD2 reached for this optimised schedule was 105 mg/m² BID and the recommended dose 90 mg/m² BID.

In conclusion, early understanding of toxicities and PK determination allowed us to build a PK/PD model of thrombocytopenia, which predicted the optimal administration schedule. This optimised schedule is currently used in the trials in solid tumours with abexinostat.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

There is growing evidence that expression governed by epigenetic changes is crucial to the onset and progression of cancer.^{1,2} Histone deacetylases (HDACs) enzymes have a key role in the epigenetic regulation of gene expression.

HDAC inhibitors lead to histone hyperacetylation in tumour cells, resulting in transcriptional activation of a subset of genes, including many tumour suppressors, and genes involved in cell cycle control, cell division and apoptosis.^{3,4} HDAC inhibition also leads to the acetylation of several non-histone proteins in tumour cells, including tubulin, p53, *GATA-1* and oestrogen receptor. Thus, the anticancer effect of HDACs inhibitors is related to a large variety of mechanisms including the induction of apoptosis, differentiation, cell cycle arrest, inhibition of DNA-repair and inhibition of angiogenesis.^{5–8}

Recently, HDACs inhibitors have emerged as promising new anticancer agents and this has been confirmed by the approval of vorinostat (Zolinza[®]) and romidepsin (Istodax[®]) in the United States of America (USA)⁹ for the treatment of cutaneous T cell lymphoma (vorinostat and romidepsin) and peripheral T cell lymphoma (romidepsin).

However, the safety and toxicity profile of these drugs, although comparable to other anticancer chemotherapeutic agents, remain to be still improved. Reversible thrombocytopenia has been seen with almost all the HDAC inhibitors in the clinic, and appears to be a mechanism-related class effect. HDAC inhibitor-induced thrombocytopenia is non-myeloablative and rapidly reversible upon drug withdrawal. Matsuoka et al., have suggested that HDAC inhibitors decrease the transactivation function of *GATA-1*, and this may lead to a delay in megakaryocyte maturation and finally cause thrombocytopenia.¹⁰ Recently it has been shown that panobinostat induced post-translational modification of tubulin, a non-histone protein that is a major component of the microtubule cytoskeleton. Its hyperacetylation possibly triggers an alteration of microtubule dynamics and organisation required for proper megakaryocyte maturation and platelet formation thus leading to thrombocytopenia.¹¹

Abexinostat (S 78454/PCI-24781) is an orally bio-available hydroxamate-based pan-HDAC inhibitor,

which showed promising preclinic results.^{12,13} Two single agent phase I studies (PCYC-402 and CL1-78454-002) have been conducted, testing different administration schedules. In the PCYC-402 study, the dose limiting toxicity (DLT) consistently observed across all these schedules, was reversible thrombocytopenia. Based on available data, a pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) thrombocytopenia model was developed in order to optimise the administration schedule of abexinostat in the CL1-78454-002 study.

2. Materials and methods

2.1. Patients, treatment and measurements

The completed PCYC-401 'first in human', dose-escalation, phase I study tested abexinostat administered intravenously (IV, multiple dose) and orally (single dose) in 15 patients with refractory solid tumours or haematological malignancies, at doses up to 3.0 mg/kg/day.

The PCYC-0402 and CL1-78454-002 studies were phase I, dose-escalation studies testing oral capsule form of abexinostat. PCYC-0402 evaluated four different administration schedules in 4-week cycles: (1) TID (three times daily) and (2) BID (twice daily) 5 days/week 3 weeks/4; (3) BID on days 1–7 and 15–21; (4) BID on days 1–5 and 15–19. The planned dose levels were 30, 45, 60, 75 and 90 mg/m².

CL1-78454-002 evaluated abexinostat according to an initial schedule of 14 days on/7 days off in 3-week cycles starting at 30 mg/m² BID with pre-defined dose levels of 45, 60, 75 and 90 mg/m² BID.

Toxicity was defined using the NCI CTCAE (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events), version 3.0.¹⁴ The maximum tolerated dose (MTD) was defined by DLT occurring in at least 2/3 or 2/6 patients. The recommended phase II dose was defined one dose step below MTD.

2.2. Model building and simulation plan

The abexinostat PK data from two clinical studies (PCYC-401, IV and oral administration, and PCYC-402, oral administration, total of 49 patients and 724 PK samples) were used for the PK model building. Platelet counts from PCYC-402 (35 patients and 181

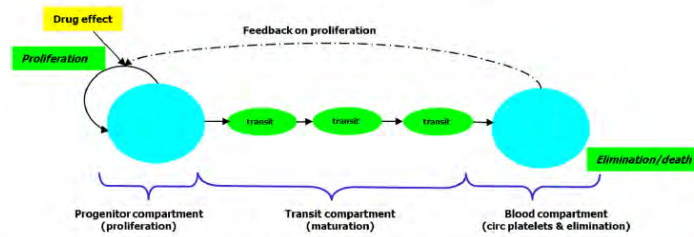


Fig. 1. Schematic representation of the semi-physiological model. A self-renewing progenitor compartment is connected to transit compartments representing maturation process, and leading to a circulating compartment (i.e. blood). A feedback mechanism mimics the increase of proliferation rate as platelet count decreases below baseline. The model was parameterised as baseline value, feedback term and mean maturation time of platelets. Drug effect involves concentration-dependent diminution of the proliferation ability of progenitor cells.

platelet counts) were used for the PK/PD model building, in a sequential approach, and using a widely used formalism (Fig. 1)¹⁵ to predict the optimal administration schedule that could allow administration of higher abexinostat doses with minimal thrombocytopenia. Several structural PK models were investigated in terms of absorption (1st order, 0-order), distribution (1, 2, 3, compartments). As PK data after both intravenous and oral administrations were analysed, it was possible to estimate the absolute bioavailability of abexinostat. The PK/PD model consists in a self-renewing compartment (mimicking progenitor stem cells), linked to 3 maturation compartments, and then to a circulating blood compartment. A feedback mechanism on proliferation rate allows the recovery of platelet count when treat-

ment stops and drug effect is assumed to decrease proliferation rate proportionally with abexinostat concentration. Nested PK and PK/PD models were selected through the likelihood ratio test (LRT) and non-nested models were selected through the comparison of the Bayesian information criterion, based on NONMEM's objective function value. Model evaluation was performed using standard goodness of fit plots, and simulation-based evaluation method (Normalised Prediction Distribution Error, NPDE)¹⁶. Several administration schedules over a cycle (ASC) were simulated using this model: 14 days on/7 days off (ASC1); 10 days on/11 days off (ASC2); (5 days on/2 days off) × 2 and 7 days off (ASC3); and (4 days on/3 days off) × 3 (ASC4).

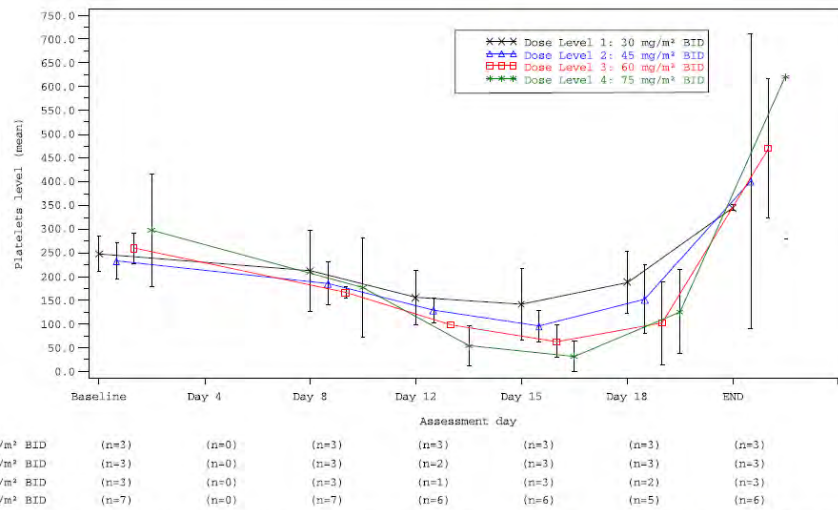


Fig. 2. Platelets levels (G/L): Mean (±SD) value over time during cycle 1. Descriptive statistics of platelets count provided at each dose for patients from administration schedule ASC1: BID 14 days on/7 days off during cycle 1. Haematological assessment was performed on day 1 (pre-dose), day 8, day 12, day 15, day 18 and day 22 of cycle 1. The number of patients for whom the assessment was performed is provided at each time-point.

Table 1

Pharmacokinetic (PK) and PK/pharmacodynamic (PD) models population parameters mean estimates and inter-individual variability (IIV, expressed as coefficient of variation) of the PK (parameterised in clearance CL, volumes of distribution Vc, Vp1 and Vp2, intercompartmental clearances Q1 and Q2, absorption rate ka and absolute bioavailability F) and PK/PD models used for simulations. Additive and proportional component of the residual error for each model are noted a and b, respectively. Inter-individual variability was investigated as a lognormal distribution on each parameter. Precision of estimation was computed for each parameter θ using the standard errors (SE) output by the SCOVARIANCE option in NONMEM, and expressed as relative standard error ($RSE = 100 * SE/\theta$, expressed in %). Shrinkage (Sh. Std.) on each parameter where inter-individual variability was estimated was also computed.²² Parameter estimation was <42% for fixed effects and <65% for random effects, except for inter-individual variability on central volume, which was kept in the final model due to the important improvement on individual fits that was induced. Shrinkage was moderate (22% at most).

Models	Parameters	Population mean estimates (RSE)	IIV (RSE)	Sh. Std. (%)
PK model	ka (h^{-1})	0.763 (13.1%)	72% (30.1%)	13
	F (%)	31.7 (22.1%)	34% (42%)	5.8
	Vc (L)	36.2 (29.3%)	58% (175.1%)	22
	Vp1 (L)	561 (41.9%)	–	–
	Vp2 (L)	54.4 (13.8%)	42% (37.7%)	12
	Q1 (L/h)	11.5 (18.3%)	–	–
	Q2 (L/h)	39 (14.3%)	–	–
	CL (L/h)	57.4 (8.1%)	35% (51.4%)	3.2
	a _{pk} (ng/mL)	3.8 (29.2%)	–	–
	b _{pk} (%)	30.8 (6.5%)	–	–
	PK/PD model	MTT (h)	97 (3%)	–
γ (–)		0.288 (10.3%)	41.2% (64.1%)	18.5
BASE (G/L)		267 (8.7%)	39.6% (41.4%)	2.1
SLOPE ($(\mu g/mL)^{-1}$)		3.98 (14.5%)	60.2% (26.7%)	16.7
a _{pd} (G/L)		23.7 (14.6%)	–	–
b _{pd} (%)		13.8 (20.9%)	–	–

The PK/PD model was parameterised with baseline, feedback intensity, mean maturation time of platelets, and drug concentration/effect relationship. Simulation of newer administration schedules was performed by generating 100 individual parameters from the theoretical distribution, allowing 100 individual platelet count profiles to be simulated. The 10th, 50th and 90th percentiles of the predicted distribution at each time-point were then plotted in order to compare administration schedules.

2.3. Comparison of model predictions and CL1-78454-002 results

Using the PK and PK/PD models, simulations were performed with CL1-78454-002 design, and were compared to data observed in CL1-78454-002.

First, an external corrected visual predictive check (VPC) of the abexinostat concentration data was performed to examine the adequacy between predicted and observed concentrations. As the PK model of abexinostat was linear with the dose, concentrations were normalised using the true individual administered dose. PK simulations, using CL1-78454-002 administration design, were performed 500 times for each individual using the nominal administration times and the median, 5th percentile and 95th percentile of simulated abexinostat concentrations were plot together with observed concentrations using the true sampling times. Then individual PK parameters were derived from the individual abexinostat concentration data of CL1-78454-002

patients using the PK model and a Bayesian approach, i.e. the POSTHOC option in NONMEM (population model parameters were not re-estimated).

These individual PK parameters were used as an input into the PK/PD model, together with true administered doses and administration times, in order to predict the individual platelet decrease in each patient during the first cycle of treatment. The BASE parameter of the PK/PD model was set to the observed platelet count baseline (platelet count before any abexinostat administration). PK/PD simulations were performed 500 times for each individual (using estimated PK/PD inter-individual variability) and the median, 5th percentile and 95th percentile were plot together with observed platelet counts.

3. Results

In the first phase I study (PCYC-0402), the MTD was established at 75 mg/m^2 BID and the recommended dose (RD) at 60 mg/m^2 BID regardless of the administration schedule tested. In total, 39 patients were treated with abexinostat at different dose levels. The major DLT, across all administration schedules, was thrombocytopenia reversible within approximately 7 days post-dosing during periods without treatment.

In the second phase I study (CL1-78454-002), abexinostat was initially administered BID 14 days on/7 days off in 3-week cycles starting at 30 mg/m^2 BID with predefined dose levels of 45, 60, 75 and 90 mg/m^2 BID. No

DLT was observed in three patients at the first dose level (30 mg/m² BID) and a second cohort of three patients was treated at 45 mg/m² BID. At both dose levels, and as expected, a progressive decrease in platelets count was observed over 14 days on treatment with a rapid recovery during the week without treatment. The magnitude of the decline in the platelet count appeared to be dose-dependent (Fig. 2).

Since the platelet decrease was considered a major issue limiting the dose-escalation, it was decided to revise the administration schedule of abexinostat.

A PK/PD model, based on Friberg's formalism, was used to predict the optimal administration schedule that could allow administration of higher abexinostat doses with minimal thrombocytopenia. Platelet-time profiles obtained during the first cycle of treatment in 35 patients from the PCYC-0402 study only were analysed using a mixed effect model.¹⁸ This PK/PD model consisted in a previously developed PK model of abexinostat (built using PCYC-401 and PCYC-402 PK data) used as an input into a semi-physiological platelet time-course model (Fig. 1).¹⁵ The PK of abexinostat was best described by a 3-compartment mammillary model, with a first order absorption and elimination from the central compartment. The PK/PD model adequately described platelet-count data after the administration of abexinostat orally in patients with solid tumours (parameters of both PK and PK/PD models are presented in Table 1).

Simulation results showed that the expected median platelet nadirs for the dose of 60 mg/m² BID were 88 G/L, 103 G/L, 125 G/L, and 132 G/L for 14 days on/7 days off (ASC1); 10 days on/11 days off (ASC2); (5 days on/2 days off) × 2 and 7 days off (ASC3); and (4 days on/3 days off) × 3 (ASC4), respectively, and that ASC4 was associated with the smallest platelet decrease.

Accordingly, the protocol for the CL1-78454-002 study was amended. After reaching MTD1 of 75 mg/m² with the initial 14 days on/7 days off BID schedule (ASC1), subsequent cohorts of patients received abexinostat on a revised schedule of 4 days on/3 days off (ASC4), starting with 60 mg/m² BID, one dose level below MTD1 in ASC1. The dose-escalation followed the same design as the initial schedule with the same pre-defined dose levels. As expected, the dose-escalation continued for two more dose levels beyond MTD1 in ASC1. At 105 mg/m² BID, two out of three patients included at this dose level, experienced DLTs corresponding to thrombocytopenia of grade 4. Therefore, this dose level was considered MTD2 for this revised administration schedule and the RD2 was established at 90 mg/m² BID. This optimised administration schedule was related to higher dose intensity per cycle, both at MTD and RD. Despite the lower number of days with treatment (12 days versus 14 days), the theoretical dose intensity per cycle at MTD and RD was higher in ASC4 compared to ASC1, 840 mg/m²/week versus

Table 2

Descriptive statistics provided for platelet count observed at recommended doses 1 and 2 for schedule of administration schedules ASC1 and ASC4. ASC1: 14 days on BID/7 days off in 3-week cycles. ASC4: 4 days on BID/3 days off in 3-week cycles. Recommended dose-1 (RD1): Recommended dose level for ASC1 = 60 mg/m² BID. RD2: Recommended dose level for ASC4 = 90 mg/m² BID. N: number of patients included and treated with a given dose level during cycle 1. SD stands for standard deviation.

	RD1= 60 mg/m ² BID ASC1 = 14 days on/ 7 days off	RD2 = 90 mg/m ² BID ASC4 = (4 days on/3 days off) × 3
N	3	10
Mean ± SD	63.7 ± 34.4	125.3 ± 78.4
Median	75.0	117.0
[Min; Max]	[25; 91]	[36; 243]

700 mg/m²/week at MTD, and 720 mg/m²/week versus 560 mg/m²/week at RD, respectively.

The results related to haematological toxicity observed for those two schedules in the CL1-78454-002 study confirmed the findings predicted by the PK/PD modelling. The median nadir of platelet count recorded during cycle 1 at the RD1 of 60 mg/m² BID for ASC1 was lower than the nadir observed with the RD2 of 90 mg/m² BID for ASC4, 75 G/L versus 117 G/L, respectively (Table 2, no statistical comparison was done due to limited number of patients treated at each dose level). External corrected VPC of the PK model showed that 87% of the observed abexinostat concentrations were within the 90% prediction interval (Fig. 3). Individual VPC (Fig. 4) showed that the individual platelet count decrease was well characterised in terms of platelet decrease after treatment starts, but also in terms of platelet count rebound when treatment stops.

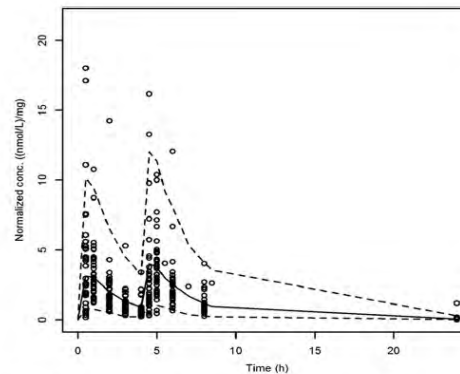


Fig. 3. External corrected visual predictive check of dose-normalised abexinostat concentrations-time profile. The 5th and 95th percentile of simulated data (dashed lines) and the median simulated profile at each time-point (solid line) are plot together with normalised pharmacokinetic (PK) concentrations.

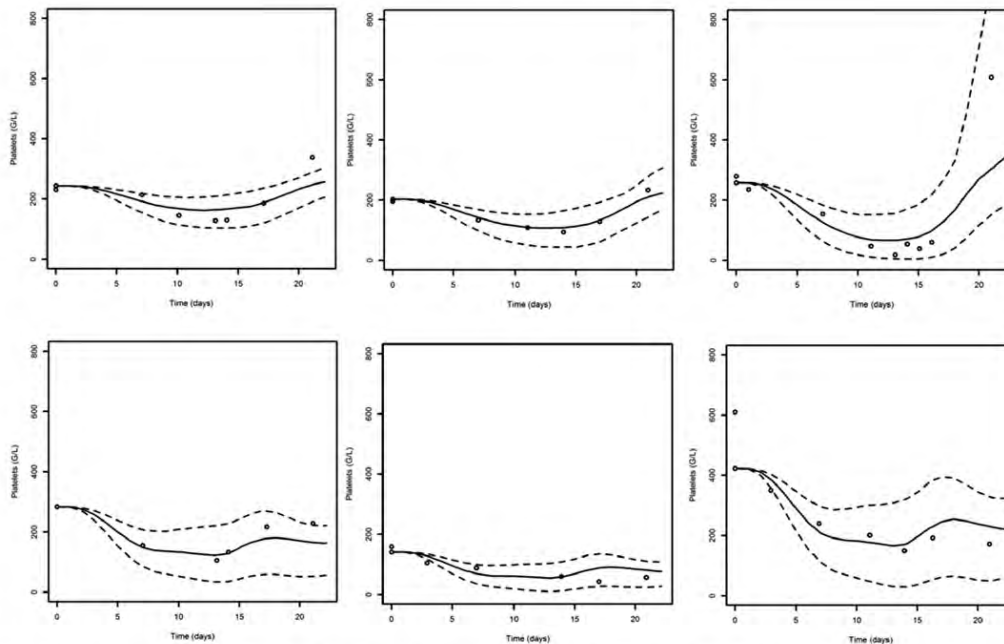


Fig. 4. Individual visual predictive check of platelet count time profiles for different patients from CL1-78454-002 who have received abexinostat according to different administration schedules and doses. Individual observed baseline values and pharmacokinetic (PK) parameters are used as an input into the PK/pharmacodynamic (PD) model. 95th and 5th percentiles (dashed lines) and median (solid line) of simulated platelet counts at each time-point are plot together with observed platelet count. Top left: 30 mg/m² BID, administration schedule ASC1; top middle: 75 mg/m² BID, ASC1; top right: 75 mg/m² BID, ASC1; bottom left: 75 mg/m² BID, ASC4; bottom middle: 90 mg/m² BID, ASC4; bottom right: 90 mg/m² BID, ASC4.

4. Discussion

Phase I studies are usually designed to define and evaluate a MTD, using dose limiting toxicities, and the recommended phase II dose for future trials.

The duration of these trials depends on the dose-escalation phase, the number of patients included per dose level and the duration of a cycle. In addition, evaluation of toxicity is usually undertaken after completing the first cycle of treatment by all patients included in a cohort. Thus, all administration schedules cannot be tested. However, the success of clinical development, including the positive confirmatory phase III trials, depends on the right choice of the administration schedule and its associated recommended dose.

Since optimisation of dose and administration schedule for anticancer drugs is essential for clinical development, it is important to describe the relationship between drug concentrations and toxicity represented by bone marrow toxicity for many anticancer drugs. Several physiologically based PK/PD models have been established to estimate the complete time course of myelosuppression.^{15,17–20} A PK/PD model described by

Friberg et al. (Fig. 1) was used to address the issue of reversible thrombocytopenia observed with abexinostat in the clinic, and considered to be a mechanism-related class effect.

Results obtained in two phase I studies, with abexinostat as a single agent in patients with advanced solid tumours, confirmed thrombocytopenia as the main dose limiting toxicity predicted from pre-clinical findings. Observed thrombocytopenia was reversible within approximately 7 days post-dosing during periods without treatment. This rapid recovery was associated with a rebound effect. These findings were in line with the proposed toxicity mechanism of HDAC inhibitor (HDACi) on platelets with a direct effect on inhibition of megakaryocyte maturation and platelet release without affecting megakaryocyte proliferation or lineage commitment.¹¹ The rebound effect was probably due to a feedback mechanism resulting in increased megakaryocyte generation and temporarily elevated megakaryocyte numbers in the bone marrow for rapid thrombopoiesis.²¹

In parallel, data obtained in these studies allowed to record sufficient pharmacokinetic and toxicity data to

adapt Friberg's PK/PD model to abexinostat, with a good estimation of PK and PK/PD model parameters.

These data and the initial knowledge of toxicity mechanism of HDACi on platelets, contributed to the adaptation of the model applied to toxicities observed in clinic since data obtained only in pre-clinical studies are insufficient for modelling. The results show that both the PK model and the PK/PD thrombocytopenia model were able to predict CL1-78454-002 results in terms of abexinostat concentrations, platelet time course and nadir value.

The use of modelling in the CL1-78454-002 study guided the changes in administration schedule based on haematological toxicities. The haematology results showed that the median nadir of platelet count observed during cycle 1 at the recommended dose was lower for the initial administration schedule of 14 days on/7 days off BID compared to the revised administration schedule (4 days on/3 days off BID) issued from the modelling, even if the limited number of patients treated at each dose level did not allow the statistical comparison. The results related to haematological toxicity observed for those two schedules in the CL1-78454-002 study confirmed the findings predicted by the PK/PD modelling. Overall, the integration of data from previous clinical studies in a single model allows the description of the dose-toxicity relationship of a drug and a more robust comparison between administration schedules than the limited number (3–6) of patients evaluated, as simulations are performed for many more patients.

In conclusion, early understanding of toxicities and PK determination allowed us to build a PK/PD model of thrombocytopenia, which predicted the optimal administration schedule in solid tumours. This optimised schedule is currently used in the clinical trials performed in solid tumours with abexinostat. This work also provides a successful example of modelling early in development that can be applied to other therapeutics.

Conflict of interest statement

Quentin Chalret du Rieu is a doctoral fellow whose researches are financed by Institut de Recherches Internationales Servier.

Acknowledgement

The authors wish to thank Frédéric Dubois for fruitful discussions and for providing the descriptive statistics of observed data.

References

- Archer SY, Meng S, Shei A, Hodin RA. P21(WAF1) is required for butyrate-mediated growth inhibition of human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(12):6791–6.
- Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat Rev Cancer* 2006;6(1):38–51.
- Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat Rev Cancer* 2001;1(3):194–202.
- Schrump DS. Cytotoxicity mediated by histone deacetylase inhibitors in cancer cells: mechanisms and potential clinical implications. *Clin Cancer Res* 2009;15(12):3947–57.
- Acharya MR, Sparreboom A, Venitz J, Figg WD. Rational development of histone deacetylase inhibitors as anticancer agents: a review. *Mol Pharmacol* 2005;68(4):917–32.
- Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5(9):769–84.
- Deroanne CF, Bonjean K, Servotte S, et al. Histone deacetylase inhibitors as anti-angiogenic agents altering vascular endothelial growth factor signaling. *Oncogene* 2002;21(3):427–36.
- Glaser KB. HDAC inhibitors: clinical update and mechanism-based potential. *Biochem Pharmacol* 2007;74(5):659–71.
- Richon VM, Garcia-Vargas J, Hardwick JS. Development of vorinostat: current applications and future perspectives for cancer therapy. *Cancer Lett* 2009;280(2):201–10.
- Matsuoka H, Unami A, Fujimura T, et al. Mechanisms of HDAC inhibitor-induced thrombocytopenia. *Eur J Pharmacol* 2007;571(2–3):88–96.
- Iancu-Rubin C, Gajzer D, Mosoyan G, Feller F, Mascarenhas J, Hoffman R. Panobinostat (LBH589)-induced acetylation of tubulin impairs megakaryocyte maturation and platelet formation. *Exp Hematol* 2012;40(7):564–74.
- Buggy JJ, Cao ZA, Bass KE, et al. CRA-024781: a novel synthetic inhibitor of histone deacetylase enzymes with antitumor activity in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* 2006;5(5):1309–17.
- Janc JW. S78454 – in vitro biochemical characterization of CRA-024781; 2005.
- CTEP. Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 – CTCAE; 2013. <http://ctep.cancer.gov> [cited 2013 Apr 24].
- Friberg LE, Henningson A, Maas H, Nguyen L, Karlsson MO. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol* 2002;20(24):4713–21.
- Brendel K, Comets E, Laffont C, Laveille C, Mentre F. Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide. *Pharm Res* 2006;23(9):2036–49.
- Friberg LE, Brindley CJ, Karlsson MO, Devlin AJ. Models of schedule dependent haematological toxicity of 2'-deoxy-2'-methylidene-cytidine (DMDC). *Eur J Clin Pharmacol* 2000;56(8):567–74.
- Friberg LE, Freijs A, Sandstrom M, Karlsson MO. Semiphysiological model for the time course of leukocytes after varying schedules of 5-fluorouracil in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;295(2):734–40.
- Minami H, Sasaki Y, Saijo N, et al. Indirect-response model for the time course of leukopenia with anticancer drugs. *Clin Pharmacol Ther* 1998;64(5):511–21.
- Zamboni WC, D'Argenio DZ, Stewart CF, et al. Pharmacodynamic model of topotecan-induced time course of neutropenia. *Clin Cancer Res* 2001;7(8):2301–8.
- Giver CR, Jaye DL, Waller EK, Kaufman JL, Lonial S. Rapid recovery from panobinostat (LBH589)-induced thrombocytopenia in mice involves a rebound effect of bone marrow megakaryocytes. *Leukemia* 2011;25(2):362–5.
- Savic RM, Karlsson MO. Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: problems and solutions. *AAPS J* 2009;11(3):558–69.

ANNEXE 2

**Code Nonmem (Control Stream) du modèle final de l'Article 1 :
Application of hematological Toxicity Modeling in Clinical
Development of Abexinostat (S-78454, PCI-24781), A New Histone
Deacetylase Inhibitor**

```

$SIZES LIM6=5000
$PROBLEM Final Model
$INPUT ID TIME AMT EVID CMT DV MDV IBIO ICL IKA IQ3 IQ4 IV2 IV3 IV4 CYCL SCR DOSE STD
$DATA XXX.data IGNORE=(ID.EQ."@ID")
$SUBROUTINE ADVAN6, TOL=3
$MODEL
COMP=(DEP);1
COMP=(CENT);2
COMP=(PERIF1);3
COMP=(PERIF2);4
COMP=(PROL);5
COMP=(TRAN1);6
COMP=(TRAN2);7
COMP=(TRAN3);8
COMP=(CIRC);9
$PK
SLOPE=THETA(1)*EXP(ETA(1))
MTT=THETA(2)*EXP(ETA(2))
K=4/MTT
GAMMA=THETA(3)*EXP(ETA(3))
BASE=THETA(4)*EXP(ETA(4))
;PD
F5=BASE
F6=BASE
F7=BASE
F8=BASE
F9=BASE

K12=IKA
K20=ICL/IV2
K23=IQ3/IV2
K32=IQ3/IV3
K24=IQ4/IV2
K42=IQ4/IV4
V2=IV2/IBIO
S2=V2
$DES
;PK
DADT(1)=-K12*A(1)
DADT(2)=K12*A(1)+K32*A(3)+K42*A(4)-A(2)*(K23+K24+K20)
DADT(3)=K23*A(2)-K32*A(3)
DADT(4)=K24*A(2)-K42*A(4)
CP=A(2)/S2
;PD
E=SLOPE*CP
DADT(5)=K*A(5)*(BASE/A(9))**GAMMA-K*A(5)*E*(BASE/A(9))**GAMMA-K*A(5)
DADT(6)=K*A(5)-K*A(6)
DADT(7)=K*A(6)-K*A(7)
DADT(8)=K*A(7)-K*A(8)
DADT(9)=K*A(8)-K*A(9)
$ERROR
IPRED=A(9)
W=SQRT(THETA(5)**2+(THETA(6)*IPRED)**2)
Y=IPRED+W*EPS(1)
IRES=DV-IPRED

```

```

IWRES=IRES/(W+0.001)
$THETA
(0,4.28);SLOPE
(0,94.1);MTT
(0,0.278);GAMMA
(0,260);BASE
(0,14.3);ADD
(0,0.277);PROP
$OMEGA BLOCK(4)
0.343;ETA_SLOPE
0.0401;ETA_SLMT
0.0097;ETA_MTT
0.0172;ETA_SLGA
0.006;ETA_MTGA
0.0761;ETA_GAMMA
-0.0492;ETA_SLBA
0.0109;ETA_MTBA
0.0108;ETA_GABA
0.139;ETA_BASE
$SIGMA
1 FIX;ERR(1)
$COV
MATRIX=S
$ESTIMATION
METHOD=1 PRINT=5 MAX=9999 INTERACTION NOABORT POSTHOC

$TABLE
ID TRID TIME IPRED EVID IWRES AMT MDV SLOPE MTT GAMMA BASE CP IBIO ICL IKA IQ3 IQ4 IV2 IV3 IV4 ETA1
ETA2 ETA3 ETA4 NPDE CWRES DV PRED RES WRES
ESAMPLE=1000 SEED=1234567
ONEHEADER NOAPPEND NOPRINT FILE=XXX.TAB

```

ANNEXE 3

**Code Nonmem (Control Stream) du modèle final de l'Article 2 :
Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of abexinostat-
induced thrombocytopenia across different patient populations:
application for the determination of the maximum tolerated
doses in both lymphoma and solid tumour patients**

```

$PROBLEM Final PKPD Model
$INPUT ID TIME AMT EVID CMT DV MDV IBIO ICL IKA IQ3 IQ4 IV2 IV3 IV4 CYCL SCR DOSE STD SCHEMA PATH
$DATA XXX.txt IGNORE=(ID.EQ."@ID",CYCL.GT.3)
$SUBROUTINE ADVAN6, TOL=3
$MODEL
COMP=(DEP);1
COMP=(CENT);2
COMP=(PERIF1);3
COMP=(PERIF2);4
COMP=(PROL);5
COMP=(TRAN1);6
COMP=(TRAN2);7
COMP=(TRAN3);8
COMP=(CIRC);9
$PK
OCC1=0
OCC2=0
OCC3=0
IF(CYCL.EQ.1) OCC1=1
IF(CYCL.EQ.2) OCC2=1
IF(CYCL.EQ.3) OCC3=1
IC50=THETA(1)*EXP(ETA(1))+ETA(12)*OCC1+ETA(13)*OCC2+ETA(14)*OCC3
IMAX=THETA(2)*EXP(ETA(2))
MTT=THETA(3)*EXP(ETA(3))
K=4/MTT
GAMMA=THETA(4)*EXP(ETA(4))
DELTA=THETA(5)*EXP(ETA(5))+ETA(9)*OCC1+ETA(10)*OCC2+ETA(11)*OCC3
BAS0=THETA(6)*EXP(ETA(6))*(1-PATH)
BAS1=THETA(7)*EXP(ETA(6))*PATH
IT50=THETA(8)*EXP(ETA(7))
IMAT=THETA(9)*(1+ETA(8))
IF(PATH.EQ.0) THEN
BASI=BAS0
ELSE
BASI=BAS1
ENDIF
;PD
F5=BASI
F6=BASI
F7=BASI
F8=BASI
F9=BASI
K12=IKA
K20=ICL/IV2
K23=IQ3/IV2
K32=IQ3/IV3
K24=IQ4/IV2
K42=IQ4/IV4
V2=IV2/IBIO
S2=V2
$DES
;PK
DADT(1)=-K12*A(1)
DADT(2)=K12*A(1)+K32*A(3)+K42*A(4)-A(2)*(K23+K24+K20)
DADT(3)=K23*A(2)-K32*A(3)

```

```

DADT(4)=K24*A(2)-K42*A(4)
CP=A(2)/S2
IF(PATH.EQ.0) THEN
BASE=BAS0-(IMAT*T/24)/(IT50+(T/24))
ELSE
BASE=BAS1
ENDIF
;PD
FBM=(BASE/A(9))**GAMMA
FBK=(BASE/A(9))**DELTA
E=IMAX*CP/(IC50+CP)
DADT(5)=K*A(5)*FBM*(1-E)-K*FBK*A(5)
DADT(6)=K*FBK*A(5)-K*FBK*A(6)
DADT(7)=K*FBK*A(6)-K*FBK*A(7)
DADT(8)=K*FBK*A(7)-K*FBK*A(8)
DADT(9)=K*FBK*A(8)-K*A(9)
$ERROR
IPRED=A(9)
W=SQRT(THETA(10)**2+(THETA(11)*IPRED)**2)
Y=IPRED+W*EPS(1)
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/(W+0.001)
$THETA
(0,0.0743);IC50
(0,0.881);IMAX
(0,95);MTT
(0,0.498);GAMMA
(0,0.177);DELTA
(0,195);BAS0
(0,273);BAS1
(0,68.2);IT50
(101);IMAT
(0,13.5);ADD
(0,0.19);PROP
$OMEGA
0.439;ETA_IC50
0 FIX;ETA_IMAX
0.0076;ETA_MTT
0.0094;ETA_GAMMA
0.0521;ETA_DELTA
0.152;ETA_BAS0
0 FIX;ETA_IT50
0.709;ETA_IMAT
$OMEGA BLOCK(1) 0.0503
$OMEGA BLOCK(1) SAME
$OMEGA BLOCK(1) SAME
$OMEGA BLOCK(1) 0.0922
$OMEGA BLOCK(1) SAME
$OMEGA BLOCK(1) SAME
$SIGMA
1 FIX;ERR(1)
$COV
MATRIX=S
$ESTIMATION
METHOD=1 PRINT=5 MAX=9999 INTERACTION NOABORT POSTHOC

```

\$TABLE

ID TRID TIME IPRED EVID IWRES AMT MDV STD PATH SCHEMA

IC50 IMAX MTT GAMMA DELTA BAS0 BAS1 BASI BASE IT50 IMAT CP IBIO ICL IKA IQ3 IQ4 IV2 IV3 IV4

ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 ETA7 ETA8 ETA9 ETA10 ETA11 ETA12 ETA13 ETA14

NPDE CWRES DV PRED RES WRES ESAMPLE=1000 SEED=1234567

ONEHEADER NOAPPEND NOPRINT FILE=XXX.TAB

ANNEXE 4

**Code Nonmem (Control Stream) du modèle final de l'Article 3 :
Population pharmacokinetics of peritoneal, plasma ultrafiltrated
and protein-bound oxaliplatin concentrations in patients with
disseminated peritoneal cancer after intraperitoneal
hyperthermic chemoperfusion of oxaliplatin following
cytoreductive surgery: correlation between oxaliplatin exposure
and thrombocytopenia**

```

$PROBLEM Final Model CHIP oxaliplatin
$INPUT ID TIME TT CMT DV AMT EVID MDV SEX WT AGE BSA ALB PROT CREAT TAILLE BMI PATH PRRE IP REG
NBRE DUREE CLCR
$DATA XXX.txt IGNORE=(ID.EQ.'@ID') NULL=.
$SUBROUTINES ADVAN13 TRANS1 TOL=4
$MODEL COMP=(DEPOT) COMP=(CENTRAL) COMP=(PERIF) COMP=(LIE) COMP=(PERIF2)
$PK
OCC1=0
OCC2=0
IF (TIME.LE.TT) OCC1=1
IF (TIME.GT.TT) OCC2=1
;BSA
BSV1=THETA(13)
;PROT
PRKB=THETA(14)
;PARAMETERS
KA=THETA(1)*EXP(ETA(1))
KX=OCC1*KA+OCC2*0
TVV1=THETA(2)*((BSA/1.69)**BSV1)
V1=TVV1*EXP(ETA(2))
V2=THETA(3)*EXP(ETA(3))
K20=THETA(4)*EXP(ETA(4))
Q3=THETA(5)*EXP(ETA(5))
V3=THETA(6)*EXP(ETA(6))
VM=THETA(7)*EXP(ETA(7))
KM=THETA(8)*EXP(ETA(8))
TVKB=THETA(9)*((PROT/42)**PRKB)
KB=TVKB*EXP(ETA(9))
V4=THETA(10)*EXP(ETA(10))
Q5=THETA(11)*EXP(ETA(11))
V5=THETA(12)*EXP(ETA(12))
K23=Q3/V2
K32=Q3/V3
K45=Q5/V4
K54=Q5/V5
S2=V2/1000
S1=V1/1000
S3=V3/1000
S4=V4/1000
S5=V5/1000
$DES
C1=A(1)/S1
C2=A(2)/S2
MM=(VM*C2/(C2+KM))
DADT(1)=-KA*A(1)
DADT(2)=KX*A(1)-K20*A(2)-K23*A(2)+K32*A(3)-MM
DADT(3)=K23*A(2)-K32*A(3)
DADT(4)=MM-KB*A(4)-K45*A(4)+K54*A(5)
DADT(5)=K45*A(4)-K54*A(5)
$THETA
(0,1.42);KA
(0,3.73);V1
(0,22.1);V2
(0,0.191);K20
(0,44.4);Q3

```



```

(0,163);V3
(0,124);VM
(0,5980);KM
(0,4.58);KB
(1 FIX);V4
(0,19.4);Q5
(0,17.5);V5
;COVARIABLES
1.24;BSV1
-0.751;PRKB
$OMEGA
0.0582;IIV KA
0.0275;IIV V1
0.0726;IIV V2
0.495;IIV K20
0.13;IIV Q3
0.0676;IIV V3
0.078;IIV VM
0 FIX;IIV KM
0.03;IIV KB
0 FIX;IIV V4
0.386;IIV Q5
0.0647; IIV V5
$error
DEL=0
IF (F.EQ.0) DEL=1
W=F+DEL
IF (CMT.EQ.1) Y=(F+W*EPS(1))
IF (CMT.EQ.2) Y=(F+W*EPS(2))
IF (CMT.EQ.4) Y=(F+W*EPS(3))
IPRED=F
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W
$SIGMA
0.012 0.0361 0.0522
$EST MAXEVAL=4000 METHOD=1 INTERACTION POSTHOC NOABORT
$COV MATRIX=S
$TABLE ID TIME DV EVID AMT MDV KA V1 V2 V4 Q3 V3 Q5 V5 K20 K23 K32 VM KM KB K45 K54 PRED
SEX WT AGE BSA ALB PROT CREAT TAILLE BMI PATH PRRE IP REG NBRE DUREE CMT NPDE CWRES IPRED IWRES
IRES ETA(1) ETA(2) ETA(3) ETA(4) ETA(5) ETA(6) ETA(7) ETA(9) ETA(11) ETA(12) ESAMPLE=1000 SEED=1234567
ONEHEADER NOAPPEND NOPRINT FILE=XXX.TAB

```

ANNEXE 5

Code Nonmem (Control Stream) du modèle présenté au PAGE Meeting à Venise en 2012 : Semi-mechanistic thrombocytopenia model of a new histone deacetylase inhibitor (HDACi) in development, with a drug-induced apoptosis of megacaryocytes.

```

$PROBLEM Final PKPD Model : MK apoptosis
$INPUT ID TIME AMT EVID CMT DV MDV IBIO ICL IKA IQ3 IQ4 IV2 IV3 IV4 CYCL DAY SCR DOSE
$DATA XXX.data IGNORE=(ID.EQ."@ID",CYCL.GT.1)
$SUBROUTINE ADVAN6, TOL=3
$MODEL
COMP=(DEP);1
COMP=(CENT);2
COMP=(PERIF1);3
COMP=(PERIF2);4
COMP=(PROL);5
COMP=(TRAN1);6
COMP=(TRAN2);7
COMP=(TRAN3);8
COMP=(CIRC);9
$PK
IC50=THETA(1)*EXP(ETA(1))
IMAX=THETA(2)*EXP(ETA(2))
MTT=THETA(3)*EXP(ETA(3))
K=4/MTT
GAMMA=THETA(4)*EXP(ETA(4))
BASE=THETA(5)*EXP(ETA(5))
HILL=THETA(6)*EXP(ETA(6))
SLOPE=THETA(7)*EXP(ETA(7))
;PD
F5=BASE
F6=BASE
F7=BASE
F8=BASE
F9=BASE
K12=IKA
K20=ICL/IV2
K23=IQ3/IV2
K32=IQ3/IV3
K24=IQ4/IV2
K42=IQ4/IV4
V2=IV2/IBIO
S2=V2
$DES
;PK
DADT(1)=-K12*A(1)
DADT(2)=K12*A(1)+K32*A(3)+K42*A(4)-A(2)*(K23+K24+K20)
DADT(3)=K23*A(2)-K32*A(3)
DADT(4)=K24*A(2)-K42*A(4)
CP=A(2)/S2
;PD
E1=IMAX*CP**HILL/(IC50**HILL+CP**HILL)
E2=SLOPE*CP
DADT(5)=K*A(5)*(1-E1)*(BASE/A(9))**GAMMA-K*A(5)
DADT(6)=K*A(5)-K*A(6)
DADT(7)=K*A(6)-K*A(7)
DADT(8)=K*A(7)-K*A(8)-K*E2*A(8)
DADT(9)=K*A(8)-K*A(9)
$ERROR
IPRED=A(9)
W=SQRT(THETA(8)**2+(THETA(9)*IPRED)**2)

```

```
Y=IPRED+W*EPS(1)
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/(W+0.001)
$THETA
(0,0.119);IC50
(1 FIX);IMAX
(0,134);MTT
(0,0.494);GAMMA
(0,268);BASE
(0,0.678);HILL
(0,7.33);SLOPE
(0,27.9);ADD
(0,0.0848);PROP
$OMEGA
(0 FIX);ETA_IC50
(0 FIX);ETA_IMAX
(0 FIX);ETA_MTT
0.205;ETA_GAMMA
0.161;ETA_BASE
0.268;ETA_HILL
(0 FIX);ETA_SLOPE
$SIGMA
1 FIX
$COV
MATRIX=S
$ESTIMATION
METHOD=1 PRINT=5 MAX=9999 INTERACTION NOABORT POSTHOC
$TABLE
ID TRID TIME IPRED EVID IWRES AMT MDV IC50 IMAX MTT GAMMA BASE HILL SLOPE CP IBIO ICL IKA IQ3 IQ4
IV2 IV3 IV4 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 ETA7 NPDE CWRES DV PRED RES WRES
ESAMPLE=500 SEED=1234567
ONEHEADER NOPRINT NOAPPEND FILE=XXX.TAB
```

ANNEXE 6

Poster présenté au PAGE Meeting à Venise en 2012 : Semi-mechanistic thrombocytopenia model of a new histone deacetylase inhibitor (HDACi) in development, with a drug-induced apoptosis of megacaryocytes.

Q. Chalret du Rieu ^{1,2}, S. Fouliard ², M. White-Koning ¹, A. Jacquet ³, I. Kloos ³, S. Depil ³, E. Chatelut ¹, M. Chenel ²

(1) EA4553, Université Paul Sabatier, and Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
 (2) Clinical Pharmacokinetics department, Institut de Recherches Internationales Servier, Suresnes, France
 (3) Oncology business Unit, Institut de Recherches Internationales Servier, Suresnes, France

Introduction

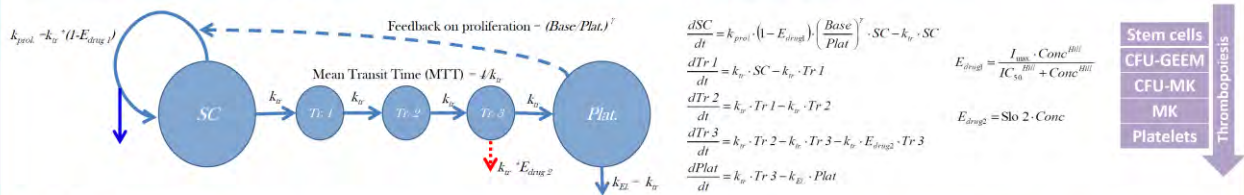
The ability to anticipate haematological toxicity is of great value for optimizing treatment and predicting complications for patients who undergo prolonged periods of myelosuppression. Our work aims at developing a semi-mechanistic thrombocytopenia model of a new HDACi in development, taking into account the pharmacological knowledge on the molecule. Therefore, the aim is to assess the compound effect on both stem cells and megakaryocytes (MK) using modelling and simulation. A second objective is the evaluation of structural and experimental identifiability of these models, in particular the final extended one.

Materials & Methods

Data: Phase I clinical trial

35 patients treated over 4-week cycles, 3 dosing regimens tested
 Oral multiple doses administration
 180 platelets samples (first cycle only, 0-1150.9 hours follow-up period) with a median of 5 samples by patient (range 3-12)

Model building: A **BASIC** model was first developed to describe the time course of platelets using the original model structure from Friberg *et al.* [1,2], with a drug effect on progenitor compartment (E_{drug1}). Several *in vitro* studies show that the mechanism of action of this drug is not only an inhibition of stem cell proliferation, but also an apoptosis of MK, leading to our suggestion of an **EXTENDED** model. A linear drug effect (E_{drug2}) was added on a final transit compartment, as MK are final precursors in the thrombopoiesis. Internal evaluations were performed using Normalized Prediction Distribution Errors (NPDE) graphs.



Identifiability analyses: Analyses were based on a period corresponding to the cycle 1 only. Expected parameter precision of estimation (*i.e.* relative standard error (RSE)) using mathematical derivation of the Fisher Information Matrix (FIM) was computed, for different sampling designs [3].

Structural identifiability: rich design (14 platelets samples every 50 hours during the period 0-700 hours)
Experimental identifiability: sparse design (4 platelets samples as foreseen in the clinical protocol at 0, 170, 300 & 500 hours)

The administration schedule was set to be close to the clinical trial. FIMs were calculated with respectively 21, 6 & 8 patients, half of whom were treated at 60 mg/m² and half at 140 mg/m² according to the respective dosing regimens cited above.

Software: Data were analyzed with **NONMEM 7.2**, **FOCE-I**. Sequential Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (PK/PD) modelling was performed, where individual Bayesian estimates of PK parameters were fixed from a prior PK analysis for subsequent PD modelling. Identifiability analyses were performed using **PFIM 3.2.2** software [3].

Results

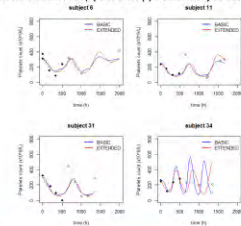
Model building

Final parameter estimates of the BASIC and EXTENDED models

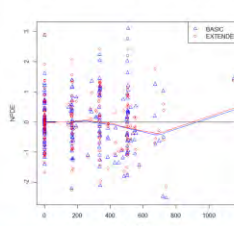
Models	Parameters	Estimates	RSE (%)	BSV (%)	RSE (%)	Sh. Std. (%)
BASIC	k_{sc} (mg mL ⁻¹)	0.278	34	-	-	-
	k_{ap}	1.025	-	-	-	-
	MTT (h)	97.1	3.5	-	-	-
	Gamma	0.348	13.7	40.7	28	15.7
	Base (10 ⁹ L)	208	8.1	39.1	21.1	3.3
	HR	0.697	28.1	41.8	59.1	36.5
	Prop (%)	26.9	12.8	-	-	-
EXTENDED	k_{sc} (mg mL ⁻¹)	0.119	25.7	-	-	-
	k_{ap}	1.173	-	-	-	-
	MTT (h)	118	5.2	-	-	-
	Gamma	0.424	11.8	45.1	35.9	10.5
	Base (10 ⁹ L)	268	9.6	40.1	27.2	2
	HR	0.678	16.4	51.5	41.4	15.2
	Prop (%)	27.9	7.4	-	-	-

RSE (%) Relative Standard Error
 BSV (%) Between-Subject Variability
 Sh. Std. (%) Shrinkage calculated on standard deviation

Individual predictions versus time. For treatment cycle later than 1 Individuals predictions were based on simulation. First (+) and later (-) treatment cycle observations.

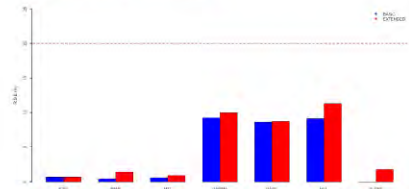


Internal evaluation by NPDE versus time

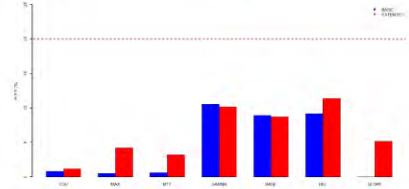


Identifiability analyses

Structural identifiability



Experimental identifiability



Conclusion

Models were evaluated using individual fits analyses, goodness-of-fit plots and NPDE graphs [4], as these methods are particularly adapted in situations such as these with huge data heterogeneity (schedule administration, dosing regimens,...). We showed that both models adequately describe the time-course of platelets following administration of drug S. All these models were shown to be structurally and experimentally identifiable (RSE < 20%), therefore one can expect a good precision of estimation of model parameters for both an experimental and a richer sampling design. **EXTENDED** model described available data as well as the **BASIC** one and consequently a semi-mechanistic thrombocytopenia model which increased pharmacological description of drug effect by mimicking the thrombocytopenic mechanism of drug S was proposed. Although an internal evaluation was done, before endorsing the **EXTENDED** model for this drug, this model must be evaluated on other data (cycle>1, external evaluation with data from others studies).

References

- Friberg LE, Freijja A, Sandstrom M, et al: Semi-physiological model for the time course of leukocytes after varying schedules of 5-fluorouracil in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 295:734-40, 2000
- Friberg LE, Henningson A, Maas H, et al: Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol* 20:4713-21, 2002
- Bazzoli C, Retout S, Mentre F: Design evaluation and optimisation in multiple response nonlinear mixed effect models: PFIM 3.0. *Comput Methods Programs Biomed* 98:55-65
- Brendel K, Comets E, Laffont C, et al: Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of glimepirid. *Pharm Res* 23:2036-49, 2006

BIBLIOGRAPHIE

Reference List

- [1] Kola, I. and Landis, J. (2004) Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* 3(8):711-715
- [2] Danzon, P. M., Nicholson, S., and Pereira, N. S. (2005) Productivity in pharmaceutical-biotechnology R&D: the role of experience and alliances. *J Health Econ* 24(2):317-339
- [3] Dimasi, J. A., Hansen, R. W., and Grabowski, H. G. (2003) The price of innovation: new estimates of drug development costs. *J Health Econ* 22(2):151-185
- [4] Dimasi, J. A., Feldman, L., Seckler, A., and Wilson, A. (2010) Trends in risks associated with new drug development: success rates for investigational drugs. *Clin Pharmacol Ther* 87(3):272-277
- [5] Lou, K. and de Rond, M. (2006) The 'not invented here' myth. *Nat Rev Drug Discov* 5(6):451-452
- [6] Pronker, E. S., Weenen, T. C., Commandeur, H. R., Osterhaus, A. D., and Claassen, H. J. (2011) The gold industry standard for risk and cost of drug and vaccine development revisited. *Vaccine* 29(35):5846-5849
- [7] Struck, M. M. (1996) Vaccine R&D success rates and development times. *Nat Biotechnol* 14(5):591-593
- [8] Dimasi, J. A. and Grabowski, H. G. (2007) Economics of new oncology drug development. *J Clin Oncol* 25(2):209-216
- [9] Booth, B., Glassman, R., and Ma, P. (2003) Oncology's trials. *Nat Rev Drug Discov* 2(8):609-610
- [10] Fédération Européenne d'Associations et d'Industries Pharmaceutiques (EFPIA) (2009) The current state of innovation in the pharmaceutical industry. http://ec.europa.eu/competition/consultations/2009_pharma/efpia.pdf.
- [11] Kola, I. (2008) The state of innovation in drug development. *Clin Pharmacol Ther* 83(2):227-230
- [12] European Medicines Agency (EMA) (2012) Guideline on the evaluation of anticancer medicinal products in man. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/01/WC500137128.pdf.

- [13] Association of the British Pharmaceutical Industry (ABPI) (2012) Guidelines for phase 1 clinical trials. <http://www.abpi.org.uk/our-work/library/guidelines/Pages/phase-1-trials-2012.aspx>.
- [14] American Society of Clinical Oncology (1997) Critical role of phase I clinical trials in cancer treatment. *J Clin Oncol* 15(2):853-859
- [15] Sancho Garcia S. (2008) Research in oncology: legal and ethical aspects. *Clin Transl Oncol* 10(7):383-384
- [16] Parulekar, W. R. and Eisenhauer, E. A. (2002) Novel endpoints and design of early clinical trials. *Ann Oncol* 13 Suppl(4):139-143
- [17] Kurzrock, R. and Benjamin, R. S. (2005) Risks and benefits of phase 1 oncology trials, revisited. *N Engl J Med* 352(9):930-932
- [18] Arbuck, S. G. (1996) Workshop on phase I study design. Ninth NCI/EORTC New Drug Development Symposium, Amsterdam, March 12, 1996. *Ann Oncol* 7(6):567-573
- [19] Ratain, M. J., Mick, R., Schilsky, R. L., and Siegler, M. (1993) Statistical and ethical issues in the design and conduct of phase I and II clinical trials of new anticancer agents. *J Natl Cancer Inst* 85(20):1637-1643
- [20] Eisenhauer, E. A., O'Dwyer, P. J., Christian, M., and Humphrey, J. S. (2000) Phase I clinical trial design in cancer drug development. *J Clin Oncol* 18(3):684-692
- [21] Von Hoff, D. D. and Turner, J. (1991) Response rates, duration of response, and dose response effects in phase I studies of antineoplastics. *Invest New Drugs* 9(1):115-122
- [22] DeGeorge, J. J., Ahn, C. H., Andrews, P. A., Brower, M. E., Giorgio, D. W., Goheer, M. A., Lee-Ham, D. Y., McGuinn, W. D., Schmidt, W., Sun, C. J., and Tripathi, S. C. (1998) Regulatory considerations for preclinical development of anticancer drugs. *Cancer Chemother Pharmacol* 41(3):173-185
- [23] Kummar, S., Gutierrez, M., Doroshow, J. H., and Murgo, A. J. (2006) Drug development in oncology: classical cytotoxics and molecularly targeted agents. *Br J Clin Pharmacol* 62(1):15-26
- [24] Korn, E. L., Arbuck, S. G., Pluda, J. M., Simon, R., Kaplan, R. S., and Christian, M. C. (2001) Clinical trial designs for cytostatic agents: are new approaches needed? *J Clin Oncol* 19(1):265-272
- [25] Le Tourneau, C., Lee, J. J., and Siu, L. L. (2009) Dose escalation methods in phase I cancer clinical trials. *J Natl Cancer Inst* 101(10):708-720
- [26] Postel-Vinay, S., Arkenau, H. T., Olmos, D., Ang, J., Barriuso, J., Ashley, S., Banerji, U., De Bono, J., Judson, I., and Kaye, S. (2009) Clinical benefit in Phase-I trials of novel molecularly targeted agents: does dose matter? *Br J Cancer* 100(9):1373-1378

- [27] Cannistra, S. A. (2008) Challenges and pitfalls of combining targeted agents in phase I studies. *J Clin Oncol* 26(22):3665-3667
- [28] Parulekar, W. R. and Eisenhauer, E. A. (2004) Phase I trial design for solid tumor studies of targeted, non-cytotoxic agents: theory and practice. *J Natl Cancer Inst* 96(13):990-997
- [29] Sleijfer, S. and Wiemer, E. (2008) Dose selection in phase I studies: why we should always go for the top. *J Clin Oncol* 26(10):1576-1578
- [30] Booth, C. M., Calvert, A. H., Giaccone, G., Lobbezoo, M. W., Seymour, L. K., and Eisenhauer, E. A. (2008) Endpoints and other considerations in phase I studies of targeted anticancer therapy: recommendations from the task force on Methodology for the Development of Innovative Cancer Therapies (MDICT). *Eur J Cancer* 44(1):19-24
- [31] Banerji, U., De Bono, J., Judson, I., Kaye, S., and Workman, P. (2008) Biomarkers in early clinical trials: the committed and the skeptics. *Clin Cancer Res* 14(8):2512-2514
- [32] Ratain, M. J. and Glassman, R. H. (2007) Biomarkers in phase I oncology trials: signal, noise, or expensive distraction? *Clin Cancer Res* 13(22 Pt 1):6545-6548
- [33] Salzberg, M. (2012) First-in-Human Phase 1 Studies in Oncology: The New Challenge for Investigative Sites. *Rambam Maimonides Med J* 3(2)e0007-
- [34] Paoletti, X., Postel-Vinay, S., Servois, V., Doussau, A., Ollivier, L., and Le Tourneau, C. (2010) [Dose finding methods for targeted agents: new perspectives]. *Bull Cancer* 97(12):1485-1495
- [35] Borden, E. C. and Dowlati, A. (2012) Phase I trials of targeted anticancer drugs: a need to refocus. *Nat Rev Drug Discov* 11(12):889-890
- [36] Goodwin, R., Giaccone, G., Calvert, H., Lobbezoo, M., and Eisenhauer, E. A. (2012) Targeted agents: how to select the winners in preclinical and early clinical studies? *Eur J Cancer* 48(2):170-178
- [37] Roberts, T. G., Jr., Goulart, B. H., Squitieri, L., Stallings, S. C., Halpern, E. F., Chabner, B. A., Gazelle, G. S., Finkelstein, S. N., and Clark, J. W. (2004) Trends in the risks and benefits to patients with cancer participating in phase 1 clinical trials. *JAMA* 292(17):2130-2140
- [38] Seidenfeld, J., Horstmann, E., Emanuel, E. J., and Grady, C. (2008) Participants in phase 1 oncology research trials: are they vulnerable? *Arch Intern Med* 168(1):16-20
- [39] Murthy, V. H., Krumholz, H. M., and Gross, C. P. (2004) Participation in cancer clinical trials: race-, sex-, and age-based disparities. *JAMA* 291(22):2720-2726

- [40] Olmos, D., A'hern, R. P., Marsoni, S., Morales, R., Gomez-Roca, C., Verweij, J., Voest, E. E., Schoffski, P., Ang, J. E., Penel, N., Schellens, J. H., Del Conte, G., Brunetto, A. T., Evans, T. R., Wilson, R., Gallerani, E., Plummer, R., Tabernero, J., Soria, J. C., and Kaye, S. B. (2012) Patient selection for oncology phase I trials: a multi-institutional study of prognostic factors. *J Clin Oncol* 30(9):996-1004
- [41] de Bono, J. S. and Ashworth, A. (2010) Translating cancer research into targeted therapeutics. *Nature* 467(7315):543-549
- [42] Gutierrez, M. E., Kummar, S., and Giaccone, G. (2009) Next generation oncology drug development: opportunities and challenges. *Nat Rev Clin Oncol* 6(5):259-265
- [43] Verweij, J., de Jonge, M., Eskens, F., and Sleijfer, S. (2012) Moving molecular targeted drug therapy towards personalized medicine: issues related to clinical trial design. *Mol Oncol* 6(2):196-203
- [44] Hollebecque, A., Postel-Vinay, S., Verweij, J., Demetri, G. D., Flaherty, K., Bedard, P., and Soria, J. C. (2013) Modifying phase I methodology to facilitate enrolment of molecularly selected patients. *Eur J Cancer* 49(7):1515-1520
- [45] Dowlati, A., Manda, S., Gibbons, J., Remick, S. C., Patrick, L., and Fu, P. (2008) Multi-institutional phase I trials of anticancer agents. *J Clin Oncol* 26(12):1926-1931
- [46] Comis, R. L., Miller, J. D., Aldige, C. R., Krebs, L., and Stoval, E. (2003) Public attitudes toward participation in cancer clinical trials. *J Clin Oncol* 21(5):830-835
- [47] Chen, E. X. and Tannock, I. F. (2004) Risks and benefits of phase 1 clinical trials evaluating new anticancer agents: a case for more innovation. *JAMA* 292(17):2150-2151
- [48] Sekine, I., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., and Saijo, N. (2002) Relationship between objective responses in phase I trials and potential efficacy of non-specific cytotoxic investigational new drugs. *Ann Oncol* 13(8):1300-1306
- [49] National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research (1979) *The Belmont Report: Ethical Principles and Guidelines for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research*. Washington, DC., US Government Printing Office.
- [50] Rickham, P. P. (1964) HUMAN EXPERIMENTATION. CODE OF ETHICS OF THE WORLD MEDICAL ASSOCIATION. DECLARATION OF HELSINKI. *Br Med J* 2(5402):177-
- [51] Oberman, M. and Frader, J. (2003) Dying children and medical research: access to clinical trials as benefit and burden. *Am J Law Med* 29(2-3):301-317

- [52] Daugherty, C., Ratain, M. J., Grochowski, E., Stocking, C., Kodish, E., Mick, R., and Siegler, M. (1995) Perceptions of cancer patients and their physicians involved in phase I trials. *J Clin Oncol* 13(5):1062-1072
- [53] Daugherty, C. K., Banik, D. M., Janish, L., and Ratain, M. J. (2000) Quantitative analysis of ethical issues in phase I trials: a survey interview of 144 advanced cancer patients. *IRB* 22(3):6-14
- [54] Weinfurt, K. P., Castel, L. D., Li, Y., Sulmasy, D. P., Balshem, A. M., Benson, A. B., III, Burnett, C. B., Gaskin, D. J., Marshall, J. L., Slater, E. F., Schulman, K. A., and Meropol, N. J. (2003) The correlation between patient characteristics and expectations of benefit from Phase I clinical trials. *Cancer* 98(1):166-175
- [55] Yoder, L. H., O'Rourke, T. J., Etnyre, A., Spears, D. T., and Brown, T. D. (1997) Expectations and experiences of patients with cancer participating in phase I clinical trials. *Oncol Nurs Forum* 24(5):891-896
- [56] Agrawal, M. and Emanuel, E. J. (2003) Ethics of phase 1 oncology studies: reexamining the arguments and data. *JAMA* 290(8):1075-1082
- [57] Laetz, T. and Silberman, G. (1991) Reimbursement policies constrain the practice of oncology. *JAMA* 266(21):2996-2999
- [58] Mack, J. W., Hilden, J. M., Watterson, J., Moore, C., Turner, B., Grier, H. E., Weeks, J. C., and Wolfe, J. (2005) Parent and physician perspectives on quality of care at the end of life in children with cancer. *J Clin Oncol* 23(36):9155-9161
- [59] Joffe, S. and Miller, F. G. (2006) Rethinking risk-benefit assessment for phase I cancer trials. *J Clin Oncol* 24(19):2987-2990
- [60] Daugherty, C. K. (1999) Impact of therapeutic research on informed consent and the ethics of clinical trials: a medical oncology perspective. *J Clin Oncol* 17(5):1601-1617
- [61] Horng, S., Emanuel, E. J., Wilfond, B., Rackoff, J., Martz, K., and Grady, C. (2002) Descriptions of benefits and risks in consent forms for phase 1 oncology trials. *N Engl J Med* 347(26):2134-2140
- [62] Meropol, N. J., Weinfurt, K. P., Burnett, C. B., Balshem, A., Benson, A. B., III, Castel, L., Corbett, S., Diefenbach, M., Gaskin, D., Li, Y., Manne, S., Marshall, J., Rowland, J. H., Slater, E., Sulmasy, D. P., Van Echo, D., Washington, S., and Schulman, K. A. (2003) Perceptions of patients and physicians regarding phase I cancer clinical trials: implications for physician-patient communication. *J Clin Oncol* 21(13):2589-2596
- [63] Pentz, R. D., White, M., Harvey, R. D., Farmer, Z. L., Liu, Y., Lewis, C., Dashevskaya, O., Owonikoko, T., and Khuri, F. R. (2012) Therapeutic misconception, misestimation, and optimism in participants enrolled in phase 1 trials. *Cancer* 118(18):4571-4578

- [64] Decoster, G., Stein, G., and Holdener, E. E. (1990) Responses and toxic deaths in phase I clinical trials. *Ann Oncol* 1(3):175-181
- [65] Horstmann, E., McCabe, M. S., Grochow, L., Yamamoto, S., Rubinstein, L., Budd, T., Shoemaker, D., Emanuel, E. J., and Grady, C. (2005) Risks and benefits of phase 1 oncology trials, 1991 through 2002. *N Engl J Med* 352(9):895-904
- [66] Koyfman, S. A., Agrawal, M., Garrett-Mayer, E., Krohmal, B., Wolf, E., Emanuel, E. J., and Gross, C. P. (2007) Risks and benefits associated with novel phase 1 oncology trial designs. *Cancer* 110(5):1115-1124
- [67] Hutchison, C. (1998) Phase I trials in cancer patients: participants' perceptions. *Eur J Cancer Care (Engl)* 7(1):15-22
- [68] Moore, S. (2001) A need to try everything: patient participation in phase I trials. *J Adv Nurs* 33(6):738-747
- [69] Itoh, K., Sasaki, Y., Miyata, Y., Fujii, H., Ohtsu, T., Wakita, H., Igarashi, T., and Abe, K. (1994) Therapeutic response and potential pitfalls in phase I clinical trials of anticancer agents conducted in Japan. *Cancer Chemother Pharmacol* 34(6):451-454
- [70] Postel-Vinay, S., Gomez-Roca, C., Molife, L. R., Anghan, B., Levy, A., Judson, I., De Bono, J., Soria, J. C., Kaye, S., and Paoletti, X. (2011) Phase I trials of molecularly targeted agents: should we pay more attention to late toxicities? *J Clin Oncol* 29(13):1728-1735
- [71] Molife, L. R., Alam, S., Olmos, D., Puglisi, M., Shah, K., Fehrmann, R., Trani, L., Tjokrowidjaja, A., de Bono, J. S., Banerji, U., and Kaye, S. B. (2012) Defining the risk of toxicity in phase I oncology trials of novel molecularly targeted agents: a single centre experience. *Ann Oncol* 23(8):1968-1973
- [72] Collins, J. M., Zaharko, D. S., Dedrick, R. L., and Chabner, B. A. (1986) Potential roles for preclinical pharmacology in phase I clinical trials. *Cancer Treat Rep* 70(1):73-80
- [73] Dixon, W. J. and Mood, A. M. (1948) A method for obtaining and analysing sensitivity data. *J Amer Stat Assoc* 43:109-126
- [74] Storer, B. E. (1989) Design and analysis of phase I clinical trials. *Biometrics* 45(3):925-937
- [75] Rogatko, A., Schoeneck, D., Jonas, W., Tighiouart, M., Khuri, F. R., and Porter, A. (2007) Translation of innovative designs into phase I trials. *J Clin Oncol* 25(31):4982-4986
- [76] Le Tourneau, C., Gan, H. K., Razak, A. R., and Paoletti, X. (2012) Efficiency of new dose escalation designs in dose-finding phase I trials of molecularly targeted agents. *PLoS One* 7(12):e51039-

- [77] Faries, D. (1994) Practical modifications of the continual reassessment method for phase I cancer clinical trials. *J Biopharm Stat* 4(2):147-164
- [78] Simon, R., Freidlin, B., Rubinstein, L., Arbuck, S. G., Collins, J., and Christian, M. C. (1997) Accelerated titration designs for phase I clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst* 89(15):1138-1147
- [79] Plummer, R., Ghelmini, M., Calvert, P., Voi, M., Renard, J., Gallant, G., Gupta, E., Calvert, H., and Sessa, C. (2002) Phase I and pharmacokinetic study of the new taxane analog BMS-184476 given weekly in patients with advanced malignancies. *Clin Cancer Res* 8(9):2788-2797
- [80] Le Tourneau, C., Faivre, S., Raymond, E., and Dieras, V. (2007) Phase I cancer trials methodology. *Bull Cancer* 94(11):943-951
- [81] Collins, J. M., Grieshaber, C. K., and Chabner, B. A. (1990) Pharmacologically guided phase I clinical trials based upon preclinical drug development. *J Natl Cancer Inst* 82(16):1321-1326
- [82] O'Quigley, J., Pepe, M., and Fisher, L. (1990) Continual reassessment method: a practical design for phase 1 clinical trials in cancer. *Biometrics* 46(1):33-48
- [83] Congdon, P. (2001) Introduction: The Bayesian Method, its Benefits and Implementation. Wiley, p1-9
- [84] Korn, E. L., Midthune, D., Chen, T. T., Rubinstein, L. V., Christian, M. C., and Simon, R. M. (1994) A comparison of two phase I trial designs. *Stat Med* 13(18):1799-1806
- [85] Goodman, S. N., Zahurak, M. L., and Piantadosi, S. (1995) Some practical improvements in the continual reassessment method for phase I studies. *Stat Med* 14(11):1149-1161
- [86] Heyd, J. M. and Carlin, B. P. (1999) Adaptive design improvements in the continual reassessment method for phase I studies. *Stat Med* 18(11):1307-1321
- [87] Piantadosi, S., Fisher, J. D., and Grossman, S. (1998) Practical implementation of a modified continual reassessment method for dose-finding trials. *Cancer Chemother Pharmacol* 41(6):429-436
- [88] Moller, S. (1995) An extension of the continual reassessment methods using a preliminary up-and-down design in a dose finding study in cancer patients, in order to investigate a greater range of doses. *Stat Med* 14(9-10):911-922
- [89] O'Quigley, J. and Chevret, S. (1991) Methods for dose finding studies in cancer clinical trials: a review and results of a Monte Carlo study. *Stat Med* 10(11):1647-1664
- [90] Babb, J., Rogatko, A., and Zacks, S. (1998) Cancer phase I clinical trials: efficient dose escalation with overdose control. *Stat Med* 17(10):1103-1120

- [91] Rogatko, A., Babb, J. S., Tighiouart, M., Khuri, F. R., and Hudes, G. (2005) New paradigm in dose-finding trials: patient-specific dosing and beyond phase I. *Clin Cancer Res* 11(15):5342-5346
- [92] Zhou, Y. (2004) Choice of designs and doses for early phase trials. *Fundam Clin Pharmacol* 18(3):373-378
- [93] Thall, P. F., Estey, E. H., and Sung, H. G. (1999) A new statistical method for dose-finding based on efficacy and toxicity in early phase clinical trials. *Invest New Drugs* 17(2):155-167
- [94] Thall, P. F. and Cook, J. D. (2004) Dose-finding based on efficacy-toxicity trade-offs. *Biometrics* 60(3):684-693
- [95] Braun, T. M. (2002) The bivariate continual reassessment method. extending the CRM to phase I trials of two competing outcomes. *Control Clin Trials* 23(3):240-256
- [96] Cheung, Y. K. and Chappell, R. (2000) Sequential designs for phase I clinical trials with late-onset toxicities. *Biometrics* 56(4):1177-1182
- [97] Braun, T. M., Levine, J. E., and Ferrara, J. L. (2003) Determining a maximum tolerated cumulative dose: dose reassignment within the TITE-CRM. *Control Clin Trials* 24(6):669-681
- [98] Penel, N., Isambert, N., Leblond, P., Ferte, C., Duhamel, A., and Bonnetterre, J. (2009) "Classical 3 + 3 design" versus "accelerated titration designs": analysis of 270 phase 1 trials investigating anti-cancer agents. *Invest New Drugs* 27(6):552-556
- [99] Hunsberger, S., Rubinstein, L. V., Dancey, J., and Korn, E. L. (2005) Dose escalation trial designs based on a molecularly targeted endpoint. *Stat Med* 24(14):2171-2181
- [100] Yin, G., Li, Y., and Ji, Y. (2006) Bayesian dose-finding in phase I/II clinical trials using toxicity and efficacy odds ratios. *Biometrics* 62(3):777-784
- [101] Zhang, W., Sargent, D. J., and Mandrekar, S. (2006) An adaptive dose-finding design incorporating both toxicity and efficacy. *Stat Med* 25(14):2365-2383
- [102] Manolis, E., Rohou, S., Hemmings, R., Salmonson, T., Karlsson, M., and Milligan, P. A. (2013) The Role of Modeling and Simulation in Development and Registration of Medicinal Products: Output From the EFPIA/EMA Modeling and Simulation Workshop. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2e31-
- [103] Powell, J. R. and Gobburu, J. V. (2007) Pharmacometrics at FDA: evolution and impact on decisions. *Clin Pharmacol Ther* 82(1):97-102
- [104] Patterson, S. D. (2010) Experiences with learning and confirming in drug and biological development. *Clin Pharmacol Ther* 88(2):161-163

- [105] Zhang, L., Pfister, M., and Meibohm, B. (2008) Concepts and challenges in quantitative pharmacology and model-based drug development. *AAPS J* 10(4):552-559
- [106] Food and Drug Administration (2004) Innovation or stagnation? Challenge and opportunity on the critical path to new medical products. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/2004-4052B1_11_ExecSum-Critical-Path.pdf.
- [107] Lalonde, R. L., Kowalski, K. G., Hutmacher, M. M., Ewy, W., Nichols, D. J., Milligan, P. A., Corrigan, B. W., Lockwood, P. A., Marshall, S. A., Benincosa, L. J., Tensfeldt, T. G., Parivar, K., Amantea, M., Glue, P., Koide, H., and Miller, R. (2007) Model-based drug development. *Clin Pharmacol Ther* 82(1):21-32
- [108] Sheiner, L. B. (1997) Learning versus confirming in clinical drug development. *Clin Pharmacol Ther* 61(3):275-291
- [109] Van Kesteren, Ch., Mathot, R. A., Beijnen, J. H., and Schellens, J. H. (2003) Pharmacokinetic-pharmacodynamic guided trial design in oncology. *Invest New Drugs* 21(2):225-241
- [110] Aarons, L., Karlsson, M. O., Mentre, F., Rombout, F., Steimer, J. L., and Van Peer, A. (2001) Role of modelling and simulation in Phase I drug development. *Eur J Pharm Sci* 13(2):115-122
- [111] Sparreboom, A. and Karlsson, M. O. (2003) Introduction: Role of modeling and simulation in clinical development of anticancer agents. *Invest New Drugs* 21:139-140
- [112] Karlsson, M. O., Anehall, T., Friberg, L. E., Henningsson, A., Kloft, C., Sandstrom, M., and Xie, R. (2005) Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling in oncological drug development. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 96(3):206-211
- [113] Sheiner, L. B., Rosenberg, B., and Melmon, K. L. (1972) Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput Biomed Res* 5(5):411-459
- [114] Sheiner, L. B. and Beal, S. L. (1980) Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetics parameters. I. Michaelis-Menten model: routine clinical pharmacokinetic data. *J Pharmacokinet Biopharm* 8(6):553-571
- [115] Chaikin, P., Rhodes, G. R., Bruno, R., Rohatagi, S., and Natarajan, C. (2000) Pharmacokinetics/pharmacodynamics in drug development: an industrial perspective. *J Clin Pharmacol* 40(12 Pt 2):1428-1438
- [116] Gieschke, R. and Steimer, J. L. (2000) Pharmacometrics: modelling and simulation tools to improve decision making in clinical drug development. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 25(1):49-58

- [117] Aarons, L. (1991) Population pharmacokinetics: theory and practice. *Br J Clin Pharmacol* 32(6):669-670
- [118] Csajka, C. and Verotta, D. (2006) Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling: history and perspectives. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 33(3):227-279
- [119] Ette, E. I. and Williams, P. J. (2004) Population pharmacokinetics I: background, concepts, and models. *Ann Pharmacother* 38(10):1702-1706
- [120] Samara, E. and Granneman, R. (1997) Role of population pharmacokinetics in drug development. A pharmaceutical industry perspective. *Clin Pharmacokinet* 32(4):294-312
- [121] Karlsson, M. O. and Sheiner, L. B. (1993) The importance of modeling interoccasion variability in population pharmacokinetic analyses. *J Pharmacokinet Biopharm* 21(6):735-750
- [122] European Medicines Agency (EMA) (2007) Guideline on reporting the results of population pharmacokinetic analyses. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003067.pdf.
- [123] Wahlby, U., Jonsson, E. N., and Karlsson, M. O. (2001) Assessment of actual significance levels for covariate effects in NONMEM. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 28(3):231-252
- [124] Jonsson, E. N. and Karlsson, M. O. (1998) Automated covariate model building within NONMEM. *Pharm Res* 15(9):1463-1468
- [125] Karlsson, M. O. and Savic, R. M. (2007) Diagnosing model diagnostics. *Clin Pharmacol Ther* 82(1):17-20
- [126] Savic, R. M. and Karlsson, M. O. (2009) Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: problems and solutions. *AAPS J* 11(3):558-569
- [127] Mould, D. R. and Upton, R. N. (2012) Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 1e6-
- [128] Sheiner, L. B. and Steimer, J. L. (2000) Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in drug development. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40:67-95
- [129] Bonate, P. L. (2000) Clinical trial simulation in drug development. *Pharm Res* 17(3):252-256
- [130] Miller, R., Ewy, W., Corrigan, B. W., Ouellet, D., Hermann, D., Kowalski, K. G., Lockwood, P., Koup, J. R., Donevan, S., El-Kattan, A., Li, C. S., Werth, J. L., Feltner, D.

- E., and Lalonde, R. L. (2005) How modeling and simulation have enhanced decision making in new drug development. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 32(2):185-197
- [131] Lee, J. Y., Garnett, C. E., Gobburu, J. V., Bhattaram, V. A., Brar, S., Earp, J. C., Jadhav, P. R., Krudys, K., Lesko, L. J., Li, F., Liu, J., Madabushi, R., Marathe, A., Mehrotra, N., Tornoe, C., Wang, Y., and Zhu, H. (2011) Impact of pharmacometric analyses on new drug approval and labelling decisions: a review of 198 submissions between 2000 and 2008. *Clin Pharmacokinet* 50(10):627-635
- [132] Conti, R., Veenstra, D. L., Armstrong, K., Lesko, L. J., and Grosse, S. D. (2010) Personalized medicine and genomics: challenges and opportunities in assessing effectiveness, cost-effectiveness, and future research priorities. *Med Decis Making* 30(3):328-340
- [133] Simon, N. (2006) *Pharmacocinétique de population. Introduction à NONMEM*. Solal, p13-16
- [134] Wagner, J. G. (1975) *Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics*. Drug Intelligence Publications Inc.,
- [135] Delord, J. P., Umlil, A., Guimbaud, R., Gregoire, N., Lafont, T., Canal, P., Bugat, R., and Chatelut, E. (2003) Population pharmacokinetics of oxaliplatin. *Cancer Chemother Pharmacol* 51(2):127-131
- [136] Thushara, R. M., Hemshekhar, M., Kemparaju, K., Rangappa, K. S., Devaraja, S., and Girish, K. S. (2013) Therapeutic drug-induced platelet apoptosis: an overlooked issue in pharmacotoxicology. *Arch Toxicol* 88(2):185-198
- [137] Kaushansky, K. (2008) Historical review: megakaryopoiesis and thrombopoiesis. *Blood* 111(3):981-986
- [138] Deutsch, V. R. and Tomer, A. (2006) Megakaryocyte development and platelet production. *Br J Haematol* 134(5):453-466
- [139] Kaushansky, K. (2005) The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest* 115(12):3339-3347
- [140] Blache, D. (1992) [Structure and function of blood platelets]. *Arch Int Physiol Biochim Biophys* 100(4):A17-A24
- [141] George, J. N. (2000) Platelets. *Lancet* 355(9214):1531-1539
- [142] Andrews, R. K. and Berndt, M. C. (2004) Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res* 114(5-6):447-453
- [143] Wang, Y., Andrews, M., Yang, Y., Lang, S., Jin, J. W., Cameron-Vendrig, A., Zhu, G., Reheman, A., and Ni, H. (2012) Platelets in thrombosis and hemostasis: old topic with new mechanisms. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 12(2):126-132

- [144] Jackson, S. P., Nesbitt, W. S., and Kulkarni, S. (2003) Signaling events underlying thrombus formation. *J Thromb Haemost* 1(7):1602-1612
- [145] Kroll, M. H., Hellums, J. D., McIntire, L. V., Schafer, A. I., and Moake, J. L. (1996) Platelets and shear stress. *Blood* 88(5):1525-1541
- [146] Nieswandt, B. and Watson, S. P. (2003) Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? *Blood* 102(2):449-461
- [147] Andrews, R. K., Gardiner, E. E., Shen, Y., and Berndt, M. C. (2004) Platelet interactions in thrombosis. *IUBMB Life* 56(1):13-18
- [148] Till, J. E. and McCulloch, E. A. (1961) A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 14:213-222
- [149] Tomer, A., Friese, P., Conklin, R., Bales, W., Archer, L., Harker, L. A., and Burstein, S. A. (1989) Flow cytometric analysis of megakaryocytes from patients with abnormal platelet counts. *Blood* 74(2):594-601
- [150] Kaushansky, K. (2009) Determinants of platelet number and regulation of thrombopoiesis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 147-152
- [151] Patel, S. R., Hartwig, J. H., and Italiano, J. E., Jr. (2005) The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. *J Clin Invest* 115(12):3348-3354
- [152] Italiano, J. E., Jr., Lecine, P., Shivdasani, R. A., and Hartwig, J. H. (1999) Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. *J Cell Biol* 147(6):1299-1312
- [153] Kaushansky, K. (1997) Thrombopoietin: basic biology and clinical promise. *Leukemia* 11 Suppl(3):426-427
- [154] Kaushansky, K. (2003) Thrombopoietin: a tool for understanding thrombopoiesis. *J Thromb Haemost* 1(7):1587-1592
- [155] Schulze, H. and Shivdasani, R. A. (2005) Mechanisms of thrombopoiesis. *J Thromb Haemost* 3(8):1717-1724
- [156] Kenney, B. and Stack, G. (2009) Drug-induced thrombocytopenia. *Arch Pathol Lab Med* 133(2):309-314
- [157] National Cancer Institute (NCI) (2012) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 4.0. http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf.
- [158] Jardim, D. L., Rodrigues, C. A., Novis, Y. A., Rocha, V. G., and Hoff, P. M. (2012) Oxaliplatin-related thrombocytopenia. *Ann Oncol* 23(8):1937-1942

- [159] George, J. N. and Aster, R. H. (2009) Drug-induced thrombocytopenia: pathogenesis, evaluation, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 153-158
- [160] Patnode, N. M. and Gandhi, P. J. (2000) Drug-induced thrombocytopenia in the coronary care unit. *J Thromb Thrombolysis* 10(2):155-167
- [161] George, J. N., Raskob, G. E., Shah, S. R., Rizvi, M. A., Hamilton, S. A., Osborne, S., and Vondracek, T. (1998) Drug-induced thrombocytopenia: a systematic review of published case reports. *Ann Intern Med* 129(11):886-890
- [162] Visentin, G. P. and Liu, C. Y. (2007) Drug-induced thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am* 21(4):685-96, vi
- [163] George, J. N. (2012) Drug-Induced Thrombocytopenia. <http://www.ouhsc.edu/platelets/ditp.html>.
- [164] Curtis, B. R., Kaliszewski, J., Marques, M. B., Saif, M. W., Nabelle, L., Blank, J., McFarland, J. G., and Aster, R. H. (2006) Immune-mediated thrombocytopenia resulting from sensitivity to oxaliplatin. *Am J Hematol* 81(3):193-198
- [165] Carey, P. J. (2003) Drug-induced myelosuppression : diagnosis and management. *Drug Saf* 26(10):691-706
- [166] Ali, A., Bluteau, O., Messaoudi, K., Palazzo, A., Boukour, S., Lordier, L., Lecluse, Y., Rameau, P., Kraus-Berthier, L., Jacquet-Bescond, A., Lelievre, H., Depil, S., Dessen, P., Solary, E., Raslova, H., Vainchenker, W., Plo, I., and Debili, N. (2013) Thrombocytopenia induced by the histone deacetylase inhibitor abexinostat involves p53-dependent and -independent mechanisms. *Cell Death.Dis.* 4e738-
- [167] Iancu-Rubin, C., Gajzer, D., Mosoyan, G., Feller, F., Mascarenhas, J., and Hoffman, R. (2012) Panobinostat (LBH589)-induced acetylation of tubulin impairs megakaryocyte maturation and platelet formation. *Exp Hematol* 40(7):564-574
- [168] Goldberg, G. L., Gibbon, D. G., Smith, H. O., DeVictoria, C., Runowicz, C. D., and Burns, E. R. (1994) Clinical impact of chemotherapy-induced thrombocytopenia in patients with gynecologic cancer. *J Clin Oncol* 12(11):2317-2320
- [169] Liou, S. Y., Stephens, J. M., Carpiuc, K. T., Feng, W., Botteman, M. F., and Hay, J. W. (2007) Economic burden of haematological adverse effects in cancer patients: a systematic review. *Clin Drug Investig* 27(6):381-396
- [170] Wu, Y., Aravind, S., Ranganathan, G., Martin, A., and Nalysnyk, L. (2009) Anemia and thrombocytopenia in patients undergoing chemotherapy for solid tumors: a descriptive study of a large outpatient oncology practice database, 2000-2007. *Clin Ther* 31 Pt 2:2416-2432
- [171] Younes, A., Sureda, A., Ben-Yehuda, D., Zinzani, P. L., Ong, T. C., Prince, H. M., Harrison, S. J., Kirschbaum, M., Johnston, P., Gallagher, J., Le Corre, C., Shen, A., and

- Engert, A. (2012) Panobinostat in patients with relapsed/refractory Hodgkin's lymphoma after autologous stem-cell transplantation: results of a phase II study. *J Clin Oncol* 30(18):2197-2203
- [172] Stasi, R., Bosworth, J., Rhodes, E., Shannon, M. S., Willis, F., and Gordon-Smith, E. C. (2010) Thrombopoietic agents. *Blood Rev* 24(4-5):179-190
- [173] GAYDOS, L. A., FREIREICH, E. J., and MANTEL, N. (1962) The quantitative relation between platelet count and hemorrhage in patients with acute leukemia. *N Engl J Med* 266:905-909
- [174] Belt, R. J., Leite, C., Haas, C. D., and Stephens, R. L. (1978) Incidence of hemorrhagic complications in patients with cancer. *JAMA* 239(24):2571-2574
- [175] Elting, L. S., Rubenstein, E. B., Martin, C. G., Kurtin, D., Rodriguez, S., Laiho, E., Kanesan, K., Cantor, S. B., and Benjamin, R. S. (2001) Incidence, cost, and outcomes of bleeding and chemotherapy dose modification among solid tumor patients with chemotherapy-induced thrombocytopenia. *J Clin Oncol* 19(4):1137-1146
- [176] Elting, L. S., Cantor, S. B., Martin, C. G., Hamblin, L., Kurtin, D., Rivera, E., Vadhan-Raj, S., and Benjamin, R. S. (2003) Cost of chemotherapy-induced thrombocytopenia among patients with lymphoma or solid tumors. *Cancer* 97(6):1541-1550
- [177] Savarese, D. M., Hsieh, C., and Stewart, F. M. (1997) Clinical impact of chemotherapy dose escalation in patients with hematologic malignancies and solid tumors. *J Clin Oncol* 15(8):2981-2995
- [178] Schiffer, C. A., Anderson, K. C., Bennett, C. L., Bernstein, S., Elting, L. S., Goldsmith, M., Goldstein, M., Hume, H., McCullough, J. J., McIntyre, R. E., Powell, B. L., Rainey, J. M., Rowley, S. D., Rebutta, P., Troner, M. B., and Wagnon, A. H. (2001) Platelet transfusion for patients with cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 19(5):1519-1538
- [179] Beutler, E. (1993) Platelet transfusions: the 20,000/microL trigger. *Blood* 81(6):1411-1413
- [180] Bishton, M. J., Harrison, S. J., Martin, B. P., McLaughlin, N., James, C., Josefsson, E. C., Henley, K. J., Kile, B. T., Prince, H. M., and Johnstone, R. W. (2011) Deciphering the molecular and biologic processes that mediate histone deacetylase inhibitor-induced thrombocytopenia. *Blood* 117(13):3658-3668
- [181] Bhatia, M., Davenport, V., and Cairo, M. S. (2007) The role of interleukin-11 to prevent chemotherapy-induced thrombocytopenia in patients with solid tumors, lymphoma, acute myeloid leukemia and bone marrow failure syndromes. *Leuk Lymphoma* 48(1):9-15
- [182] Kuter, D. J. (2007) New thrombopoietic growth factors. *Blood* 109(11):4607-4616

- [183] Tsimberidou, A. M., Giles, F. J., Khouri, I., Bueso-Ramos, C., Pilat, S., Thomas, D. A., Cortes, J., and Kurzrock, R. (2005) Low-dose interleukin-11 in patients with bone marrow failure: update of the M. D. Anderson Cancer Center experience. *Ann Oncol* 16(1):139-145
- [184] Testart-Paillet, D., Girard, P., You, B., Freyer, G., Pobel, C., and Tranchand, B. (2007) Contribution of modelling chemotherapy-induced hematological toxicity for clinical practice. *Crit Rev Oncol Hematol* 63(1):1-11
- [185] Friberg, L. E., Henningsson, A., Maas, H., Nguyen, L., and Karlsson, M. O. (2002) Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol* 20(24):4713-4721
- [186] Sasaki, T., Takane, H., Ogawa, K., Isagawa, S., Hirota, T., Higuchi, S., Horii, T., Otsubo, K., and Ieiri, I. (2011) Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of linezolid and a hematologic side effect, thrombocytopenia, in Japanese patients. *Antimicrob Agents Chemother* 55(5):1867-1873
- [187] Valenzuela, B., Nalda-Molina, R., Bretcha-Boix, P., Escudero-Ortiz, V., Duarte, M. J., Carbonell, V., Sureda, M., Rebollo, J. P., Farre, J., Brugarolas, A., and Perez-Ruixo, J. J. (2011) Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin-induced neutropenia in subjects with peritoneal carcinomatosis. *AAPS J* 13(1):72-82
- [188] Hansson, E. K. and Friberg, L. E. (2012) The shape of the myelosuppression time profile is related to the probability of developing neutropenic fever in patients with docetaxel-induced grade IV neutropenia. *Cancer Chemother Pharmacol* 69(4):881-890
- [189] Hing, J., Perez-Ruixo, J. J., Stuyckens, K., Soto-Matos, A., Lopez-Lazaro, L., and Zannikos, P. (2008) Mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic meta-analysis of trabectedin (ET-743, Yondelis) induced neutropenia. *Clin Pharmacol Ther* 83(1):130-143
- [190] Joerger, M., Huitema, A. D., Huizing, M. T., Willemse, P. H., de Graeff, A., Rosing, H., Schellens, J. H., Beijnen, J. H., and Vermorcken, J. B. (2007) Safety and pharmacology of paclitaxel in patients with impaired liver function: a population pharmacokinetic-pharmacodynamic study. *Br J Clin Pharmacol* 64(5):622-633
- [191] Quartino, A. L., Friberg, L. E., and Karlsson, M. O. (2012) A simultaneous analysis of the time-course of leukocytes and neutrophils following docetaxel administration using a semi-mechanistic myelosuppression model. *Invest New Drugs* 30(2):833-845
- [192] Soto, E., Staab, A., Tillmann, C., Trommeshauser, D., Fritsch, H., Munzert, G., and Troconiz, I. F. (2010) Semi-mechanistic population pharmacokinetic/pharmacodynamic model for neutropenia following therapy with

the Plk-1 inhibitor BI 2536 and its application in clinical development. *Cancer Chemother Pharmacol* 66(4):785-795

- [193] Van Kesteren C., Zandvliet, A. S., Karlsson, M. O., Mathot, R. A., Punt, C. J., Armand, J. P., Raymond, E., Huitema, A. D., Dittrich, C., Dumez, H., Roche, H. H., Droz, J. P., Ravic, M., Yule, S. M., Wanders, J., Beijnen, J. H., Fumoleau, P., and Schellens, J. H. (2005) Semi-physiological model describing the hematological toxicity of the anti-cancer agent indisulam. *Invest New Drugs* 23(3):225-234
- [194] Zandvliet, A. S., Schellens, J. H., Dittrich, C., Wanders, J., Beijnen, J. H., and Huitema, A. D. (2008) Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis to support treatment optimization of combination chemotherapy with indisulam and carboplatin. *Br J Clin Pharmacol* 66(4):485-497
- [195] Zandvliet, A. S., Siegel-Lakhai, W. S., Beijnen, J. H., Copalu, W., Etienne-Grimaldi, M. C., Milano, G., Schellens, J. H., and Huitema, A. D. (2008) PK/PD model of indisulam and capecitabine: interaction causes excessive myelosuppression. *Clin Pharmacol Ther* 83(6):829-839
- [196] Zandvliet, A. S., Schellens, J. H., Copalu, W., Beijnen, J. H., and Huitema, A. D. (2009) Covariate-based dose individualization of the cytotoxic drug indisulam to reduce the risk of severe myelosuppression. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 36(1):39-62
- [197] Sandstrom, M., Lindman, H., Nygren, P., Johansson, M., Bergh, J., and Karlsson, M. O. (2006) Population analysis of the pharmacokinetics and the haematological toxicity of the fluorouracil-epirubicin-cyclophosphamide regimen in breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 58(2):143-156
- [198] Segura, C., Bandres, E., Troconiz, I. F., Garcia-Foncillas, J., Sayar, O., Dios-Vieitez, C., Renedo, M. J., and Garrido, M. J. (2004) Hematological response of topotecan in tumor-bearing rats: modeling of the time course of different cellular populations. *Pharm Res* 21(4):567-573
- [199] Bender, B. C., Schaedeli-Stark, F., Koch, R., Joshi, A., Chu, Y. W., Rugo, H., Krop, I. E., Girish, S., Friberg, L. E., and Gupta, M. (2012) A population pharmacokinetic/pharmacodynamic model of thrombocytopenia characterizing the effect of trastuzumab emtansine (T-DM1) on platelet counts in patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 70(4):591-601
- [200] Schmitt, A., Gladiéff, L., Laffont, C. M., Evrard, A., Boyer, J. C., Lansiaux, A., Bobin-Dubigeon, C., Etienne-Grimaldi, M. C., Boisdrón-Celle, M., Mousseau, M., Pinguet, F., Floquet, A., Billaud, E. M., Durdux, C., Le Guellec, C., Mazieres, J., Lafont, T., Ollivier, F., Concordet, D., and Chatelut, E. (2010) Factors for hematopoietic toxicity of carboplatin: refining the targeting of carboplatin systemic exposure. *J Clin Oncol* 28(30):4568-4574
- [201] Luger, K. (2006) Dynamic nucleosomes. *Chromosome Res* 14(1):5-16

- [202] Peixoto, P. and Lansiaux, A. (2006) [Histone-deacetylases inhibitors: from TSA to SAHA]. *Bull Cancer* 93(1):27-36
- [203] Tan, J., Cang, S., Ma, Y., Petrillo, R. L., and Liu, D. (2010) Novel histone deacetylase inhibitors in clinical trials as anti-cancer agents. *J Hematol Oncol* 3:5-
- [204] Pecuchet, N., Cluzeau, T., Thibault, C., Mounier, N., and Vignot, S. (2010) [Histone deacetylase inhibitors: highlight on epigenetic regulation]. *Bull Cancer* 97(8):917-935
- [205] Harrison, I. F. and Dexter, D. T. (2013) Epigenetic targeting of histone deacetylase: therapeutic potential in Parkinson's disease? *Pharmacol Ther* 140(1):34-52
- [206] Slingerland, M., Guchelaar, H. J., and Gelderblom, H. (2014) Histone deacetylase inhibitors: an overview of the clinical studies in solid tumors. *Anticancer Drugs* 25(2):140-149
- [207] Benedetti, R., Conte, M., and Altucci, L. (2014) Targeting HDACs in diseases: where are we? *Antioxid Redox Signal* [Epub ahead of print]
- [208] Prince, H. M., Bishton, M. J., and Harrison, S. J. (2009) Clinical studies of histone deacetylase inhibitors. *Clin Cancer Res* 15(12):3958-3969
- [209] Martinez-Iglesias, O., Ruiz-Llorente, L., Sanchez-Martinez, R., Garcia, L., Zambrano, A., and Aranda, A. (2008) Histone deacetylase inhibitors: mechanism of action and therapeutic use in cancer. *Clin Transl Oncol* 10(7):395-398
- [210] Marks, P. A., Rifkind, R. A., Richon, V. M., and Breslow, R. (2001) Inhibitors of histone deacetylase are potentially effective anticancer agents. *Clin Cancer Res* 7(4):759-760
- [211] Walkinshaw, D. R. and Yang, X. J. (2008) Histone deacetylase inhibitors as novel anticancer therapeutics. *Curr Oncol* 15(5):237-243
- [212] Mann, B. S., Johnson, J. R., He, K., Sridhara, R., Abraham, S., Booth, B. P., Verbois, L., Morse, D. E., Jee, J. M., Pope, S., Harapanhalli, R. S., Dagher, R., Farrell, A., Justice, R., and Pazdur, R. (2007) Vorinostat for treatment of cutaneous manifestations of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 13(8):2318-2322
- [213] Haberland, M., Montgomery, R. L., and Olson, E. N. (2009) The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet* 10(1):32-42
- [214] Qiu, L., Burgess, A., Fairlie, D. P., Leonard, H., Parsons, P. G., and Gabrielli, B. G. (2000) Histone deacetylase inhibitors trigger a G2 checkpoint in normal cells that is defective in tumor cells. *Mol Biol Cell* 11(6):2069-2083
- [215] Giver, C. R., Jaye, D. L., Waller, E. K., Kaufman, J. L., and Lonial, S. (2011) Rapid recovery from panobinostat (LBH589)-induced thrombocytopenia in mice involves a rebound effect of bone marrow megakaryocytes. *Leukemia* 25(2):362-365

- [216] Matsuoka, H., Unami, A., Fujimura, T., Noto, T., Takata, Y., Yoshizawa, K., Mori, H., Aramori, I., and Mutoh, S. (2007) Mechanisms of HDAC inhibitor-induced thrombocytopenia. *Eur J Pharmacol* 571(2-3):88-96
- [217] Selleckchem (2014) PCI-24781 (Abexinostat). <http://www.selleckchem.com/products/PCI-24781.html>.
- [218] Lopez, G., Liu, J., Ren, W., Wei, W., Wang, S., Lahat, G., Zhu, Q. S., Bornmann, W. G., McConkey, D. J., Pollock, R. E., and Lev, D. C. (2009) Combining PCI-24781, a novel histone deacetylase inhibitor, with chemotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma. *Clin Cancer Res* 15(10):3472-3483
- [219] Wilting, R. H., Yanover, E., Heideman, M. R., Jacobs, H., Horner, J., van der Torre, J., DePinho, R. A., and Dannenberg, J. H. (2010) Overlapping functions of Hdac1 and Hdac2 in cell cycle regulation and haematopoiesis. *EMBO J* 29(15):2586-2597
- [220] Friberg, L. E. and Karlsson, M. O. (2003) Mechanistic models for myelosuppression. *Invest New Drugs* 21(2):183-194
- [221] Thomas, F. and Chatelut, E. (2007) Les dérivés du platine. *Oncologie* 9(11):741-745
- [222] Stein, A. and Arnold, D. (2012) Oxaliplatin: a review of approved uses. *Expert Opin Pharmacother* 13(1):125-137
- [223] Chatelut, E. (2011) [Pharmacology of platinum compounds: differences between the three molecules and factors of interpatient variability]. *Bull Cancer* 98(11):1253-1261
- [224] Alcindor, T. and Beauger, N. (2011) Oxaliplatin: a review in the era of molecularly targeted therapy. *Curr Oncol* 18(1):18-25
- [225] Graham, M. A., Lockwood, G. F., Greenslade, D., Brienza, S., Bayssas, M., and Gamelin, E. (2000) Clinical pharmacokinetics of oxaliplatin: a critical review. *Clin Cancer Res* 6(4):1205-1218
- [226] Ferron, G., Martinez, A., Mery, E., Querleu, D., Thomas, F., Chatelut, E., and Gladiéff, L. (2009) [Importance of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in ovarian cancer]. *Bull Cancer* 96(12):1243-1252
- [227] Los, G., Mutsaers, P. H., van der Vijgh, W. J., Baldew, G. S., de Graaf, P. W., and McVie, J. G. (1989) Direct diffusion of cis-diamminedichloroplatinum(II) in intraperitoneal rat tumors after intraperitoneal chemotherapy: a comparison with systemic chemotherapy. *Cancer Res* 49(12):3380-3384
- [228] Elias, D., Lefevre, J. H., Chevalier, J., Brouquet, A., Marchal, F., Classe, J. M., Ferron, G., Guilloit, J. M., Meeus, P., Goere, D., and Bonastre, J. (2009) Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *J Clin Oncol* 27(5):681-685

- [229] Verwaal, V. J., van, Ruth S., de, Bree E., van Sloothen, G. W., van, Tinteren H., Boot, H., and Zoetmulder, F. A. (15-10-2003) Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol* 21(20):3737-3743
- [230] Di Giorgio, A., Naticchioni, E., Biacchi, D., Sibio, S., Accarpio, F., Rocco, M., Tarquini, S., Di, Seri M., Ciardi, A., Montruccoli, D., and Sammartino, P. (15-7-2008) Cytoreductive surgery (peritonectomy procedures) combined with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in the treatment of diffuse peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer. *Cancer* 113(2):315-325
- [231] Alexander, H. R., Hanna, N., and Pingpank, J. F. (2007) Clinical results of cytoreduction and HIPEC for malignant peritoneal mesothelioma. *Cancer Treat Res* 134:343-355
- [232] Sugarbaker, P. H., Yu, W., and Yonemura, Y. (2003) Gastrectomy, peritonectomy, and perioperative intraperitoneal chemotherapy: the evolution of treatment strategies for advanced gastric cancer. *Semin Surg Oncol* 21(4):233-248
- [233] Cho, H. K., Lush, R. M., Bartlett, D. L., Alexander, H. R., Wu, P. C., Libutti, S. K., Lee, K. B., Venzon, D. J., Bauer, K. S., Reed, E., and Figg, W. D. (1999) Pharmacokinetics of cisplatin administered by continuous hyperthermic peritoneal perfusion (CHPP) to patients with peritoneal carcinomatosis. *J Clin Pharmacol* 39(4):394-401
- [234] de Bree, E., Rosing, H., Filis, D., Romanos, J., Melissourgaki, M., Daskalakis, M., Pilatou, M., Sanidas, E., Taflampas, P., Kalbakis, K., Beijnen, J. H., and Tsiftsis, D. D. (2008) Cytoreductive surgery and intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with paclitaxel: a clinical and pharmacokinetic study. *Ann Surg Oncol* 15(4):1183-1192
- [235] Jacquet, P., Stuart, O. A., Chang, D., and Sugarbaker, P. H. (1996) Effects of intra-abdominal pressure on pharmacokinetics and tissue distribution of doxorubicin after intraperitoneal administration. *Anticancer Drugs* 7(5):596-603
- [236] Steller, M. A., Egorin, M. J., Trimble, E. L., Bartlett, D. L., Zuhowski, E. G., Alexander, H. R., and Dedrick, R. L. (1999) A pilot phase I trial of continuous hyperthermic peritoneal perfusion with high-dose carboplatin as primary treatment of patients with small-volume residual ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 43(2):106-114
- [237] Votanopoulos, K., Ihemelandu, C., Shen, P., Stewart, J., Russell, G., and Levine, E. A. (2013) A comparison of hematologic toxicity profiles after heated intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin and mitomycin C. *J Surg Res* 179(1):e133-e139
- [238] Atallah, D., Marsaud, V., Radanyi, C., Kornprobst, M., Rouzier, R., Elias, D., and Renoir, J. M. (2004) Thermal enhancement of oxaliplatin-induced inhibition of cell

proliferation and cell cycle progression in human carcinoma cell lines. *Int J Hyperthermia* 20(4):405-419

- [239] Elias, D., Bonnay, M., Puizillou, J. M., Antoun, S., Demirdjian, S., El, O. A., Pignon, J. P., Drouard-Troalen, L., Ouellet, J. F., and Ducreux, M. (2002) Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics and tissue distribution. *Ann Oncol* 13(2):267-272
- [240] Elias, D., Matsuhisa, T., Sideris, L., Liberale, G., Drouard-Troalen, L., Raynard, B., Pocard, M., Puizillou, J. M., Billard, V., Bourget, P., and Ducreux, M. (2004) Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin plus irinotecan after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics, tissue distribution and tolerance. *Ann Oncol* 15(10):1558-1565
- [241] Elias, D., Raynard, B., Bonnay, M., and Pocard, M. (2006) Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin alone and in combination with intraperitoneal irinotecan: Pharmacologic studies. *Eur J Surg Oncol* 32(6):607-613
- [242] Elias, D. M. and Sideris, L. (2003) Pharmacokinetics of heated intraoperative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis. *Surg Oncol Clin N Am* 12(3):755-69, xiv
- [243] Perez-Ruixo, C., Valenzuela, B., Peris, J. E., Bretcha-Boix, P., Escudero-Ortiz, V., Farre-Alegre, J., and Perez-Ruixo, J. J. (2013) Population pharmacokinetics of hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin in patients with peritoneal carcinomatosis after cytoreductive surgery. *Cancer Chemother Pharmacol* 71(3):693-704
- [244] Stewart, J. H., Shen, P., Russell, G., Fenstermaker, J., McWilliams, L., Coldrun, F. M., Levine, K. E., Jones, B. T., and Levine, E. A. (2008) A phase I trial of oxaliplatin for intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion for the treatment of peritoneal surface dissemination from colorectal and appendiceal cancers. *Ann Surg Oncol* 15(8):2137-2145
- [245] Elias, D., Raynard, B., Boige, V., Laplanche, A., Estphan, G., Malka, D., and Pocard, M. (2005) Impact of the extent and duration of cytoreductive surgery on postoperative hematological toxicity after intraperitoneal chemohyperthermia for peritoneal carcinomatosis. *J Surg Oncol* 90(4):220-225
- [246] Hompes, D., D'Hoore, A., Van, Cutsem E., Fieuws, S., Ceelen, W., Peeters, M., Van der Speeten, K., Bertrand, C., Legendre, H., and Kerger, J. (2012) The treatment of peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer with complete cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal peroperative chemotherapy (HIPEC) with oxaliplatin: a Belgian multicentre prospective phase II clinical study. *Ann Surg Oncol* 19(7):2186-2194

- [247] Atkinson, A. J., Jr. and Lalonde, R. L. (2007) Introduction of quantitative methods in pharmacology and clinical pharmacology: a historical overview. *Clin Pharmacol Ther* 82(1):3-6
- [248] Van Kesteren, C., Zandvliet, A. S., Karlsson, M. O., Mathot, R. A., Punt, C. J., Armand, J. P., Raymond, E., Huitema, A. D., Dittrich, C., Dumez, H., Roche, H. H., Droz, J. P., Ravic, M., Yule, S. M., Wanders, J., Beijnen, J. H., Fumoleau, P., and Schellens, J. H. (2005) Semi-physiological model describing the hematological toxicity of the anti-cancer agent indisulam. *Invest New Drugs* 23(3):225-234
- [249] Kaefer, A., Yang, J., Xiong, H., Pradhan, R., Jaeger, M., Noertersheuser, P., and Mensing, S. (2012) Evaluation of the long-term decline of platelets following Navitoclax (ABT-263) administration in Cancer Patients with a semi-physiological pharmacodynamic model. PAGE meeting 21, <http://www.page-meeting.org/?abstract=2389>
- [250] Smith, T. L., Lee, J. J., Kantarjian, H. M., Legha, S. S., and Raber, M. N. (1996) Design and results of phase I cancer clinical trials: three-year experience at M.D. Anderson Cancer Center. *J Clin Oncol* 14(1):287-295
- [251] He, W., Liu, J., Binkowitz, B., and Quan, H. (2006) A model-based approach in the estimation of the maximum tolerated dose in phase I cancer clinical trials. *Stat Med* 25(12):2027-2042
- [252] Kang, S. and Ahn, C. (2001) The expected toxicity rate at the maximum tolerated dose in the standard phase I clinical trial design. *Drug Information Journal* 35:1189-1199
- [253] Kang, S. and Ahn, C. (2002) An investigation of the traditional algorithm-based designs for phase I cancer clinical trials. *Drug Information Journal* 36:865-873
- [254] Iasonos, A., Wilton, A. S., Riedel, E. R., Seshan, V. E., and Spriggs, D. R. (2008) A comprehensive comparison of the continual reassessment method to the standard 3 + 3 dose escalation scheme in Phase I dose-finding studies. *Clin Trials* 5(5):465-477
- [255] Eisenhauer, E. A. (1998) Phase I and II trials of novel anti-cancer agents: endpoints, efficacy and existentialism. The Michel Clavel Lecture, held at the 10th NCI-EORTC Conference on New Drugs in Cancer Therapy, Amsterdam, 16-19 June 1998. *Ann Oncol* 9(10):1047-1052
- [256] Bruno, R., Mercier, F., and Claret, L. (2013) Model-based drug development in oncology: what's next? *Clin Pharmacol Ther* 93(4):303-305
- [257] Perez-Ruixo, C., Peris, J. E., Escudero-Ortiz, V., Bretcha-Boix, P., Farre-Alegre, J., Perez-Ruixo, J. J., and Valenzuela, B. (2014) Rate and extent of oxaliplatin absorption after hyperthermic intraperitoneal administration in peritoneal carcinomatosis patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 73(5):1009-1020

- [258] Ferron, G., Dattez, S., Gladieff, L., Delord, J. P., Pierre, S., Lafont, T., Lochon, I., and Chatelut, E. (2008) Pharmacokinetics of heated intraperitoneal oxaliplatin. *Cancer Chemother Pharmacol* 62(4):679-683
- [259] Culy, C. R., Clemett, D., and Wiseman, L. R. (2000) Oxaliplatin. A review of its pharmacological properties and clinical efficacy in metastatic colorectal cancer and its potential in other malignancies. *Drugs* 60(4):895-924
- [260] Perez-Ruixo, C., Valenzuela, B., Peris, J. E., Bretcha-Boix, P., Escudero-Ortiz, V., Farre-Alegre, J., and Perez-Ruixo, J. J. (2013) Neutrophil dynamics in peritoneal carcinomatosis patients treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin. *Clin Pharmacokinet* 52(12):1111-1125
- [261] Hayes, S., Mudd, P. N., Jr., Ouellet, D., Johnson, B. M., Williams, D., and Gibiansky, E. (2013) Population PK/PD modeling of eltrombopag in subjects with advanced solid tumors with chemotherapy-induced thrombocytopenia. *Cancer Chemother Pharmacol* 71(6):1507-1520
- [262] Pastor, M. L., Laffont, C. M., Gladieff, L., Schmitt, A., Chatelut, E., and Concordet, D. (2013) Model-based approach to describe G-CSF effects in carboplatin-treated cancer patients. *Pharm Res* 30(11):2795-2807

RÉSUMÉ

Un déclin du nombre d'autorisations de mise sur le marché (AMM) est constaté depuis quelques années. En particulier, un fort taux d'attrition en phases tardives de développement clinique est observé, notamment en oncologie. Les études cliniques précoces ne semblent pas prédictives du taux de succès en phases finales. Les autorités de santé préconisent l'utilisation de nouvelles méthodologies, telles que les méthodes de pharmacocinétique de population, afin d'augmenter la quantité et la qualité des informations collectées tant au niveau des phases précoces (pour guider le développement clinique), qu'en post-AMM (pour améliorer les prises en charge thérapeutique).

Les données de pharmacocinétique (PK) et de pharmacodynamie (PD) d'un candidat-médicament (abexinostat) ont été analysées. Un modèle PK/PD reliant les concentrations plasmatiques aux thrombopénies chez des patients atteints de tumeurs solides et de lymphomes a été construit. Un schéma d'administration ainsi qu'une dose optimale ont été proposés pour chacune des populations à l'étude. Finalement des données PK d'oxaliplatine ont été analysées, dans le cadre d'une administration particulière de chimiothérapie hyperthermique intra-péritonéale après chirurgie cytoréductive. Un modèle PK a été développé permettant la description simultanée des concentrations d'oxaliplatine péritonéales, plasmatiques libres (ultra-filtrables) et liées aux protéines plasmatiques. Les données d'expositions ont été confrontées avec les données de toxicités observées (neuropathies, thrombopénies, hémopéritoines, sepsis, ascites) des patients traités. Une contribution de la PK vis-à-vis de l'intensité des thrombopénies a été mise en évidence.

Mots clés : Pharmacocinétique - Pharmacodynamie - Modélisation - Oncologie - Thrombopénie - Développement Clinique

SUMMARY

A slight decrease in the number of marketing authorizations has been observed in the last few years. This tendency is particularly noticeable in oncology, where a high attrition rate in late clinical development phases is observed. Consequently, early clinical trials do not appear predictive of success rate in later stages. Health authorities support the use of new methodologies, such as population pharmacokinetic modeling, in order to improve the quality and quantity of collected information both in early clinical trials (to help clinical development) and clinical routine (to improve care).

Pharmacokinetic (PK) and Pharmacodynamic (PD) data from a new anticancer drug (abexinostat) currently under clinical development were analysed. A PKPD model was conducted linking its plasmatic concentrations to thrombocytopenia in patients with solid tumors and lymphoma. Using simulations, an optimal administration schedule and a recommended dose were suggested for both populations of patients. Oxaliplatin PK data from patients who underwent hyperthermic intraperitoneal chemotherapy after cytoreductive surgery were also analysed. The simultaneous description of the peritoneal, plasmatic ultra-filtrated and platinum protein-bound concentrations was made possible through the use of constructed PK model. Exposures of oxaliplatin were confronted with observed toxicities (neuropathy, haemoperitoneum, sepsis, ascites and thrombocytopenia) in treated patients. A PK contribution to the severity of the thrombocytopenia was shown.

Key words : Pharmacokinetics - Pharmacodynamics - Modeling - Oncology - Thrombocytopenia - Clinical Development